



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Diagnostic and prognostic markers of cutaneous lymphomas**

Schrader, A.M.R.

### **Citation**

Schrader, A. M. R. (2020, August 27). *Diagnostic and prognostic markers of cutaneous lymphomas*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/136020>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/136020>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/136020> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Schrader, A.M.R.

**Title:** Diagnostic and prognostic markers of cutaneous lymphomas

**Issue date:** 2020-08-27

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Huidlymfomen zijn non-Hodgkin lymfomen die zich presenteren in de huid zonder systemische ziekte ten tijde van diagnose. Het betreft een heterogene groep van aandoeningen waar jaarlijks ongeveer 1 op de 100.000 mensen door wordt getroffen. De verschillende soorten huidlymfomen zijn in de laatste decennia steeds beter gedefinieerd in classificatiesystemen, met name op basis van verschillen in kliniek en morfologie van de tumorcellen, ondersteund door specifieke immunohistochemische profielen. Door de grote opmars van moleculaire technieken wordt de classificatie tegenwoordig steeds meer aangevuld met het genetisch profiel van de verschillende entiteiten.

Het correct classificeren van huidlymfomen is van onmisbaar belang omdat de meeste soorten een andere behandeling behoeven. Daarnaast is ook de prognose vaak sterk verschillend, niet alleen tussen de verschillende soorten huidlymfomen maar ook tussen patiënten met dezelfde ziekte-entiteit. Alle entiteiten hebben hun eigen uitdagingen als het gaat om het stellen van de diagnose: ofwel in het onderscheid met goedaardige ontstekingsbeelden van de huid ofwel in het onderscheid met andere huidlymfomen of systemische lymfomen. Een andere grote uitdaging bestaat uit het zo vroeg mogelijk identificeren van patiënten die een verhoogd risico hebben op het ontwikkelen van progressieve ziekte en om de behandeling hier tijdig op aan te passen. Kennis over het genetisch profiel van de verschillende soorten huidlymfomen kan bijdragen aan betere diagnostiek, maar ook aan het identificeren van deze 'hoog-risico' patiënten. Dit proefschrift bestaat uit diverse immunohistochemische en genetische studies in verschillende soorten huidlymfomen met als doel het identificeren van markers die kunnen bijdragen aan het stellen van de diagnose -classificatie- en het bepalen van de prognose -risicostratificatie- van deze patiënten.

### **TOX expressie**

In de zoektocht naar markers die kunnen differentiëren tussen T-cellymfomen van de huid en goedaardige ontstekingsziekten werd in eerdere studies een verhoogde genetische expressie en later ook eiwitexpressie gezien van *thymocyte-selection*

*high mobility group box* (TOX) bij CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> kwaadaardige T cellen van mycosis fungoides (MF) en het Sézary syndroom (SS), maar niet of alleen sporadisch bij de huid-infiltrerende T cellen van goedaardige ontstekingsziekten. In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift wordt de eiwitexpressie van TOX bestudeerd in 153 huidbiopten van 132 patiënten met diverse soorten huidlymfomen en de huidbiopten van 60 patiënten met een goedaardige ontstekingsziekte. Met deze studie konden we aantonen dat TOX sterk tot expressie komt in het merendeel van de patiënten met MF en SS, maar ook -hoewel overwegend zwakker en meer variabel- in andere soorten T-cellymfomen van de huid. Daarnaast zagen we niet alleen TOX expressie in tumorcellen met een CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> fenotype, maar ook in tumorcellen met een CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> of CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> fenotype. Deze resultaten tonen aan dat TOX expressie niet specifiek is voor een bepaald type T-cellymfoom van de huid en ook niet is voorbehouden aan tumorcellen met een CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> fenotype. Daarnaast is TOX expressie op zichzelf niet diagnostisch voor een T-cellymfoom aangezien wij ook TOX expressie hebben waargenomen in de huid-infiltrerende T cellen van ontstekingsziekten, alhoewel dit een stuk zwakker en minder vaak aanwezig was. Wij concluderen daarom dat immunohistochemie voor TOX aanvullende waarde heeft in de diagnostiek van T-cellymfomen van de huid, maar dat deze marker altijd moet worden geïnterpreteerd in samenspraak met het klinisch beeld en de andere histologische bevindingen.

In onze studie zagen we vaker expressie van TOX door >50% van de tumorcellen in gevorderde stadia van MF (94%) in vergelijking met vroege stadia van MF (78%). Deze bevinding komt overeen met eerdere studies die aantonen dat hogere niveaus van TOX geassocieerd zijn met een slechtere overleving van MF en SS cellijnen. Daarnaast tonen eerdere studies dat een verhoogde expressie van TOX resulteert in een toegenomen proliferatie en migratie van de tumorcellen van cellijnen van T-cellymfomen van de huid, terwijl het uitschakelen van TOX in muismodellen juist leidde tot een toename van geprogrammeerde celdood en een afname van de celgroei. Het exacte mechanisme en de rol van TOX in het ontstaan van T-cellymfomen is echter nog niet opgehelderd.

Tot slot bemerkten we in deze studie dat er ook TOX tot expressie komt bij B cellen in reactieve kliercentra in lymfklieren en tonsillen die werden gebruikt als externe controlecoupees. Deze bevinding was onverwacht, aangezien het van TOX niet bekend is dat deze een rol speelt in de ontwikkeling van B cellen. Hierop volgend hebben we in **hoofdstuk 3** aangetoond dat TOX ook tot expressie kan komen in verschillende soorten B-cellymfomen van de huid, waaronder het primair cutaan grootcellig B-cellymfoom, beentype (PCDLBCL-LT) en het primair cutaan follikelcentrumlymfoom (PCFCL). In deze gevallen kwam TOX expressie vaak overeen met de expressie van BCL6, een marker van normale B cellen in reactieve kliercentra. De literatuur van TOX over expressie in B cellen is extreem schaars en daarom kunnen wij onze bevinding niet goed verklaren.

#### ***TP63* genherschikkingen in primair cutane CD30<sup>+</sup> lymfoproliferaties**

De overleving van patiënten met primair cutane CD30<sup>+</sup> lymfoproliferaties is normaal gesproken goed, met een 5-jaarsoverleving van 95% voor patiënten met een primair cutaan grootcellig anaplastisch lymfoom (C-ALCL) en 99% voor patiënten met lymfomatoïde papulose (LyP). In zeldzame gevallen (12% in C-ALCL en 3% in LyP) treedt echter progressieve ziekte op en sommige van deze patiënten overlijden aan de ziekte. Omdat het tegenwoordig nog niet mogelijk is om deze patiënten in een vroeg ziektestadium te identificeren, hebben wij in **hoofdstuk 4** de aanwezigheid van *TP63* genherschikkingen onderzocht in 17 patiënten met primair cutane CD30<sup>+</sup> lymfoproliferaties, waaronder 14 C-ALCL en 3 LyP patiënten. Deze patiënten werden geselecteerd vanwege progressieve of zeer uitgebreide ziekte, aangezien *TP63* genherschikkingen in systemische ALCL geassocieerd zijn met een agressiever ziektebeloop. Wij konden in ons cohort echter geen *TP63* genherschikkingen aantonen. Wel zagen we in 18% van de gevallen extra kopieën van het *TP63* gen en in 35% eiwitexpressie van p63, maar deze bevindingen correleerden niet met een slechtere overleving. Onze studie geeft daarom geen nieuwe handvatten voor het identificeren van hoog-risico patiënten met primair cutane CD30<sup>+</sup> lymfoproliferaties.

**MYC expressie en MYC genherschikkingen in B-celmyfomen van de huid**

In systemische grootcellige B-celmyfomen is de combinatie van herschikkingen in het *MYC* gen en in de *BCL2* en/of *BCL6* genen geassocieerd met een agressiever ziektebeloop. Ook lijkt er een iets slechtere prognose te bestaan voor patiënten met dubbele eiwitexpressie van *MYC* en *BCL2*. Omdat de frequentie en klinische relevantie van deze genherschikkingen en eiwitexpressie nog niet bekend waren in grootcellige B-celmyfomen van de huid hebben wij dit onderzocht in 44 patiënten met PCDLBCL-LT en 17 patiënten met PCFCL, beschreven in **hoofdstuk 5** van dit proefschrift.

In deze studie hebben we *MYC* expressie aangetoond in de meerderheid (67%) van de PCDLBCL-LT patiënten maar niet (0%) in PCFCL patiënten. *MYC* genherschikkingen bleken aanwezig in 32% van de PCDLBCL-LT patiënten, waarvan in 2 patiënten gecombineerd met een genherschikking van *BCL6*, maar werden eveneens niet aangetroffen in de PCFCL patiënten. Omdat bijna alle PCDLBCL-LT patiënten (95%) ook *BCL2* tot expressie brengen, staat *MYC* expressie nagenoeg gelijk aan dubbele eiwitexpressie van *MYC* en *BCL2*. Onze resultaten komen gedeeltelijk overeen met andere studies. *MYC* expressie wordt daarin gerapporteerd in 19 van 23 (83%) PCDLBCL-LT patiënten, maar ook in 10 van 21 (48%) PCFCL patiënten. De gerapporteerde frequentie van *MYC* genherschikkingen in PCDLBCL-LT varieert van 0% tot 43% in cohorten van 8 tot 23 patiënten. Tot op heden is slechts 1 patiënt in een cohort van 21 patiënten met PCFCL beschreven met een *MYC* genherschikking en deze patiënt had tevens een genherschikking van *BCL6*. Over het algemeen lijkt de combinatie van *MYC* en *BCL2* en/of *BCL6* genherschikkingen zeldzaam in grootcellige B-celmyfomen van de huid aangezien dit de enige patiënt is met dit fenomeen in PCFCL en wij, in onze studie, de enige zijn die dit beschrijven in 2 patiënten met PCDLBCL-LT. Tot slot konden wij in ons cohort aantonen dat er een associatie is van *MYC* genherschikkingen, maar niet van *MYC* eiwitexpressie, met een hoger risico op ziekte-gerelateerde sterfte en ziekteprogressie. In tegenstelling tot systemische grootcellige B-celmyfomen lijkt de combinatie van *MYC* met *BCL6* genherschikkingen echter niet duidelijk tot agressieve ziekte aangezien beide patiënten in ons cohort een gunstig ziektebeloop hadden. Concluderend suggereert onze studie dat het aantonen van *MYC* eiwitexpressie kan bijdragen

aan het diagnostisch proces van gevallen waarbij het lastig is om te differentiëren tussen een PCDLBCL-LT en een PCFCL en dat het aanbeveling verdient om *MYC* genherschikkingen te analyseren bij alle nieuw gediagnosticeerde patiënten met PCDLBCL-LT. Het aantonen van een gecombineerde genherschikking in *BCL2* en/of *BCL6* lijkt daarentegen niet noodzakelijk vanwege de zeldzaamheid en de onzekere relatie met overleving.

### ***MYD88* en *CD79B* mutaties in grootcellige B-cellymfomen van de huid**

Naast de aanwezigheid van *MYC* genherschikkingen hebben recente studies aangetoond dat er frequent mutaties in *MYD88* en *CD79B* en verlies van *CDKN2A* voorkomen in patiënten met PCDLBCL-LT. Van deze genetische veranderingen wordt gedacht dat het centrale processen zijn in het ontstaan van de ziekte. Er is daarentegen weinig bekend over de frequentie van deze genetische veranderingen in recidieven van de ziekte en het is nog niet goed bekend of ze invloed hebben op de prognose van de patiënt. In **hoofdstuk 6** hebben wij het genetisch profiel in kaart gebracht van een relatief groot cohort van 55 patiënten met PCDLBCL-LT ten tijde van diagnose en ten tijde van eventuele recidieven. Vervolgens hebben wij gekeken of de meest voorkomende genetische veranderingen ook van invloed zijn op de overleving van deze patiënten. Overeenkomstig met de literatuur waren in deze studie de meest voorkomende genetische afwijkingen mutaties in *MYD88* (72%) en *CD79B* (51%), verlies van *CDKN2A* (65%) en *MYC* genherschikkingen (26%) waarbij de frequenties vergelijkbaar waren tussen primaire ziekte en gerecidiveerde ziekte. Van de meest voorkomende genetische veranderingen was alleen de aanwezigheid van *MYC* genherschikkingen geassocieerd met een slechtere overleving, overeenkomstig met de bevindingen in **hoofdstuk 5**. In andere studies werd ook een negatief effect gezien op de overleving van mutaties in *MYD88*, genetische veranderingen in de B-celreceptor signaaltransductieroute en verlies van *CDKN2A*, maar dit kwam niet naar voren in onze studie.

Naast PCDLBCL-LT worden ook grootcellige B-cellymfomen van het centraal zenuwstelsel en de testis gekenmerkt door frequente mutatie in *MYD88* en *CD79B* en eiwitexpressie van *BCL2* en *MUM1*. Eiwitexpressie van deze markers is ook veelvoorkomend in het intravasculair grootcellig B-cellymfoom (IVLBCL),

een subtype van het grootcellig B-cellymfoom dat gekarakteriseerd wordt door de aanwezigheid van tumorcellen in het lumen van bloedvaten en dat frequent voorkomt in de huid en/of het centraal zenuwstelsel. Het genetisch profiel van het IVLBCL was echter nog onbekend. In **hoofdstuk 7** hebben wij de aanwezigheid onderzocht van enkele ‘hotspot’ mutaties, waaronder *MYD88* en *CD79B*, in een groep van 25 IVLBCL patiënten met systemische ziekte of ziekte beperkt tot de huid. In deze studie troffen wij inderdaad *MYD88* en *CD79B* mutaties aan in 44% respectievelijk 26% van de patiënten, ongeacht of de ziekte systemisch was of zich beperkte tot de huid.

### Concluderende opmerkingen

De immunohistochemische en genetische studies in dit proefschrift gaan over classificatie en risicostatificatie van patiënten met verschillende soorten huidlymfomen. De resultaten van deze studies dragen bij aan het beter definiëren van de verschillende clinicopathologische entiteiten en geven ons inzicht in aanvullende markers die kunnen helpen bij het stellen van de diagnose, zoals TOX expressie bij T-cellymfomen van de huid en MYC expressie en MYC generschikkingen bij B-cellymfomen van de huid. Daarnaast demonstreren de resultaten van deze studies dat genetische veranderingen met een negatieve invloed op het ziektebeloop bij systemische lymfomen niet een-op-een te vertalen zijn naar huidlymfomen, zoals *TP63* generschikkingen bij primair cutane CD30<sup>+</sup> lymfoproliferaties en *MYC* en *BCL2* en/of *BCL6* generschikkingen of dubbele eiwitexpressie van MYC en BCL2 bij PCDLBCL-LT. Deze bevindingen onderstrepen de relevantie van het apart classificeren van huidlymfomen. Daarnaast hebben de resultaten van de studies mogelijke behandelconsequenties voor patiënten met grootcellige B-cellymfomen van de huid. In de behandeling van grootcellige B-cellymfomen is er de laatste jaren een sterke opmars geweest van meer rationele, doelgerichte therapieën op basis van specifieke genetische veranderingen en dit gebied ontwikkelt zich op hoge snelheid. In PCDLBCL-LT, gekenmerkt door frequente recidieven en een slechte overleving, vormen de NF-κB, MYC en CDKN2A signaaltransductieroutes aantrekkelijke aangrijpingspunten voor een meer doelgerichte behandeling. Ditzelfde geldt voor de NF-κB signaaltransductieroute bij patiënten met IVLBCL. Vanwege de zeldzaamheid van deze lymfoomsubtypen is



het echter extreem lastig om het effect van dergelijke therapieën vast te stellen in gerandomiseerde klinische studies. Om dit te kunnen ondervangen is internationale samenwerking essentieel, hetgeen weer het belang van uniforme classificatie van de verschillende entiteiten benadrukt. Tot slot zou het monitoren van de ziektelast ten tijde van diagnose en tijdens de follow-up kunnen worden verbeterd door het gebruik van 'liquid biopsies' waarvoor met name lymfoomsotypen geschikt zijn die een hoge frequentie hebben van specifieke hotspot mutaties, zoals *MYD88*. Liquid biopsies vormen een minimaal invasieve methode om circulerend tumor DNA op te pikken in het bloed of andere lichaamsvloeistoffen en zijn daarmee gevoeliger dan de huidige methode van PET-CT scans. Toekomstige studies zullen het effect en de toepasbaarheid van het gebruik van liquid biopsies bij patiënten met huidlymfomen moeten vaststellen.

