

¹*Debreceni Orvostudományi Egyetem Bőr- és Nemikórtani Klinika
(igazgató: Hunyadi János dr.)*

²*Erlangeni Bőrgyógyászati Klinika (igazgató: Hornstein Otto Paul dr.) közleménye*

A HMB–45 melanoma és a 27E10 makrofág marker vizsgálata pigmentsejtes tumorokban

Investigation of the melanoma marker HMB–45 and the macrophage marker 27E10 in pigment cell tumours

BÉGÁNY ÁGNES DR.¹, SIMON MIKLÓS JR. DR.²,
NAGY-VEZEKÉNYI KLÁRA DR.¹, HUNYADI JÁNOS DR.¹

ÖSSZEFOGLALÁS

A pigmentsejtes tumorok hisztológiai vizsgálata során komoly problémát jelenthet a malignitás megítélése, ha az atipia naevushoz társul. Ezen esetekben a malignus folyamat korai biztos felismeréséhez szükség van immunhisztokémiai vizsgálatokra, melyek a tumorspecifikus antigének és/vagy a környező szövetben kialakuló felszíni struktúrák kimutatásán alapulnak. Szerzők pigmentsejtes naevusban és malignus melanomában a HMB–45 melanoma és a 27E10 makrofág marker expressziót vizsgálták. A HMB–45 egy dezmozplasztikus melanoma kivételével az összes vizsgált melanoma szövetben, valamint két az aktivitás jeleit mutató naevusban pozitív festődést mutatott. A 27E10 makrofág marker csak az epidermális érintettséget mutató invazív melanomában volt pozitív a stratum spinosum és stratum granulosum keratinocitáin. A korai melanomák diagnosztizálásában szükség van a HMB–45 és 27E10 mellett egyéb markerek használatára, melyek alkalmazásával az „alul” és „túl diagnosztizálás” lehetősége csökkenthető.

Kulcsszavak:

pigmentsejtes naevus – malignus melanoma – differenciáldiagnózis – immunhisztokémia – HMB–45 – 27E10

SUMMARY

In the histological investigation of pigment cell tumours the major emphasis is to recognise early malignant lesions. In these cases the correct diagnosis needs the immunohistochemistry apart from the histology, which is based on the examination of tumourspecific antigens and/or other changes in the surrounding tissue due to the tumour. The expression of the HMB-45 melanoma marker and the 27E10 macrophage marker in melanocytic naevi and in malignant melanoma were investigated. The HMB-45 melanoma marker was positive in all melanoma except one desmoplastic one and also in two activated pigment cell naevi. Expression of the 27E10 antigen was positive on the surface of keratinocytes in invasive melanoma with epidermal involvement. HMB-45 and 27E10 are suitable markers for the diagnosis of malignant melanoma, but it is necessary to search for further specific antibodies to avoid the under- or overfrequent diagnoses of this tumour.

Key words:

melanocytic naevus – malignant melanoma – differential diagnosis – immunohistochemistry – HMB–45 – 27E10

* Szodoray professzor emlékére ajánlott közlemény

A DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) által támogatott kutatómunka alapján készült közlemény (kódszám: Si 291/4-2)

A melanomás beteganyag számszerű növekedésével egyidőben megszorodott azon pigmentált léziók száma, melyek klinikai és/vagy hisztológiai képének elbírálása próbára teszi a dermatológust és patológust egyaránt. A hisztológiai diagnosztikában nem a benignus pigmentsejtes naevus vagy az invazív melanoma elkülönítése okoz gondot, hanem a benignus lézióban jelentkező atipia megítélése (1, 3, 4). Ezen esetekben a rutinhisztológiai diagnosztikában használt, jól ismert tumor proliferációs markerek nem bizonyulnak elégségesnek a korrekt diagnózis felállításához (6). Ezért olyan további vizsgálatokra van szükség, melyek segítségével a tumorspecifikus ill. a tumort környező szövetben megjelenő antigének kimutatása és elemzése révén a tumor dignitásának kérdését eldönthetjük (2, 8, 10). Munkánk során pigmentsejtes naevusban és malignus melanomában a HMB-45 melanoma és a 27E10 makrofág markerek expresszióját vizsgáltuk az immunhisztokémia módszerével. A pigmentált tumorokat előzetes hisztológiai diagnózis alapján választottuk ki.

Vizsgálataink a következő kérdésekre kerestek választ:

– Naevusban, melanomában, a tumort övező epidermis területén van-e 27E10 expresszió?

– A lézionális/paralézionális keratinociták 27E10 expressziója mutat-e korrelációt a melanociták/melanoma sejtek HMB-45 pozitívitásával?

– Mi ezen antigének diganosztikus értéke a malignitás és benignitás kérdésének eldöntésében a pigmentsejtes tumoroknál?

Anyag és Módszer

Anyag: 19 paraffinba ágyazott pigmentált tumorból származó minta került feldolgozásra, melyek kiválasztása a végleges hisztológiai diagnózis alapján történt. A diagnózis szerinti megoszlás melanocitás naevus (n=6), malignus melanoma (n=13).

Módszer: A paraffinba ágyazott anyagból készült 6 mikronos metszeteken xilol, majd rehidráció ill. tripszines előkezelés, endogén peroxidáz bénítás után a HMB-45 (Enzo) monoklonális antitestet 1:400, a 27E10 (Dianova) monoklonális antitestet

1:50 hígításban alkalmaztuk 24 órás inkubációs idővel. Az antitest kötődés kimutatása ABC (avidin, biotin komplex Vectastain, Vector Laboratories), a peroxidáz működés láthatóvá tétele aminoethylcarbazol segítségével történt. Magfestésre hematoxilint alkalmaztunk. Negatív kontrollként a monoklonális antitesttel nem kezelt metasztet szolgált.

Eredmények

A feldolgozásra került 19 tumorból készült metszeteken külön értékeltük a melanociták citoplazmájában a HMB-45 festődést és a keratinociták felszínén a 27E10 expressziót. HMB-45 festődés a 6 vizsgált pigmentsejtes naevusból kettőben volt megfigyelhető. Az egyik naevusban a junkcióban lévő, a másikban a junkcióra és a papilláris dermis területére lokalizált melanociták citoplazmája mu-

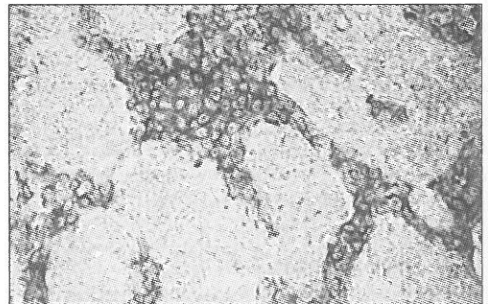
1. táblázat

A melanociták HMB-45 és a keratinociták 27E10 expressziója pigmentsejtes naevusban

n	HMB-45	27E10
1.	+	-
2.	-	-
3.	-	+
4.	-	-
5.	+	-
6.	-	-

tatott pozitív festődést. A vizsgált 6 pigmentsejtes naevusból egynél észleltük a naevust övező epidermis follikularis részén 27E10 expressziót (1. táblázat).

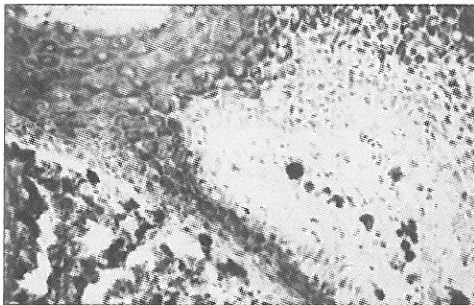
Malignus melanomában a vizsgált 13 esetből 12-ben volt pozitív a HMB-45 reakció. A tumorsejtek változó mértékben az irha külön-



1. ábra

Malignus melanoma. A tumorsejtek egy részének citoplazmájában pozitív HMB-45 reakció látható. (immunperoxidáz módszer, aminoethyl-carbazol festés x 100)

böző mélységében fokálisan adtak pozitív reakciót (1. ábra). Egy vizsgált minta, mely hisztológiailag dezmoplasztikus melanomának felelt meg, nem mutatott HMB-45 festődést. 27E10 expressziót a 13 melanomának diagnosztizált mintából 8-ban észleltünk, (Ssm n=5, Lmm n=2, Nmm n=1). Az expresszió a tumorral direkt kapcsolatban lévő epidermis stratum spinosum és granulosum keratinocitáin jelentkezett, mely a tumor szélekkel szomszédos ép hám területén eltűnt (2. ábra). A hámsejtek 27E10 expresszióját nem észleltük 5 esetben, egy hámérintettséget



2. ábra

Malignus melanoma. A stratum spinosum és granulosum keratinocitáin pozitív 27E10 reakció látható. (immunperoxidáz módszer, aminoethyl-carbazol festés x 100)

nem mutató noduláris melanomában és 4 a papilláris dermisre illetve a hámra lokalizált, az atipia különböző fokát mutató kongenitális ill. acquirált naevushoz társuló melanomában (2. táblázat).

2. táblázat

A melanociták HMB-45 és a keratinociták 27E10 expressziója melanomában

n	HMB-45	27E10
1.	+	+
2.	+	-
3.	+	-
4.	+	+
5.	+	-
6.	+	-
7.	+	+
8.	+	+
9.	+	+
10.	+	+
11.	-	-
12.	+	+
13.	+	+

Megbeszélés

A melanomában alkalmazott immunhisztokémiai vizsgálatok diagnosztikai jelentősége vitatott (1, 2, 10). Melanoma diagnosztikában régóta használt marker a HMB-45, mely a melanomasejt citoplazmájának glikoproteinje ellen termelt antitest. Melanomaspecifikusnak tartották, ennek ellenére a dezmoplasztikus melanoma és egyes metasztatizáló melanomasejtek nem mutatnak pozitív festődést. Pozitív reakciót adnak viszont a junkcionális és diszplastikus naevusokban a junkcióra ill. a papilláris dermisre lokalizált naevussejtek. *Ahmed* és munkatársai megfigyelése szerint a HMB-45 a proliferáló vagy a stimulált melanocitákat jelzi, ezáltal alkalmas a nevocellularis naevusban a proliferáló vagy az aktív szubpopuláció kimutatására (2). *Smoller* és munkatársai megfigyelése szerint HMB-45 festődés nem a sejtek mitogenitásával, hanem azok biokémiai aktivitásával korrelál (10). Eredményeink alapján a HMB-45 festődés nemcsak invazív melanomában, hanem az aktivitás jeleit mutató pigmentsejtes naevusokban is kimutatható. Ezért úgy gondoljuk, hogy a benignitás/malignitás kérdésének eldöntésében a HMB-45 korlátozott jelentőséggel bír. Így célszerű a melanoma immunhisztokémiai vizsgálatában a HMB-45 mellett további, a tumordiagnosztikát segítő markerek használata.

A 27E10 antigén szerkezetéről és funkciójáról ismert, hogy az ellene termelt antitest a makrofág azon epitópjához kötődik, melynek felépítésében kettő, a makrofág migrációt gátló faktorhoz kapcsolódó fehérje az MRP-8 (MIF Related Protein) és az MRP-14 vesz részt. A két fehérjemolekula megfelel a *Gabrielsen* és munkatársai által vizsgált L1 mielo-monocita antigén könnyű és nehéz láncának (11). A 27E10 monocita/makrofág antigént az akut gyulladásban megjelenő makrofágon kívül gyulladásos és proliferatív betegségekben a keratinociták is képesek expresszálni. *Simon* és mtsai citokin-mediált bőrbetegségekben figyelték meg, hogy a stratum spinosum és granulosum keratinocitái 27E10 antigént expresszálnak (9). *Gabrielsen* az L1 antigén expressziót proliferatív betegségekben, így pl. melanomában, melanocitás naevusban vizsgálva azt találta, hogy

melanomában a tumort övező epidermisben a keratinociták a stratum spinosum és granulosum területén pozitív reakciót adnak, míg melanociták naevusban csak a follikulusoknak megfelelően jelenik meg az L1 antigén (5). Ezzel egyezően a vizsgált naevusokban nem észleltünk a hámban a keratinociták felszínén 27E10 expressziót. A 13 klinikailag és szövettanilag melanomának diagnosztizált esetből 8 volt 27E10 pozitív. A negatív esetek analízisa majd összevetése a rutin hisztológiai képpel azt mutatta, hogy a 27E10 expresszió egy nodularis, a vizsgált metszeten hámréteget nem mutató invazív melanomán kívül 4, a korai malignus melanomák csoportjába tartozó szöveti minta keratinocitáin nem jelentkezett. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a 27E10 csak invazív, hámrétegettel járó tumorokban jelenik meg a keratinociták felszínén. Másrészt a 4 további 27E10 negatív eset kapcsán felmerül a malignus irányba való téves diagnosztizálás lehetősége, melynek igazolására ill. elvetésére további vizsgálatokat tervezünk. A tumorok esetleges malignus kóris-mézése számos káros következménnyel járhat. Pl.: malignus diagnózis terápiás konzekvenciával jár ill. a rosszindulatú tumor felismerésének közlése a beteggel kancerofóbia eredetű pszichoszomatikus betegségeket indukálhat. A pigmentált daganatok „túldiagnosztizálása” malignus irányba nem újkeletű, *Paget* már 1864-ben megfigyelte, s felvetette, hogy többnyire azok a betegek panaszmentesek évekkel a melanoma műtete után, akiknél benignus léziót távolítottak el. De-

fenzív megfontolásból *Ackerman* és *McGovern* elfogadhatónak tartják, ha szöveti atipia esetén a diagnosztikus döntés malignus irányba történik. Előfordulhat ennek ellenkezője is, mikor mikroszkóposan vad, nyugtalan szöveti képet a klinikai adatok ismeretében benignusnak ítélnék meg (1, 7).

Eredményeink megerősítik azon törekvésünket, mely szerint egy olyan antitestekből álló panelt szükséges kidolgozni, amely segítségével a korai melanoma esetek biztosan felismerhetők. Keresni kell tehát azon markerek csoportját, melyek specifikusak a tumorra, továbbá érzékenyen jelzik a tumor környezetében a keratinocitákon, limfocitákon, makrofágokon bekövetkező változásokat. Ezen panel egyik hasznos tagja lehet a HMB-45 mellett a 27E10 makrofág marker.

IRODALOM

1. *Ackerman A.B.*: Pathology of Malignant Melanoma, New York, Masson (1981)
2. *Ahmed I. és mtsi.*: J. Cutan Pathol. 18, 257 (1991)
3. *Barnhill R. L.*: J. Cutan Pathol. 18, 147 (1991)
4. *Casso E. M., Grin-Jorgensen C.M., Grant-Kels J.M.*: J. Am. Acad. Dermatol. 27, 901 (1992)
5. *Gabrielsen T-Q., Brandtzaeg P., Hoel P. S., Dale I.*: Br. J. Dermatol. 118, 59 (1988)
6. *Lapis K.*: Orvosi Hetilap 133, 2747 (1992)
7. *McGovern V.I.*: Melanoma, Raven. Press Books Ltd., New York 445 (1983)
8. *Ruiter D.J. és mtsi.*: J. Invest. Dermatol. 85, 4 (1985)
9. *Simon M. Jr., Hunyadi J., Schlegel-Gomez R.*: J. Dermatol. 20, 618 (1993)
10. *Smoller B.R., Hsu A., Krueger J.*: J. Cutan. Pathol. 18, 315 (1991)
11. *Sorg C.*: Behring Inst Mitt 91, 126 (1992)

Érkezett: 1994. 11. 21. Közlésre elfogadva: 1995. 01. 20.