

Dipeptydylowa aminopeptydaza IV (CD26) w codziennej diagnostyce chłoniaków pierwotnie skórnych z komórek T

Dipeptidyl-aminopeptidase IV (CD26) in clinical diagnosis of cutaneous T cell lymphomas

Małgorzata Sokołowska-Wojdyło¹, Agata Maciejewska-Radomska¹, Wioletta Barańska-Rybak¹, Andrzej Lewandowski², Agnieszka Cegielska¹, Jadwiga Roszkiewicz¹

¹Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jadwiga Roszkiewicz

²Klinika Hematologii i Transplantologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Andrzej Helman

Przegl Dermatol 2010, 97, 74–78

STRESZCZENIE

SŁOWA KLUCZOWE:

CD26, dipeptydylowa aminopeptydaza IV, zespół Sezary'ego, *mycosis fungoides*.

KEY WORDS:

CD 26, dipeptidyl-aminopeptidase IV, Sezary syndrome, *mycosis fungoides*.

ADRES DO KORESPONDENCJI:

dr hab. n. med. Małgorzata Sokołowska-Wojdyło
Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Dębinki 7
80-211 Gdańsk
e-mail: mwojd@amg.gda.pl

Wprowadzenie. Dipeptydylowa aminopeptydaza IV, znana również jako antygen CD26, odgrywa istotną rolę w patogenezie pierwotnych skórnych chłoniaków T-komórkowych (ang. *cutaneous T-cell lymphoma* – CTCL). Obecnie uważa się, że utrata tego antygenu z powierzchni limfocytów świadczy o rozwoju zespołu Sezary'ego lub o progresji innych typów CTCL.

Cel pracy. Ocena przydatności utraty z powierzchni limfocytów T antygenu CD26 jako markera diagnostycznego i prognostycznego w chłoniakach skóry oraz w innych chorobach zapalnych, przebiegających z erythrodermią.

Materiał i metodyka. Określenie metodą cytometrii przepływową immunofenotypu krwi obwodowej 71 pacjentów z zespołem Sezary'ego, innymi CTCL oraz zapalnymi dermatozami, które wymagały diagnostyki różnicowej z CTCL. Przeprowadzono ponadto badanie cytologiczne krwi obwodowej w celu wykrycia komórek Lutznera/Sezary'ego.

Wyniki. U pacjentów z zespołem Sezary'ego oraz u chorych będących w wyższych stadiach zaawansowania CTCL potwierdzono obecność znacznego odsetka komórek o fenotypie CD4+/CD7-/CD26-, przy jednoczesnym względnie małym stosunku limfocytów T4 : T8.

Wnioski. Badanie utraty antygenu CD26 metodą cytometrii przepływową okazało się przydatne w diagnostyce różnicowej CTCL, szczególnie w przypadkach rozwijających się z erythrodermią. Metoda pozwala na wczesne wykrycie klonu nowotworowego CD4+/CD7-/CD26- u chorych z zespołem Sezary'ego oraz w innych zaawansowanych CTCL. Utrata antygenu powierzchniowego CD26 w przebiegu dermatoz zapalnych, przy jednoczesnym dużym odsetku komórek Lutznera we krwi, może stanowić czynnik ryzyka rozwoju tych chłoniaków w przyszłości. Wymaga to jednak dalszych obserwacji klinicznych.

ABSTRACT

Introduction. Dipeptidyl-aminopeptidase IV, also known as CD26 antigen, plays a pivotal role in the pathogenesis of cutaneous T-cell lymphomas (CTCL). Nowadays it is believed that the loss of T-cell CD26 expression is a feature of circulating Sezary cells in peripheral blood.

Objective. Evaluation of the loss of T-cell CD26 expression as a diagnostic and prognostic marker in patients with CTCL and erythrodermias caused by other inflammatory dermatoses.

Material and methods. T-cell immunophenotyping by flow cytometry in 71 patients with CTCL, including Sezary syndrome, as well as with inflammatory skin diseases.

Results. High levels of CD4+/CD7-/CD26- cells and concomitant low T4:T8 ratio were seen in patients with Sezary syndrome and highly advanced stages of CTCL.

Conclusions. The loss of CD26 expression evaluated by flow cytometric immunophenotyping seems to be a useful method in dermatological practice for differential diagnosis of cutaneous T-cell lymphomas, especially Sezary syndrome. Probably the loss of T-cell CD26 antigen expression and high levels of Lutzner cells in peripheral blood in patients with inflammatory dermatoses may be a risk factor of CTCL development in future. It requires however further clinical observations.

WPROWADZENIE

Dipeptydylowa aminopeptydaza IV (DPP IV, EC 3.4.14.5) należy do grupy proteaz serynowych. Enzym ten, o masie cząsteczkowej 110–120 kDa, jest przezbłonową glikoproteiną odcinającą dipeptydy Xaa-Pro, a rzadziej także Xaa-Ala z N-końca polipeptydów. Mimo że jest on szeroko rozpowszechniony w nabłonkach i śródbłonkach wszystkich tkanek, jego rola wciąż pozostaje nie do końca znana. Wiadomo, że enzym ten bierze udział m.in. w procesie proliferacji limfocytów T. Nazywany jest także antygenem CD26, którego obecność zidentyfikowano na powierzchni około 50% limfocytów krwi obwodowej. Ekspresję CD26 potwierdzono również w obrębie subpopulacji komórek T pamięci. Obecnie postuluje się, że utrata CD26 z powierzchni limfocytów T świadczy o obecności komórek Sezary'ego we krwi obwodowej, a to z kolei przemawia za rozpoznaniem u chorych zespołu Sezary'ego (ang. *Sezary syndrome* – SS) lub progresją innych typów pierwotnych skórnych chłoniaków T-komórkowych (ang. *cutaneous T-cell lymphoma* – CTCL).

CEL PRACY

Wykazanie przydatności oceny utraty antygeny CD26 z powierzchni limfocytów T jako markera diagnostycznego i prognostycznego w CTCL oraz

innych zapalnych dermatozach skóry przebiegających z erythrodermią.

MATERIAŁ I METODYKA

Metodą cytometrii przepływowej określono immunofenotyp krwi obwodowej u 71 pacjentów z rozpoznaniem lub podejrzeniem CTCL, leczonych w Klinice Dermatologii Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego) od 1 stycznia 2006 roku (od dnia wprowadzenia CD26 do rutynowej diagnostyki) do 31 marca 2008 roku (niekontynuowanie prowadzonych badań wynikało z braku odczynników w GUM). Typowanie przeprowadzono także z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko antygenom linii T: CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, TCRαβ, TCRγδ oraz CD25 (komórki regulatorowe), linii B – CD19 – oraz NK – CD16&56/CD3. Określono odsetkowy skład limfocytów T, B i NK oraz stosunek limfocytów T4 do T8. Przeprowadzono także badanie cytologiczne krwi obwodowej, poszukując komórek limfoidalnych typu Lutznera/Sezary'ego.

WYNIKI

Grupę 6 pacjentów z rozpoznaniem SS charakteryzował duży odsetek limfocytów we krwi obwodowej z utratą antygeny powierzchniowego CD26. Średnia

wartość stosunku komórek T4 : T8 wynosiła 3,5 (tab. I). U chorych na ziarniniaka grzybiastego (*mycosis fungoides* – MF), będących w zaawansowanych stadiach choroby, typowe było zmniejszenie liczby komórek o fenotypie CD4+/CD26+ na korzyść zwiększenia liczby komórek klonu CD4+/CD7-/CD26- oraz pro-

centowego udziału komórek limfoidalnych Lutznera (tab. II).

Duży odsetek limfocytów o fenotypie CD4+/CD7-/CD26- obserwowano także w grupie 33 chorych z innymi niż SS CTCL przy współistniejącym małym stosunku T4 do T8 (tab. III). Analiza krwi

Tabela I. Wyniki immunofenotypizacji oraz badań cytologicznych krwi obwodowej pacjentów z zespołem Sezary'ego
Table I. The results of peripheral blood phenotyping and cytology in patients with Sezary syndrome

| Charakterystyka (zespół Sezary'ego) | CD26+ CD4+ | CD25+ CD4+ | CD4+/CD7-/CD26- WBC | T4 : T8 | Komórki Lutznera | Komórki Sezary'ego |
|-------------------------------------|---------------|---------------|------------------------|---------|------------------|--------------------|
| liczba pacjentów | 6 | | | | | |
| liczba badań | 4 | 4 | 2 | 4 | 3 | 3 |
| wartość minimalna | 6 | 7 | 5,1 | 2 | 6 | 4,5 |
| wartość maksymalna | 89 | 72 | 11,2 | 8 | 25,5 | 23 |
| średnia | 53,25 | 30,75 | 8,15 | 3,50 | 16,50 | 15,83 |
| odchylenie standardowe | 34,54 | 29,33 | 4,31 | 3,00 | 9,84 | 9,93 |
| wariancja | 1192,92 | 860,25 | 18,61 | 9,00 | 96,75 | 98,58 |

Tabela II. Wyniki immunofenotypizacji oraz badań cytologicznych krwi obwodowej pacjentów z ziarniniakiem grzybiastym w różnych stopniach zaawansowania choroby

Table II. The results of peripheral blood phenotyping and cytology in advanced stages of mycosis fungoides

| Stadium (CTCL MF) | CD26+ CD4+ | CD26+ CD4+ | CD4+/CD7-/CD26 CD4+ | T4 : T8 | Komórki Lutznera |
|-------------------|---------------|---------------|------------------------|--------------|------------------|
| II | 78,5 (89) | ↓ | 10,82 (38,3) | 2,15 (12,49) | 2 (3) |
| III | 70,44 (84) | | 7,5 (16,4) | 1,98 (4) | 9 (19) |
| IV | 45,67 (74) | | 27,15 (49,4) | 6,17 (10) | 20 |

Tabela III. Wyniki immunofenotypizacji oraz badań cytologicznych krwi obwodowej pacjentów z chłoniakami skóry nie-SS (nie-zespół Sezary'ego)

Table III. The results of peripheral blood phenotyping and cytology in patients with non-SS (non-Sezary syndrome)

| Charakterystyka (CTCL nie-SS) | CD26+ CD4+ | CD4+/CD7-/CD26- WBC | CD4+/CD7-/D26- WBC | T4 : T8 | Komórki Lutznera | Komórki Sezary'ego |
|-------------------------------|---------------|------------------------|-----------------------|---------|------------------|--------------------|
| liczba osób | 33 | | | | | |
| liczba badań | 24 | 17 | 18 | 24 | 6 | 3 |
| wartość minimalna | 21 | 0,03 | 0,39 | 0,33 | 1 | 4 |
| wartość maksymalna | 89 | 38,9 | 49,4 | 10 | 20 | 7 |
| średnia | 71,38 | 5,84 | 11,16 | 2,58 | 8,50 | 5,63 |
| odchylenie standardowe | 19,15 | 10,30 | 12,98 | 2,00 | 8,63 | 1,52 |
| wariancja | 366,77 | 106,04 | 168,54 | 3,98 | 74,30 | 2,30 |

Tabela IV. Wyniki immunofenotypizacji oraz badań cytologicznych krwi obwodowej pacjentów z zapalnymi chorobami skóry – różnicowanie z CTCL

Table IV. The results of peripheral blood phenotyping and cytology in inflammatory dermatoses mimicking CTCL

| Choroby zapalne skóry | CD26+ CD4+ | CD4+/CD7-/CD26- WBC | CD4+/CD7-/CD26- CD4+ | T4 : T8 | Komórki Lutznera |
|------------------------|---------------|------------------------|-------------------------|---------|------------------|
| liczba osób | 32 | | | | |
| liczba badań | 23 | 11 | 10 | 23 | 6 |
| wartość minimalna | 43 | 0,2 | 3,42 | 0,67 | 2 |
| wartość maksymalna | 94 | 11 | 54 | 5 | 32 |
| średnia | 76,87 | 2,10 | 15,59 | 2,42 | 8,50 |
| odchylenie standardowe | 11,20 | 3,06 | 14,55 | 1,26 | 11,73 |
| wariancja | 125,48 | 9,37 | 211,62 | 1,60 | 137,50 |

32 chorych z zapalnymi dermatozami, które różnicowano z CTCL, wykazała, że utrata antygenu CD26 z powierzchni limfocytów T4 może występować także w przebiegu innych niż CTCL chorób skóry (tab. IV). Nakazuje to wnikliwą obserwację, ponieważ u 2 pacjentów pierwotnie leczonych z powodu *actinic reticuloid* oraz atopowego zapalenia skóry, u których potwierdzono obecność komórek o fenotypie CD4+/CD7-/CD26-, a także stwierdzono duży odsetek komórek Lutznera we krwi, po wielu miesiącach obserwacji doszło do rozwoju MF, najczęściej występującego CTCL.

OMÓWIENIE I WNIOSKI

Dotychczas nie ma jednoznacznego, łatwego w zastosowaniu w codziennej pracy klinicysty, markera obecności klonu nowotworowych komórek T we krwi u chorych na CTCL. Dotychczas w diagnostyce różnicowej zespołu Sezary'ego, postaci erythrodermicznych chłoniaków oraz chorób zapalnych skóry wykorzystywano m.in. receptory chemokin CCR4, CCR7 i CCR10. Metoda ta nie znalazła jednak powszechnego uznania, głównie ze względu na jej czasochłonność oraz wysokie koszty analiz. Pozostaje więc domeną laboratoriów naukowych [1-3].

Podjęto również wiele prób badania utraty antygenu CD7 i CD26 jako markerów diagnostycznych w CTCL [3-8]. Sokołowska-Wojdyło i wsp. [9] badali w grupie 16 chorych udział limfocytów CD4+/CLA+/CCR4, CD4+/CLA+/CD7- oraz CD4+/CLA+/CD26- w patogenezie SS i innych CTCL, a także w zapalnych dermatozach, takich jak łuszczyca, atopowe zapalenie skóry czy *actinic reticuloid*. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że utrata antygenu powierzchniowego CD7 z komórek o fenotypie CD4+/CLA+ we krwi obwodowej jest metodą przydatną w rutynowej diagnostyce CTCL, niemniej jej czułość (74%) stanowi pewne ograniczenie, natomiast analiza utraty antygenu powierzchniowego CD26, ze względu na jej czułość (100%), wydaje się bardziej użyteczna w diagnostyce pacjentów z SS [9].

Wyniki prezentowanych obecnie badań oparto na reprezentatywnej grupie chorych (71 pacjentów). Potwierdzają one wykazaną w poprzednim doniesieniu [9] przydatność w codziennej praktyce klinicznej identyfikacji metodą cytometrii przepływową komórek o fenotypie CD4+/CD7-/CD26- we krwi pacjentów z SS oraz pacjentów będących w zaawansowanym stadium innych niż SS typów CTCL. Jednocześnie metoda stosowana w praktyce ułatwia proces diagnostyczny i obniża koszt badania – nie wymaga zastosowania analizy CCR4 i CLA. Okazuje się, że stwierdzenie klonu nowotworowego

(CD4+/CD7-/CD26-) jest możliwe już przy małym (< 10) stosunku T4 do T8. Stanowi to o dużej wartości diagnostycznej metody. Szczególnie przydatna może się ona okazać w ocenie choroby resztkowej.

Uzyskane wyniki wskazują na możliwość występowania klonu komórek o fenotypie CD4+/CD7-/CD26- we krwi obwodowej u części osób z zapalnymi chorobami skóry. Jednocześnie należy rozważyć prawdopodobieństwo rozwoju w przyszłości u tych pacjentów CTCL. Potwierdzają to dwa obserwowane przez autorów niniejszej pracy przypadki (AZS i *actinic reticuloid*), na podłożu których doszło po latach do rozwoju CTCL. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można wnioskować, że pacjentów z dużym odsetkiem komórek Lutznera i/lub limfocytów o fenotypie CD4+/CD7-/CD26- należy uznać za chorych z grupy ryzyka. Ostateczne wnioskowanie w tym zakresie wymaga dalszych obserwacji klinicznych.

Ostatnio rozważana jest także rola ekspresji KIR3DL2/CD158K [10] oraz współekspresji tego antygenu z wimentyną na komórkach nowotworowych we krwi chorych z SS [11] jako metod skринin-gowych w CTCL.

Odkrycie czułego i specyficznego markera skринin-gowego, jakim jest CD26 w CTCL, z pewnością stanie się ważnym elementem w trudnym, często obciążonym niepowodzeniami procesie diagnostyczno-terapeutycznym w grupie chorych podejrzanych o to schorzenie. Pozwoli ponadto na szybsze i bardziej precyzyjne ustalenie rozpoznania (szczególnie w przypadkach wątpliwych), prawdopodobnie ułatwi także podejmowanie decyzji terapeutycznych, umożliwi ocenę choroby resztkowej oraz pozwoli na monitorowanie choroby po zakończonym leczeniu.

Piśmiennictwo

1. Kamarashev J., Burg G., Kempf W., Hess Schmid M., Dummer R.: Comparative analysis of histological and immunohistological features in mycosis fungoides and Sezary syndrome. *J Cutan Pathol* 1998, 25, 407-412.
2. Sokołowska-Wojdyło M., Roszkiewicz J.: Rola chemokin i ich receptorów w chłoniakach T-komórkowych pierwotnie wywodzących się ze skóry. *Przegl Dermatol* 2004, 91, 509-515.
3. Reinhold U., Abken H., Kukel S., Moll M., Müller R., Oltermann I. i inni: CD7- T cells represent a subset of normal human blood lymphocytes. *J Immunol* 1993, 150, 2081-2089.
4. Washington L.T., Huh Y.O., Powers L.C., Duvic M., Jones D.: A stable aberrant immunophenotype characterizes nearly all cases of cutaneous T-cell lymphoma in blood and can be used to monitor response to therapy. *BMC Clin Pathol* 2002, 2, 5.
5. Jones D., Dang N.H., Duvic M., Washington L.T., Huh Y.O.: Absence of CD26 expression is a useful marker for diagnosis of T-cell lymphoma in peripheral blood. *Am J Clin Pathol* 2001, 115, 885-892.

6. **Bernengo M.G., Novelli M., Quaglino P., Lisa F., De Matteis A., Savoia P. i inni:** The relevance of the CD4+CD26+ subset in the identification of circulating Sezary cells. *Br J Dermatol* 2001, 144, 125-135.
7. **Kari L., Loboda A., Nebozhyn M., Rook A.H., Vonderheid E.C., Nichols C. i inni:** Classification and prediction of survival in patients with the leukemic phase of cutaneous T-cell lymphoma. *J Exp Med* 2003, 197, 1477-1488.
8. **Vonderheid E.C.:** On the diagnosis of erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma. *J Cutan Pathol* 2006, 33, 27-42.
9. **Sokolowska-Wojdyło M., Wenzel J., Gaffal E., Steitz J., Roszkiewicz J., Bieber T. i inni:** Absence of CD26 expression on skin-homing CLA+ CD4+ T lymphocytes in peripheral blood is a highly sensitive marker for early diagnosis and therapeutic monitoring of patients with Sezary syndrome. *Clin Exp Dermatol* 2005, 30, 702-706.
10. **Wechsler J., Courville P., Ortonne N., Petrella T., Vergier B.:** Primary cutaneous lymphomas. *Ann Pathol* 2007, 27, 284-309.
11. **Huet D., Bagot M., Loyaux D., Capdevielle J., Conraux L., Ferrara P. i inni:** SC5 mAb represents a unique tool for the detection of extracellular vimentin as a specific marker of Sezary cells. *J Immunol* 2006, 176, 652-659.

Otrzymano: 25 I 2010 r.

Zaakceptowano: 22 II 2010 r.