Grzegorz Rymkiewicz[1], Anna Pastwińska[3], Agnieszka Druzd-Sitek[2], Katarzyna Błachnio[1], Barbara Pieńkowska-Grela[3], Jan Walewski[2]

[1]Zakład Patologii, Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie
[2]Oddział Intensywnej Opieki Hemato-Onkologicznej Kliniki Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie
[3]Samodzielna Pracownia Cytogenetyki, Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Prekursorowy chłoniak śródpiersia z cechami dwukierunkowego różnicowania i translokacją t(10;11)(p12;q21)

Case report of mediastinal precusor lymphoma with myeloid and lymphoid lineage specific antigens coexpression and translocation t(10;11)(p12;q21)

Adres do korespondencji:
dr med. Grzegorz Rymkiewicz
Zakład Patologii, Centrum Onkologii,
Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Pracownia Cytometrii Przepływowej
ul. W.K. Roentgena 5, 02–781 Warszawa
tel.: (022) 546 27 49, faks: (022) 644 76 07
e-mail: grym@coi.waw.pl

STRESZCZENIE

Niniejsza praca przedstawia przypadek 22-letniej kobiety z nietypowym chłoniakiem prekursorowym śródpiersia z jądrową ekspresją transferazy końcowych dezoksynukleotydów (TdT) i cytoplazmatyczną ekspresją mieloperoksydazy (MPO) oraz brakiem cytoplazmatycznego cCD3 w 97% blastów, z cechami dwukierunkowego różnicowania. Tydzień przed przyjęciem do Centrum Onkologii w Warszawie ustalono rozpoznanie prekursorowego chłoniaka limfoblastycznego z limfocytów B (B-LBL). Pierwotne rozpoznanie ustalono na podstawie badania histopatologiczno-immunohistochemicznego (HP/IH), a ostateczne — chłoniaka prekursorowego o dwukierunkowym różnicowaniu z translokacją t(10;11)(p12;q21) — na bazie porównania wyników HP/IH, cytometrii przepływowej (FCM), klasycznych badań cytogenetycznych (prążkowych) i hybrydyzacji *in situ* (FISH). Za pomocą badania FISH wykazano rearanżację genu MLLT10(AF10) na 10. chromosomie, a brak rearanżacji w obrębie 2 najczęstszych „partnerów" translokacyjnych: CALM i MLL usytuowanych na chromosomie 11. Biopsję cienkoigłową (FNAB) guza śródpiersia przedniego i aspirację płynu z jamy opłucnej pod kontrolą tomografii komputerowej (CT) wykonano w celu pobrania materiału do badań FCM, cytogenetycznych i FISH.

Słowa kluczowe: TdT- i MPO-dodatni, cCD3-ujemny chłoniak prekursorowy śródpiersia, FISH, translokacja t(10;11)(p12;q21), rearanżacja genu MLLT10(AF10)

ABSTRACT

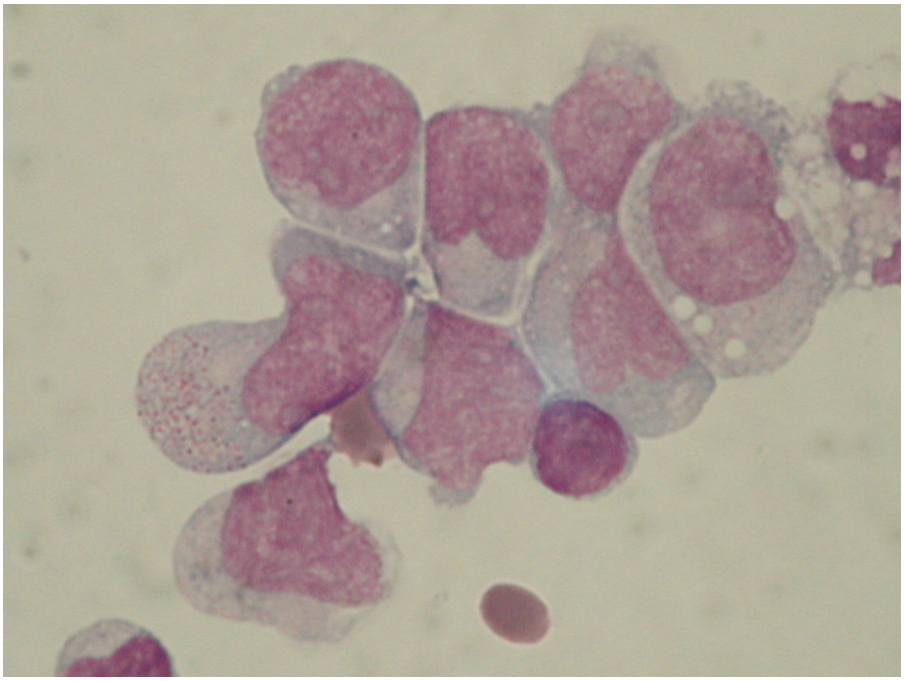
We report a case of 22-year-old female with unusual myeloperoxidase (MPO)-positive and cytoplasmatic (cCD3)-negative mediastinal precusor lymphoma with myeloid and lymphoid lineage specific antigens coexpression. One week before admission to our institution she was diagnosed with precursor B lymphoblastic lymphoma (B-LBL). Primary diagnosis was based on histopathology (HP) and immunohistochemistry (IH) only, however final diagnosis of terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-positive lymphoma of myeloid and T-cell lymphoid lineage with translocation t(10;11)(p12;q21) was made by correlation of HP/IH, flow cytometry (FCM), classic cytogenetic analysis and fluorescence in situ hybridization (FISH).Using FISH analysis, we showed, the MLLT 10(AF10) gene rearrangement (locus 10p12) and lack of the CALM (locus 11q14) and MLL (locus 11q23) genes rearrangement, which are considered the most frequent fusions partners of MLLT 10(AF10) gene. Fine needle aspiration biopsy (FNAB) of the mediastinal tumor and pleural fluid was performed by computed tomography (CT) guided procedure in order to obtain cells for a FCM, cytogenetic analysis and FISH.

Key words: TdT- and MPO-positive, cCD3-negative precusor lymphoma of mediastinum, FISH, translocation t(10;11)(p12;q21), MLLT10(AF10) gene rearrangement

Onkologia w Praktyce Klinicznej
Tom 1, nr 2, 120–127
Copyright © 2005 Via Medica
ISSN 1734–3542
www.opk.viamedica.pl

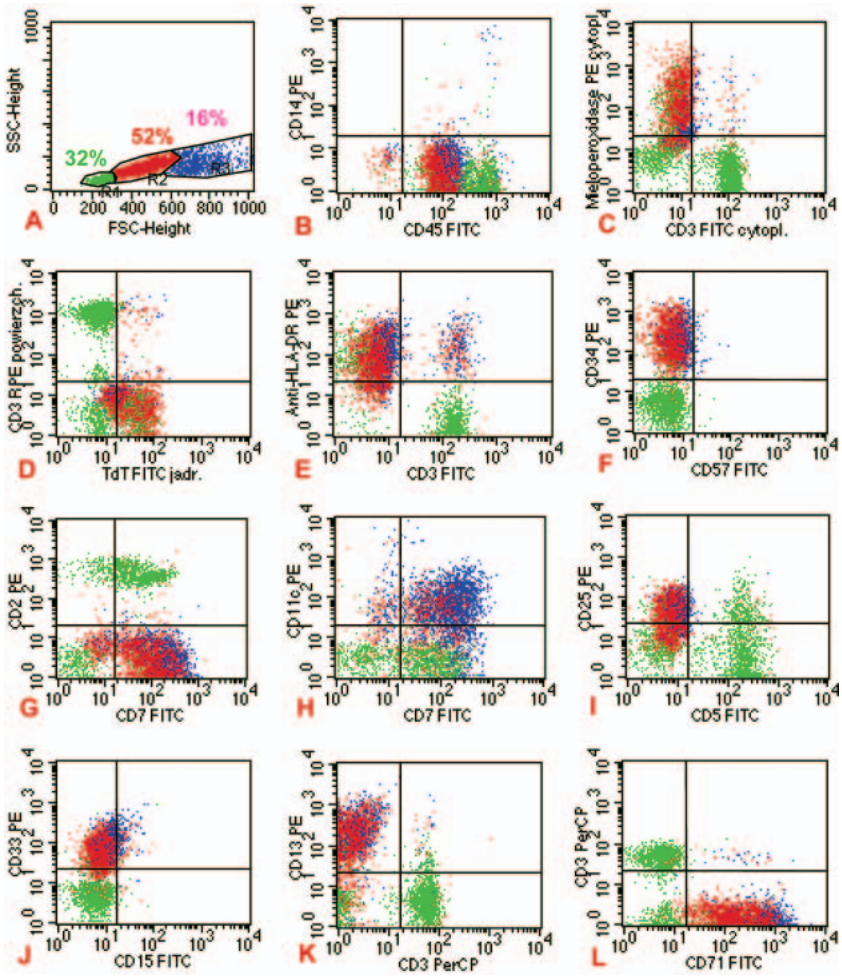
Opis przypadku

Dwudziestodwuletnia kobieta zgłosiła się do Kliniki Chorób Układu Chłonnego Centrum Onkologii w Warszawie w listopadzie 2004 roku z podejrzeniem prekursorowego chłoniaka limfoblastycznego z limfocytów (B-LBL, *B lymphoblastic lymphoma*), postawionym na podstawie badania HP wycinka z guzkowej zmiany w przestrzeni międzyżebrowej przedniej ściany klatki piersiowej. Za pomocą badań IH wykazano odczyny dodatnie: LCA, TdT i ogniskowo CD20 oraz brak odczynu CD3[1].
Kilka tygodni wcześniej chora odczuwała niewielkie bóle żeber oraz pojawiło się u niej zgrubienie w tkance podskórnej w okolicy mostka. W wykonanym wówczas badaniu radiologicznym klatki piersiowej stwierdzono obecność płynu w lewej jamie opłucnowej. Chorą skierowano na dalszą diagnostykę, podczas której pobrano wycinki z guzka i 3-krotnie ewakuowano płyn z opłucnej. W badaniu cytologicznym (CYT) płynu stwierdzono zwiększoną zawartość limfocytów, a preparaty HP z podejrzeniem rozpoznania B-LBL przesłano do konsultacji do Centrum Onkologii.
W chwili przyjęcia pacjentki do Centrum Onkologii, jej stan ogólny był dobry, skala wydolności (PS, *performance score*) — 0. W badaniu przedmiotowym zwracał uwagę płyn w lewej jamie opłucnowej sięgający do drugiego żebra, bez duszności spoczynkowej, tachykardia 100/min i obecność guzka 2 × 2 cm w okolicy mostka. Badania obrazowe (RTG i tomografia komputerowa [CT, *computed tomography*]) potwierdziły obecność płynu w jamie opłucnowej. Ponadto w badaniu CT stwierdzono guz śródpiersia przedniego o wymiarach 60 × 60 mm i zmiany węzłowe w przestrzeni zaotrzewnowej, sięgające od poziomu rozworu przełykowego do rozwidlenia tętnic nerkowych, największe o wymiarach 50 × 30 mm.W badaniach laboratoryjnych stwierdzono podwyższoną aktywność LDH 257 jm./l (norma ≤ 190) oraz niewielką hipoalbuminemię 31,3 g/l (norma ≥ 34), podwyższone stężenie fibrynogenu 5,37 g/l (norma ≤ 3,5) i D-dimerów 371 μg/l (norma ≤ 250). Morfologia krwi obwodowej była w normie. Nie stwierdzono cech zajęcia ośrodkowego układu nerwowego — płyn mózgowo-rdzeniowy wolny — pleocytoza 2/mm^3, ani szpiku kostnego — badanie HP prawidłowe. Materiał otrzymany do konsultacyjnego badania HP/IH okazał się zbyt skąpy i skoagulowany, a przez to niemiarodajny dla ustalenia ostatecznego rozpoznania — a jedynymi pewnymi odczynami były TdT oraz LCA.
W celu ustalenia rozpoznania wykonano biopsję cienkoigłową (FNAB, *fine needle aspiration biopsy*) guza śródpiersia pod kontrolą CT i pobrano płyn z jamy opłucnej. Stwierdzono w nim komórki nowotworowe odpowiadające średnim i dużym komórkom limfoidalnym w CYT i na wykresie FSC/SSC[2] w cytometrii przepływowej (FCM, *flow cytometry*) (ryc. 1, 2), które charaktery-



Rycina 1. Chłoniak prekursorowy. Rozmaz uzyskany z płynu z jamy opłucnej z dużymi blastami o równomiernie rozproszonej chromatynie, wyraźnych jąderkach i średnio obfitej niebiesko-szarej cytoplazmie. Widoczne wakuole cytoplazmatyczne i ziarnistości w pojedynczych komórkach

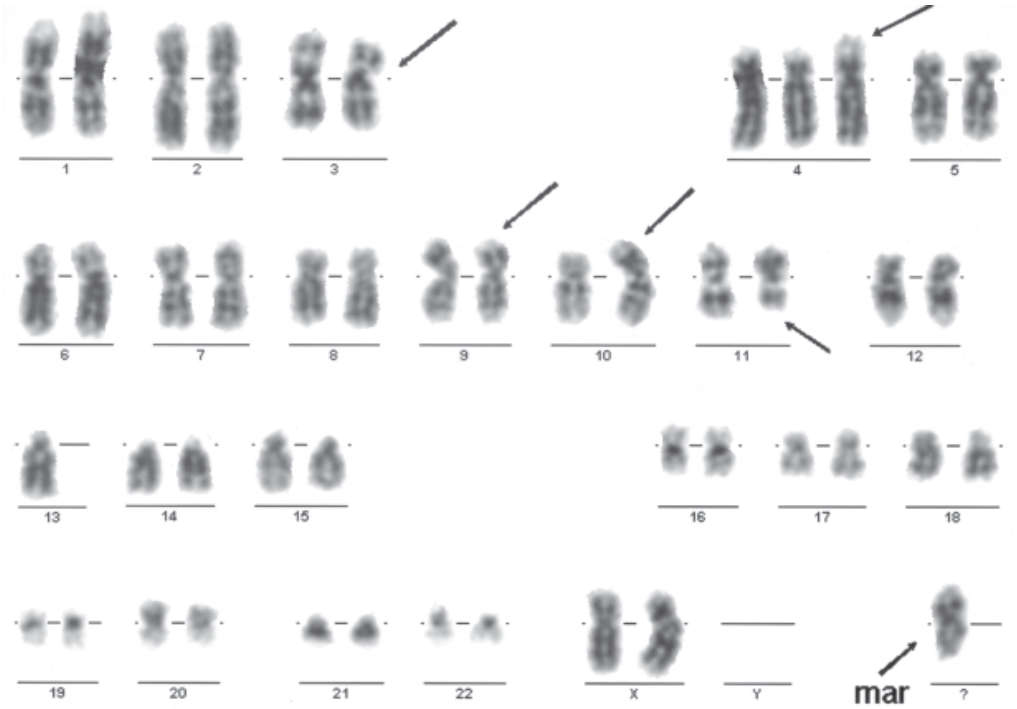
Figure 1. Precursor lymphoma. Pleural cavity fluid smear shows large blasts with finely dispersed chromatin, relatively prominent nucleoli and moderate amounts of blue-grey cytoplasm with vacuoles and granules in a few cells



Rycina 2. Analiza cytometryczna zawiesiny komórek nowotworowych (kk. Neo.) i prawidłowych limfocytów T (kk. T.) z płynu z jamy opłucnowej. A) Obraz FSS/SSC — widoczne są 3 grupy komórek różniących się między sobą wielkością: małe (zielone) — to kk. T, średnie (czerwone) i duże (niebieskie) — to kk. Neo. B) CD45 *vs.* CD14, kk. Neo. z niższą ekspresją CD45 niż kk. T. C) MPO *vs.* CD3, 97% kk. Neo. jest MPO+/cCD3–, 3% kk. Neo. jest MPO+/cCD3+. D) TdT *vs.* CD3, kk. Neo. są TdT+/CD3–, 3% kk. Neo. jest TdT+/CD3+. E) CD3 *vs.* HLADR, kk. Neo. są HLADR+. F) CD57 *vs.* CD34, kk. Neo. są CD34+. G) CD7 *vs.* CD2, kk. Neo. są CD7+/CD2–, kk. T. są CD7+/CD2+. H) CD7 *vs.* CD11c, kk. Neo. są CD7+/CD11c+, kk. T. są CD7+CD11c–. I) CD5 *vs.* CD25, kk. Neo. są CD25+/CD5–, kk. T. są CD5+/CD25–/+. J) CD15 *vs.* CD33, kk. Neo. są CD33+/CD15–. K) CD3 *vs.* CD13, 97% kk. Neo. jest CD13+/CD3–, 3% kk. Neo. jest CD13+/CD3+. L) CD71 *vs.* CD3, 100% kk. Neo. jest CD71+

Figure 2. FCM analyses of pleural fluid. **A)** FSS/SSC scattergram showing 3 different clusters of cells: small lymphocytes (green) — normal T cells (limf T.), intermediate (red) and large neoplastic cells (blue) — (Neo). **B)** CD45 *vs.* CD14 dot-plot showing weaker staning of CD45 on Neo. compared with limf T. **C)** MPO *vs.* cCD3, 97% of Neo. are positive only for MPO but 3% of Neo. are both MPO/cCD3 positive. D) TdT *vs.* CD3 showing TdT + /CD3– Neo. and small population (3%) with coexistence of TdT and CD3 antigens. **E)** CD3 vs. HLADR showing HLADR+ Neo. **F)** CD57 *vs.* CD34 showing CD34+ Neo. **G)** CD7 *vs.* CD2 showing CD7+/CD2– Neo. and doubly stained population consistent with limf T. **H)** CD7 *vs.* CD11c showing doubly stained Neo. and CD7+/CD11c– cells consistent with limf T. **I)** CD5 *vs.* CD25 showing CD5–/CD25+ Neo. and CD5+/CD25–/+ expression on limf T. **J)** CD15 *vs.* CD33 showing CD33 positive Neo. **K)** CD3 *vs.* CD13, 97% of Neo. are positive only for CD13 and the dual CD13/CD3 positive staning of 3% Neo. **L)** CD71 *vs.* CD3, 100% of Neo. are CD71 positive.

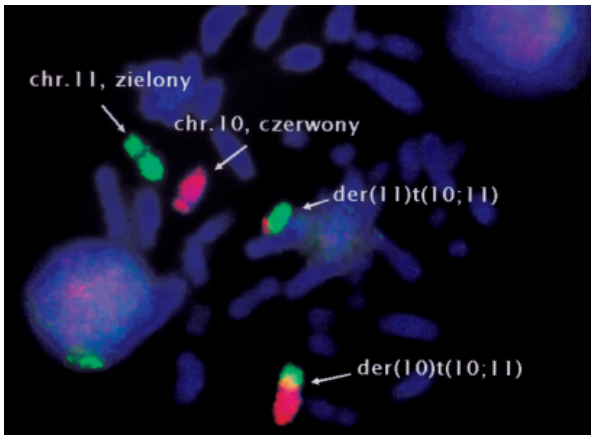
zowały się następującym fenotypem: CD45+, CD45RA+, MPO+, CD34+, CD38+, TdT+, HLADR+, CD7+, bcl-2+, CD44+, CD25+, CD33+, CD13+, CD11c+,CD71+++ na 100% i brakiem ekspresji cCD79α. Spośród blastów 97% nie posiadało cytoplazmatycznej ekspresji cCD3, a pozostałe 3% były cCD3+, MPO+ i sCD3+[3]. Blasty były negatywne na wszystkie antygeny pan-B oraz następujące antygeny pan-T: CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, i CD45RO oraz CD10, CD14 i CD15. W analizie FCM nie stwierdzono ekspresji receptora dla limfocytów T — TcR typu $\alpha\beta$ i $\gamma\sigma$. Analiza kariotypowa (ryc. 3) wykazała obecność



Rycina 3. Hiperdiploidalny kariotyp komórek z płynu z jamy opłucnej. Strzałki wskazują aberracje: delecję interstycjalną fragmentu krótkiego ramienia chromosomu 3., addycję materiału na krótkim ramieniu chromosomu 4., zmienioną kopię chromosomu 9., translokację zrównoważoną pomiędzy chromosomami 10. i 11. oraz niezidentyfikowany marker 47,XX,del(3)(p12p21), +add(4)(p16?),der(9),t(10;11)(p12;q21), –13,+mar

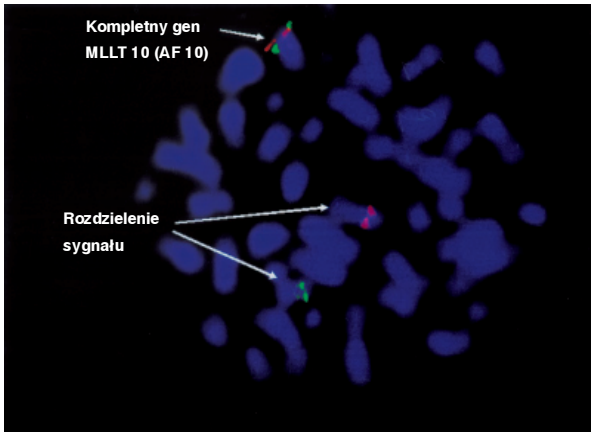
Figure 3. Hyperdiploid karyotype of the cell from pleural cavity fluid. Arrows show alterations: interstitial deletion of chromosome 3, addition material on chromosome 4, derivative of chromosome 9, balanced translocation t(10;11)(p12;q21) and unidentified marker

linii hiperdiploidalnej, obciążonej licznymi zmianami (45%) z towarzyszącymi komórkami cytogenetycznie prawidłowymi (55%). We wszystkich analizowanych metafazach z aberracjami stwierdzono obecność: delecji interstycjalnej fragmentu długiego ramienia chromosomu 3 — del(3)(q12q21), dodatkowej, zmienionej kopii chromosomu 4 — add(4)(p16), zmienionej kopii chromosomu 9 — der(9), translokacji wzajemnej t(10;11)(p12;q21) oraz niezidentyfikowanego markera. Analiza FISH z użyciem odpowiednich sond malujących (Appligene Oncor) potwierdziła obecność trzeciej kopii chromosomu 4 z dodatkowym materiałem nieznanego pochodzenia na krótkim ramieniu oraz utratę fragmentu długiego ramienia chromosomu 3, a także obecność translokacji t(10;11) (ryc. 4). W dalszej analizie FISH przy użyciu sond specyficznych genowo[4] (dzięki uprzejmości dr Włodarskiej, UK Leuven, Belgia) [1] wykazano rearanżację genu MLLT10(AF10)[5] zlokalizowanego na chromosomie 10 (ryc. 5), przy równoczesnym braku zaangażowania genów MLL[6] (locus 11q23) (Vysis) oraz CALM[7] (locus 11q14). Zastosowanie sondy BCR/ABL (Vysis) pozwoliło wykluczyć obecność fuzji BCR/ABL[8] w badanym materiale. Na podstawie danych



Rycina 4. Analiza FISH z użyciem sond malujących chromosom 10. (kolor czerwony) i chromosom 11. (kolor zielony) pokazująca translokację wzajemną t(10;11)(p21;q21). Strzałki wskazują partnerów translokacji:der(10)t(10;11) i der(11)t(10;11)

Figure 4. FISH with painting probes. Rhodamine-labeled DNA probe of chromosome 10 and green-labeled DNA probe of chromosome 11 showing balanced translocation t(10;11)(p12;q21). Arrows show derivatives of chromosome 10 and 11: der(10)t(10;11) and der(11)t(10;11)



Rycina 5. Analiza FISH z użyciem dwukolorowej sondy znakującej gen MLLT10(AF10). Kompletny (prawidłowy) gen wykazuje kolokalizację sygnałów czerwonego i zielonego na chromosomie 10 (locus 10p12.31). Rozdzielenie sygnałów wskazuje na pęknięcie w obrębie genu i przeniesienie jego dystalnego fragmentu na chromosom 11. — der(11)

Figure 5. FISH analysis with the dual red/green probe flanking MLLT1(AF10) gene. The red/green fusion signal indicates normal copy of the MLLT1(AF10) gene on the chromosome 10 (locus 10p12.31). The split signal indicates the gene rearrangement and translocation of distal part of MLLT1(AF10) gene on the chromosome 11

klinicznych i analizy fenotypu komórek nowotworowych oraz wyników badań cytogenetycznych i FISH ustalono rozpoznanie chłoniaka prekursorowego z cechami różnicowania szpikowego i wczesnej komórki progenitorowej tymocyta grasiczego. W grudniu 2004 roku pacjentka rozpoczęła leczenie według programu GMALL [2]. Po 6 tygodniach leczenia stwierdzono regresję zmian powyżej 50% (CT klatki piersiowej i jamy brzusznej). Terapię przerwano po 8 tygodniach z powodu leukopenii powikłanej masywnym zapaleniem płuc. Wdrożono antybiotykoterapię: cefalosporyny III generacji z oksazolidami (linezolid) i leczenie przeciwgrzybicze (kaspafungin). Chora była w bardzo ciężkim stanie wymagała amin presyjnych, żywienia pozajelitowego i wspomagania oddechu z powodu narastającej niewydolności oddechowej. Ze względu na wysoką gorączkę w okresie pancytopenii po chemioterapii początkowo podejrzewano zakażenie dróg oddechowych jako przyczynę ciężkiego stanu pacjentki, a zwłaszcza narastającej niewydolności oddechowej. Jednak w płynie uzyskanym dwukrotnie z jamy opłucnowej stwierdzono liczne komórki chłoniaka we wzrastającej liczbie. Po zastosowanym leczeniu przeciwdrobnoustrojowym i stopniowej poprawie hematologicznej ustąpiła gorączka, jednak wydolność oddechowa nie poprawiła się. Całość obrazu klinicznego wskazywała na progresję chłoniaka w opłucnej i w płucach. Ze względu na dobry efekt indukcji zdecydowano o ponownym podaniu doksorubicyny, winkrystyny i metyloprednizonu. Pacjentka 3-krotnie otrzymała te leki, ale nie uzyskano poprawy stanu ogólnego. W ciągu kolejnych dni narastała niewydolność oddechowa i zaburzenia rytmu serca. Zgon nastąpił w dniu 23 marca 2005 roku, około 5 miesięcy od wystąpienia pierwszych objawów klinicznych, w wyniku zatrzymania krążenia w mechanizmie asystolii.

Dyskusja

Pierwotne chłoniaki śródpiersia powstają w grasicy lub w węzłach chłonnych przedniego śródpiersia. Spośród chłoniaków grasicy najczęstszymi są: 1) klasyczny chłoniak Hodgkina (HLNS), 2) chłoniak/białaczka z prekursorowego limfocyta T/NK (T-LBL/ALL), 3) pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych limfocytów B (PMLBCL) i 4) pozawęzłowe chłoniaki strefy brzeżnej systemu MALT. Opisywano pojedyncze przypadki ostrej białaczki szpikowej (AML) z pierwotną prezentacją w śródpiersiu, najczęściej AML z różnicowaniem megakarioblastycznym oraz ostatnio opisany T-LBL z eozynofilią i t(8;13), któremu towarzyszy AML w szpiku kostnym [3]. Podział T-LBL/ALL na podtypy opiera się na porównaniu fenotypu komórek nowotworowych z etapami prawidłowego różnicowania tymocytów grasiczych. Natomiast rozróżnienie T-LBL i T-ALL opiera się jedynie na ocenie stopnia zajęcia szpiku [4]. W prezentowanym przypadku ustalono rozpoznanie chłoniaka prekursorowego TdT+, najbardziej zbliżonego do T-LBL ze względu na prezentację kliniczną guza śródpiersia bez zajęcia krwi i szpiku.

Dotychczas publikowane dane opisujące różnicowanie dwukierunkowe dotyczą głównie przypadków białaczek, a nie chłoniaków [5–12]. Wynika to z małego upowszechnienia badania FNAB/FCM, które umożliwia ocenę ekspresji zarówno antygenów powierzchniowych, jak również swoistych liniowo antygenów cytoplazmatycznych i jądrowych w chłoniakach [13–14]. Podobnie jak w przedstawionym przypadku, często rutynowa diagnostyka HP/IH może się okazać niewystarczająca do ustalenia ostatecznego rozpoznania w diagnostyce nowotworów prekursorowych [15]. W T-ALL z dwukierunkowym różnicowaniem blasty mają cechy morfologiczne i/lub immunofenotypowe, charakterystyczne dla linii szpikowej i limfatycznej lub obu linii limfoidalnych B- i T-komórkowych (*acute bilineal leukemia* lub *acute biphenotypic leukemia*) [5–8]. Około 15–20% dziecięcych T-ALL i nawet większy odsetek postaci dorosłych T-ALL posiada ekspresję powierzchniowych antygenów różnicowania szpikowego [16–18]. Jednak diagnostyka rozrostu opiera się na ocenie swoistych liniowo antygenów cytoplazmatycznych: cCD79α i cCD22 dla B-ALL/LBL,

cCD3 dla T-ALL/LBL i MPO dla AML [9, 12–13]. Tymocyt o fenotypie: CD34+, CD38+, HLADR+, CD33+, CD7+, CD45RA+, sCD3+, CD2–, CD5–, CD1a–, CD4–, CD8– stanowi najbardziej prymitywną komórkę hematopoetyczną w grasicy [19], która może się różnicować w limfocyty T, NK i komórki dendrytyczne [19–20]. Tymocyty CD4–/CD8– (podwójnie ujemne) są klasyfikowane na podstawie różnorodnej ekspresji CD44 i CD25 [21–23]. Blasty opisywanej pacjentki w 97% były MPO+, cCD3–, cCD79α– a pozostałe 3% MPO+, cCD3+ i CD79α–. Wraz z analizą ekspresji fenotypu antygenów powierzchniowych charakterystycznych dla komórek: progenitorowych grasicy — CD34+, CD38+, HLADR+, CD33+, CD7+,CD45RA+, sCD3+, CD2–, CD5–, CD1a–, CD4–, CD8–, CD25+ i CD44+ przed rearanżacją TCR [13, 19–23] i dla różnicowania szpikowego — CD33+,CD13+ i CD11c [9, 12–13] oraz jądrową ekspresją TdT, ostatecznie ustalono rozpoznanie chłoniaka prekursorowego z cechami różnicowania szpikowego i limfoidalnego, ontogenetycznie związanego z najwcześniejszymi postaciami T-LBL. Opisano nieliczne przypadki T-ALL/LBL o fenotypie CD7+, CD34+ z brakiem ekspresji cCD3 i CD2, tak jak u opisywanej pacjentki, oraz z potwierdzoną rearanżacją TCRσ na poziomie molekularnym i z obecnością genu fuzyjnego CALM-MLLT10(AF10) [24].

Analiza kariotypowa blastów [25] wykazała obecność licznych aberracji. Stwierdzono kariotyp: 47,XX, del(3)(q12q21),+add(4)(p16?),der(9), t(10;11)(p12;q21),–13,+mar. Równoległa analiza prążkowa i FISH pozwoliły na potwierdzenie punktów pęknięcia w translokacji t(10;11). Poprzez stwierdzenie rozdzielenia sygnałów dwukolorowej sondy hybrydyzującej z regionem genu MLLT10(AF10)(10p12.31) [1] wykazano rearanżację genu MLLT10(AF10) usytuowanego na krótkim ramieniu chromosomu 10p12. Badanie FISH z zastosowaniem sond znakujących geny: CALM(11q14.2) i MLL(11q23) wykluczyło zaangażowanie tych genów w translokację, wykazując równocześnie, iż punkt pęknięcia na chromosomie 11. znajduje się w obszarze pomiędzy punktami 11q14.2 a 11q23, co odpowiada rejonowi pęknięcia określonemu na podstawie analizy prążkowej. Rearanżację genu MLLT10(AF10) stwierdzano do tej pory w licznych nowotworach hematologicznych o zróżnicowanych fenotypach [24, 26–36]. Związany z rzadką, ale powtarzalną translokacją t(10;11)(p12-14;q14-21) gen fuzyjny CALM- MLLT10(AF10) występuje w T-LBL/ /ALL [24, 26, 29–31, 33] i jest uważany za najczęstszy gen fuzyjny w tej grupie nowotworów [24, 26]. Fuzja CALM- MLLT10(AF10) występuje również w białaczkach mieszanych (bifenotypowych) [26] i licznych postaciach AML [27, 29, 30, 35, 36]. Spośród 131 zbadanych T-ALL Asnafi z wsp. [24] znaleźli 12 przypadków (9%) z rearanżacją CALM- MLLT10(AF10), wykrytą dzięki RT-PCR[9] i/lub FISH, spośród których połowa posiadała translokację t(10;11), wykrywalną w klasycznej analizie prążkowej. MLLT10(AF10) może ulegać również fuzji z genem MLL położonym na chromosomie 11. Fuzja ta, której towarzyszy translokacja t(10;11)(p12;q23), jest spotykana przede wszystkim w AML [28, 34, 35]. We wszystkich 11 przypadkach białaczek mieszanych z fuzją CALM--MLLT10(AF10), które opublikowali Kumon i wsp. [26], prezentacja kliniczna choroby była taka sama jak u opisywanej pacjentki, charakteryzowała się mieszanym fenotypem z koekspresją antygenów limfoidalnych T i szpikowych, często z obecnością guza śródpiersia, i występowała u młodych osób. W przypadku opisywanej pacjentki autorzy nie wykryli rearanżacji genów: CALM (locus 11q14.2) oraz MLL (locus 11q23) na poziomie badania FISH. Można więc sądzić, że geny CALM i MLL usytuowane na chromosomie 11. nie są jedynymi partnerami fuzyjnymi genu MLLT10(AF10) w hematologicznych nowotworach wywodzących się z multipotencjalnych i bardzo wczesnych komórek prekursorowych grasicy. Dreyling i wsp. [35] u 10 badanych pacjentów z translokacją t(10;11) (p12-14;q13-21) znaleźli 1 przypadek z rearanżacją MLLT10(AF10) bez współistniejącej rearanżacji CALM i MLL oraz 2 przypadki bez zmian w wymienionych 3 genach.

Podsumowując, w pracy przedstawiono przypadek chłoniaka prekursorowego przedniego śródpiersia ontogenetycznie związanego z T-LBL, z cechami różnicowania szpikowego i wczesnego progenitora tymocyta grasiczego z translokacją t(10;11)(p12;q21). Za pomocą badania FISH wykazano rearanżację genu MLLT10(AF10) na chromosomie 10., a brak rearanżacji w obrębie 2 najczęstszych „partnerów" translokacyjnych: CALM i MLL usytuowanych na chromosomie 11. Przypadki dotychczas opisane w literaturze [24, 26, 35] o podobnej prezentacji klinicznej, fenotypie i zmianach genetycznych rokowały bardzo źle i wszystkie kończyły się zgonem. Przebieg choroby i wczesne niepowodzenie chemioterapii potwierdzają niekorzystne znaczenie rokownicze opisanych cech fenotypowych i kariotypowych w hematologicznych nowotworach wywodzących się z multipotencjalnych i bardzo wczesnych komórek prekursorowych.

Autorzy chcą również podkreślić znaczenie badań z użyciem FNAB/FCM, klasycznej cytogenetyki i FISH dla ustalenia rozpoznania. Materiał otrzymany do konsultacyjnego badania HP/IH okazał się niemiarodajny do ustalenia ostatecznego rozpoznania z powodu małej ilości i skoagulowania, a jedynymi pewnymi odczynami były TdT oraz LCA. Badanie HP/IH, mimo że nadal stanowi badanie rutynowe w diagnostyce chłoniaków, jest badaniem często niewystarczającym z uwagi na jego własne ograniczenia w diagnostyce nietypowych nowotworów prekursorowych zarówno w zakresie ustalenia ostatecznego rozpoznania, jak i oceny czynników prognostycznych.

Przypisy

[1] LCA — odczyn swoisty dla chłoniaków i części białaczek. Odczyny CD20 i CD3 — swoiste odpowiednio w kierunku linii B- i T-komórkowej.

[2] FSC/SCC — metoda oceny wielkości komórek (forward scatter) i ziarnistości cytoplazmatycznych (*side scatter*) w cytometrze przepływowym.

[3] sCD3 ekspresja CD3 na powierzchni tymocytów ontogenetycznie pojawia się później niż ekspresja cCD3.

[4] Dwie sondy wyizolowane z klonów bakteryjnych obejmujące gen MLLT10 (AF10) w regionie 10p12.31: RP11-418C1 (21.79-21.90 Mb) i RP11-399C10 (22.06-22.23 Mb) oraz jedna sonda wyizolowana z klonu bakteryjnego hybrydyzująca z genem PICAML w regionie 11q14.2: RP11-878G11 (85.32-85.51 Mb).

[5] MLLT10, dawniej nazywany AF10 — czynnik transkrypcyjny, występujący jako składowa genów fuzyjnych z MLL i CALM,

[6] MLL (*mixed-lineage leukemia gene*) — gen mieszanej linii białaczkowej.

[7] CALM (*clathrin assembly lymphoid myeloid leukemia gene*) — gen białaczki limfoidalno-szpikowej łączący klatrynę.

[8] Fuzja BCR/ABL odpowiadająca translokacji t(9;22) świadczy o obecności chromosomu Philadelphia-Ph1.

[9] RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*) — reakcja odwrotnej transkryptazy polimerazy łańcuchowej.

Piśmiennictwo

1. http://www.ensembl.org
2. Hoelzer D., Gökbuget N., Digel W. For the GMALL Study Group. Outcome of adult patients with T-lymphoblastic lymphoma treated according to protocols for acute lymphoblastic leukemia (ALL). Blood 2002; 99: 4379–4385.
3. Jaffe E.S., Harris N.L. Mediastinal lymphomas and haematopoietic neoplasms: Introduction. W: Travis W.D., Brambilla E., Müller-Hermelink H.K., Harris C.C. (red.). Pathology and Genetics of tumours of lung, pleura, thymus and heart. IARCPress: Lyon 2004: 221.
4. Brunning R.D., Borowitz M., Matutes E. i wsp. Precursor T lymphoblastic leukaemia/lymphoma (Precursor T-cell acute lymphoblastic leukaemia). W: Jaffe E.S., Harris N.L, Stein H., Vardiman J.W. (red.). Pathology and Genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARCPress: Lyon 2001: 115–117.
5. Hanson C.A., Abaza M., Sheldon S., Ross C.W., Schnitzer B., Stoolman L.M. Acute biphenotypic leukaemia: immunophenotypic and cytogenetic analysis. Br. J. Haematol. 1993; 84: 49–60.
6. Legrand O., Perrot J.Y., Simonin G. i wsp. Adult biphenotypic acute leukaemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and P-glikoprotein over-expression. Br. J. Haematol. 1998; 100: 147–155.
7. Matutes E., Morilla R., Farahat N. i wsp. Definition of acute biphenotypic leukemia. Haematologica. 1997; 82: 64–66.
8. Sulak L.E., Clare C.N., Morale B.A., Hansen K.L, Montiel M.M. Biphenotypic acute leukemia in adults. Am. J. Clin. Pathol. 1990; 94: 54–58.
9. No authors listed. The value of c-kit in the diagnosis of biphenotypic acute leukemia. EGIL (European Group of the Immunological Classification of Leukemias). Leukemia 1998; 12: 2038.
10. Kantarjian H.M., Hirsh-Ginsberg C., Yee G., Huh Y., Freireich E.J., Stass S. Mixed-lineage leukemia revisited: acute lymphocytic leukemia with myeloperoxidase-positive blasts by electron microscopy. Blood 1990; 76: 808–813.
11. Hurwitz C.A., Mirro J.Jr. Mixed-linege leukemia and asynchronous antigen expression. Hematol. Oncol. Clin. North. Am. 1990; 4: 767–794.
12. Kaplan S.S., Penchansky L., Stolc V., Contis L., Krause J.R. Immunophenotyping in the classification of acute leukemia in adults. Interpretation of multiple lineage reactivity. Cancer 1989; 63: 1520–1527.
13. Jennings D., Foon K.A. Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. Blood 1997; 90: 2863–2892.
14. Almasri N.M., Iturraspe J.A., Benson N.A., Chen M.G., Braylan R.C. Flow cytometric analysis of terminal deoxynucleotidyl transferase. Am. J. Clin Pathol. 1991; 95: 376–380.
15. Quintanilla-Martinez L., Zukerberg L.R., Ferry J.A., Harris N.L. Extramedullary tumors of lymphoid or myeloid blasts. The role of immunohistology in diagnosis and classification. Am. J. Clin. Pathol. 1995; 104: 431–443.
16. Kurec A.S., Belair P., Stefanu C., Barrett D.M., Dubowy R.L., Davey F.R. Significance of aberrant immunophenotypes in childhood acute lymphoid leukemia. Cancer 1991; 67: 3081–3086.
17. Sobol R.E., Mick R., Royston I. i wsp. Clinical importance of myeloid antigen expression in adult acute lymphoblastic leukemia. N. Eng. J. Med. 1987; 316: 1111–1117.
18. Pui Ch-H., Behm F.G., Singh B. i wsp. Myeloid-associated antigen expression lacks prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia treated with intensive multiagent chemotherapy. Blood 1990; 75: 198–202.
19. Asnafi V., Beldjord K., Boulanger E. i wsp. Analysis of TCR, pTα, and RAG-1 in T-acute lymphoblastic leukemias improves understanding of early human T-lymphoid lineage commitment. Blood 2003; 101: 2693–2703.
20. Res P., Martinez-Caceres E., Jaleco Cristina A. i wsp. CD34+CD38^{dim} cells in the human thymus can differentiate into T, natural killer, and dendritic cells but are distinct from pluripotent stem cells. Blood. 1996; 87: 5196–5206.
21. Kang J., Raulet D.H. Events that regulate differentiation of alpha beta TCR+ and gamma delta TCR+ T cells from a common precursor. Semin Immunol. 1997; 9: 171–179.
22. Capone M., Hockett R.D.Jr., Złotnik A. Kinetics of T cell receptor beta, gamma, and delta rearragements during adult thymic development: T cell receptor rearrangements are present in CD44(+)CD25(+) Pro-T thymocytes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998; 95: 12522–12527.
23. Gołąb J., Kamiński R. Dojrzewanie limfocytów. W: Gołąb J., Jakóbisiak M., Lasek W. (red.). Immunologia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002: 74–94.
24. Asnafi V., Radford-Weiss I., Dastugue N. i wsp. CALM-AF10 is a common fusion transcript in T-ALL and is specific to the TCR$\gamma\sigma$ lineage. Blood 2003; 102: 1000–1006.
25. Mitelman F. ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. S. Karger, Basel 1995.
26. Kumon K., Kobayashi H., Maseki N. i wsp. Mixed-lineage leukemia with t(10;11)(p13;q21): an analysis of AF10-CALM and CALM-AF10 fusion mRNAs and clinical features. Genes Chromosomes Cancer. 1999; 25: 33–39.
27. Nakamura F., Maki K., Arai Y. i wsp. Monocytic leukemia with CALM/AF10 rearrangement showing mediastinal emphysema. Am. J. Hematol. 2003; 72: 138–142.
28. Dreyling M.H., Martinez-Climent J.A., Zheng M., Mao J., Rowley J.D., Bohlander S.K. The t(10;11)(p13;q14) in the U937 cell line results in the fusion of the AF10 gene and CALM, encoding a new member of the AP-3 clathrin assembly protein family. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996; 93: 4804–4809.
29. Carlson K.M., Vignon C., Bohlander S., Martinez-Climent J.A., Le Beau M.M., Rowley J.D. Identification and molecular characterization of CALM/AF10 fusion products in T cell acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia. Leukemia 2000; 14: 100–104.
30. Bohlander S.K., Muschinsky V., Schrader K. i wsp. Molecular analysis of the CALM/AF10 fusion: identical rearrangements in acute myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia and malignant lymphoma patients. Leukemia 2000; 14: 93–99.
31. Narita M., Shimizu K., Hayashi Y. i wsp. Consistent detection of CALM-AF10 chimaeric transcripts in haematological malignancies with t(10;11)(p13;q14) and identification of novel transcripts. Br. J. Haematol. 1999; 105: 928–937.

32. Silliman C.C., McGavran L., Wei Q., Miller L.A., Li S., Hunger S.P. Alternative splicing in wild-type AF10 and CALM cDNAs and in AF10-CALM and CALM-AF10 fusion cDNAs produced by the t(10;11)(p13-14;q14-q21) suggests a potential role for truncated AF10 polypeptides. Leukemia 1998; 12: 1404–1410.
33. Kobayashi H., Hosoda F., Maseki N. i wsp. Hematologic malignancies with the t(10;11)(p13;q21) have the same molecular event and a variety of morphologic or immunologic phenotypes. Genes Chromosomes Cancer 1997; 20: 253–259.
34. Gore L., Ess J., Bitter M.A. i wsp. Protean clinical manifestations in children with leukemias containing MLL-AF10 fusion. Leukemia 2000; 14: 2070–2075.
35. Dreyling M.H., Schrader K., Fonatsch C. i wsp. MLL and CALM are fused to AF10 in morphologically distinct subsets of acute leukemia with translocation t(10;11): both rearrangements are associated with a poor prognosis. Blood 1998; 91: 4662—4667.
36. Abdou S.M., Jadayel D.M., Min T. i wsp. Incidence of MLL rearrangement in acute myeloid leukemia, and a CALM-AF10 fusion in M4 type acute myeloblastic leukemia. Leuk. Lymphoma 2002; 43: 89–95.