E. Dippel¹
C.-D. Klemke²
N. Pönitz²
J. Utikal²
H. Kurzen²
S. Goerdts²

Von der Morphologie zur Molekularbiologie: Entwicklungen der Dermatohistopathologie am Beispiel des kutanen T-Zell-Lymphoms

From Morphology to Molecular Biology: Developments in Dermatohistopathology in the Diagnosis of Cutaneous T-Cell Lymphoma

Zusammenfassung

Zu Beginn des 19. Jahrhunderts stand die klinische Beschreibung einzelner Patienten mit kutanen Lymphomen im Vordergrund. Basierend auf diesen klinischen Beschreibungen und der morphologischen histopathologischen Untersuchung der „2. Dimension“ der Haut konnten in der Folgezeit verschiedene Unterformen der kutanen Lymphome herausgearbeitet werden. Im Rahmen von Konsensuskonferenzen wurden dann Ende der 70er-Jahre des 20. Jahrhunderts basierend auf der morphologischen Beschreibung klinische und histologische Kriterien für die Diagnose erarbeitet und der übergeordnete Begriff des kutanen T-Zell-Lymphoms (CTCL) definiert. Schließlich konnte am Ende des 20. Jahrhunderts mit Hilfe der immunhistologischen Marker eine genaue Klassifikation der CTCL im Rahmen der EORTC und WHO vorgenommen werden. Die neuen Erkenntnisse der Molekularbiologie (TCR-Rearrangement) des ausgehenden 20. Jahrhunderts erhöhen die diagnostische Sicherheit bei dieser Erkrankung. Mit Hilfe neuer Erkenntnisse zur „genetischen Morphologie“ der CTCL (Molekulare Genetik, Mikroarray-Technologie) wird es in naher Zukunft möglich sein, die Diagnostik, Prognostik und Therapie dieser Hauterkrankung weiter zu verbessern.

Abstract

In the beginning of the 19. century the first case reports of patients with cutaneous lymphomas were dominated by a detailed description of the clinical picture. Based on these clinical descriptions and the morphological dermatohistopathological examination of the „2. dimension“ of the skin different subgroups of cutaneous lymphomas could be identified. In the late 70s of the 20. century diagnostic criteria were defined based on the morphological description of the clinical and histological features and the general term „cutaneous T-cell lymphoma“ (CTCL) was established. Finally, with the help of newly introduced immunohistochemical markers a classification of CTCL was worked out by the EORTC and the WHO at the end of the 20. century. Molecular biology (TCR-Rearrangement) offers new insights into CTCL and increases the diagnostic safety especially of early-stage CTCL cases. In the future it will be possible to further improve the diagnosis, prognosis and therapy of CTCL by new discoveries regarding the „genetic morphology“ (molecular genetics, microarray-technology) of this skin disease.

Einführung

Primäre kutane T-Zell-Lymphome (CTCL) repräsentieren ein Spektrum von T-Zell-Neoplasien, die ihren Ursprung im Hautorgan haben und sich im Verlauf der Erkrankung in die Lymphkno-

ten, das periphere Blut und die viszerale Organe ausdehnen können. Die Erkrankung tritt weltweit und vermehrt beim männlichen Geschlecht auf. Epidemiologische Daten liegen nur unvollständig vor, da es z.B. in Deutschland bis zur Einrichtung des Zentralregisters „Kutane Lymphome“ der Deutschen Derma-

Institutsangaben

¹ Dermatologische Klinik, Klinikum Lippe-Lemgo, Akademisches Lehrkrankenhaus der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Lemgo

² Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universitätsklinikum Mannheim, Ruprecht-Karls Universität Heidelberg, Mannheim

Korrespondenzadresse

Dr. Claus-Detlev Klemke · Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universitätsklinikum Mannheim · Theodor-Kutzer-Ufer 1–3 · 68135 Mannheim · E-mail: claus-detlev.klemke@haut.ma.uni-heidelberg.de

Bibliografie

Akt Dermatol 2004; 30: 99–108 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York · DOI 10.1055/s-2004-826131 · ISSN 0340-2541

tologischen Gesellschaft (www.zrkl.de) keine systematische Erfassung der Erkrankung gab. Für die USA wird die Inzidenz mit 0,29 Fällen pro 100 000 Einwohnern mit einem mittleren Erstmanifestationsalter von 61 Jahren angegeben [1]. Die Hauptvertreter der CTCL sind die Mykosis fungoides (MF) und das Sézary-Syndrom als die leukämische Verlaufsform, die zusammen einen Anteil von ungefähr 70% ausmachen. Phänotypisch sind die Tumorzellen in der überwiegenden Zahl der Fälle CD4+ T-Helferlymphozyten. Über die letzten Dekaden fanden immer mehr monoklonale Antikörper Eingang in die Routine-Histologie, mit deren Hilfe diverse CTCL-Subtypen abzugrenzen waren. Den unterschiedlichen klinischen Bildern, histologischen Erscheinungsformen, Immunphänotypen und Prognosen innerhalb des Spektrums der CTCL wurde in der 1997 erstellten EORTC-Klassifikation der kutanen Lymphome Rechnung getragen (Tab.1) [2]. Im Folgenden möchten wir die historische Entwicklung von der rein morphologisch beschreibenden bis zur heute praktizierten molekularen Diagnostik der CTCL darstellen.

Tab. 1 EORTC-Klassifikation der kutanen Lymphome [2]

Kutane T-Zell-Lymphome	Kutane B-Zell-Lymphome
<i>Indolent</i>	<i>Indolent</i>
Mykosis fungoides (MF)	Keimzentrumlymphom
MF + Muzinosis follicularis	Immunozytom (Marginalzonen-B-Zell-Lymphom)
Pagetoide Retikuloze	
Großzelliges T-Zell-Lymphom, CD30+ (anaplastisch, immunoblastisch, pleomorph)	
Lymphomatoide Papulose	
<i>Aggressiv</i>	<i>Intermediär</i>
Sézary-Syndrom	Großzelliges B-Zell-Lymphom des Unterschenkels
Großzelliges T-Zell-Lymphom, CD30- (immunoblastisch, pleomorph)	
<i>Provisorisch</i>	<i>Provisorisch</i>
Granulomatous slack skin	Plasmozytom
Pleomorphes T-Zell-Lymphom (klein-mittelgroßzellig)	Intravaskuläres B-Zell-Lymphom
Subkutaner Pannikulitis-ähnliches T-Zell-Lymphom	

Historie

Die erste klinisch morphologische Beschreibung eines kutanen Lymphoms erfolgt 1806 durch den Franzosen Alibert. Er berichtete über einen 56-jährigen Mann, der im Verlauf eines seit vielen Monaten bestehenden bräunlich schuppigen Hautausschlags an mehreren Körperstellen kleine an Pilze erinnernde Tumoren entwickelte [3]. Diese bezeichnete er zunächst als „pian fungoides“ und prägte dann 1835 den Begriff „Mykosis fungoides“ für diese Erkrankung unter dem Eindruck der beobachteten Hauttumoren [4]. 36 Jahre später wurden von Bazin die 3 klassischen Stadien der MF beschrieben: Patch-, Plaque- und Tumor-Stadium [5]. 1885 wurde von Vidal und Brocq das plötzliche Aufschließen von Tumoren ohne lange vorbestehende Hautveränderungen unter dem Namen „Mycosis fungoides d'emblée“ veröffentlicht [6]. Einige Jahre später beschrieben Besnier und Hallopeau die erythrodermische Variante der MF [7]. Sézary und Bouvain berichteten 1938 über den Fall einer Erythrodermie assoziiert mit abnormalen mononukleären Zellen, die in der Haut und im Blut koexistierten [8,9]. Noch im gleichen Jahr

erschien die Veröffentlichung eines weiteren Patienten mit dem gleichen Phänomen [10]. In den 50er-Jahren war das Sézary-Syndrom bereits eine gut anerkannte Erkrankung [11,12]. Zur damaligen Zeit herrschte die Überzeugung vor, dass die großen eingekerbten Zellkerne der Sézary-Zellen durch eine nukleäre und somit nicht zytoplasmatische Zellteilung entstehen [13]. In der gleichen Arbeit wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Sézary-Zelle möglicherweise lymphoretikulärem Ursprungs ist. Später beschrieben dann Taswell und Winkelmann die lymphozytoiden Eigenschaften der Sézary-Zelle [14]. Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie konnte in der Folgezeit die stark gekerbte Zellkernstruktur beim Sézary-Syndrom beschrieben werden (s.u.) [15]. Basierend auf diesen Arbeiten von Lutzner und Jordan werden die Zellen des Sézary-Syndroms auch als Lutzner-Zellen bezeichnet. Durch die weitere Erforschung der MF und des Sézary-Syndroms stellte sich zunehmend die Erkenntnis ein, dass beide Erkrankungen zu einem breiten Spektrum von T-Zell-Neoplasien gehören. Lutzner und Mitarbeiter schlugen vor, diese Erkrankungsgruppe unter dem Begriff „Kutanes T-Zell-Lymphom (CTCL)“ zusammenzufassen [16]. Im Rahmen eines 1979 veranstalteten Workshops fand der Begriff CTCL seine allgemeine Anerkennung [17]. Auf der gleichen Veranstaltung wurde auch die heute noch gebräuchliche TNM-Klassifikation und klinische Stadieneinteilung für die MF und das Sézary-Syndrom erarbeitet (Tab. 2) [18].

Tab. 2 TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung der Mykosis fungoides und des Sézary-Syndroms [18]

Stadium	TNM	Klinische Krankheitsausdehnung
IA	T1N0M0	Hautbeteiligung < 10% KO
IB	T2N0M0	Hautbeteiligung > 10% KO
IIA	T1/2N1M0	IA/IB + tastbare Lymphknoten
IIB	T3N0/1M0	Hauttumoren
III	T4N0/1M0	Erythrodermie
IVA	T1-4N2/3M0	Lymphknotenbeteiligung
IVB	T1-4N0-3M1	Organbeteiligung

Blutbefall: Bei mehr als 1000 atypischen Zellen/mm³ Blut wird dem Stadium ein „B“ angehängt.
T = Tumorstadium, N = Lymphknotenstatus, M = Fernmetastasierung, KO = Körperoberfläche.

Histologie

Neben der genauen Beschreibung der klinischen Erscheinungsformen spielt insbesondere die Erfassung der „2. Dimension der Erkrankung“ mit Hilfe der Histopathologie eine wesentliche Rolle für die Diagnosestellung beim CTCL. Der folgende Abschnitt beschränkt sich im Wesentlichen auf die histologischen Kriterien der klassischen Formen des CTCLs: MF und Sézary-Syndrom. Die selteneren Formen der CTCL werden vor allem auf der Basis der besonderen immunhistologischen Merkmale differenziert, die im nachfolgenden Abschnitt „Immunhistologie“ näher erläutert werden. Klinisch wird die MF in die 3 Stadien Patch-, Plaque- und Tumor-Stadium eingeteilt, die in der Regel mit bestimmten histologischen Kriterien korrelieren. Allerdings ist in einigen Fällen in der klinisch-histologischen Zusammenschau der Befunde keine klare Differenzierung möglich, da es bis heute keinen ein-

heitlichen Konsens über minimale diagnostische Kriterien für die Histologie der MF gibt [19].

Besonders im *Patch-Stadium* der MF ist die Diagnose schwierig zu stellen, da die histologischen Veränderungen häufig nur sehr gering sind und sich zudem eine Überlappung mit entzündlichen Hautkrankheiten zeigt. Hier ist insbesondere die Abgrenzung von der Parapsoriasis en plaque schwierig. Diese Problematik spiegelte sich in einer wissenschaftlichen Auseinandersetzung zwischen Ackerman et al., die die Parapsoriasis en plaque bereits als eine frühe Form der MF definieren [20], und Burg et al., die eine klare Unterscheidung zwischen den Entitäten vornehmen, wieder [21]. Aufgrund der unterschiedlichen histologischen Kriterien zeigen sich insbesondere bei den Frühformen der MF starke Schwankungen in der Interpretation der Histologie nicht nur bei der Beurteilung des Gewebeschnitts durch verschiedene Untersucher, sondern auch bei einer neuerlichen Evaluation der Histologie durch den gleichen Untersucher [22–24].

Die Arbeit von Glusac und Mitarbeitern stellt einen gelungenen Versuch dar, die histologischen Kriterien der MF zu beschreiben und in ihrer diagnostischen Aussagekraft zu bewerten [25]. Die ersten histologischen Veränderungen der MF sind spärliche perivaskuläre lymphozytäre Zellinfiltrate und ein dezenter Epidermotropismus unter Bevorzugung des Stratum basale. Die epidermalen Lymphozyten erscheinen in der Regel größer und atypischer als die dermalen und sind häufig von einem hellen Hof umgeben. Diagnostische Pautriersche Mikroabszesse, d. h. kleine Ansammlungen vom Lymphozyten in der Epidermis, finden sich in den frühen Stadien in weniger als 10% der Fälle [26]. In der Epidermis sind ein dezenter spongiotischer Umbau, das Einwandern von Langerhans-Zellen und eine leichte Verdickung des Stratum granulosum zu beobachten. Abschnittsweise sind parakeratotische Veränderungen zu finden. Mit weiterer Progredienz zeigen sich zunehmend entzündliche Veränderungen im Sinne einer perivaskulären Dermatitis. Insgesamt entsprechen die frühen Veränderungen am ehesten einem lichenoiden bzw. psoriasisiformen Bild [27]. In seltenen Fällen sieht man ein spongiotisches Muster, bei dem die Ratio Lymphozyten zu Spongiose in der Regel höher ist als bei der spongiotischen Dermatitis. Ein weiterer diagnostischer Hinweis ist eine eher kompakte als korbgeflechtartige Epidermis. In der Regel wechseln sich runde, hyperplastische Reteleisten mit abgeflachten Reteleisten ebenso wie atrophische und akanthotische Foci ab. Lymphozytäre Atypien zeigen sich erst vermehrt in den weiter fortgeschrittenen Stadien der MF. Ebenso wenig gelingt der Nachweis von Mitosen. In einer multivariaten Analyse von 64 MF-Patienten im Patch-Stadium wurde als wichtigstes diagnostisches Merkmal der frühen MF die von einem hellen Hof umgebenen intraepidermalen Lymphozyten ausgemacht [28].

Im *Plaque-Stadium* findet der Untersucher meistens die klassischen histologischen Veränderungen der MF. Die Epidermis zeigt eine psoriasiforme Hyperplasie, ist normal oder atrophisch. Es kommt ein ausgeprägter Epidermotropismus atypischer Lymphozyten zur Darstellung, die im Bereich der dermoepidermalen Junktionszone am dichtesten liegen (Abb. 1). Typisch sind perinukleäre Höfe. Pautriersche Mikroabszesse finden sich allerdings auch im Plaque-Stadium nur selten. In der Dermis ist ein bandförmiges Infiltrat lymphomononukleärer Zellen zu sehen, wel-

Abb. 1 H&E-Histologie eines Plaques eines Patienten mit Mykosis fungoides im Stadium Ib. In der oberen Dermis zeigt sich ein bandförmiges Infiltrat lymphozytärer Zellen (Übersicht) mit einem abschnittsweise sichtbaren Epidermotropismus einzelner Lymphozyten (Detailaufnahme).

ches in der Regel eine unbefallene Grenzzone zur Epidermis ausbildet. Aufgrund der Chronizität der Hautveränderungen ist die papilläre Dermis meist fibrotisch. Eine besondere Gruppe stellen *vorbehandelte Patienten* dar. Hier zeigen sich abweichende Histologien. Auffällig im Vergleich zu unbehandelten Patienten sind dichtere lymphozytäre Infiltrate, prominentere Kernatypien, ausgeprägtere Fibrose, eine größere Anzahl von Melanophagen und vermehrt spongiotische Veränderungen.

Im *Tumor-Stadium* der MF gehen die typischen histologischen Kriterien des Plaque-Stadiums meistens verloren. Insbesondere findet sich häufig keine Infiltration der Epidermis und der Epithelien der Adnexstrukturen mehr. Die neoplastischen Lymphozyten füllen die gesamte Dermis aus und infiltrieren zunehmend das subkutane Fettgewebe. Die einzelnen Zellen sind groß mit vesikulären Kernen und mehreren prominenten Nukleoli. Mitosen sind häufig und atypisch. Wichtige Differenzialdiagnosen stellen andere Lymphome, insbesondere das anaplastische großzellige Lymphom dar [29].

Neben der klassischen MF werden noch zahlreiche seltenere Varianten durch ihr klinisches und histologisches Bild abgegrenzt. Hierzu zählen die MF D'emblee, die der Muzinosis follicularis ähnliche MF, die folliculäre [30], granulomatöse, poikilodermatische und hypopigmentierte Form sowie die Pagetoide Retikulo-se. Auf diese Sonderformen möchten wir in dieser Arbeit nicht näher eingehen.

Ein besonderes diagnostisches Problem stellt die histologische Diagnostik der *erythrodermischen MF* dar, weil die klassischen feingeweblichen Kriterien der MF häufig nicht zu identifizieren sind. Insgesamt gibt es nur sehr wenige Publikationen zu den histologischen Kriterien der erythrodermischen MF. Im Vergleich zum Patch- und Plaque-Stadium der MF zeigen die erythrodermischen Hautläsionen eine ausgeprägtere Akanthose, Parakeratose, mehr dermale hyperkonvolute Lymphozyten, eine verstärkte dermale Fibrose und vermehrt vaskuläre Ektasien [31]. Die Anzahl der Lymphozyten im Stratum basale ist deutlich geringer. Daneben zeigte sich ein Trend zu einem geringeren Epidermotropismus und einer vermehrten Spongiose. In der vorgenannten Studie wurden sowohl Patienten mit erythrodermischer MF als auch mit Sézary-Syndrom untersucht, die sich histologisch nicht unterschieden.

Das *Sézary-Syndrom* ist charakterisiert durch eine Erythrodermie, Pruritus, Lymphadenopathie und zirkulierende atypische T-Zellen mit zerebriformen Kernen. Zur Abgrenzung von anderen Erkrankungen mit einer Erythrodermie wird zusätzlich der Nachweis einer klonalen T-Zell-Population im peripheren Blut gefordert. Trotter und Mitarbeiter erarbeiteten an 41 Sézary-Patienten mit einem nachgewiesenen zirkulierenden T-Zell-Klon histologische Kriterien [32]. In 23 % der 79 Hautbiopsate kamen ein dermales bandförmiges Infiltrat lymphomononukleärer Zellen und nur bei 38 % typische MF-artige Veränderungen zur Darstellung. Ein Drittel der Biopsien zeigten unspezifische Veränderungen im Sinne einer chronisch unspezifischen Dermatitis und bei $\frac{1}{4}$ fanden sich histologisch überhaupt keine Hinweise auf ein CTCL. Aufgrund der insgesamt unspezifischen histologischen Veränderungen werden für das Sézary-Syndrom weitere diagnostische Kriterien benötigt. Hämatologische Diagnosekriterien wurden kürzlich von der International Society for Cutaneous Lymphomas vorgelegt: Eines oder mehrere der folgenden Kriterien sind für die Diagnosestellung erforderlich: Absolute Zahl der Sézary-Zellen im peripheren Blut ≥ 1000 Zellen/mm³, CD4/CD8 ratio ≥ 10 , Lymphozytose mit dem gleichzeitigen Nachweis eines zirkulierenden T-Zell-Klons (mittels Southern Blot oder PCR) oder Nachweis eines chromosomal abnormen T-Zell-Klons [33].

Neben dem hämatologischen Kompartiment kann auch das *lymphatische System* von der MF bzw. dem Sézary-Syndrom infiltriert werden. Die genaue Kenntnis der Lymphomausdehnung ist entscheidend für die Prognose und die Therapie des Patienten. Zur Beurteilung eines möglichen Lymphknotenbefalls eignen sich an erster Stelle die Histopathologie/Immunhistologie und ergänzend molekularbiologische Methoden wie das TCR-Rearrangement (s. u.). Durch eine histologische Aufarbeitung eines klinisch vergrößert tastbaren Lymphknotens eines CTCL-Patienten ist die Unterscheidung zwischen einer dermatopathischen und einer spezifischen durch eine CTCL-Infiltration bedingten Vergrößerung möglich. Von Matthews und Gazdar wurde ein

Gradingssystem vorgeschlagen basierend auf der Anzahl zytologisch atypischer Zellen in den parakortikalen T-Zell-Arealen des Lymphknotens [34]. Folgende Typen von Lymphozyten wurden als atypisch definiert: a. kleine (6–10 µm) oder große (> 11,5 µm) Zellen mit irregulär gefalteten, hyperchromatischen, zerebriformen Kernen, b. immunoblastische oder transformierte lymphoide Zellen mit basophilem bzw. klarem Zytoplasma und großen Zellkernen sowie prominenten Nukleoli und c. große Zellen mit multiplen oder multilobulären Kernen, die an beim M. Hodgkin zu findende Reed-Sternberg-Zellen erinnern. Basierend auf diesen zytologischen Kriterien entwickelten Sausville und Mitarbeiter eine Lymphknotenklassifikation für eine lymphatische CTCL-Infiltration [35]. Vier verschiedene Lymphknotenstadien konnten herausgearbeitet werden: 1. Einzelne wenige atypische Zellen, 2. kleine Nester (< 10 Zellen), 3. große Nester (> 10 Zellen) atypischer Zellen vermischt mit großen immunoblastischen Zellen in der parakortikalen Zone und 4. partielle bzw. vollständige Zerstörung der Lymphknotenarchitektur durch das Tumorzellinfiltrat. Insgesamt zeigte sich eine gute Reproduzierbarkeit der entwickelten Lymphknotenklassifikation. Das jeweilige Stadium korreliert sowohl mit der Ausdehnung der Erkrankung als auch mit dem Überleben der untersuchten Patienten. Diese Daten unterstreichen die Notwendigkeit einer histologischen Evaluation einer klinisch diagnostizierten Lymphadenopathie bei Patienten mit einem CTCL.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass die seit Jahrzehnten praktizierte klinisch-histologische Korrelation nach wie vor der Goldstandard für die Diagnosestellung der MF ist. Allerdings gewinnen molekularbiologische Methoden und genetische Untersuchungen eine zunehmende Bedeutung für die Routine-Diagnostik und Prognose der CTCL (s. u.).

Immunhistologie

Neben der histologischen Beurteilung nimmt die immunphänotypische Charakterisierung des lymphozytären Infiltrates mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern eine zentrale Stellung in der Diagnostik der CTCL ein. Die verschiedenen Lymphozytenpopulationen innerhalb des Tumordinfiltrats können durch die Bestimmung der Oberflächenmoleküle unterschieden und definiert werden. Allerdings gelang es bis heute nicht, einen für das CTCL diagnostischen Oberflächenmarker zu identifizieren, um eine Lymphomzelle sicher von einem reaktiven Lymphozyten abgrenzen zu können.

Seit der Einführung des Verfahrens zur Herstellung monoklonaler Antikörper hat die immunologische Charakterisierung lymphoider Zellinfiltrate große Fortschritte gemacht [26]. Monoklonale Antikörper bieten den Vorteil, eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion einzugehen und somit die Aussagekraft der Färbung zu erhöhen. Zunächst erfolgte der Nachweis mit monoklonalen Antikörpern in Gefrierschnitten, heute stehen zunehmend auch monoklonale Antikörper gegen Leukozytenantigene für die Darstellung am Paraffinschnitt zur Verfügung. Beim Paraffinmaterial sind gegenüber dem Gefriermaterial die Zell- und Gewebsmorphologien besser erhalten, was sich als Vorteil bei der histologischen Begutachtung der Färbeargebnisse erweist [37]. Außerdem können mit Paraffinmaterial aufgrund der bes-

seren Möglichkeit der Aufbewahrung des Materials auch retrospektive Analysen durchgeführt werden.

In den letzten drei Dekaden konnten durch die Darstellung definierter Antigene mittels systematischer immunhistologischer Untersuchungen viele neue Erkenntnisse in Bezug auf eine differenzierte Klassifikation der CTCL gewonnen werden. Seitdem ist die Immunphänotypisierung des lymphozytären Infiltrates ein wichtiger Bestandteil der Standarddiagnostik der kutanen Lymphome geworden. 1997 wurde die EORTC-Klassifikation zur Einordnung in Lymphomentitäten, die mittels klinischer, histologischer und immunphänotypischer Eigenschaften definiert sind, entwickelt [2]. Zum Beispiel ist die Diagnose eines CD30+ großzelligen kutanen T-Zell-Lymphoms erst durch die Immunhistologie möglich. Durch zunehmende Fortschritte in der Immunphänotypisierung sind weitere differenziertere Klassifikationen der Lymphome zu erwarten. So konnte zum Beispiel die heterogene Gruppe der zytotoxischen Lymphome noch nicht abschließend klassifiziert werden. Hierzu gehören Lymphome, die Marker zytotoxischer Zellen wie CD8 (zytotoxische T-Zellen), CD56 (NK-Zellen) oder Proteine zytotoxischer Granula wie z. B. TIA-1 exprimieren [38]. Als Standard werden in der Diagnostik der kutanen T-Zell-Lymphome Antikörper gegen Oberflächenmoleküle von T- und B-Lymphozyten eingesetzt. Hierbei werden Färbungen mit den Pan-T-Zell-Markern (CD2, CD3, CD5, CD7), mit UCHL-1 und OPD4, die das Antigen CD45RO repräsentieren, sowie mit Antikörpern zur Bestimmung der T-Zell-Subpopulationen CD4 und CD8 durchgeführt. Die Darstellung der B-Lymphozyten erfolgt mit CD20 und CD79a. Zusätzlich erfolgen Färbungen mit Antikörpern gegen das nukleäre, zellproliferations-assoziierte Antigen Ki-67, mit den Antikörpern CD56 zur Darstellung der NK-Zellen sowie mit CD30 zur Bestimmung des Aktivierungsantigens Ki-1 [39].

Beim überwiegenden Anteil der CTCL konnte das Infiltrat durch Lymphozyten mit einem CD3+, CD4+ und CD45RO+-Phänotyp charakterisiert werden (Abb. 2). Daneben liegen in wenigen Fällen Abweichungen von diesem klassischen Phänotyp vor. Ein kleiner Anteil zeigt einen zytotoxischen CD8+-Phänotyp mit einer hohen Proliferationsrate oder einen anderen, von dem klassi-

Abb. 2 In der Immunhistologie besteht das intraepidermale lymphozytäre Infiltrat überwiegend aus CD4+-Lymphozyten.

schen Bild abweichenden Phänotyp, wie z. B. einen CD4-/CD8--Phänotyp, oder einen Verlust der Pan-T-Zell-Marker CD2, CD5 oder CD3. Hierbei stellt sich die Frage, inwiefern die abweichenden Phänotypen unterschiedliche klinische Ausprägungen bedingen und einen Einfluss auf die Prognose haben. Hierzu wurden in den letzten Jahren Arbeiten mit kontroversen Ergebnissen veröffentlicht. Zum einen zeigte sich, dass Lymphome mit einem CD8+-Phänotyp nicht selten von einer schlechten Prognose begleitet sind [38,40]. In der Arbeit von Berti und Mitarbeitern wurden 17 Patienten mit einem CD8+-Phänotyp untersucht, hierunter konnten neun Patienten einer gut bekannten Lymphomentität zugeordnet werden [38]. Bei den anderen acht Patienten zeigte sich ein hiervon abweichendes klinisches Bild mit disseminierten, papulonodulären, nekrotisierenden und ulzerierenden Hautläsionen sowie einem rasch progredienten Verlauf mit ungünstiger Prognose. Es wurde vorgeschlagen, diese Merkmale als eigenständige Form eines kutanen T-Zell-Lymphoms zu bewerten. Dagegen konnten andere Arbeiten darstellen, dass ein zytotoxischer CD8+ oder von dem klassischen Bild abweichende Phänotypen keinen Einfluss auf die Prognose haben [41]. In einer weiteren Arbeit konnte gezeigt werden, dass unter den klein- bis mittelgroßzelligen pleomorphen kutanen T-Zell-Lymphomen vor allem die eine gute Prognose haben, die einen CD3+, CD4+, CD8--Phänotyp aufweisen [42]. Beim großzelligen T-Zell-Lymphom ist die immunhistochemische Untersuchung von CD30 von immenser Bedeutung in Hinblick auf die prognostische Bedeutung. Dabei hat das CD30+ gegenüber dem CD30--großzelligen kutanen T-Zell-Lymphom eine deutliche bessere Prognose.

In den Anfangsstadien imitieren die kutanen Lymphome häufig gutartige entzündliche Dermatosen, wie die Psoriasis vulgaris und Erkrankungen aus dem ekzematoïden Formenkreis. Diesbezüglich sind in der Literatur mehrere Studien über den Einsatz von immunhistologischen Analysen zur besseren Unterscheidung in klinisch unklaren Fällen veröffentlicht worden. So konnten Verga und Mitarbeiter in ihrer Arbeit zeigen, dass die immunhistologischen Färbungen mit den Antikörpern gegen CD1, CD2, CD3 sowie MHC-Klasse II die Diagnosestellung erleichtert [43]. Neben dem diagnostischen Schwerpunkt ergeben sich zusätzlich Möglichkeiten, durch die immunhistologischen Analysen Rückschlüsse auf die Lymphomgenese zu ziehen. So zeigt sich in allen Stadien der MF eine starke Expression des Anti-Apoptosemarkers Bcl-2. Das gleichzeitige Fehlen einer Reaktivität des Proliferationsmarkers Ki-67 bei den Frühformen der MF lässt vermuten, dass die Ansammlung der malignen Zellen vielmehr durch ein verlängertes Zellüberleben als durch eine gesteigerte Proliferation bedingt sind [44].

Im Weiterem eröffnen sich durch die immunhistologische Identifizierung der verschiedenen Oberflächenmarker von Lymphozytensubpopulationen neue Ansatzpunkte in der Therapie der CTCL. In einer Phase-II-Studie mit einem monoklonalen Antikörper gegen CD52 (Alemtuzumab) zeigte sich bei 22 Patienten mit einer MF bzw. einem Sézary-Syndrom eine Ansprechrate von über 50% [45]. Andere Biologicals, die bei den CTCL getestet werden, sind zum Beispiel gegen das Molekül CD4 oder gegen CD25 (Ontak®) gerichtet. Der genaue therapeutische Wirkmechanismus dieser neuen Präparate ist bislang nicht vollständig aufgeklärt. Es ist zu erwarten, dass in den nächsten Jahren noch wei-

tere Präparate gegen verschiedene Zielantigene der Lymphozyten entwickelt werden. Eine Bewertung bezüglich des therapeutischen Nutzens kann dagegen erst nach längerem klinischem Einsatz erfolgen.

Zusammenfassend hat die Immunhistologie einen großen Stellenwert in der Diagnostik und klinischen Forschung der CTCL und komplettiert den diagnostischen Goldstandard der klinisch-histologischen Korrelation.

Elektronenmikroskopie

Mit der Entwicklung leistungsfähiger Elektronenmikroskope und deren zunehmender Verbreitung in den Kliniken Mitte der 60er-Jahre intensivierten sich die Bemühungen auch kutane Lymphome anhand elektronenmikroskopischer Kriterien zu differenzieren. Im Mittelpunkt stand hierbei die MF und das Sézary-Syndrom. Bereits 1968 hatten Lutzner und Jordan die ultrastrukturellen Charakteristika der Sézary-Zellen beschrieben [15]. Mit Hilfe einer quantitativen morphometrischen Auswertung gelang es McNutt und Crain 1981 mit dem „Nuclear contour index“ (NCI) einen validen Parameter zur Differenzierung von benignen und malignen T-Zellen zu etablieren [46]. In vielen, teilweise sehr kontroversen Studien wurde bis zur Einführung der Immunphänotypisierung der CTCL versucht, den Wert dieses NCI zu belegen bzw. zu widerlegen [47–50]. Während anhand morphologischer Kriterien die Abgrenzung der Lymphome von entzündlichen Infiltraten in mehreren Studien erfolgreich demonstriert wurde, bestand ein wesentlicher Nachteil der elektronenmikroskopischen Untersuchungen darin, dass eine Subklassifizierung der CTCL nicht reproduzierbar gelang [51–54]. Insgesamt hat sich die Elektronenmikroskopie in der modernen Diagnostik der CTCL nicht durchsetzen können.

Molekulare Diagnostik

Aufgrund der Schwierigkeiten bei der differenzial-diagnostischen Abgrenzung besonders der frühen Formen der CTCL von chronisch entzündlichen Dermatosen (z.B. chronische Ekzeme, Parapsoriasis en plaque) wurden molekularbiologische Nachweismethoden entwickelt [55]. Unter der Vorstellung, dass das CTCL eine monoklonale T-Zell-Proliferation repräsentiert, kann mit Hilfe der Untersuchung der T-Zell Rezeptorgen-Umlagerung (TCR-Rearrangement) der Nachweis dieser monoklonalen T-Zell-Population geführt werden [56]. Jede T-Zelle erhält durch Bildung zellspezifischer TCR-V-J- und V-D-J-Rearrangements und Veränderungen im Bereich der Verknüpfungsstellen der Segmente (N-Region) eine individuelle DNS-Sequenz. Bei einer malignen Entartung finden sich viele Zellen mit einem identischen TCR-Rearrangement (= monoklonales T-Zell-Infiltrat). Bei einer entzündlichen Erkrankung zeigen die T-Zellen ein breites Spektrum an TCR-Rearrangements (= polyklonales Infiltrat).

Verschiedene Vorgehensweisen wurden für die genotypische Analyse der T-Zell-Klonalität lymphomatoider Infiltrate gewählt. Initial wurde die Southern-blot-Technik mit einer Sensitivität von ungefähr 5% bzw. 10–20% klonaler Zellen im Gesamtinfiltrat verwendet, für die allerdings relativ große Mengen an DNS

benötigt werden [57,58]. Der frühe Nachweis von klonal expandierten T-Zellen erfordert eine Analyse des TCR-Rearrangements mit niedriger Nachweisgrenze, die mit der Einführung von PCR-basierten Methoden erreicht werden konnte. In der klinischen Praxis hat sich eine Sensitivität von zirka 1% bewährt. Noch höhere Sensitivitäten führen dann zu einem Verlust der Spezifität, die diagnostisch nicht mehr hilfreich ist. Aufgrund der einfacheren Konfiguration der TCR- γ -Gene wurden zunächst TCR- γ -PCR-Varianten verwendet, wie z. B. mit segmentspezifischen Primern, Konsensus-Primern, radiomarkierten Primern, GC-Klammer-Primer oder als geschachtelte PCR. Zur Identifizierung der PCR-Produkte stehen ebenfalls eine Reihe von Methoden von einer Agarosegel-Elektrophorese bis zur Fraktionierung auf Sequenzgelen zur Verfügung. Gegenüber der Verwendung der Denaturierenden-Gradienten- (DGGE) und der Temperaturgradienten- (TGGE) Gelelektrophorese mit möglicherweise starken Hintergrundbanden hat die GeneScan-Analyse (hochauflösende Gele werden in einem automatischen DNS-Sequencer gelesen) eine höhere Sensitivität und Genauigkeit in der Detektion und Größenbestimmung der PCR-Produkte [59]. Auf diese Weise können polyklonale von monoklonalen Infiltraten unterschieden und darüber hinaus die genaue Produktgröße der T-Zell-Population bestimmt werden (Abb. 3). Unerlässlich sind hierbei Doppelbestimmungen jeder Probe, um eine Pseudomonoklonalität auszuschließen. Insgesamt kann mit der Analyse des TCR- γ -Rearrangements eine Detektionsrate von 50–90% erreicht werden. Mit der Untersuchung des TCR- β -Rearrangements konnte die Nachweisrate bei fortgeschrittenen kutanen Lymphomen auf 98% gesteigert werden [60]. Kritisch muss angemerkt werden, dass in Einzelfällen auch bei einer Reihe von benignen Hauterkrankungen eine Monoklonalität der Lymphozyten nachgewiesen werden konnte [61,62]. Mit der molekularbiologischen Untersuchung der TCR-Genumlagerung steht eine zusätzliche diagnostische Methode zur Verfügung, um die Abgrenzung maligner CTCL von chronisch entzündlichen Erkrankungen zu erleichtern.

Abb. 3 GeneScan-Analyse einer Hautbiopsie eines Patienten mit MF. bp = Basenpaare; mk = monoklonal.

In der jüngsten Vergangenheit konnte die Genauigkeit der molekularbiologischen Gewebediagnostik durch die Einführung der Lasermikrodissektion verbessert werden [63,64]. Mit dieser Technik können durch eine lasergesteuerte Mikrodissektion einzelne Zellen aus dem Gewebeschnitt für die molekularbiologische Untersuchung gewonnen werden [65,66]. Dies erhöht die Sensitivität durch den Wegfall der Hintergrundsignale und ermöglicht auch eine Diagnostik von nur geringen Hautinfiltraten. Zukünftig wird die Quantifizierung der molekularbiologischen Befunde sowohl für die Diagnostik als auch für die Prognose an Bedeutung gewinnen.

Neben der Haut können auch die Rezirkulationsorgane (Lymphknoten und Blut) bei einer möglichen Progredienz der Erkrankung auf eine Ausdehnung der monoklonalen T-Zell-Population hin untersucht werden [67]. Insbesondere bei vorheriger Analyse einer Hautbiopsie eines CTCL-Patienten kann in der Folgezeit bei der Identifizierung des gleichen Klons (identische Produktgröße und Sequenz) im Blut bzw. Lymphknoten eine Beteiligung nachgewiesen oder ausgeschlossen (nicht identischer Klon bzw. polyklonales Infiltrat) werden. Allerdings ist im peripheren Blut auch der Nachweis von „Klonen mit unklarer Signifikanz“ bekannt [68]. Es hat sich in der klinischen Praxis bewährt, ein klonales Ergebnis des TCR-Rearrangements des Bluts bzw. Lymphknotens immer in der Zusammenschau mit dem molekularbiologischen Befund der Hautprobe zu interpretieren [69]. Die molekularbiologische Diagnostik ergänzt somit die klinisch-histologische Diagnosefindung.

Molekulare Genetik und Zytogenetik

Neben den klassischen zytogenetischen Methoden wie den Metaphasenspreitungen und deren G-Bänderung finden zunehmend auch moderne zytogenetische Methoden wie die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder die Komparative Genomische Hybridisierung (CGH) Einzug in die Diagnostik und Prognoseabschätzung von malignen Erkrankungen des hämatopoetischen Systems. Mittels CGH, einer Methode, bei der DNS der Tumorzellen extrahiert wird und im Vergleich zu DNS eines gesunden Spenders auf Metaphasenspreitungen des gesunden Spenders hybridisiert wird, zeigen sich *chromosomale Imbalancen* bei 45% der untersuchten Patienten mit Sézary-Syndrom. Am häufigsten war ein *Verlust von Chromosom 1p* (25% der Fälle) gefolgt von Verlusten der Chromosomen 10/10q (20% der Fälle), 17p (20% der Fälle) und 19 (15% der Fälle). *Chromosomale Gewinne* konnten auf 17q (20% der Fälle) und 18 (15% der Fälle) verzeichnet werden [70]. Bei der MF konnten chromosomale Verluste von 1p31p36 und 10q23q24 in 30% bzw. 23% der Fälle detektiert werden [71,72]. Mittels Multiplex-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (M-FISH), bei der sich jedes Chromosom in einer anderen Farbe nach Hybridisierung mit unterschiedlich Fluorochrom-markierten DNS-Sonden darstellt, konnten die *Translokation* der (1)t(1;10)(p2;q2) sowie die Translokation der (14)t(14;15)(q;q2) bei jeweils 2 Patienten mit Sézary-Syndrom identifiziert werden. Im Gegensatz zu den meisten Leukämiearten und nodalen Lymphomen, bei denen reziproke Translokationen typische zytogenetische Veränderungen darstellen, handelt es sich bei diesen beiden Translokationen um unbalanzierte

Abb. 4 Interphasen-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung an Zellen des Blutaussstriches eines 68-jährigen Patienten mit Sézary-Syndrom. Man sieht einen normalen Zellkern (3) sowie 2 Zellkerne mit numerischen Chromosomenaberrationen (1, 2, rotes Signal: Zentromer des Chromosoms 7, grünes Signal: Zentromer des Chromosoms 8, blaues Signal: Zentromer des Chromosoms 9). Hybridisierungstechnik analog zu Udart et al. [90].

Translokationen, die zu einem Verlust von chromosomalem Material führen.

Beim Sézary-Syndrom sind *numerische Chromosomenaberrationen* (d.h. zusätzliche Chromosomen bzw. Chromosomenstücke oder deren Verlust) (siehe auch Abb. 4) häufiger anzutreffen als strukturelle Aberrationen (d.h. z.B. Translokationen). Chromosomale Verluste und Gewinne werden in Zusammenhang gebracht mit einer klonalen Evolution, die mit einem Fortschreiten der Erkrankung assoziiert sein kann aufgrund einer Nondisjunktion der Chromosomen während der Mitose. Es konnte gezeigt werden, dass die Rate von chromosomalen Aberrationen parallel mit der Aktivität bzw. Progression der Erkrankung ansteigt. Hinsichtlich der Progression des CTCL sind zunehmend Aberrationen der Chromosomen 1, 6 und 11 sowie der Chromosomen 8 und 17 beschrieben worden [73]. Es konnte gezeigt werden, dass die Trennung der Chromosomen während der Mitose überwacht wird durch Kontrollmechanismen, die zu einem Stillstand des Zellzyklus führen, falls die Chromosomen nicht richtig an die Mitosespindel andocken. Der Verlust des Kontrollmechanismus resultiert in einer fehlerhaften Chromosomentrennung, die zu der chromosomalen Instabilität beitragen kann, wie man sie in Tumorzellen sieht. Mittlerweile wurden einige humane so genannte Spindelkontroll-Gene wie Mad2 identifiziert [74]. Ein weiterer Erklärungsmechanismus für die genetische Instabilität des kutanen T-Zell-Lymphoms könnte auch eine *verminderte Länge der Telomeren* sein, die mit Alterationen der Telomerase-Aktivität einhergeht. Diese Veränderungen sind schon in Frühstadien des CTCLs und der Parapsoriasis en plaques in den CD4 positiven T-Lymphozyten nachweisbar [75].

Anomalien des Chromosomenarms 17q mit einem 17q-Gewinn werden häufig beim Sézary-Syndrom gefunden. Ebenfalls sind 17q-Gewinne auch bei anderen Tumorentitäten sowie nodalen und extranodalen Lymphomen beschrieben worden. Die *STAT3- und STAT5-Gene* sind auf 17q lokalisiert. Sie kodieren für Transkriptionsfaktoren, die über eine Aktivierung weiterer Gene wie z.B. Cyclin D1, c-Myc und bcl-2 an der *Zellzyklusregulation* und

an der *Apoptosehemmung* beteiligt sind. Die Aktivierung von STAT3 wurde beim CTCL beschrieben [76, 77]. Durch die Aktivierung von STAT3 sowie STAT5 kann es ebenfalls zur Transformation hämatopoetischer Vorläuferzellen kommen [78]. In den Tumorzellen bei einem hohen Prozentsatz der Patienten mit einer MF oder einem Sézary-Syndrom fand sich eine *erhöhte bcl-2-Expression* im Vergleich zu normalen CD4-positiven Zellen. Die erhöhte bcl-2-Expression kann durch eine Hemmung der Apoptose die verminderte Sensitivität der malignen Zellen gegenüber einer Radiatio erklären [79, 80]. Ein weiteres wichtiges Protein bei Apoptosevorgängen ist der *CD95-Rezeptor (APO-1/Fas)*. Hier entdeckten van Doorn et al. eine neue Splice-Variante des CD95-Gens, welches in 59% der untersuchten Patienten mit CTCL zu einem dysfunktionalen CD95-Rezeptor führte [81].

Auf Chromosom 17p, das bei etwa 20% der Sézary-Syndrom-Patienten einen chromosomalen Verlust aufweist, liegt das *p53-Gen*. Eine abnormale Expression von p53 wurde im Spätstadium des CTCLs beschrieben. Dies könnte in einigen Fällen durch den chromosomalen Verlust von 17p im Sinne einer LOH (loss of heterozygosity) erklärt werden [82, 83]. Ebenfalls wurden p53-Genmutationen bei 40% der Patienten im Stadium IIb einer MF im Gegensatz zum Frühstadium (Ia/Ib) der Erkrankung festgestellt. Das p53-Genmutationsspektrum ist sehr ähnlich den durch UVB-Strahlung beim Plattenepithelkarzinom der Haut hervorgerufenen p53-Genmutationen [84]. Neben p53 werden weitere Tumorsuppressorgene mit der Pathogenese des CTCL in Zusammenhang gebracht. So konnten in der chromosomalen Region 9p21, dem chromosomalen Lokus der Gene von p15 und p16, bei 75% der Fälle mit MF und Sézary Syndrom Abnormalitäten gefunden werden, die einen Verlust der Genexpression zur Folge haben. Dieser Genexpressionsverlust kann sich durch das Fehlen eines Allels, die Hypermethylierung des Promotors sowie selten durch homozygote Deletionen des Genlokuses erklären lassen. Mutationen im Gen für p15 und p16 selbst konnten bisher nicht gefunden werden [85].

Genexpressionsprofile

Mit der Microarray-Technologie können die Expressionsprofile von Tausenden von Genen gleichzeitig dargestellt werden. Die daraus entstehenden Datenmengen können mit unterschiedlichen Computerprogrammen analysiert werden, um z.B. tumorspezifische Genmuster zu identifizieren. Storz und Mitarbeiter analysierten 17 kutane B-Zell-Lymphome mit Hilfe eines GeneChips, der 1440 Gene beinhaltet [86]. Dabei ergab sich eine typische B-Zell-Gensignatur (B-Zell-Rezeptor, B-Zell-Oberflächenantigene, Transkriptionsfaktoren für B-Zellentwicklung) und Keimzentrums-Gensignatur für primär und sekundär kutane Keimzentrumslymphome und für primär kutane diffuse großzellige B-Zell-Lymphome. Im Unterschied dazu zeigte ein Teil der primär kutanen Marginalzonenlymphome eine typische Plasmazell-Gensignatur. Bei sekundär kutanen diffusen großzelligen Keimzentrumslymphomen zeigte sich keine B-Zell-Gensignatur, aber ein Expressionsmuster für Proliferationsgene. Diese Daten zeigen die enge Verwandtschaft zwischen kutanen und systemischen Keimzentrumslymphomen, trotz der bekannten genetischen und phänotypischen Unterschiede und des klinisch deut-

lich aggressiveren Verlaufs der sekundär kutanen systemischen diffusen großzelligen Lymphome.

Für die CTCL sind drei Untersuchungen durchgeführt worden, die das periphere Blut von Patienten mit Sézary-Syndrom hinsichtlich prognostischer Marker und die kutanen Infiltrate von Patienten mit MF hinsichtlich der Genexpressionsprofile untersuchten. Kari und Mitarbeiter verglichen das periphere Blut von Patienten mit Sézary-Zellen von > 60% und mit niedrigem Zellanteil mit gesunden peripheren mononukleären Zellen, welche unter entsprechender Stimulation zu Th2-Lymphozyten differenziert wurden [87]. Die Clusteranalyse ergab ein differentielles Genexpressionsmuster für das Sézary-Syndrom, z.B. für Gene der Signaltransduktion (dual specificity phosphatase-1), Onkogene (rho B, Jun B), extrazelluläre Rezeptoren (Integrin β , Trail/APO-2, CX3C Receptor 1, ICAM2). Darüber hinaus konnte eine Anzahl von hoch- und herunterregulierten Genen identifiziert werden, mit deren Hilfe Patienten mit Sézary-Syndrom charakterisiert werden können, die nur eine geringe Anzahl von malignen Zellen (< 5%) im peripheren Blut besitzen. Diese Untersuchungstechnik („panelised discrimination analysis“) wurde auch angewendet, um Langzeit- von Kurzzeit-Überlebenden zu unterscheiden. Dabei konnte gezeigt werden, dass 5 von jeweils 10 überexprimierten Genen für Langzeit- und Kurzzeitüberlebende ausreichen, um eine 100%-Kreuzvalidierung des Patienten zu erreichen und eine Einordnung in die jeweilige Prognosegruppe vorzunehmen. In einer vergleichbaren Untersuchung zur MF konnten von Tracey und Mitarbeitern kürzlich 27 überexprimierte Gene identifiziert werden [88]. Darunter fanden sich z.B. der Tumor Necrosis Factor Receptor (TNFR)-dependent apoptosis regulator, STAT4, CD40L und einige Onkogene und Apoptoseinhibitoren, die weitere Hinweise auf die Tumorgenese dieser Erkrankung geben könnten. In einer dritten Arbeit wurden gezielt die CD4+-Lymphozyten von 10 Sézary-Patienten im Vergleich zu erythrodermischen Patienten und gesunden Probanden untersucht. Neben einer verminderten Expression verschiedener Tumor-Suppressor-Gene fand sich eine für das Sézary-Syndrom spezifische Hochregulierung des Tyrosinkinase-Rezeptors EphA4 und des möglicherweise onkogenen Transkriptionsfaktors TWIST [89].

Die GeneChip-Technologie eröffnet somit neue Möglichkeiten, Einblicke in komplizierte pathogenetische Strukturen zu gewinnen, die als Ausgangspunkt für weitere detaillierte Untersuchungen nützlich sind. Darüber hinaus können mit den Microarrays auch schnelle Testverfahren entwickelt werden, die sowohl diagnostisch als auch prognostisch genutzt werden können.

Literatur

- 1 Weinstock MA, Horn JW. Mycosis fungoides in the United States. Increasing and descriptive epidemiology. JAMA. 1988; 260: 42
- 2 Willemze R, Kerl H, Sterry W, Berti E, Cerroni L, Chimenti S, Diaz-Perez JL, Geerts ML, Goos M, Knobler R, Ralfkiaer E, Santucci M, Smith N, Wechsler J, van Vloten WA, Meijer CJ. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. Blood. 1997; 90: 354–71
- 3 Alibert JLM. Description des maladies de la peau; observees a l'Hôpital St. Louis. Paris: Barrois L'aîné et Fils, 1806

- 4 Alibert JLM. Monographie des dermatoses. Paris: G. Bailliere, 1835: 413–446
- 5 Bazin PAE. Maladies de la peau observées à l'Hôpital St. Louis. Paris: 1876
- 6 Vidal E, Brocq L. Etude sur le mycosis fungoide. Le France Medical 1885; 2: 946
- 7 Besnier E, Hallopeau H. On the erythrodermia of mycosis of fungoides. J Cutan Genitourin Dis 1892; 10: 453
- 8 Sézary A, Bouvraïn Y. Erythrodermie avec présence de cellules monstrueuses dans le derme et dans le sang circulant. Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr 1938; 45: 254
- 9 Winkelmann RK. History of the Sézary syndrome. Mayo Clin Proc 1974; 49: 515
- 10 Sézary A, Horowitz A, Maschas H. Erythrodermie avec présence de cellules monstrueuses dans le derme et dans le sang circulant (second cas). Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr 1938; 45: 395
- 11 Wilson HTH, Fielding J. Sézary's reticulosis with exfoliative dermatitis. Br Med J 1953; 1: 1087
- 12 Alderson WE, Barrow GI, Turner RL. Sézary's syndrome. Br Med J 1953; 1: 256
- 13 Main RA, Goodall HB, Swanson WC. Sézary's syndrome. Br Med J 1959; 71: 335
- 14 Taswell HF, Winkelmann RK. Sézary's syndrome – a malignant reticulemic erythroderma. JAMA 1961; 177: 465
- 15 Lutzner MA, Jordan HW. The ultrastructure of an abnormal cell in Sézary's syndrome. Blood 1968; 31: 719
- 16 Lutzner M, Edelson R, Schein P et al. Cutaneous T-cell lymphomas: The Sézary syndrome, mycosis fungoides, and related disorders. Ann Intern Med 1975; 83: 534
- 17 Lamberg SI, Bunn PA. Proceedings of the Workshop on Cutaneous T-cell lymphomas (mycosis fungoides and Sézary syndrome). Cancer Treat Rep 1979; 63: 561
- 18 Bunn PA, Jr, Lamberg SI. Report of the Committee on Staging and Classification of Cutaneous T-Cell Lymphomas. Cancer Treat Rep 1979; 63: 725–728
- 19 Smoller BR, Santucci M, Wood GS, Whittaker SJ. Histopathology and genetics of cutaneous T-cell lymphoma. Hematol Oncol Clin North Am 2003; 17: 1277–311
- 20 Ackerman AB. If small plaque (digitate) parapsoriasis is a cutaneous T-cell lymphoma, even an "abortive" one, it must be mycosis fungoides! Arch Dermatol 1996; 132: 562–566
- 21 Burg G, Dummer R, Nestle FO, Doebbeling U, Haeflner A. Cutaneous lymphomas consist of a spectrum of nosologically different entities including mycosis fungoides and small plaque parapsoriasis. Arch Dermatol 1996; 132: 567–572
- 22 Santucci M, Burg G, Feller AC. Interrater and intrarater reliability of histologic criteria in early cutaneous T-cell lymphoma. An EORTC Cutaneous Lymphoma Project Group study. Dermatol Clin 1994; 12: 323–327
- 23 Santucci M, Biggeri A, Feller AC, Burg G. Accuracy, concordance, and reproducibility of histologic diagnosis in cutaneous T-cell lymphoma: an EORTC Cutaneous Lymphoma Project Group Study. European Organization for Research and Treatment of Cancer. Arch Dermatol 2000; 136: 497–502
- 24 Santucci M, Biggeri A, Feller AC, Massi D, Burg G. Efficacy of histologic criteria for diagnosing early mycosis fungoides: an EORTC cutaneous lymphoma study group investigation. European Organization for Research and Treatment of Cancer. Am J Surg Pathol 2000; 24: 40–50
- 25 Glusac EJ, Shapiro PE, McNiff JM. Cutaneous T-cell lymphoma. Refinement in the application of controversial histologic criteria. Dermatol Clin 1999; 17: 601–614
- 26 Nickoloff BJ. Light-microscopic assessment of 100 patients with patch/plaque-stage mycosis fungoides. Am J Dermatopathol 1988; 10: 469–477
- 27 Shapiro PE, Pinto FJ. The histologic spectrum of mycosis fungoides/Sézary syndrome (cutaneous T-cell lymphoma). A review of 222 biopsies, including newly described patterns and the earliest pathologic changes. Am J Surg Pathol 1994; 18: 645–667
- 28 Smoller BR, Bishop K, Glusac E, Kim YH, Hendrickson M. Reassessment of histologic parameters in the diagnosis of mycosis fungoides. Am J Surg Pathol 1995; 19: 1423–1430
- 29 Salhany KE, Cousar JB, Greer JP, Casey TT, Fields JP, Collins RD. Transformation of cutaneous T cell lymphoma to large cell lymphoma. A clinicopathologic and immunologic study. Am J Pathol 1988; 132: 265–277
- 30 Klemke CD, Dippel E, Assaf C, Hummel M, Stein H, Goerdts S, Orfanos CE. Follicular mycosis fungoides. Br J Dermatol 1999; 141: 137–140
- 31 Kohler S, Kim YH, Smoller BR. Histologic criteria for the diagnosis of erythrodermic mycosis fungoides and Sézary syndrome: a critical reappraisal. J Cutan Pathol 1997; 24: 292–297
- 32 Trotter MJ, Whittaker SJ, Orchard GE, Smith NP. Cutaneous histopathology of Sézary syndrome: a study of 41 cases with a proven circulating T-cell clone. J Cutan Pathol 1997; 24: 286–291
- 33 Vonderheid EC, Bernengo MG, Burg G, Duvic M, Heald P, Laroche L, Olsen E, Pittelkow M, Russell-Jones R, Takigawa M, Willemze R. ISCL. Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: report of the International Society for Cutaneous Lymphomas. J Am Acad Dermatol 2002; 46: 95–106
- 34 Mathews M, Gazdar A. Quoted in Clendenning WE, Rappaport HW. Report of the Committee on Pathology of Cutaneous T Cell Lymphomas. Cancer Treat Rep 1979; 63: 719–724
- 35 Sausville EA, Worsham GF, Matthews MJ, Makuch RW, Fischmann AB, Schechter GP, Gazdar AF, Bunn PA, Jr. Histologic assessment of lymph nodes in mycosis fungoides/Sézary syndrome (cutaneous T-cell lymphoma): clinical correlations and prognostic import of a new classification system. Hum Pathol 1985; 16: 1098–1109
- 36 Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 495–497
- 37 Cerroni L, Smolle J, Soyer HP, Martinez Aparicio A, Kerl H. Immunophenotyping of cutaneous lymphoid infiltrates in frozen and paraffin-embedded tissue sections: a comparative study. J Am Acad Dermatol 1990; 22: 405–413
- 38 Berti E, Tomasini D, Vermeer MH, Meijer CJLM, Alessi E, Willemze R. Primary Cutaneous CD8-Positive Epidermotropic Cytotoxic T Cell Lymphomas. A Distinct Clinicopathological Entity with an Aggressive Clinical Behavior. Am J Pathol. 1999; 155: 483–492
- 39 Schwarting R, Gerdes J, Durkop H, Falini B, Pileri S, Stein H. BER-H2: a new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formol-resistant epitope. Blood. 1989; 74: 1678–1689
- 40 Agnarsson BA, Vonderheid EC, Kadin ME. Cutaneous T cell lymphoma with suppressor/cytotoxic (CD8) phenotype: identification of rapidly progressive and chronic subtypes. J Am Acad Dermatol 1990; 22: 569–577
- 41 Ralfkiaer E, Wollf-Sneedorrff A, Thomsen K, Vejlsgaard GL. Immunophenotypic studies in cutaneous T-cell lymphomas: clinical implications. Br J Dermatol 1993; 129: 655–659
- 42 Bekkenk MW, Vermeer MH, Jansen PM, van Marion AM, Canninga-van Dijk MR, Kluijn PM, Geerts ML, Meijer CJ, Willemze R. Peripheral T-cell lymphomas unspecified presenting in the skin: analysis of prognostic factors in a group of 82 patients. Blood 2003; 15: 2213–2219
- 43 Verga M, Braverman IM. The Use of Immunohistologic Analysis in Differentiating Cutaneous T-cell Lymphoma From Psoriasis and Dermatitis. Arch Dermatol 1991; 127: 1503–1510
- 44 Dummer R, Michie SA, Kell D, Gould JW, Haeflner AC, Smoller BR, Warnke RA, Wood GS. Expression of bcl-2 protein and Ki-67 nuclear proliferation antigen in benign and malignant cutaneous T-cell infiltrates. J Cutan Pathol 1995; 22: 11–17
- 45 Lundin J, Hagberg H, Repp R, Cavallin-Ståhl E, Fredén S, Juliusson G, Rosenblad E, Tjønnefjord G, Wiklund T, Österborg A. Phase 2 study of alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) in patients with advanced mycosis fungoides/Sézary syndrome. Blood 2003; 101: 4267–4272
- 46 McNutt NS, Crain WR. Quantitative electron microscopic comparison of lymphocyte nuclear contours in mycosis fungoides and in benign infiltrates in skin. Cancer 1981; 47: 698–709
- 47 van der Loo EM, van Vloten WA, Cornelisse CJ, Scheffer E, Meijer CJ. The relevance of morphometry in the differential diagnosis of cutaneous T cell lymphomas. Br J Dermatol 1981; 104: 257–269
- 48 Lessana-Leibowitch M, Prado A, Palangie A, Lamy F, Flandrin G. The diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma by morphometric evaluation of the cellular infiltrate, using semithin sections. Br J Dermatol 1984; 110: 511–521
- 49 Shum DT, Roberts JT, Smout MS, Wells GA, Simon GT. The value of nuclear contour index in the diagnosis of mycosis fungoides. An assessment of current ultrastructural morphometric diagnostic criteria. Cancer 1986; 57: 298–304
- 50 Simon GT. The value of morphometry in the ultrastructural diagnosis of Mycosis fungoides. Ultrastruct Pathol 1987; 11: 687–691
- 51 Payne CM, Glasser L. Ultrastructural morphometry in the diagnosis of Sézary syndrome. Arch Pathol Lab Med 1990; 114: 661–671

- 52 Braun-Falco O, Schmoeckel C, Wolff HH. The ultrastructure of mycosis fungoides, of Sezary's syndrome, and of Woringer-Kolopp's disease (pagetoid reticulosis). *Bull Cancer* 1977; 64: 191–208
- 53 Schmoeckel C, Burg G, Braun-Falco O. Quantitative analysis of lymphoid cells in mycosis fungoides, Sezary's syndrome and parapsoriasis in plaques. *Arch Dermatol Res* 1979; 264: 17–28
- 54 Sigaux F, Flandrin G, Valensi F, Gaulard P, Castaigne S, Daniel MT, Harousseau JL. Can peripheral T-cell lymphomas be morphologically subclassified? A morphometric approach to 21 cases. *Cytometry* 1986; 7: 371–377
- 55 Dippel E, Klemke CD, Goerdts S. Current status of cutaneous T-cell lymphoma: molecular diagnosis, pathogenesis, therapy and future directions. *Onkologie* 2003; 26: 477–483
- 56 Bertness V, Kirsch I, Hollis G, Johnson B, Bunn PA, Jr. T-cell receptor gene rearrangements as clinical markers of human T-cell lymphomas. *N Engl J Med* 1985; 313: 534–538
- 57 Dosaka N, Tanaka T, Fujita M, Miyachi Y, Horio T, Imamura S. Southern blot analysis of clonal rearrangements of T-cell receptor gene in plaque lesion of mycosis fungoides. *J Invest Dermatol* 1989; 93: 626–629
- 58 Wolff-Sneedorff A, Ralfkiaer E, Thomsen K, Vejlsgaard GL. Analyses of T-cell receptor beta-chain genes by Southern blotting in known and suspected cutaneous T-cell lymphoma. A study of 67 samples from 32 patients. *Clin Exp Dermatol* 1995; 20: 115–122
- 59 Dippel E, Assaf C, Hummel M, Schrag HJ, Stein H, Goerdts S, Orfanos CE. Clonal T-cell receptor gamma-chain gene rearrangement by PCR-based GeneScan analysis in advanced cutaneous T-cell lymphoma: a critical evaluation. *J Pathol* 1999; 188: 146–154
- 60 Assaf C, Hummel M, Dippel E, Goerdts S, Muller HH, Anagnostopoulos I, Orfanos CE, Stein H. High detection rate of T-cell receptor beta chain rearrangements in T-cell lymphoproliferations by family specific polymerase chain reaction in combination with the GeneScan technique and DNA sequencing. *Blood* 2000; 96: 640–646
- 61 Wood GS, Tung RM, Haeflner AC, Crooks CF, Liao S, Orozco R, Veelken H, Kadin ME, Koh H, Heald P et al. Detection of clonal T-cell receptor gamma gene rearrangements in early mycosis fungoides/Sezary syndrome by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis (PCR/DGGE). *J Invest Dermatol* 1994; 103: 34–41
- 62 Poenitz N, Dippel E, Klemke CD, Qadoumi M, Goerdts S. Jessner's lymphocytic infiltration of the skin: a CD8+ polyclonal reactive skin condition. *Dermatology* 2003; 207: 276–284
- 63 Cerroni L, Arzberger E, Ardigo M, Putz B, Kerl H. Monoclonality of intraepidermal T lymphocytes in early mycosis fungoides detected by molecular analysis after laser-beam-based microdissection. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 1154–1157
- 64 Gellrich S, Lukowsky A, Schilling T, Rutz S, Muche JM, Jahn S, Audring H, Sterry W. Microanatomical compartments of clonal and reactive T cells in mycosis fungoides: molecular demonstration by single cell polymerase chain reaction of T cell receptor gene rearrangements. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 620–624
- 65 Yazdi AS, Medeiros LJ, Puchta U, Thaller E, Flaig MJ, Sander CA. Improved detection of clonality in cutaneous T-cell lymphomas using laser capture microdissection. *J Cutan Pathol* 2003; 30: 486–491
- 66 Dereure O, Levi E, Vonderheid EC, Kadin ME. Improved sensitivity of T-cell clonality detection in mycosis fungoides by hand microdissection and heteroduplex analysis. *Arch Dermatol* 2003; 139: 1571–1575
- 67 Klemke CD, Dippel E, Dembinski A, Ponitz N, Assaf C, Hummel M, Stein H, Goerdts S. Clonal T cell receptor gamma-chain gene rearrangement by PCR-based GeneScan analysis in the skin and blood of patients with parapsoriasis and early-stage mycosis fungoides. *J Pathol* 2002; 197: 348–354
- 68 Dippel E, Klemke D, Hummel M, Stein H, Goerdts S. T-cell clonality of undetermined significance. *Blood* 2001; 98: 247–248
- 69 Muche JM, Sterry W, Gellrich S, Rzany B, Audring H, Lukowsky A. Peripheral blood T-cell clonality in mycosis fungoides and nonlymphoma controls. *Diagn Mol Pathol* 2003; 12: 142–150
- 70 Czepulkowski B, Russell-Jones R, Young BD, Whittaker S. Molecular cytogenetic characterization of Sezary syndrome. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 36: 250–260
- 71 Mao X, Lillington D, Scarisbrick JJ, Mitchell T, Czepulkowski B, Russell-Jones R, Young B, Whittaker SJ. Molecular cytogenetic analysis of cutaneous T-cell lymphomas: identification of common genetic alterations in Sezary syndrome and mycosis fungoides. *Br J Dermatol* 2002; 147: 464–475
- 72 Scarisbrick JJ, Woolford AJ, Russell-Jones R, Whittaker SJ. Loss of heterozygosity on 10q and microsatellite instability in advanced stages of primary cutaneous T-cell lymphoma and possible association with homozygous deletion of PTEN. *Blood* 2000; 95: 2937–2942
- 73 Karenko L, Sarna S, Kahkonen M, Ranki A. Chromosomal abnormalities in relation to clinical disease in patients with cutaneous T-cell lymphoma: a 5-year follow-up study. *Br J Dermatol* 2003; 148: 55–64
- 74 Wassmann K, Benezra R. Mitotic checkpoints: from yeast to cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 83–90
- 75 Wu KD, Hansen ER. Shortened telomere length is demonstrated in T-cell subsets together with a pronounced increased telomerase activity in CD4 positive T cells from blood of patients with mycosis fungoides and parapsoriasis. *Exp Dermatol* 2001; 10: 329–336
- 76 Eriksen KW, Kaltoft K, Mikkelsen G, Nielsen M, Zhang Q, Geisler C, Nissen MH, Ropke C, Wasik MA, Odum N. Constitutive STAT3-activation in Sezary syndrome: tyrphostin AG490 inhibits STAT3-activation, interleukin-2 receptor expression and growth of leukemic Sezary cells. *Leukemia* 2001; 15: 787–793
- 77 Nielsen M, Nissen MH, Gerwien J, Zocca MB, Rasmussen HM, Nakajima K, Ropke C, Geisler C, Kaltoft K, Odum N. Spontaneous interleukin-5 production in cutaneous T-cell lymphoma lines is mediated by constitutively activated Stat3. *Blood* 2002; 99: 973–977
- 78 Spiekermann K, Pau M, Schwab R, Schmieja K, Franzrahe S, Hidemann W. Constitutive activation of STAT3 and STAT5 is induced by leukemic fusion proteins with protein tyrosine kinase activity and is sufficient for transformation of hematopoietic precursor cells. *Exp Hematol* 2002; 30: 262–271
- 79 Dummer R, Michie SA, Kell D, Gould JW, Haeflner AC, Smoller BR, Warnke RA, Wood GS. Expression of bcl-2 protein and Ki-67 nuclear proliferation antigen in benign and malignant cutaneous T-cell infiltrates. *J Cutan Pathol* 1995; 22: 11–17
- 80 Belka C, Budach W. Anti-apoptotic Bcl-2 proteins: structure, function and relevance for radiation biology. *Int J Radiat Biol* 2002; 78: 643–658
- 81 van Doorn R, Dijkman R, Vermeer MH, Starink TM, Willemze R, Tensen CP. A novel splice variant of the Fas gene in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer Res* 2002; 62: 5389–5392
- 82 Lauritzen AF, Vejlsgaard GL, Hou-Jensen K, Ralfkiaer E. p53 protein expression in cutaneous T-cell lymphomas. *Br J Dermatol* 1995; 133: 32–36
- 83 Marks DI, Vonderheid EC, Kurz BW, Bigler RD, Sinha K, Morgan DA, Sukman A, Nowell PC, Haines DS. Analysis of p53 and mdm-2 expression in 18 patients with Sezary syndrome. *Br J Haematol* 1996; 92: 890–899
- 84 McGregor JM, Crook T, Fraser-Andrews EA, Rozycka M, Crossland S, Brooks L, Whittaker SJ. Spectrum of p53 gene mutations suggests a possible role for ultraviolet radiation in the pathogenesis of advanced cutaneous lymphomas. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 317–321
- 85 Scarisbrick JJ, Woolford AJ, Calonje E, Photiou A, Ferreira S, Orchard G, Russell-Jones R, Whittaker SJ. Frequent abnormalities of the p15 and p16 genes in mycosis fungoides and sezary syndrome. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 493–499
- 86 Storz MN, van de Rijn M, Kim YH, Mraz-Gernhard S, Hoppe RT, Kohler S. Gene expression profiles of cutaneous B cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 865–870
- 87 Kari L, Loboda A, Nebozhyn M, Rook AH, Vonderheid EC, Nichols C, Virok D, Chang C, Horng WH, Johnston J, Wysocka M, Showe MK, Showe LC. Classification and prediction of survival in patients with the leukemic phase of cutaneous T cell lymphoma. *J Exp Med* 2003; 197: 1477–1488
- 88 Tracey L, Villuendas R, Dotor AM, Spiteri I, Ortiz P, Garcia JF, Peralto JL, Lawler M, Piris MA. Mycosis fungoides shows concurrent deregulation of multiple genes involved in the TNF signaling pathway: an expression profile study. *Blood* 2003; 102: 1042–1050
- 89 van Doorn R, Dijkman R, Vermeer MH, Out-Luiting JJ, van der Raaij-Helmer EM, Willemze R, Tensen CP. Aberrant expression of the tyrosine kinase receptor EphA4 and the transcription factor twist in Sezary syndrome identified by gene expression analysis. *Cancer Res* 2004; 64: 5578–5586
- 90 Udart M, Utikal J, Krahn GM, Peter RU. Chromosome 7 aneusomy. A marker for metastatic melanoma? Expression of the epidermal growth factor receptor gene and chromosome 7 aneusomy in nevi, primary malignant melanomas and metastases. *Neoplasia* 2001; 3: 245–254