

# PD-1 en TOX: nieuwe diagnostische markers in cutane T-cellymfomen

F. Teunissen-Çetinözman<sup>1</sup>, A.M. Schrader<sup>2</sup>, P.Jansen<sup>3</sup>, M.H. Vermeer<sup>4</sup>, R.Willemze<sup>4</sup>

- <sup>1</sup> Aios, afdeling Dermatologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden
- <sup>2</sup> Aios, afdeling Pathologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden
- <sup>3</sup> Patholoog, afdeling Pathologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden
- <sup>4</sup> Dermatoloog, afdeling Dermatologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden

**Correspondentieadres:**

Fatoş Teunissen-Çetinözman  
Albinusdreef 2  
2223 ZA Leiden  
Tel: 071 5262421  
E-mail: F.Cetinoezman@lumc.nl

Mycosis fungoides (MF) en het sézarysyndroom (SS) zijn de meest bekende typen cutane T-cellymfoom (CTCL). MF presenteert zich met erythemato-squameuze, en soms atrofische, patches en licht geïnfilteerde plaques met name op de niet aan zonlicht blootgestelde lichaamsdelen, en is histologisch gekenmerkt door een oppervlakkig, vaak bandvormig infiltraat met infiltratie van de epidermis door atypische CD4-positieve T-cellen (epidermotropie). Patiënten met MF tonen doorgaans een indolent klinisch beloop. Bij een deel van de patiënten ontstaan echter tumoren en kan uitbreiding naar extracutane lokalisaties optreden, in eerste instantie met name naar de perifere lymfklieren.<sup>1</sup> Het SS is een meer zeldzame vorm van CTCL en wordt gekenmerkt door een sterk jeukende erythrodermie, doorgaans een gegeneraliseerde lymfadenopathie en het voorkomen van atypische CD4-positieve T-cellen (sézarycellen) in de huid, de lymfklieren en het perifere bloed.<sup>1</sup> Patiënten met SS hebben een duidelijk slechtere prognose dan patiënten met MF.

Zowel klinisch als histologisch kan onderscheid tussen vroege stadia van MF en SS en reactieve huidaandoeningen, zoals psoriasis, eczeem of een geneesmiddelenreactie, moeilijk zijn. Echter, een goede en vroegtijdige diagnose is van groot belang voor de keuze van behandeling, juiste voorlichting

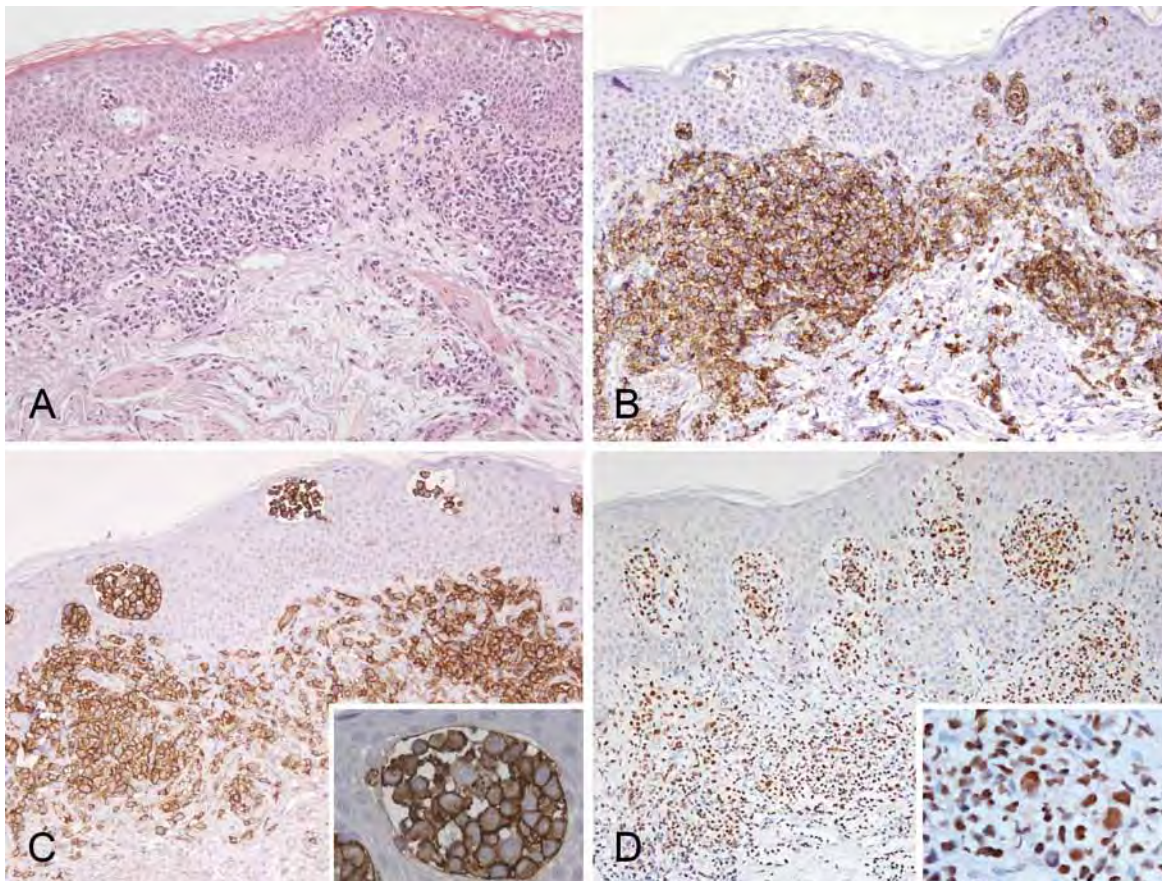
en prognosestelling. Aanvullend immunohistochemisch onderzoek gericht op het aantonen van een aberrant fenotype van de tumorcellen kan soms uitkomst bieden, maar is in de vroege stadia van MF en SS doorgaans niet bijdragend. Het is daarom van groot belang om te kunnen beschikken over additionele diagnostische biomarkers, waarmee onderscheid gemaakt kan worden tussen de vroege stadia van MF en SS en reactieve huidaandoeningen.

Bij recent onderzoek waarbij gebruikgemaakt werd van high-throughput genomische transcriptie profiling werd een sterk verhoogde genexpressie van PD-1 en TOX gevonden in huidbiopten van vroege MF-laesies vergeleken met huidbiopten van gezonde vrijwilligers en patiënten met een goedaardige inflammatoire huidaandoening.<sup>2</sup> In dit artikel zal ingegaan worden op de vraag in hoeverre deze twee moleculen bruikbaar zijn bij de (vroeg)diagnostiek van verschillende typen CTCL.

## PD-1 EN TOX

Het moleculair *programmed death-1* (PD-1) behoort tot de immunoglobuline superfamilie en vervult een belangrijke rol bij de negatieve regulatie van de T-celrespons. PD-1 is afwezig op rustende T-cellen, maar wordt na activatie tot expressie gebracht op het celoppervlak. Binding van PD-1 aan zijn ligand, PD-L1 of PD-L2, leidt tot remming van T-celproliferatie en verminderde cytokineproductie.<sup>3</sup> Blokkade van de interactie tussen PD-1 en PD-L1 leidt tot een versterkte T-celrespons en in geval van kanker tot een versterkte antitumorrespons. Blokkerende antilichamen worden momenteel in toenemende mate gebruikt bij de behandeling van verschillende vormen van kanker, waaronder het melanoom.<sup>4</sup>

Het moleculair *thymocyte selection-associated high mobility group box protein* (TOX) is een chromatinegeassocieerd eiwit en maakt onderdeel uit van een superfamilie van DNA-bindende eiwitten die betrokken zijn bij de regulatie van genexpressie door modificatie van de chromatinedichtheid.



Figuur 1. Sézarysyndroom. Perivasculaire infiltraten in de papillaire dermis en pautriermicro-abscessen in de epidermis (A). Positieve aankleuring van de tumorcellen voor CD4 (B), PD-1 (C) en TOX (D).

TOX komt hoog tot expressie tijdens de ontwikkeling van CD4<sup>+</sup>-T-cellen in de thymus, maar komt niet langer tot expressie zodra de uitgerijpte T-cellen de thymus verlaten.

#### PD-1 EN TOX-EXPRESSIE IN SS

In 2010 werd een verhoogde expressie van PD-1 beschreven op circulerende neoplastische CD4<sup>+</sup>-T-cellen bij SS.<sup>5</sup> In ons eigen onderzoek werd de expressie van PD-1 onderzocht in huidbiopten van 27 patiënten met een SS en 30 patiënten met een benigne vorm van erythrodermie (idiopatische, atopische, psoriatische en paraneoplastische erythrodermie). Sterke expressie van PD-1 door meer dan 50% van de neoplastische T-cellen werd gevonden bij 24 van de 27 (89%) patiënten met een SS (figuur 1).<sup>6,7</sup> Expressie van PD-1 op meer dan 50% van de in de huid infiltrerende T-cellen werd slechts in vier van de 30 (13%) patiënten met een benigne vorm van erythrodermie waargenomen (tabel 1).<sup>6,7</sup> Opvallend was dat bij deze 4 patiënten voornamelijk dermale en epidermale CD8<sup>+</sup>-T-cellen PD-1 tot expressie brachten, terwijl bij SS de CD4<sup>+</sup>-neoplastische T-cellen PD-1-positief waren.

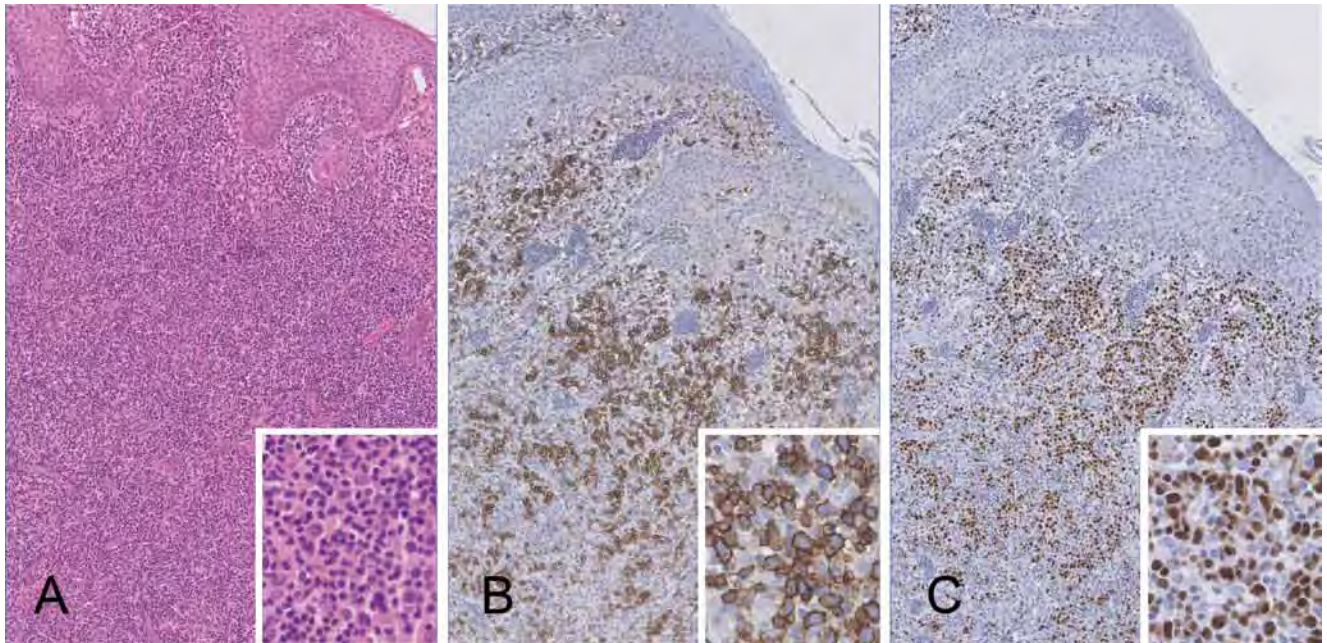
Recent onderzoek op hetzelfde cohort toonde sterke nucleaire TOX-expressie in meer dan 50% van de neoplastische T-cellen in de huidbiopten van 19 van 22 patiënten (86%) met SS (figuur 1).<sup>8,9</sup> In de huidbiopten van 17 patiënten met een benigne vorm van

erythrodermie varieerde het percentage TOX-positieve T-cellen tussen 11% en 50% (mediaan: 25%); expressie van TOX was over het algemeen veel zwakker dan in huidbiopten van patiënten met het SS.<sup>8,9</sup>

#### PD-1 EN TOX-EXPRESSIE IN MF

De resultaten van recente studies naar de frequentie van PD-1-expressie in huidbiopten van MF tonen enorme verschillen met percentages variërend van 10% tot ruim 80%.<sup>10-13</sup> In onze eigen studie bij patiënten met verschillende stadia van MF werd PD-1-expressie door meer dan 50% van de tumorcellen slechts gevonden in 8 van de 60 (13%) huidbiopten, beduidend minder dan bij het SS, waar sterke PD-1-expressie werd gevonden bij ongeveer 90% van de patiënten (tabel 1).<sup>6</sup> De verschillen tussen onze studie en sommige andere studies kan deels worden verklaard door verschillende definities voor PD-1-positiviteit. In onze studie was er pas sprake van positiviteit als meer dan 50% van de neoplastische T-cellen een positieve PD-1-kleuring liet zien, terwijl andere onderzoeksgroepen hun samples al positief beschouwden als 10% of 25% van de neoplastische T-cellen PD-1-positief waren.

Meerdere recente studies beschrijven een sterke TOX-expressie door de CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>-neoplastische T-cellen in huidbiopten van MF.<sup>9,14,15</sup> In onze eigen studie werd sterke expressie van TOX door meer dan 50% van de neoplastische T-cellen gezien in



Figuur 2. Primair cutane CD4<sup>+</sup> klein/middelgrootcellige T-cel-proliferatie. Diffuus dermaal infiltraat met verspreid (middel)grote lymfocyten (A; inset), die sterk aankleuren met antilichamen tegen PD-1 (B) en TOX (C).

huidbiopten van 78% van de patiënten met vroeg stadium van MF (stadium IA-IB) en in 94% van de patiënten met een laat stadium (IIB-IV) van MF.<sup>9</sup> Opvallend was dat niet alleen MF-tumorcellen met een CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>-fenotype, maar ook tumorcellen met een CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> of CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>-fenotype TOX tot expressie brachten. In de controlegroep van in totaal 60 patiënten met een benigne inflammatoire dermatose, waaronder 17 patiënten met een benigne vorm van erythrodermie, werd slechts in één patiënt

met een toxicodermie TOX-expressie in meer dan 50% van de huidinfiltrerende T-cellen gevonden (tabel 1).<sup>9</sup>

**PD-1 EN TOX-EXPRESSIE IN ANDERE TYPEN CTCL**

De resultaten van onderzoek naar de expressie van PD-1 en TOX in andere typen CTCL zijn samengevat in tabel 1. Het meest opvallend was de sterke

Tabel 1. PD-1- en TOX-expressie in verschillende typen cutane T-cellymfomen en benigne inflammatoire dermatosen.

	PD-1-expressie <sup>#</sup>			TOX-expressie <sup>#</sup>		
	<10%	10-50%	>50%	<10%	10-50%	>50%
Mycosis fungoides	48 (80%)	4 (7%)	8 (13%)	3 (5%)	7 (12%)	49 (83%)
▪ Patch-/plaquestadium	24 (80%)	2 (7%)	4 (13%)	2 (5%)	7 (17%)	32 (78%)
▪ Tumorstadium	18 (82%)	1 (4%)	3 (14%)	1 (6%)	0	17 (94%)
▪ Erythrodermische MF	6 (75%)	1 (12%)	1 (12%)	-	-	-
Sézarysyndroom	2 (7%)	1 (4%)	24 (89%)	0	3 (14)	19 (86%)
CTCL overig						
▪ C-ACGL	*	*	0	4 (36%)	1 (9%)	6 (55%)
▪ LyP	*	*	0	1 (9%)	1 (9%)	9 (82%)
▪ PTCL-NNO	*	*	2 (12%)	0	1 (14%)	6 (86%)
▪ PCKM-TCP	0	0	26 (100%)	0	0	15 (100%)
Benigne inflammatoire dermatosen	9 (30%)	17 (57%)	4 (13%)	24 (40%)	35 (58%)	1 (2%)

<sup>#</sup>Het percentage PD-1<sup>+</sup>-en TOX<sup>+</sup>-T-cellen werd gescoord als < 10%, 10-50% of > 50%.  
 CTCL, cutane T-cellymfoom; C-ACL, cutaan anaplastisch grootcellig lymfoom; LyP, lymfomatoide papulose; MF, mycosis fungoides; PCKM-TCP, primair cutane CD4<sup>+</sup> klein/middelgrootcellige T-celproliferatie; PTL-NNO, perifere T-cellymfoom, niet nader omschreven.

\* Alleen meer of minder dan 50% bepaald voor PD-1

expressie van zowel PD-1 als TOX op verspreid voorkomende (middel)grote CD4<sup>+</sup> T-cellen in huidbiopten van patiënten met een primair cutane CD4<sup>+</sup> klein/middelgrootcellige T-celproliferatie (figuur 2).<sup>9,12</sup> Deze aandoening, die voorheen ook wel aangeduid werd met de term cutaan pseudo-T-cellymfoom, presenteert zich doorgaans met een solitaire plaque of tumor op het hoofd of op de romp en heeft bijna zonder uitzondering een gunstig klinisch beloop. Bij het merendeel (≥ 80%) van patiënten met CD30<sup>+</sup>-lymfoproliferatieve aandoening (spectrum lymfomatoïde papulose – primair cutaan grootcellig anaplastisch T-cellymfoom) en bij patiënten met een primair cutaan perifeer T-cellymfoom, niet nader omschreven, werd ook TOX-positiviteit aangetoond, maar de intensiteit van de TOX-expressie was variërend van zwak tot sterk. PD-1-expressie wordt in deze andere typen CTCL zelden gezien.

## CONCLUSIE

De sterke expressie van zowel PD-1 als TOX in huidbiopten van SS vormen een belangrijk diagnostisch hulpmiddel bij het onderscheid tussen SS en benigne vormen van erythrodermie. Bij het onderscheid tussen MF en benigne inflammatoire dermatosen is sterke expressie van TOX bijdragend aan een vroege diagnose van MF. Het karakteristieke aankleuringspatroon van zowel PD-1 als TOX met sterke expressie op verspreid voorkomende (middel)grote CD4<sup>+</sup>T-cellen blijkt in de praktijk een waardevol hulpmiddel bij het stellen van de diagnose primair cutane CD4<sup>+</sup> klein/middelgrootcellige T-celproliferatie.

## LITERATUUR

1. Willemze R, Jaffe E, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005;105:3768-85.
2. Zhang Y, Wang Y, Yu R, et al. Molecular markers of early-stage mycosis fungoides. *J Invest Dermatol*. 2012;132:1698-706.
3. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008;26:677-704.
4. Phillips GK, Atkins M. Therapeutic uses of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies. *Int Immunol* 2015;27:39-46.
5. Samimi S, Benoit B, Evans K, et al. Increased programmed death-1 expression on CD4<sup>+</sup> T cells in cutaneous T-cell lymphoma: implications for immune suppression. *Arch Dermatol* 2010;146:1382-8.
6. Çetinözman F, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Differential expression of programmed death-1 (PD-1) in Sézary syndrome and mycosis fungoides. *Arch Dermatol* 2012;148:1379-85.
7. Çetinözman F, Jansen PM, Willemze R. Expression of programmed death-1 in skin biopsies of benign inflammatory vs. lymphomatous erythroderma. *Br J Dermatol* 2014;171:499-504.
8. Boonk SE, Çetinözman F, Vermeer MH, Jansen PM, Willemze R. Differential expression of TOX by skin-infiltrating T cells in Sézary syndrome and erythrodermic dermatitis. *J Cutan Pathol* 2015;42:604-9.
9. Schrader AM, Jansen PM, Willemze R. TOX expression in cutaneous T-cell lymphomas: an adjunctive diagnostic marker that is not tumour specific and not restricted to the CD4(+) CD8(-) phenotype. *Br J Dermatol* 2016;175:382-6.
10. Wada DA, Wilcox RA, Harrington SM, Kwon ED, Ansell SM, Comfere NI. Programmed death 1 is expressed in cutaneous infiltrates of mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Am J Hematol* 2011;86:325-7.
11. Kantekure K, Yang Y, Raghunath P, et al. Expression Patterns of the Immunosuppressive Proteins PD-1/CD279 and PD-L1/CD274 at Different Stages of Cutaneous T-Cell Lymphoma/Mycosis Fungoides. *Am J Dermatopathol* 2012;34:126-8.
12. Çetinözman F, Jansen PM, Willemze R. Expression of programmed death-1 in primary cutaneous CD4-positive small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma, cutaneous pseudo-T-cell lymphoma, and other types of cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2012;36:109-16.
13. Bosisio FM, Cerroni L. Expression of T-follicular helper markers in sequential biopsies of progressive mycosis fungoides and other primary cutaneous T-cell lymphomas. *Am J Dermatopathol* 2015;37:115-21.
14. Morimura S, Sugaya M, Suga H, et al. TOX expression in different subtypes of cutaneous lymphoma. *Arch Dermatol Res* 2014;306:843-9.
15. Huang Y, Litvinov IV, Wang Y, et al. Thymocyte selection-associated high mobility group box gene (TOX) is aberrantly over-expressed in mycosis fungoides and correlates with poor prognosis. *Oncotarget* 2014;5:4418-25.

## SAMENVATTING

Recente studies tonen aan dat onderzoek naar de expressie van *programmed death-1* (PD-1) en *thymocyte selection-associated high mobility group box protein* (TOX) een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan het vaak moeilijke onderscheid tussen de vroege stadia van mycosis fungoides (MF) en sézarysyndroom (SS) en reactieve huidaandoeningen. Sterke expressie van zowel PD-1 als TOX wordt gevonden in circa 90% van de huidbiopten van patiënten met SS, en slechts bij uitzondering in huidbiopten van patiënten met een benigne (erythrodermatische) dermatose. Sterke expressie van TOX wordt ook gezien in respectievelijk 80% en 94% van de huidbiopten van patiënten met een vroeg of laat stadium

van MF, terwijl PD-1 slechts in een klein deel van de huidbiopten van patiënten met MF tot expressie komt. Onderzoek bij andere typen cutaan T-cellymfoom toonde een sterke expressie van zowel PD-1 als TOX op verspreid voorkomende (middel)grote CD4<sup>+</sup>-T-cellen bij patiënten met een primair cutane CD4<sup>+</sup> klein/middelgrootcellige T-celproliferatie, hetgeen in de praktijk een waardevol hulpmiddel is bij het stellen van deze diagnose.

## TREFWOORDEN

PD-1 – TOX – mycosis fungoides – sézarysyndroom – diagnose – biomarker

## SUMMARY

Recent studies demonstrate that expression of programmed death-1 (PD-1) and thymocyte selection-associated high mobility group box protein (TOX) may be a valuable adjunct in the differentiation between early stages of mycosis fungoides (MF) and Sezary syndrome (SS), and benign inflammatory dermatoses. Strong expression of both PD-1 als TOX is found in about 90% of skin biopsies of patients with SS, and only rarely in skin biopsies of patients with a benign (erythrodermic) dermatosis. Strong expression of TOX is also found in 80% en 94% of skin biopsies of patients with early and advanced stage MF, respectively, while PD-1 expression is found in only

a minority of MF skin biopsies. Studies in other types of cutaneous T-cell lymphoma show a strong expression of both PD-1 and TOX by scattered medium-sized to large CD4+ T-cells in patients with primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell lymphoproliferative disease, which is currently used as a major adjunct in the diagnosis of this condition.

## KEYWORDS

PD-1 – TOX – mycosis fungoides – Sezary syndrome – diagnosis – biomarker

## GEMELDE (FINANCIËLE) BELANGENVERSTRENGELING

Geen