

Aus der Klinik für Dermatologie und Venerologie
des HELIOS-Klinikum Krefeld – Lehrkrankenhaus der Universität Aachen

DISSERTATION

C-Met-Expression bei kutanen Lymphomen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Minka Laturus-Chang
aus Düsseldorf

Datum der Promotion: 07.12.2018

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	13
1.1.	Überblick primär kutaner Lymphome	13
1.1.1	Mycosis fungoides (MF) und Varianten.....	18
1.1.2	Sézary-Syndrom (SS).....	21
1.1.3	Primär kutane CD30+ lymphoproliferative Erkrankungen, CD30+CTCL.....	22
1.1.4	Subkutanes Pannikulitisartiges T-Zell-Lymphom (SPTL).....	25
1.1.5	Aggressives zytotoxisches epidermotropes CD8+ T-Zell- Lymphom.....	26
1.1.6	Primär kutanes Follikelzentrumslymphom (PCFCL).....	28
1.1.7	Primär kutanes Marginalzonen-B-Zell-Lymphom (PCMZL).....	29
1.1.8	Primär kutanes diffus großzelliges B-Zell-Lymphom vom Bein Typ, (PCBLT).....	31
1.1.9	Blastäre Neoplasie der plasmazytoid dendritischen Zellen (BPDCN).....	32
1.2.	Aktueller Therapiestandard kutane Lymphome	33
1.3.	Der c-Met-Rezeptor und dessen Aktivierung	35
1.4.	Behandlungsoptionen bei soliden Tumoren mit c-Met Expression	42
1.5.	C-Met-Überexpression bei soliden Tumoren	46
1.6.	C-Met-Überexpression bei systemischen Lymphomen	46
1.7.	C-Met-Expression bei kutanen Lymphomen und Ziel dieser Studie	50
2.	Material und Methoden	51
2.1.	Patientenpopulation und Präparateauswahl	51

2.1.1	Einschlusskriterien.....	51
2.1.2	Ausschlusskriterien.....	52
2.2.	Immunhistochemische Untersuchung am histologischen Präparat und Bestimmung einer C-Met-Expression.....	52
2.3.	Auswertung der c-Met Expression.....	54
2.4.	Statistische Methodik.....	54
3.	Ergebnisse.....	56
3.1.	Auswertungen der Basisdaten der CBCL-Gruppe.....	56
3.2.	Auswertungen der Basisdaten der CTCL-Gruppe.....	58
3.3.	Auswertungen der c-Met-Expression in der CBCL-Gruppe.....	60
3.4.	Auswertungen der c-Met-Expression in der CTCL-Gruppe.....	63
3.5.	Assoziation der c-Met-Expression zu Alter und Geschlecht der Patienten sowie zu Tumorentität, -stadium und –prognose in der CBCL-Gruppe.....	66
3.6.	Assoziation der c-Met-Expression zu Alter und Geschlecht der Patienten sowie zu Tumorentität, -stadium und -prognose in der CTCL-Gruppe.....	68
4.	Diskussion.....	72
4.1.	Vergleich der Methodik.....	73
4.2.	c-Met-Expression in der Gruppe der CBCL-Patienten.....	74
4.3.	Korrelation der c-Met-Expression zu Tumor-, Lymphknoten -und Metastasierungsstadium sowie zur Mortalität in der CBCL-Gruppe.....	76
4.4.	Korrelation der c-Met-Expression zu Alter und Geschlecht der Patienten in der CBCL-Gruppe.....	79
4.5.	c-Met-Expression in der Gruppe der CTCL-Patienten.....	79
4.6.	Korrelation der c-Met-Expression zum TNM sowie zur Mortalität bei CTCL.....	80

4.7.	Korrelation der c-Met-Expression zu Geschlecht und Alter in der CTCL-Gruppe.....	82
4.8.	c-Met-Expression bei der BPDCN.....	82
4.9.	Ausblick: c-Met-Inhibition als mögliche Therapieoption kutaner Lymphome.....	83
5.	Zusammenfassung.....	86
6.	Literatur.....	87

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	<i>Abbildung</i>
ALK	<i>Anaplastische Lymphom Kinase</i>
ATP	<i>Adenosintriphosphat</i>
BCL	<i>B-cell-lymphoma</i>
BPDCN	<i>Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm</i>
CBCL	<i>Cutaneous B-cell-lymphoma</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
c-Met	<i>Mesenchymal-epithelial-transition factor</i>
CTCL	<i>Cutaneous T-cell-lymphoma</i>
DLBCL	<i>Diffuse large B-cell lymphoma (systemisch)</i>
EBV	<i>Ebstein Barr Virus</i>
EGF	<i>Epidermal growth factor</i>
EMT	<i>Epithel-to-mesenchymal-transition</i>
EORTC	<i>European Organisation for Research and Treatment Center</i>
HE	<i>Hämatoxylin Eosin Färbung</i>
HGF	<i>Hepatocyte growth factor</i>
HIF-1	<i>Hypoxia inducible factor-1</i>
HTLV+	<i>Human T-lymphotropic virus</i>
ISCL	<i>International Society of Cutaneous Lymphoma</i>
kDa	<i>Kilodalton</i>
KSHV	<i>Kaposi's sarcoma associated herpesvirus</i>

KZL	<i>Keimzentrumslymphom (systemisch)</i>
LyP	<i>Lymphomatoide Papulose</i>
MALT	<i>Lymphome des Mukosa-assoziierten lymphoiden Gewebes</i>
MF	<i>Mycosis fungoides</i>
Mum-1	<i>Multipl. myeloma Onkogen 1</i>
MZL	<i>Marginalzonenlymphom (systemisch)</i>
NK-Z	<i>natürliche Killerzellen</i>
PCACL	<i>Primary cutaneous anaplastic large cell CD30+ T-cell-lymphoma</i>
PCBLT	<i>Primary cutaneous diffuse large cellular B-cell lymphoma, leg type</i>
PCFCL	<i>Primary cutaneous follicular cell lymphoma</i>
PCMZL	<i>Primary cutaneous marginalzone B-cell lymphoma</i>
PEL	<i>Primary effusion lymphoma</i>
PTEN	<i>Phosphatase und Tensin Homolog</i>
SPTL	<i>Subcutaneous panniculitislike T-cell-lymphoma</i>
SS	<i>Sézary Syndrome</i>
TCL	<i>T-cell-lymphoma</i>
TPR	<i>translocated promoter region</i>
Tyr	<i>Tyrosin</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
ZNS	<i>Zentrales Nervensystem</i>

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	klinisches Bild einer Mycosis fungoides	19
Abbildung 2:	Histologisches Bild einer MF im Patch-Stadium.....	20
Abbildung 3:	Histologisches Bild einer folliculotropen MF	20
Abbildung 4:	Klinisches Bild eines Sézary-Syndroms	22
Abbildung 5:	Klinisches und histologisches Bild einer LyP	24
Abbildung 6:	Klinisches und histologisches Bild eines PCALCL	25
Abbildung 7:	Klinisches und rechts histologisches Bild eines SPTL	26
Abbildung 8:	Klinisches Bild eines aggressiven zytotoxischen epidermotropen CD8+ CTCL	27
Abbildung 9:	Histologisches Bild eines aggr. epidermotropen CD8+CTCL.....	28
Abbildung 10:	Klinisches und histologisches Bild eines PCFCL	29
Abbildung 11:	Klinisches Bild eines PCMZL	30
Abbildung 12:	Histologisches Bild eines PCMZLs	30
Abbildung 13:	Klinisches und histologisches Bild eines PCBLT	31
Abbildung 14:	Klinisches und histologisches Bild einer BPDCN	33
Abbildung 15:	Struktur des transmembranösen c-Met-Rezeptors	37
Abbildung 16:	Ligand des c-Met Rezeptors HGF.....	38
Abbildung 17:	Bild c-Met-Signalwege	40
Abbildung 18:	c-Met-Signalwege-Komplex mit Blockierungsmöglichkeiten	45
Abbildung 19:	U-Test nach Mann Whitney für stetige Variablen.....	55
Abbildung 20:	Chi-Quadrat-Test für dichotome Variablen	55
Abbildung 21:	exakter Test nach Fisher	55
Abbildung 22:	Histologie eines PCBLT, HE-Färbung und c-Met-Färbung	62
Abbildung 23:	Histologie eines PCFCL, HE-Färbung und c-Met-Färbung	62
Abbildung 24:	Histologie eines PCMZL, HE-Färbung und c-Met-Färbung.....	63
Abbildung 25:	c-Met-Färbung eines Sézary Syndroms (SS).....	64
Abbildung 26:	c-Met-Färbung eines SPTL.....	64
Abbildung 27:	Histologie einer MF, HE-Färbung und c-Met-Färbung	65
Abbildung 28:	Histologie einer MF, HE-Färbung und c-Met-Färbung	65

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	modifizierte WHO-EORTC-Einteilung der primär kutanen Lymphome nach Entität und Prognose	14
Tabelle 2:	ISCL/EORTC-Revision der Klassifikation und Stadieneinteilung der MF und des SS.....	16
Tabelle 3:	ISCL/EORTC-Vorschlag zur TNM-Klassifikation kutaner Lymphome mit Ausnahme der Mycosis fungoides und des Sézary-Syndroms.....	17
Tabelle 4:	Häufigkeit der c-Met-Expression sowie Mutations- und Amplifikationsraten des MET-Gens bei verschiedenen Neoplasien.....	41
Tabelle 5:	Tabellarische Zusammenfassung der wichtigsten Literaturstellen zu dem Thema c-Met-Positivität bei systemischen Lymphomen.....	49
Tabelle 6:	Antikörper für die immunhistochemische Lymphomdiagnose	53
Tabelle 7:	Statistische Auswertungen klinischer Daten der CBCL-Gruppe	56
Tabelle 8:	Charakteristika der Patienten mit PCBLT	57
Tabelle 9:	Charakteristika der Patienten mit PCFCL und PCMZL	58
Tabelle 10:	Charakteristika der CTCL-Gesamtgruppe.....	59
Tabelle 11:	Charakteristika der Patienten mit Mycosis fungoides.....	60
Tabelle 12:	Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CBCL-Gesamtgruppe (n=26)	61
Tabelle 13:	Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CBCL-Untergruppe mit PCBLT	61
Tabelle 14:	Anteil der Tumorzellen (%) mit c-MET-Expression in der CBCL-Untergruppe mit PCFCL und PCMZL.....	62
Tabelle 15:	Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CTCL-Gesamtgruppe.....	63
Tabelle 16:	Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CTCL-Untergruppe mit Mycosis fungoides	64
Tabelle 17:	Zusammenhang der c-Met-Überexpression mit Patienten und Tumorcharakteristika in der CBCL-Gesamtgruppe	67

Tabelle 18:	Zusammenhang der c-Met-Expression mit Patienten und Tumorcharakteristika in der CBCL-Untergruppe mit PCFCL und PCMZL.....	68
Tabelle 19:	Zusammenhang der c-Met-Expression mit Patienten und Tumorcharakteristika in der CTCL-Gesamtgruppe	70
Tabelle 20:	Zusammenhang der c-Met-Expression mit Patienten und Tumorcharakteristika in der CTCL-Untergruppe mit MF	71

Abstrakt

Einleitung

C-Met ist ein membranständiger Tyrosinkinase-Rezeptor. Er kommt physiologisch, z.B. während der Organogenese und Wundheilung, aber auch bei malignen Neoplasien vor. Bei Tumoren führt eine c-Met-Aktivierung unter anderem zu einem unkontrollierten Zellwachstum, Angiogenese sowie zu verbesserten Metastasierungsbedingungen. Über eine c-Met Blockade lassen sich potentiell c-Met positive Tumoren in ihrem Wachstum hemmen.

Bislang ist – soweit der Autorin bekannt - weder die Analyse einer c-Met-Expression noch ein Therapieansatz über eine c-Met-Blockade bei primär kutanen Lymphomen beschrieben. In der vorgestellten Studie wird die Häufigkeit einer vermehrten c-Met-Expression bei primär kutanen Lymphomen sowie dessen Assoziation zu klinischen Merkmalen untersucht.

Material und Methode

Es wurden 48 Patienten mit CTCL und 26 mit CBCL aus dem Kollektiv der Hautklinik des Helios Klinikums Krefeld auf eine c-Met-Überexpression untersucht. Hierfür wurde an den formalinfixierten Tumorpräparaten die c-Met-Expression immunhistochemisch dargestellt. In bivariaten Analysen wurde der Zusammenhang der c-Met-Überexpression mit Patienten-charakteristika (Alter, Geschlecht), klinischen Merkmalen (Tumorentität und –stadium), sowie dem Therapieverlauf (Mortalität) untersucht.

Ergebnisse

Der Anteil mit einer vermehrten c-Met-Expression betrug bei Patienten mit CBCL 50% (13/26). Die c-Met-Überexpression war in dieser Patientengruppe mit höherem Alter und Tumorstadium sowie der aggressiven Subentität des diffus großzelligen CBCL vom Beintyp assoziiert ($p=0,006$, $p=0,018$ und $p=0,015$). Bei den Patienten mit CTCL gab es in 79,2% (38/48) aller Fälle eine vermehrte c-Met-Expression, wobei vor allem die Entitäten Sézary-Syndrom (SS), subkutan pannikulitsartiges CTCL (SPTL) und hämatodermische Neoplasie (BPDCN) mit jeweils 100% (6/6, 3/3, 4/4) und die größte Subgruppe

mit Mycosis fungoides mit 74,1% (20/27) betroffen waren. Zudem gab es in der CTCL-Gesamtgruppe einen signifikanten Zusammenhang der c-Met-Positivität mit dem weiblichen Geschlecht ($p=0,009$).

Zusammenfassung

Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass c-Met bei kutanen Lymphomen insbesondere bei den aggressiveren Varianten, wie z.B. dem PCBLT oder der BPDCN, signifikant überexprimiert ist. Weitere Studien sollten daher die medikamentöse c-Met Inhibition als potentiell therapeutischen Ansatz bei diesen seltenen und schwer zu behandelnden Entitäten prüfen.

Abstract

Background

C-Met is a transmembrane receptor tyrosine kinase that is expressed physiologically during organogenesis and wound healing but also in many neoplasias. Activation of c-Met has been linked to tumor cell progression, angiogenesis and dissemination. Blockade of c-Met positive neoplasm can inhibit tumor growth.

To our knowledge, until now there are no published data about c-Met expression in cutaneous lymphoma. The aim of this study was to evaluate the frequency of c-Met positivity in cutaneous lymphomas and its relationship to clinical characteristics.

Material and Methods

We analyzed c-Met-expression in 74 paraffin embedded tissue samples taken from patients with cutaneous T- or B-cell lymphomas (CBCL, n=26; CTCL, n=48) using immunohistochemistry. We performed evaluation of c-Met expression and correlated these findings with patient and tumor characteristics retrospectively by bivariate statistical tests.

Results

Strong c-Met expression was found in 50% (13 of 26) of patients with CBCL. There was a significant association with higher age, T-staging and the aggressive primary cutaneous large B-cell lymphoma, leg type ($p=0,006$, $p=0,018$ and $p=0,015$) respectively. Patients with CTCL showed strong c-Met expression in 79,2% (38 of 48), whereupon especially the entities Sézary Syndrome (SS, n=6), subcutaneous panniculitislike CTCL (SPTL, n=3) and hematodermic Neoplasia (BPDCN, n=4) had a c-Met positive rate of 100%. The biggest subgroup with Mycosis fungoides (MF, n=27) were in 74,1% c-Met positive. Moreover we found in the CTCL-group a significant association of c-Met positivity with female gender ($p=0,009$).

Conclusion

This study provides evidence that strong c-Met expression is present in most cases of cutaneous lymphoma. The aggressive subtypes in particular were highly associated with c-Met expression. Further studies are needed to determine the role of c-Met inhibitors as a potential therapeutic option in these cases.

1. Einleitung

1.1. ÜBERBLICK PRIMÄR KUTANER LYMPHOME

Primär kutane Lymphome zählen trotz steigender Inzidenz, mit etwa einer Neuerkrankung pro Jahr und 100.000 Einwohner zu den seltenen Erkrankungen. Nach den gastrointestinalen Lymphomen gehören sie zu den häufigsten extranodalen Non-Hodgkin-Lymphomen (1,2,3,4). Primär kutane Lymphome sind maligne Proliferationen lymphatischer Zellen, die sich zum Zeitpunkt der Erstdiagnose primär in der Haut manifestieren. Sekundär kutane Lymphome stellen hingegen Absiedlungen systemischer Lymphome in der Haut dar (1,5). 73% der primär kutanen Lymphome sind kutane T-Zell-Lymphome (cutaneous T-cell-lymphoma: CTCL), ca. 22% kutane B-Zell-Lymphome (cutaneous B-cell-lymphoma: CBCL) und weniger als 10% kutane Lymphome, die weder von B- noch T-Lymphozyten, sondern von natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) oder anderen Vorläuferzellen ausgehen (1,2,3,4,5). Primär kutane Lymphome stellen sowohl hinsichtlich der Klinik und Histologie als auch hinsichtlich der indizierten Therapiemaßnahmen und Prognose eine heterogene Gruppe dar und unterscheiden sich deutlich von systemischen Lymphomen (1,3,4,5).

Ähnlich wie bei systemischen Lymphomen wird auch bei primär kutanen Lymphomen zwischen Entitäten mit guter, mäßiger und schlechter Prognose differenziert. Gemäß der aktuellen Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization: WHO) und der European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) lassen sich primär kutane Lymphome systematisch, wie in Tabelle 1 dargestellt, nach Entität und Prognose einteilen.

Tabelle 1: modifizierte WHO-EORTC-Einteilung der primär kutanen Lymphome nach Entität und Prognose

	Kutane T-Zell-Lymphome (CTCL) und NK-Zell-Lymphome	Kutane B-Zell-Lymphome
Gute Prognose	<ul style="list-style-type: none"> - Mycosis fungoides (MF) - MF-Variante: pagetoide Retikulose - CD30+ lymphoproliferative Erkrankungen: Lymphomatoide Papulose (LyP) und Primär kutanes anaplastisches großzelliges Lymphom (PCALCL) - Primär kutanes klein-mittelgroßzelliges pleomorphes T-Zell-Lymphom - Subkutanes pannikulitisartiges T-Zell-Lymphom (ohne Hämophagozytose) (SPTL) 	<ul style="list-style-type: none"> - Primär kutanes Follikelzentrumslymphom (PCFCL) - Primär kutanes Marginalzonen-B-Zell-Lymphom (PCMZL)
Mäßige Prognose	<ul style="list-style-type: none"> - Sézary-Syndrom (SS) - Follikulotrope MF und granulomatous slack skin/granulomatöse MF (Varianten der MF) - Adulte T-Zell-Leukämie /- Lymphom (HTLV+) - <i>Primär kutanes CD4+ klein- bis mittelgroßzellige T-Zell-Proliferation</i> - <i>Primär kutanes akrales CD8+ T-Zell-Lymphom</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Primär kutanes diffuse-großzelliges B-Zell-Lymphom, Bein-Typ (PCBLT) - <i>EBV-positives mukokutanes Ulkus</i> - EBV+ diffus-großzelliges B-Zell-Lymphom, nicht weiter spezifiziert
Schlechte Prognose	<ul style="list-style-type: none"> - Extranodales NK/T-Zell-Lymphom, nasaler Typ - <i>Aggressives zytotoxisches epidermotropes CD8+ T-Zell-Lymphom</i> - Primär kutanes γ/δ-T-Zell-Lymphom - SPTL mit Hämophagozytose 	<ul style="list-style-type: none"> - Primär kutanes intravaskuläres großzelliges B-Zell-Lymphom <p>Hämatologische Vorläuferneoplasie:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Blastäre Neoplasie der plasmazytoiden dendritischen Zellen (BPDCN)

(modifiziert nach der aktuellen S2k-Leitlinie - Kutane Lymphome (ICD 10 C82-C86) Update 2016, *kursiv gedruckt sind provisorische Entitäten*)

Des Weiteren existiert eine aktuelle Stadieneinteilung primär kutaner Lymphome durch eine TNM-Klassifikation nach dem Vorschlag der International Society of Cutaneous Lymphoma (ISCL) (1,5). Für die Subentitäten Mycosis fungoides (MF) und Sézary-Syndrom (SS) ist hierbei eine gesonderte TNM-Einteilung

vorgesehen, die im Gegensatz zu der Stadieneinteilung aller anderen kutanen Lymphome ebenfalls die Monoklonalitätsanalyse der atypischen Lymphozyten im Blut sowie im Lymphknoten beinhaltet (1,4). Diese Stadieneinteilung der MF und des SS dient unter anderem auch zur Einschätzung der Prognose des jeweiligen Erkrankungsstadiums. Die SS und die MF werden gemäß der aktuellen S2k-Leitlinie für kutane Lymphome nach dem in Tabelle 2 dargestellten Schema eingeteilt.

Tabelle 2: ISCL/EORTC-Revision der Klassifikation und Stadieneinteilung der MF und des SS

Kategorie	Definition
T: Haut	
T1	Makulae, Papeln und Plaques $\leq 10\%$ der Hautoberfläche a) Makulae b) Plaque +/- Makulae
T2	Makulae, Papeln und Plaques $> 10\%$ der Hautoberfläche a) Makulae b) Plaque +/- Makulae
T3	Ein oder mehrere Tumore ($\geq 1\text{cm}$)
T4	Erythrodermie ($\geq 80\%$ der Körperoberfläche)
N: Lymphknoten	
N0	Keine Lymphknoten palpabel
N1	Palpable Lymphknoten; histologisch kein Anhalt für CTCL a) Klon negativ b) Klon positiv
N2	Palpable Lymphknoten; histologisch geringe Infiltrate eines T-Zell-Lymphoms a) Klon negativ b) Klon positiv
N3	Palpable Lymphknoten; histologisch ausgedehnte Infiltrate eines T-Zell-Lymphoms, Klon positiv oder negativ
Nx	Klinisch abnormale Lymphknoten, keine histologische Bestätigung
B: peripheres Blut	
B0	Keine atypischen Lymphozyten im peripheren Blut ($< 5\%$) a) Klon negativ b) Klon positiv
B1	Atypische Lymphozyten im peripheren Blut ($\geq 5\%$) a) Klon negativ b) Klon positiv
B2	Hohe Tumorlast ($\geq 1.000/\text{ml}$ Sézary-Zellen mit klonaler T-Zellrezeptorumlagerung)
M: viszerale Organe	
M0	Keine Beteiligung viszeraler Organe
M1	Histologisch gesicherte viszerale Beteiligung mit Organspezifisierung

Auszug aus der aktuellen S2k-Leitlinie - Kutane Lymphome (ICD 10 C82-C86) Update 2016

Die anderen primär kutanen Lymphome werden ebenfalls nach einem ISCL-Vorschlag, wie in Tabelle 3 dargestellt, eingeteilt.

Tabelle 3: ISCL/EORTC-Vorschlag zur TNM-Klassifikation kutaner Lymphome mit Ausnahme der Mycosis fungoides und des Sézary-Syndroms

Kategorie	Definition
T: Haut	
T1	Solitäre Hautbeteiligung a) Solitäre Läsion <5 cm Durchmesser b) Solitäre Läsion >5 cm Durchmesser
T2	Regionäre Hautbeteiligung multipler Hautläsionen begrenzt auf eine Körperregion oder zwei zusammenhängende Körperregionen a) Befall begrenzt auf <15 cm Durchmesser b) Befall zwischen 15 – 30 cm Durchmesser c) Befall > 30 cm Durchmesser
T3	Generalisierter Hautbefall a) Multiple Hautläsionen verteilt auf 2 nicht zusammenhängende Körperregionen b) Multiple Hautläsionen >3 Körperregionen
N: Lymphknoten	
N0	Keine klinische und pathologische LK-Beteiligung
N1	Beteiligung einer peripheren LK-Region, die zum Abflussgebiet der laufenden und / oder früheren Hautbeteiligung zählt
N2	Beteiligung von 2 oder mehr peripheren LK-Regionen oder Beteiligung anderer LK-Regionen, die nicht im Abflussgebiet der Hautbeteiligung liegen
N3	Beteiligung zentraler Lymphknoten
M: viszerale Organe	
M0	Keine Evidenz für extrakutane Beteiligung
M1	Extrakutane Organbeteiligung, außer Lymphknoten

Auszug aus der aktuellen S2k-Leitlinie - Kutane Lymphome (ICD 10 C82-C86) Update 2016

Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die neue Stadieneinteilung primär kutaner Lymphome ohne MF und SS keine Aussage über die Prognose macht, sondern lediglich die Größenausdehnung der Erkrankung widerspiegelt (1).

Im Folgenden werden die primären CTCL und CBCL im Detail erläutert, die im Rahmen dieser Arbeit auf eine c-Met-Expression (Met = Mesenchymal-epithel-transition factor) untersucht wurden. Weitere seltene Varianten kutaner Lymphome sind für diese Arbeit nicht relevant.

1.1.1 Mycosis fungoides (MF) und Varianten

Die MF ist mit einer Inzidenz von 0,5–1 Neuerkrankungen pro Jahr und 1.000.000 Einwohnern das häufigste primär kutane Lymphom. Die Erkrankung tritt vornehmlich in der fünften bis sechsten Lebensdekade auf. Männer sind etwa doppelt so häufig betroffen wie Frauen (Frauen:Männer = 1:1,6–1:1,8) (1,2,3,4,6).

Klinisch ist die klassische MF durch langsam progrediente, zunächst ekzematös erscheinende, oft unscharf begrenzte Erytheme gekennzeichnet, die zumeist eine charakteristische zigarettenpapierartige Fältelung und feinlamelläre Schuppung aufweisen (siehe Abbildung 1) (3,4,9). Aufgrund des zu Beginn relativ unspezifischen Bildes sind initiale Fehldiagnosen häufig (4). Im Verlauf kann es bei einem Teil der Betroffenen zu einer zunehmenden Infiltration der Hautläsionen bis hin zu der Entwicklung von teilweise exulzierenden Tumoren im Endstadium der Erkrankung kommen. Dieser Verlauf gestaltet sich oftmals langsam über Jahre bis Jahrzehnte. Nach einer, zunächst blande verlaufenden, Klinik tritt im Tumorstadium in einigen Fällen Fieber sowie ein reduzierter Allgemeinzustand auf (3). Eine kurzweilige Lymphknotenschwellung kann in den initialen Stadien reaktiv bedingt sein, während persistierende, indurierte und deutlich vergrößerte Lymphknoten oft für einen Befall des Lymphoms sprechen (2,3). Ein langsam progredienter, stadienhafter Verlauf bis zum Tumorstadium ist jedoch nicht zwangsläufig. Einige Patienten befinden sich schon zu Beginn der Erkrankung im Tumorstadium; umgekehrt verbleibt die Erkrankung bei über 80% der Betroffenen in einem initialen Stadium, ohne in ein Tumorstadium überzugehen (1,3,5).

Die Prognose ist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 75-96% sehr gut und unterscheidet sich in den initialen Stadien nicht von der Vergleichspopulation mit gleichem Alter, Geschlecht und Herkunft (6,7). Mit zunehmendem Krankheitsstadium sowie bei einer systemischen Beteiligung verschlechtert sich die Prognose jedoch (6). Darüber hinaus konnten mehrere Studien nachweisen, dass die MF sowie das SS mit einem erhöhten Risiko assoziiert ist, andere Neoplasien – allem voran andere Lymphome aber auch urogenitale Neoplasien oder zum Teil Melanome - zu entwickeln (7).



Abbildung 1: klinisches Bild einer Mycosis fungoides im Plaque- (oben links), Patch- (oben rechts) und Tumorstadium (unten)

Histologisch lässt sich der stadienhafte Verlauf durch atypische Lymphozyten nachvollziehen, die zunehmend die Epidermis durchwandern und sich zum Teil in den charakteristischen intraepidermalen Pautrier-Mikroabszessen ansammeln (2,3,4,5,8,9) – siehe Abb. 2. Auch in der Histologie ist jedoch das Bild zu Beginn der Erkrankung recht unspezifisch, da sich der Epidermotropismus lediglich durch vereinzelte Lymphozyten (sogenannter Einzelzell-Epidermotropismus) bemerkbar macht (3,4,5,8,9). Weitere histologische Zeichen sind eine unregelmäßige Akanthose, fokale Para- und Hyperkeratose, Verbreiterung der Reteleisten und gelegentlich ein leichtes Ödem oder eine Fibrose im Stratum papillare des Koriums (3,5,10). Immunpathologisch wird die Diagnose durch CD3+, CD4+ und CD2+ T-Lymphozyten gestützt, die in den meisten Fällen CD8 negativ sind (3,5,8,9). Die oben genannten histologischen Charakteristika können durch eine vorangegangene externe Steroidbehandlung verschleiert werden.

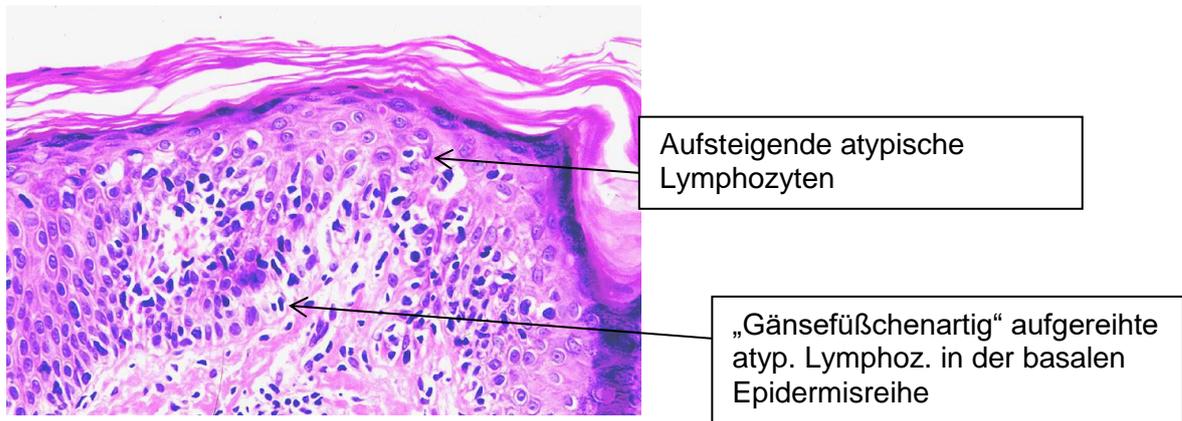


Abbildung 2: Histologisches Bild (HE, x100) einer MF im Patch-Stadium mit aufsteigenden atypischen Lymphozyten in der Epidermis sowie teilweise „gänsefüßchenartig“ aufgereihete atypische Lymphozyten in der basalen Epidermis-Zellreihe (sogenanntes „lining“)

Bei der folliculotropen MF, der häufigsten Sonderform der MF, treten klinisch typische folliculäre Papeln auf, die zu größeren Plaques konfluieren können (siehe Abbildung 3). Histologisch ist in diesen Fällen eine Einwanderung der atypischen Lymphozyten bevorzugt in den Haarfollikeln (2,3,4,5) und meist eine muzinöse Degeneration des Follikels zu erkennen (sogenannte MF-assoziierte Mucinosis follicularis). Klinisch ist die folliculotrope MF im Gegensatz zu der klassischen MF mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 60% als ein kutanes Lymphom mäßiger Prognose einzuschätzen (1,3,4,5).

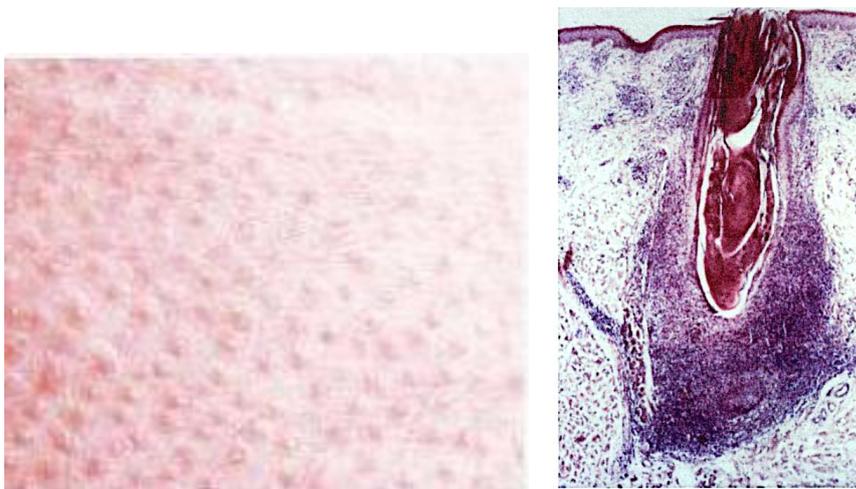


Abbildung 3: Links klinisches und rechts histologisches Bild (HE, x50) einer folliculotropen MF

Die granulomatöse MF, auch „granulomatous slack skin“ genannt, präsentiert sich klinisch durch meist hyperpigmentierte Herde. Histologisch lassen sich dichte granulomartige lymphozytäre Infiltrate mit typischen mehrkernigen Riesenzellen erkennen. Bei diesen Riesenzellen lassen sich eine Elastophagozytose sowie eine Phagozytose von Lymphozyten nachweisen (3,4,5,9). Auch die granulomatöse MF hat mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 60% eine schlechtere Prognose als die klassische MF.

1.1.2 Sézary-Syndrom (SS)

Das durch die klinische Trias Erythrodermie, Lymphknotenschwellung und palmoplantare Hyperkeratose gekennzeichnete SS (siehe Abb. 4) ist eine Neoplasie des höheren Lebensalters (5.-7. Lebensdekade) (2,3,5). Weitere Charakteristika sind eine häufig auftretende starke Infiltration der Haut, eine Pigmentierungsneigung (Melanoerythrodermie), eine diffuse Alopezie sowie Onychodystrophie und die typische „facies leonina“ mit einer deutlichen entzündlichen Infiltration der Gesichtshaut (3,5). Der Leidensdruck bei dieser Erkrankung wird hauptsächlich durch den generalisierten quälenden Juckreiz bestimmt (3,4,11). Die monoklonale T-Zell-Population lässt sich nicht nur in der Haut, sondern auch im Blut – als sogenannte Sézary-Zellen – nachweisen (3,4,5). Ab 1.000 Sézary-Zellen pro Milliliter peripheres Blut erhärtet sich die Diagnose eines SS (3,5,8). Beim Auftreten der typischen klinischen Trias und Sézary-Zellen unter 1.000 pro Milliliter Blut spricht man vom „Prä-Sézary-Syndrom“. Die Sézary-Zellen im peripheren Blut korrelieren mit dem Krankheitsverlauf. Weitere laborchemische Kriterien sind eine erhöhte CD4/CD8-Ratio über 10 (Norm <2), der Monoklonalitätsnachweis der im Blut zirkulierenden T-Lymphozyten-Population sowie die verminderte Expression typischer T-Zell-Marker (12). Die Prognose ist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 24% deutlich schlechter als die der MF (1,4,5).



Abbildung 4: Klinisches Bild eines Sézary-Syndroms mit Erythrodermie sowie zigaretten-papierartiger Fältelung (linkes Bild) und palmaren (rechts Bild oben) sowie plantaren (rechtes Bild unten) Hyperkeratosen

Histologisch präsentiert sich das SS wie die MF im Patch- oder Plaques-Stadium mit epidermotropen atypischen T-Helfer-Zellen (immunhistologisch CD3+, CD4+, CD8-) mit charakteristischen zerebriformen Kernen (sogenannten Sézary- oder Lutzner-Zellen) (3,5,9). Auch Pautrier-Mikroabszesse lassen sich bei dem SS finden. Da das histologische Bild nicht sicher von dem der MF abgrenzbar ist, entscheidet letztendlich die vorliegende Klinik sowie das Vorhandensein der oben erläuterten laborchemische Kriterien (2,3,4).

1.1.3 Primär kutane CD30+ lymphoproliferative Erkrankungen, CD30+ CTCL

Die primär kutanen CD30+ Lymphome sind die zweithäufigsten primär kutanen Lymphome und durch die immunhistologisch nachweisliche CD30-Positivität der Tumorzellen charakterisiert. Zu ihnen zählen die Lymphomatoide Papulose (LyP), das primär kutane anaplastisch großzelliges T-Zell-Lymphom (PCALCL) und Borderline-Läsionen (2,3,5,9).

Die LyP ist eine blande verlaufende Neoplasie, die im mittleren Lebensalter zwischen 30-40 Jahren auftritt und sich zumeist chronisch-rezidivierend über Jahrzehnte hinzieht (2,3,5,9). Trotz der exzellenten Prognose mit einer fast 100%igen 5-Jahres-Überlebensrate sollten aufgrund der in 4–25% der Fälle auftretenden Assoziation zu anderen Lymphomen, wie der MF, aber auch systemischen Lymphomen (Morbus Hodgkin, großzellig anaplastische Lymphomen) engmaschige Verlaufskontrollen durchgeführt werden (3,5,13). Klinisch imponiert die Erkrankung zunächst mit rötlich bis bräunlichen Papeln, die im weiteren Verlauf bis zu 2 cm Durchmesser erreichen können und oft eine pityriasiforme Schuppung aufweisen (siehe Abb. 5). Auch Hämorrhagien oder Nekrosen der Hautläsionen sind möglich (3,5). Typischerweise heilen die Papeln nach wenigen Wochen unter einer varioliformen Narbenbildung ab (2,3,5). Histologisch unterscheidet man nach Zusammensetzung und Morphologie des Zellinfiltrates drei Typen, die aber fließend ineinander übergehen können (2,3). Bei dem gemischtzelligen Typ A sieht man unter einer oft exulzerierten Epidermis ein keilförmiges Infiltrat aus Lymphozyten, zahlreichen Histiocyten sowie neutrophilen und eosinophilen Granulozyten bis in die untere Dermis (2,3,5,9). Der kleinzellige Typ B ist zusätzlich durch epidermotrope Infiltrate eher kleinerer Lymphozyten gekennzeichnet, die überwiegend CD30-positiv, aber auch vereinzelt CD30-negativ sein können (2,3,9). Der anaplastische Typ C weist typischerweise kohäsive, dichtzellige Verbände atypischer, relativ monomorpher CD30+-Tumorzellen mit nur spärlichem Begleitinfiltrat auf und ist nur schwierig von dem primär kutanen großzelligen anaplastischen CD30+ Lymphom abzugrenzen (2,3,9). Immunhistochemisch lassen sich neben CD 30 auch CD3+, und CD4+ T-Zellen am Präparat nachweisen (3,5,8,9).



Abbildung 5: Links klinisches und rechts histologisches Bild (HE, x25) einer LyP

Das PCALCL (siehe Abbildung 6, links) ist eine Erkrankung, die bevorzugt bei Männern (Männer:Frauen 2–3:1) im Erwachsenenalter auftritt (3). Klinisch präsentieren sich meist solitäre, rasch größenprogrediente, rötliche, oft ulzerierende Knoten, die in bis zu 20% spontan abheilen (siehe Abb. 6). Die Prognose ist – mit Ausnahme des PCALCL des Beines -bei einer 10-Jahres-Überlebens-Rate von 90% sehr gut (2,3,5,14,15). Histologisch charakteristisch sind anaplastische, große, CD30 positive, eosinophil gefärbte Lymphozyten mit prominenten Nukleolen (siehe Abb. 6, rechts), die sich unter einer meist exulzerierten Epidermis in der Kutis zu knotigen Infiltraten ansammeln (2,3,5,9). Die Expression von CD3 und CD4 ist variabel (9). Wichtig zur Abgrenzung vom systemischen anaplastischen großzelligen Lymphom ist die immunhistochemische Anfärbung der Anaplastischen Lymphom Kinase 1 (ALK-1), die bei der rein kutanen Variante negativ ist. Darüber hinaus sollte noch ein Staging mittels schichtbildgebender Verfahren durchgeführt werden, da auch 50% der systemischen anaplastischen großzelligen Lymphome ALK-1-negativ sein können (2,3,5,15).

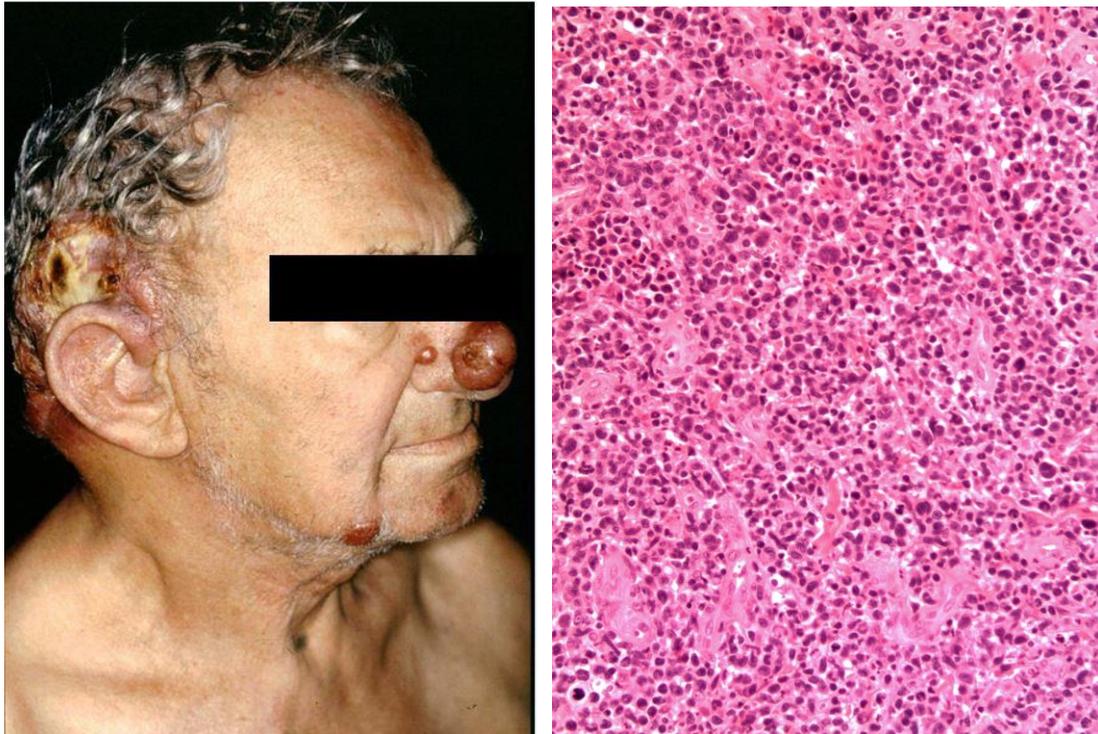


Abbildung 6: Links klinisches rechts histologisches Bild (HE-Färbung, x200) eines PCALCL

1.1.4 Subkutanes Pannikulitisartiges T-Zell-Lymphom (SPTL)

Das SPTL (siehe Abbildung 7) betrifft vornehmlich Patienten ab der fünften Lebensdekade ohne eindeutige Geschlechterpräferenz. Weniger als 1% aller kutanen Lymphome zählen zu dieser Kategorie, die Prognose ist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 82% relativ gut (3,5). Klinisch dominieren indurierte subkutane schmerzhaftes Plaques und Knoten vor allem im Bereich der unteren Extremitäten, die nur selten exulzerieren und lediglich durch die histologische und oft ergänzende molekularpahologische Untersuchung einer tiefen Schnittbiopsie von den anderen reaktiven Pannikulitiden abgegrenzt werden können (3,5). Ein reduzierter Allgemeinzustand sowie eine B-Zell-Symptomatik weisen auf ein Hämophagozytose-Syndrom hin, das den sonst blanden Verlauf der Erkrankung massiv verschlechtert (3,5).

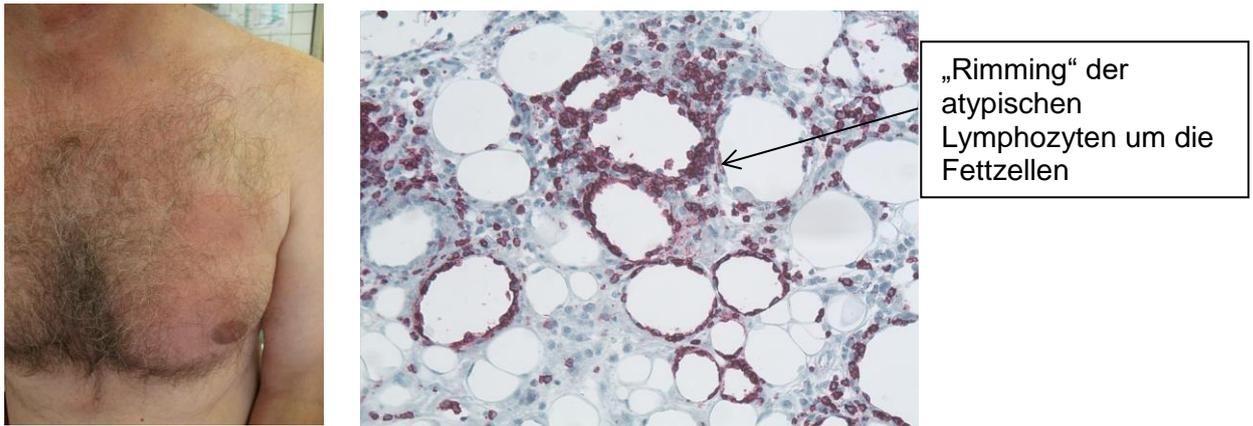


Abbildung 7: Links klinisches und rechts histologisches Bild eines SPTL (CD8-Färbung x200)

Histologisch fallen bei dieser Entität die zunächst vor allem subkutan gelegenen Infiltrate aus atypischen Lymphozyten auf, die zum Teil eine perlschnurartige Formatierung um die Fettzellen herum aufweisen (sogenanntes „rimming“) (3,5,9) – siehe Abb. 7 rechts. Später dehnen sich diese Infiltrate von der Subkutis bis hin in die Dermis aus (5,9). Immunhistologisch sind die charakteristischen zytotoxischen T-Zell-Marker nachweisbar (CD2+, CD3+, CD8+, CD5+, CD4-, Perforin +, Granzyme B+) (3,5,9). Früher wurden in Abhängigkeit des vorhandenen T-Zell-Rezeptors (γ/δ oder α/β) zwei Formen unterschieden. Aktuell zählt jedoch ausschließlich die blande verlaufende α/β -Variante zu den SPTL, während Entitäten mit dem γ/δ -T-Zell-Rezeptor zu den kutanen γ/δ -Lymphomen gezählt werden (16).

1.1.5 Aggressives zytotoxisches epidermotropes CD8+ T-Zell-Lymphom

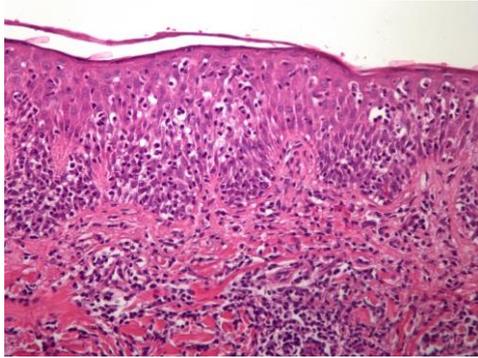
Bei dieser Entität (siehe Abbildung 8) handelt es sich um eine ebenfalls sehr seltene CD8+ zytotoxische Variante eines CTCL mit einem äußerst aggressiven klinischen Verlauf durch eine frühe Organbeteiligung von Lunge, Zentralnervensystem (ZNS) und Mundschleimhaut (2,3,5). Da auch blande verlaufende CTCL, wie die MF oder die pagetoide Retikulose, CD8+ und CD4-sein können, ist die Differenzierung auf der Basis klinischer Kriterien wichtig (3). Die 5-Jahres-Überlebensrate ist bei dem aggressiven epidermotropen CD8+ T-Zell-Lymphom nur 20% (2,3).

Klinisch fallen bei den Patienten disseminierte, meist nekrotisch-ulzerierte, livid-rötliche Knoten und Papeln sowie teilweise hyperkeratotische Makulae und Plaques auf (2,3,5) – siehe Abb. 8.

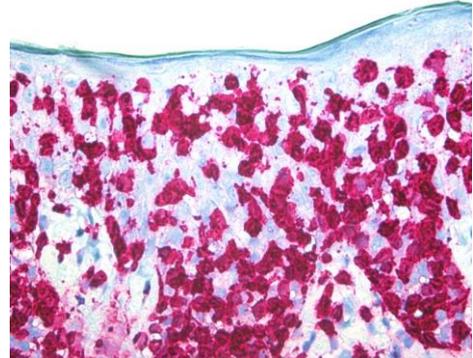


Abbildung 8: Klinisches Bild eines aggressiven zytotoxischen epidermotropen CD8+ CTCL, links Übersicht und rechts Detail-Aufnahme

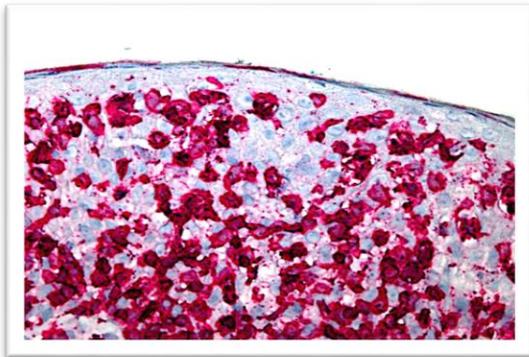
Histologisch ist ein ausgeprägter Epidermotropismus von pleomorphen, verschiedenen großen Lymphozyten mit chromatinreichen Kernen typisch (2,3,9). Des Weiteren ist die Epidermis in vielen Fällen nekrotisch und exulzeriert, sowie die Adnexe und Gefäße destruiert (3) –siehe Abb. 9. Immunhistochemisch lassen sich charakteristischerweise die Oberflächenmarker CD3, CD8, CD45RA, Granzym B und Perforin nachweisen, während CD4 und CD45RO negativ sind (2,3).



HE



CD8



CD3

Abbildung 9: links oben histologisches Bild epidermotropes CD8+T-Zell-L. (HE x100) sowie rechts oben CD8 (x200)- unten links CD3-Färbung (x200)

1.1.6 Primär kutanes Follikelzentrumslymphom (PCFCL)

Das PCFCL (siehe Abbildung 10) ist das häufigste primäre CBCL und weist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von über 90% eine exzellente Prognose auf (2,3,5). Betroffen sind ältere Patienten in der 6.-7. Lebensdekade (5). Um diese Entität von den primär nodalen KZL mit sekundärer Hautbeteiligung und deutlich schlechteren Prognose zu unterscheiden, sind eine sorgfältige Durchuntersuchung sowie histologische, immunhistologische und molekular-biologische Zusatzuntersuchungen unabdingbar (3,5).

Klinisch – siehe Abb. 10 links - imponieren beim PCFCL solitäre livid-rötliche, derbe Knoten mit erythematöser, teilweise infiltrierter Umgebung zumeist im Kopf-Nacken-Bereich (3,5). Ein disseminierter Verlauf ist selten und mit einer schlechteren Prognose assoziiert (3). Eine sekundäre systemische Beteiligung von Lymphknoten, Knochenmark und anderen Organen ist ungewöhnlich und

spricht für ein nicht erkanntes, primär nodales Follikelzentrumlymphom mit sekundärer Hautinfiltration (3,5).

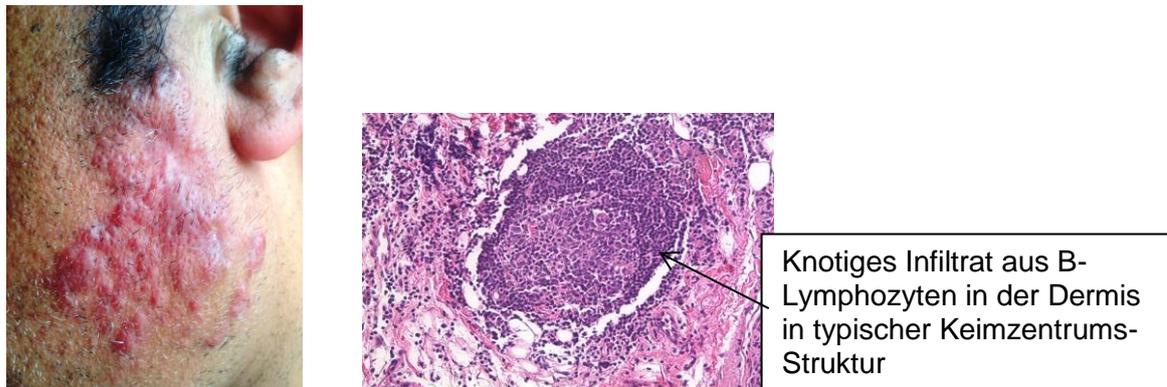


Abbildung 10: Links klinisches und rechts histologisches Bild (HE, x200) eines PCFCL

Histologisch – siehe Abb. 10 rechts - zeigen sich klassischerweise knotige Infiltrate aus niedrigmalignen B-Lymphozyten in der gesamten Dermis, die durch eine infiltratfreie Bindegewebszone von der unbeteiligten Epidermis abgegrenzt sind (2,3,5,9). Der folliculäre Aspekt dieser knotigen Infiltrate ist unterschiedlich ausgeprägt und geht häufig mit dem Alter der Läsion sukzessive verloren (3,5,9). Immunhistologisch exprimieren die Tumorzellen die typischen B-Zellmarker wie CD19, CD20, CD79a sowie CD10 und bcl-6. Als differentialdiagnostischer Marker zu den nodalen KZL ist die immunohistochemische Anfärbung auf Bcl-2 (Anti-Apoptose-Protein) hilfreich, das bei dem PCFCL meist negativ ist (2,3,5).

1.1.7 Primär kutanes Marginalzonen-B-Zell-Lymphom (PCMZL)

Das PCMZL - siehe Abbildung 11 - zählt zu den extranodalen B-Zell-Lymphomen des Mukosa-assoziierten lymphoiden Gewebes (sogenannte MALT-Lymphome) und gehört mit dem PCFCL zu den häufigsten primären CBCLs (1,3,5). Für den europäischen Raum ist eine Assoziation zu *Borrelia burgdorferi* und Hepatitis-C-Virus Infektionen beschrieben (3,5). Die Betroffenen sind anders als bei den anderen CBCLs zumeist im mittleren Alter (40.-60. Lj) (2,3). Die früher als primär kutane Immunozytome und sehr seltenen primär kutanen Plasmazytome bezeichneten Varianten werden heute zu den PCMZLs gezählt. Die Prognose ist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 100% exzellent (3,5).

Das klinische Bild – siehe Abb. 11. - präsentiert sich mit meist am Körperstamm oder an den oberen Extremitäten befindlichen, erythematös-lividen Papeln, Plaques oder Knoten mit Neigung zur Spontanremission (3,5,9). Im Gegensatz zu den PCFCLs ist hier ein multilokuläres Auftreten häufig (3). Trotz der hohen Rezidivneigung ist ein systemischer Befall äußerst selten (3,5).



Abbildung 11: klinisches Bild eines primär kutanen Marginalzonen B-Zell-Lymphoms (PCMZL), links Übersicht und rechts im Detail

Histologisch dominieren diffuse oder knotige Infiltrate in der gesamten Kutis und meist auch angrenzenden Subkutis aus Marginalzonenzellen mit gekerbten Kernen, Plasmazellen und lymphoplasmazytoiden Zellen (3,9) – siehe Abb, 12. Typisch ist auch hier wie bei dem PCFCLs, dass die Epidermis nicht beteiligt ist (3,9). Immunhistopathologisch fallen in den Infiltraten CD19+, CD20+, CD79a+ und bcl-2+ Marginalzonen-Zellen ohne Expression von bcl-6 oder CD10 sowie CD138+, CD79a+ und CD20 negative Plasmazellen auf (3,5,9).

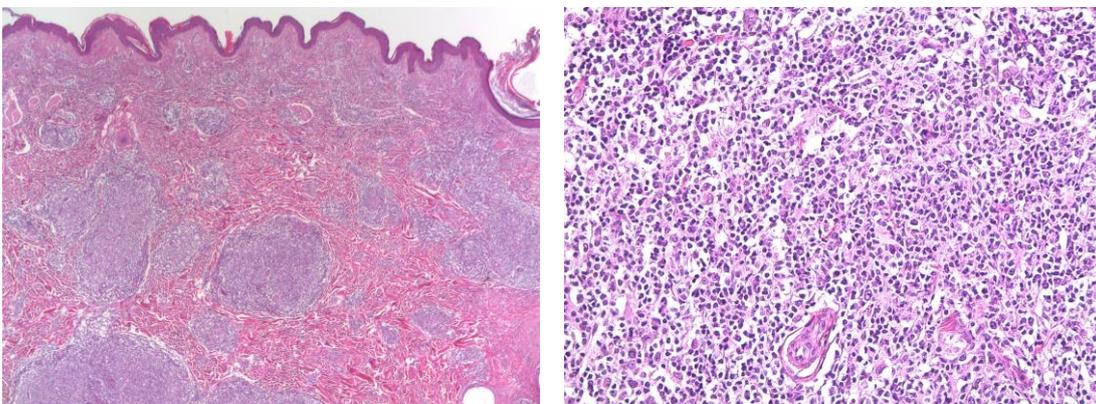


Abbildung 12: Histologisches Bild (links: HE, x25) eines PCMZLs mit deutlichem Reichtum an Plasmazellen (rechts)

1.1.8 Primär kutanes diffus großzelliges B-Zell-Lymphom vom Bein-Typ, (PCBLT)

Das PCBLT wird aufgrund seiner typischen klinischen, histologischen sowie immunhistologischen Präsentation als eigenständige Entität abgegrenzt (1,3). Es betrifft vornehmlich die unteren Extremitäten älterer Frauen (>70 Lj) und ist durch einen aggressiven Verlauf mit mäßiger bis schlechter Prognose gekennzeichnet (2,3,5). Die 5-Jahres-Überlebensrate variiert zwischen 20-60% (2,3).

Klinisch präsentieren sich solitäre oder multiple schnell wachsende, livid-rötliche, teilweise ulzerierende Knoten an den unteren Extremitäten - siehe Abbildung 13 links oben (2,3,5).

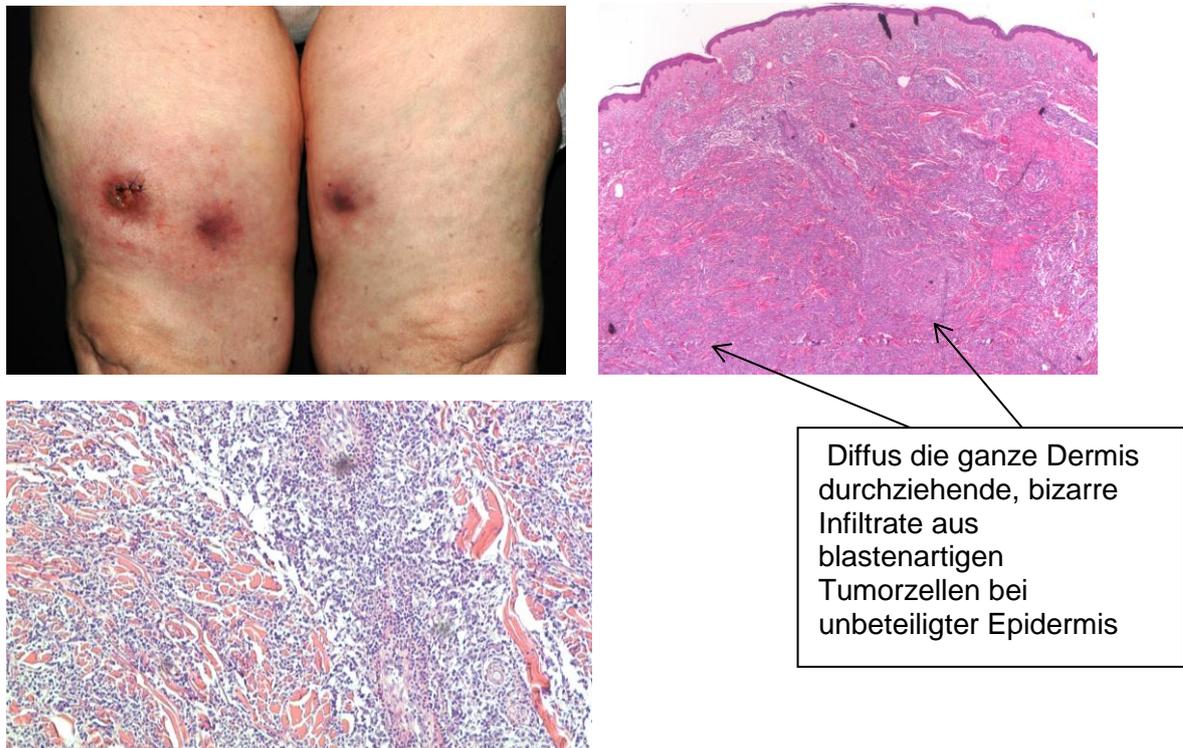


Abbildung 13: Links oben klinisches rechts oben und links unten histologisches Bild (rechts oben: HE, x25; links unten: HE, x200) eines PCBLT

Histologisch sieht man in der gesamten Kutis bis in die angrenzende Subkutis reichende diffus angeordnete, dichte Infiltrate aus recht monomorph erscheinenden, Blasten-artigen Tumorzellen mit eher gering ausgeprägtem reaktivem Begleitinfiltrat aus B- und T-Lymphozyten (siehe Abbildung 13 rechts

oben und links unten) (3,5,9). Auch hier ist die Epidermis fast immer unbeteiligt (3,9). Die charakteristischen immunhistochemischen B-Zell-Marker CD19, CD20 und CD79a sowie Multiples Myeloma Onkogen 1 (Mum-1) sind positiv, wobei ein partieller Antigenverlust, insbesondere nach einer Therapie mit dem CD20-Antikörper Rituximab möglich ist. Typisch ist die starke bcl-2-Expression der Tumorzellen im Unterschied zu dem primär kutanen folliculären Lymphom und die hohe Mitoserate, welche sich mit der deutlichen Ki-67-Expression nachweisen lässt (2,3,5). CD10 ist negativ (3).

1.1.9 Blastäre Neoplasie der plasmazytoid dendritischen Zellen (BPDCN)

Die BPDCN ist eine seltene Erkrankung die durch entartete Natürliche Killer-Zellen (CD56+) entsteht und somit weder der B-Zell-Reihe noch der T-Zell-Reihe zugeordnet werden kann (2,3,5,9). Die Erkrankung manifestiert sich vor allem bei Männern im mittleren bis hohen Alter zunächst zumeist im Bereich der Haut und der Schleimhäute. Eine leukämische Aussaat der Tumorzellen ist mit 70% im Verlauf häufig (2,3,5). Obwohl die klinische Primärmanifestation meist im Bereich der Haut liegt, handelt es sich um das einzige nicht primär kutane Lymphom, das von der WHO/EORTC zu den primär kutanen Lymphomen gezählt wird (1,3). Die Prognose hängt von dem Ausmaß der extrakutanen Beteiligung ab und ist mit einer mittleren Überlebenszeit von 2 Jahren insgesamt schlecht (2,3).

Das klinische Erscheinungsbild – siehe Abb. 14 links - ist durch schnell wachsende, livid-bräunliche Plaques und Knoten im Stamm- und Kopf-Hals-Bereich gekennzeichnet und wird häufig durch einen Befall der Mundschleimhaut begleitet (2,3,5). In vielen Fällen tritt im Verlauf eine Beteiligung des Knochenmarks, der Lymphknoten und des ZNS vor (3,5).

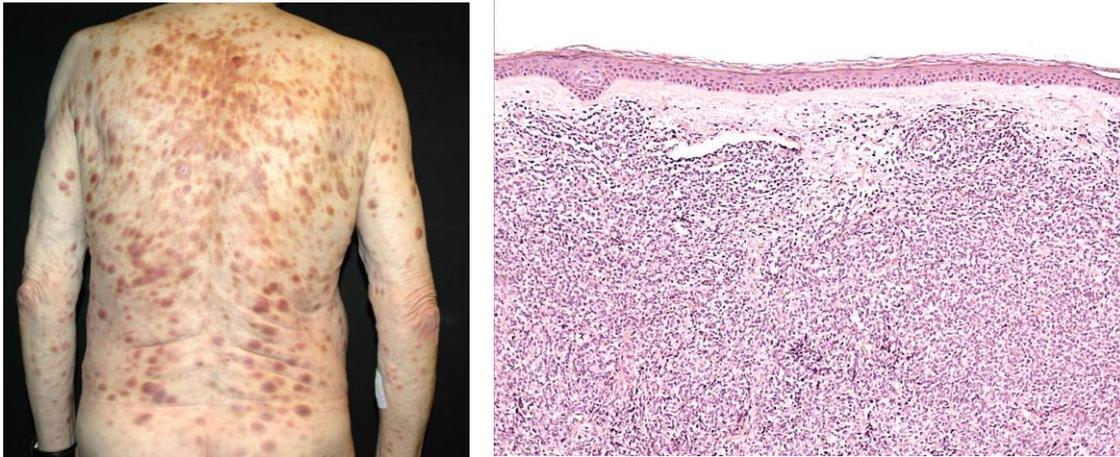


Abbildung 14: Links klinisches rechts histologisches Bild (HE, x100) einer BPDCN

Histologisch – siehe Abb. 14 rechts - sieht man in der gesamten Kutis bis in die Subkutis hineinreichende, oft in Strängen angeordnete Infiltrate aus mittelgroßen bis großen relativ monomorph erscheinenden, blastären Tumorzellen sowie intratumorale Erythrozytenextravasate, die für den klinisch ersichtlichen bräunlichen Aspekt verantwortlich sind (2,3). In der Immunhistopathologie sind die typischen T-Zell- und B-Zell-Marker negativ, dafür aber CD4, CD56 und CD123 sowie BDCA (blastic dendritic cell antigen) positiv (2,3,5,9).

1.2. AKTUELLER THERAPIESTANDARD KUTANER LYMPHOME

Die Behandlung primär kutaner Lymphome richtet sich nach der Entität, dem Stadium der Erkrankung, dem Alter und potentiellen Nebendiagnosen des Patienten sowie nach einer eventuell vorangegangenen Therapie, auf die das Lymphom nicht ausreichend angesprochen hat (3,4,5,14,16,17). Bei den niedrig malignen Lymphomen wie der MF werden besonders in den initialen Stadien aufgrund der guten Prognose (10-Jahres-Überlebensrate von 75–98%) hautgerichtete Therapiemaßnahmen bevorzugt (2,3,4,5,8,14,17,18), da eine aggressive Behandlung die Prognose zu diesem Zeitpunkt verschlechtern würde (14,18). Bei Erkrankungen mit schlechter Prognose, wie der BPDCN mit einer mittleren Überlebenszeit von nur zwei Jahren (2,3,5,17,19), ist dagegen der frühzeitige Einsatz von Chemotherapien bis hin zu einer allogenen Stammzelltransplantation sinnvoll (3,14,17).

Die Voraussetzung für eine adäquate Therapie ist daher die exakte Diagnose und Klassifikation des primär kutanen Lymphoms. Die aktuelle S2k-Leitlinie beinhaltet eine systematische Abfolge sinnvoller Therapiemaßnahmen für die verschiedenen Entitäten kutaner Lymphome (3,14,17,18,20).

Die innerhalb der kutanen Lymphome häufigste Subentität ist die MF (1,2,3,4,5,8). Insbesondere bei dieser Erkrankung liegt mittlerweile ausreichend Erfahrung vor, die nachweist, dass zu Beginn so zurückhaltend wie möglich behandelt werden sollte. Wenn sich ein Progress der MF unter der derzeitigen Therapie zeigt, hat sich ein sukzessives Vorgehen gemäß den aktuellen S2k-Leitlinien (1,3,14,17) bewährt. Hier wird deutlich, dass lediglich die letzten Schritte bei bereits fortgeschrittener Erkrankung aggressivere Behandlungsmaßnahmen vorsehen.

Trotz der zahlreichen Behandlungsmöglichkeiten bleibt die Problematik der therapieresistenten kutanen Lymphome weiterhin bestehen (3,4,6,17). Vor allem die fortgeschrittenen Stadien der MF und des SS, aber auch andere kutane Lymphome mit aggressivem Verlauf (z.B. das epidermotrope zytotoxische CD8+ CTCL, das PCBLT oder die BPDCN) stellen eine große therapeutische Herausforderung dar, für die neue Behandlungsoptionen mit möglichst langfristigen Remissionsraten notwendig sind (21). Zudem sind bis auf die allogene Stammzelltransplantation bislang keine kurativen Behandlungsansätze möglich. Bei anderen Tumoren wie dem metastasierten malignen Melanom werden Therapien, die gezielt an den Expressionsprodukten von Onkogenen ansetzen, bereits standardmäßig eingesetzt. Solche therapeutischen Alternativen sind im Bereich der primär kutanen Lymphome noch kaum beschrieben (22).

C-Met ist ein Tyrosin-Kinase-Protein, das bei Neoplasien überexprimiert sein kann und dessen biochemische Funktion zahlreiche Erklärungen für ein aggressiveres Verhalten dieser Neoplasien liefert (23,25,26,27,32). Einige der durch c-Met induzierten Signalwege (siehe ausführlich dazu Kapitel 1.3.) sind bei der Entstehung von CTCLs beteiligt. Darüber hinaus existieren mehrere Nachweise, dass c-Met bei einigen Entitäten systemischer BCLs vorkommt und hier auch meist mit einer schlechteren Prognose korreliert (33,45,48,49). Einige Arbeiten lassen zudem ein therapeutisches Ansprechen von c-Met-Inhibitoren bei c-Met-positiven

systemischen Lymphomen vermuten (39,41,47,50,59, 64,65,66,67). Sowohl eine Überexpression des c-Met-Rezeptors, als auch dessen Therapie-Ansätze werden bereits seit einiger Zeit in anderen Bereichen der Onkologie umfangreich untersucht und hieraus ergeben sich potentiell therapeutisch relevante Ergebnisse. Der Nachweis bzw. die weitere Erhärtung der Annahme, dass kutane Lymphome ebenfalls einer c-Met-Überexpression unterliegen, könnte somit von potentiell großer therapeutischer Bedeutung sein.

1.3. DER C-MET-REZEPTOR UND DESSEN AKTIVIERUNG

Der „mesenchymal-epithel-transition factor“, kurz c-Met, ist ein transmembranöses Tyrosin-Kinase-Protein, das sich physiologischerweise auf der Oberfläche epithelialer Zellen befindet und darüber hinaus bei verschiedenen Tumorentitäten überexprimiert wird (23). Das *MET*-Gen befindet sich auf dem Chromosom 7q21-31. Es wurde erstmals in den 1980er Jahren in Osteosarkom-Zelllinien als Onkogen identifiziert (24,25,43). An den c-Met-Rezeptor bindet ein Wachstumsfaktor namens „Hepatocyte growth factor“ (HGF). Nach Bindung des Liganden wird der Rezeptor durch Phosphorylierungsprozesse aktiviert und kann unterschiedliche intrazelluläre Signalkaskaden auslösen. Diese Signalkaskaden spielen beispielsweise bei der Embryogenese, Leber-Regeneration oder Wundheilung wichtige Rollen (26,32). Durch eine starke c-Met-Expression in Tumoren kommt es zu einer vermehrten Aktivität dieser Signalkaskaden und damit zu einer Steigerung der Zellproliferation, des Zellwachstums und der Zellmigration. Auch die Neoangiogenese wird durch diese Signalkaskaden aktiviert (23,26,32). Bei zahlreichen Tumorentitäten konnte ein Zusammenhang zwischen der c-Met-Überexpression und einer vermehrten Metastasenbildung nachgewiesen werden (23,27,28). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass eine erhöhte c-Met-Expression bei den untersuchten Tumoren oftmals mit einer schlechteren Prognose sowie höheren Raten von Therapieresistenzen assoziiert ist (26,27,28,29,30). Zudem hat die c-Met-Aktivierung eine pro-coagulatorische Wirkung, was die erhöhte Blutgerinnung und Thrombosegefahr bei vielen Tumoren mit erklären könnte (43).

Ein onkogener Rezeptor, der von einem auf dem Chromosom 7q21-31 gelegenen Fusionsgen Translocated promoter region (TPR) / *MET* kodiert wird, weist eine bis

zu fünfmal höhere Kinase-Aktivität als das physiologische c-Met-Protein auf. Für die Tumorentwicklung hat sich das natürliche Protein jedoch als vergleichbar potent herausgestellt (25).

c-Met setzt sich aus einer 50 Kilodalton (kDa) großen extrazellulären α -Kette sowie einer 145 kDa großen β -Kette zusammen –siehe Abbildung 15. Das Vorläuferprotein wird über eine proteolytischen Spaltung durch die Endoprotease Furin in ein über Disulfidbrücken miteinander verbundenes membranständiges Protein mit intra- und extrazellulärer Domäne überführt (25,26). Die größere β -Kette beinhaltet den transmembranösen Anteil und die intrazelluläre Kinase-Domäne des Rezeptors (25,26). Des Weiteren befindet sich in dem extrazellulären Bereich der β -Kette eine cysteinreiche Sequenz, die sogenannte MRS-Domäne, ein Abschnitt mit Glycin- und prolinreichen Abfolgen (G-P repeats, in Abb. 15 „PSI-Domäne“) und vier immunglobulinreiche Strukturen (Ig Domäne, in der Abb. 15 „IPT-Domäne“), die ebenfalls für Proteininteraktionen dienen (31). Die extrazelluläre sogenannte Sema-Domäne des Rezeptors, setzt sich aus der kleineren α -Kette sowie einem Teil der β -Kette zusammen und ist wichtig für die HGF-Bindung und darauffolgende Aktivierung des c-Met-Rezeptors (32,43). Der intrazelluläre Bereich der β -Kette besteht aus einem Serin (Ser 975), das die Rezeptor-Kinase-Aktivität über Phosphorylierung zu inhibieren vermag, einem Tyrosin (Tyr 1003), welches die Endozytose des Rezeptors nach Interaktion mit anderen Proteinen in Gang setzen kann, sowie dem biologisch zentralen Aktivitätsareal der Tyrosin-Kinase-Domäne (Tyr 1234, Tyr 1235, in Abb. 15 „katalytische Region“) und einer C-terminale Region ebenfalls aus Tyrosinen (Tyr 1349, Tyr 1356, in Abb. 15 „multifunktionale Andockstelle“), die als intrazelluläre Andockstelle für weitere Signalproteine dient, wodurch wiederum weitere Kaskaden initiiert werden können (31).

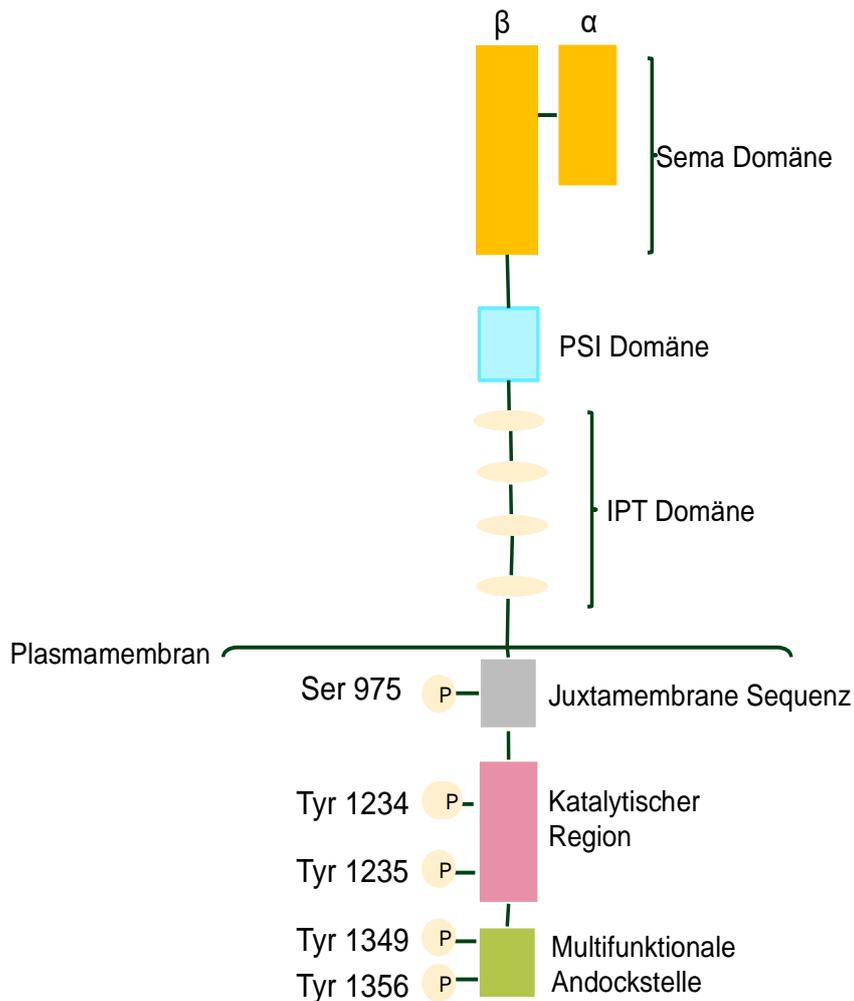


Abbildung 15: Struktur des transmembranösen c-Met-Rezeptors

Legende Abb. 15: β : β -Kette, α : α -Kette, Sema-Domäne: extrazelluläre Andockstelle für HGF, PSI-Domäne: MRS-Domäne (cysteinreiche Sequenz), IPT-Domäne: Ig-Domäne mit vier immunglobulinreichen Strukturen, Juxtamembranöse Sequenz: Serin 975 + Tyrosin 1003 (für Inhibition und Endozytose des Rezeptors zuständig), Katalytische Region: Tyrosin 1234 + 1235 (biologisch zentrales Aktivitätsareal), Multifunktionale Andockstelle: C-Terminale-Region aus Tyrosin 1349 + 1356 (dient als Andockstelle für weitere Signalproteine im Zellinneren)

Der bisher einzige bekannte Ligand für c-Met ist der Wachstumsfaktor Hepatocyte Growth Factor (HGF), der ebenfalls auf Chromosom 7 im Bereich 7q21.1 kodiert wird. HGF wird vornehmlich von mesenchymalen Zellen wie Fibroblasten und glatten Muskelzellen sekretiert (25). HGF ist ein Heterodimer, bestehend aus einer α -Kette, die als hochaffiner Bindungspart an den c-Met Rezeptor dient, sowie einer

weniger affinen β -Kette, die für die Aktivierung des Rezeptors zuständig ist (32) – siehe Abb. 16. Die α -Kette besteht aus vier Kringle –Domänen (K1-K4, siehe Abb. 16) während die β -Kette eine Serin-Protease für die enzymatische Aktivität dieses Proteins mit beinhaltet (siehe Abb. 16) (43). Die Bindung über die weniger affine β -Untereinheit ist erst nach einer gewissen Prozessierung des HGF durch Proteasen möglich und für die adäquate Aktivierung unerlässlich (32). Die Aktivierung von c-Met hängt also ebenfalls von der örtlichen Präsenz von Proteasen ab, die HGF für die Bindung über sein Aktivierungsmodul (die β -Kette) an c-Met vorbereiten. Nach dieser Bindung kommt es zu einer Homodimerisierung zweier Rezeptoren und in Folge zu einer Phosphorylierungskaskade bis in die intrazelluläre Domäne von c-Met, wo zunächst eine ATP-Bindungsstelle vakant wird. Hat hier in Folge ATP gebunden, werden weitere Phosphorylierungsprozesse in Gang gesetzt und der Rezeptor ist in einem aktivierten Zustand, was bedeutet, dass nun Bindungsmöglichkeiten für weitere zahlreiche Signalproteine entstehen und entsprechende zelluläre Prozesse in Gang gesetzt werden können (23,25). Die dadurch resultierenden intrazellulären Hauptsignalwege sind wie im unteren Abschnitt beschrieben die Ras/Raf/MEK/MAPK-Kaskade, welche in der Zellproliferation und beim Zellwachstum involviert ist, sowie der Phosphatidylinositol-3-Kinase/AKT Signalweg (PI3K/AKT), der eine Rolle beim Überleben sowie der Motilität einer Zelle spielt (23,26).

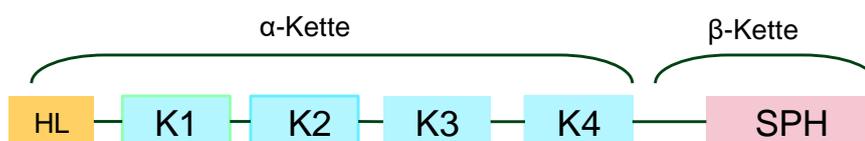


Abbildung 16: Ligand des c-Met Rezeptors HGF (Hepatocyte Growth Factor)

Legende Abb.16: HL: hochaffine Andockstelle im Bereich der α -Kette, K1-K4: Kringle-Domäne, SPH: Serinproteaseartige Struktur im Bereich der β -Kette

Neben dem mitogenen und motogenen Einfluss des HGF auf Zellen durch die Aktivierung von c-Met, hat er darüber hinaus die Fähigkeit Epithelzellen voneinander zu separieren und das Auswandern einzelner Zellen zu initiieren, so

dass er den englischen Beinamen „scatter factor“ trägt (25,26). Über die Steuerung der EMT (epithel-to-mesenchymal-transition) kann c-Met, nach der Aktivierung durch HGF, die Differenzierung von myogenen Progenitorzellen kontrollieren und deren Motilität initiieren. Dies hat sowohl bei der Wundheilung eine Bedeutung, bei der Zellen einwandern müssen um die notwendigen Wiederherstellungsprozesse zu ermöglichen, als auch bei der Invasion und Metastasierung von Tumoren, bei der die Tumorzelle die Fähigkeit besitzen muss sich zunächst von dem Ursprungstumor abzulösen und sich in Folge fernab wieder zu etablieren (23,32). Auch die Muskelentwicklung in der Embryogenese wird maßgeblich über diese EMT gesteuert, so dass Embryonen von Knock-Out-Mäusen ohne c-Met Funktion bereits nach rund 16 Tagen, nicht nur aufgrund von Plazenta-Defekten, sondern ebenfalls aufgrund von schweren Anomalien im Bereich der Skelettmuskulatur erliegen (25,26).

Insgesamt wird sowohl die Dauer als auch die Amplitude der c-Met-Aktivierung durch zahlreiche weitere Membranmoleküle moduliert, mit denen der Rezeptor direkt interagiert. Hierzu gehören beispielsweise Semaphorin-Rezeptoren aus der Plexin-B-Familie, der Hyaluronanrezeptor CD44 sowie Heparan-Sulfat-Proteoglykane (33). Bei der Aktivierung von c-Met können nach Transphosphorylierung der Tyrosine Tyr 1234 und Tyr 1235 unterschiedliche Proteine an die C-Terminale Region der intrazellulären β -Kette binden und weitere onkogene Signalkaskaden in Gang setzen –siehe Abb. 17. Ein zentrales Schlüssel-Signalprotein ist das GAB1, welches ebenfalls durch die Bindung an den aktivierten intrazellulären Bereich von c-Met phosphoryliert wird und dadurch weitere intrazelluläre Kaskaden initiieren kann (34). Alle aufgeführten Signalkaskaden enden vornehmlich damit, dass bestimmte Transkriptionsfaktoren aktiviert werden, die für die Initiierung einer Genexpression sorgen und damit die jeweiligen Resultate – wie Zellproliferation, Zellmigration etc. – einleiten (33). Zu den initiierten intrazellulären Signalkaskaden gehören der RAS/RAF/MEK/MAPK-Signalweg, der die Zellproliferation steigert und für ein Zellwachstum sorgt, der STAT-Signalweg, welcher zusammen mit der MAPK-Aktivierung die Zell-Morphogenese veranlasst, der β -Catenin-Signalweg sowie der Notch-Signalweg. Ein weiterer wichtiger Signalweg ist der PI3K, der einmal durch die

RAS/RAF/MEK/MAPK-Kaskade oder auch direkt durch aktiviertes c-Met initiiert werden kann. PI3K beeinflusst die Zellmotilität und bewirkt eine Veränderung der extrazellulären Matrix und damit der Zelladhäsion und steuert darüber hinaus das Überleben einer Zelle durch die nachgeschaltete Aktivierung des AKT-Signalweges sowie der Hemmung des Tumorsuppressorgens PTEN (Phosphatase und Tensin-Homolog) (26,31). Interessanterweise sind einige der genannten Signalwege (AKT-, RAS-, PI3K-, PTEN-Signalweg) bei CTCLs aktiviert, wobei ein Zusammenhang mit c-Met bislang noch nicht untersucht ist (35,36,37).

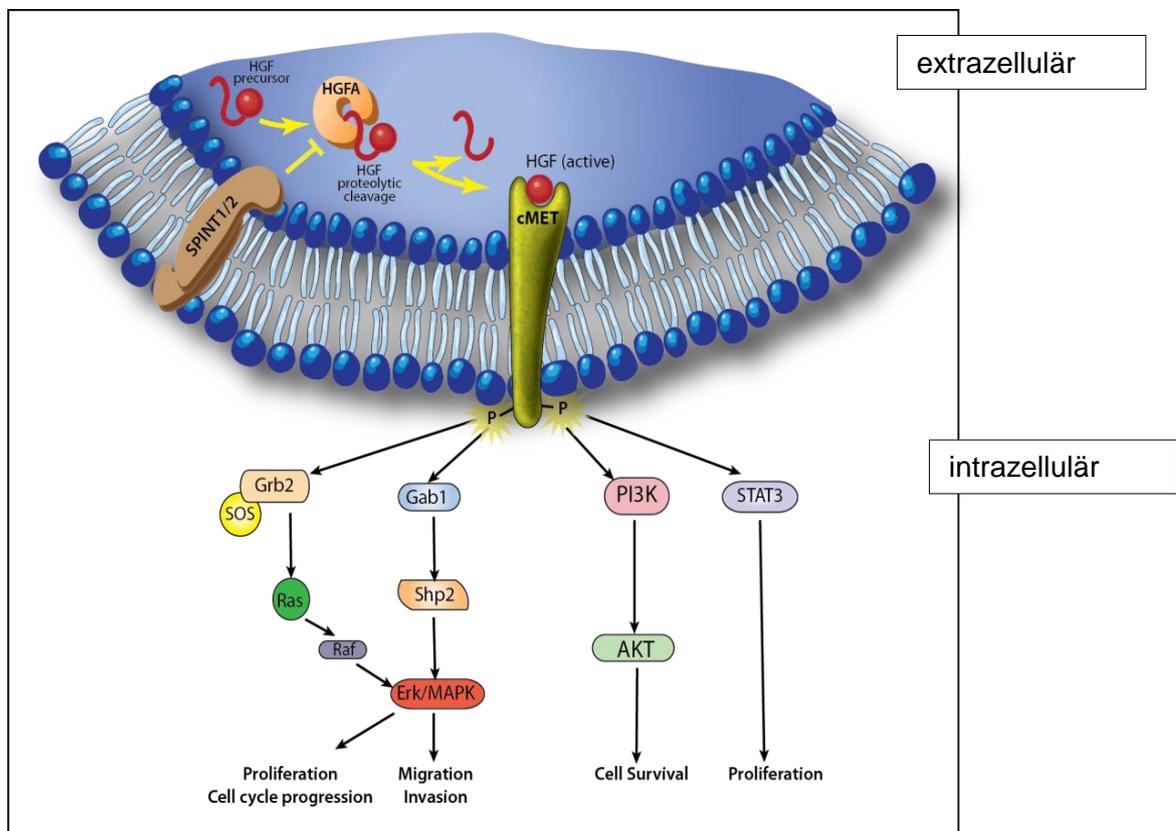


Abbildung 17: Bild c-Met-Signalwege-Komplex

Legende Abb. 17: HGF-precursor: Protease die β -Kette des HGF prozessiert, HGFA: HGF-Vorläuferprotein, HGF (active): proteolytisch aktiviertes HGF, SPINT $\frac{1}{2}$: weiteres transmembranöses Protein, welches mit c-Met und HGF in Wechselwirkung steht (hemmt HGFA-Prozessierung), Grb2/Ras/Raf/Erk/MAPK: Singalweg für Zellproliferation, -progression, -migration und -invasion, Gab1/Shp2/Erk/MAPK: zentrale Signalproteine die ebenfalls für Zellproliferation, -progression, -migration und -invasion sorgen, PI3K/AKT: Signalweg der Zellüberleben steuert, STAT3: Signalprotein, dass Zellproliferation fördert (mit freundlicher Genehmigung von © 2011 Faria C, Smith C, Rutka J. Published in "The Role of HGF/c-Met Pathway Signaling in Human Medulloblastoma" under CC BY-NC-SA 3.0 license. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/23296>)

Eine übermäßige Expression von c-Met resultiert zumeist aus einer gesteigerten Transkriptionsaktivität des *MET*-Gens oder durch seine Amplifikation (24). Da das *MET*-Gen auf einem relativ fragilen Bereich des Chromosoms 7 angesiedelt ist, können onkogene Amplifikationen dieses Gens begünstigt werden (25). Eine Übersicht über die Häufigkeit der c-Met-Expression sowie zugrundeliegende *MET*-Mutationen oder –Amplifikationen bei unterschiedlichen Tumorentitäten bietet die übersetzte und modifizierte Tabelle 4 von Sattler et al. 2011 (38).

Tabelle 4: Häufigkeit der c-Met-Expression sowie Mutations- und Amplifikationsraten des *MET*-Gens bei verschiedenen Neoplasien in % (modifiziert nach Sattler et al., 2011)

Tumorentität	c-Met-Expression	Mutation im <i>MET</i>-Gen	Amplifikation des <i>MET</i>-Gens
Gehirntumor	54-88	0-9	9-20
Brustkrebs	25-60	Marginal	-
Gebärmutterhalskrebs	30-72	0	-
Kolonkarzinom	55-78	0	4-89
Magenkarzinom	75-90	Marginal	5-10
Kopf-Hals-Tumore	52-68	11-27	-
Hepatozelluläres Karzinom	68-69	0-30	-
Lungenkarzinom (NSCLC)	41-72	8-13	5-10
Malignes Melanom	17-39	Marginal	-
Mesotheliom	74-100	0	-
Plasmozytom	48-80	-	-
Ovarialkarzinom	64	0-4	0
Nierenzellkarzinom	54-87	0-3	-
Sarkom	20-87	0-3	-
Schilddrüsenkarzinom	40-91	6-10	-

Zusammenfassend werden folgende Schritte des invasiven Tumorwachstums von dem aktivierten HGF/c-Met-Komplex unterstützt:

1. Zellablösung von dem Mutter-Tumor,
2. Zell-Zell-Dissoziation,
3. Zell-Mobilisierung,
4. Überleben der Zelle in der Blutstrombahn,
4. Zellmigration,
5. Ansiedelung in der neuen Umgebung,
6. Proliferation,
7. Inhibition der Apoptose zur Verhinderung des Zellunterganges und
8. Neoangiogenese zur Versorgung des wachsenden Tumorgewebes (43).

Diese Effekte werden durch die Aktivierung der Transkription zahlreicher Zytokine und Wachstumsfaktoren nach einer c-Met-Aktivierung ermöglicht (43).

1.4. BEHANDLUNGSOPTIONEN BEI SOLIDEN TUMOREN MIT C-MET-ÜBEREXPRESSION

Die Therapie mittels der zielgerichteten Blockade onkogener Rezeptoren und Signalkaskaden spielt aktuell in der Onkologie eine große Rolle. Verglichen mit herkömmlichen Zytostatika-Optionen zeichnen sich solche Therapien durch hohe Ansprechraten und durch eine weniger starke Beeinträchtigung physiologischer Prozesse aus. Der Nachweis von veränderten oder verstärkt exprimierten Zielproteinen erlaubt die Identifizierung der Patienten, die mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer solchen Therapie profitieren (39). Das Spektrum der Behandlungsmöglichkeiten reicht von einer gezielten Unterdrückung tumorspezifischer Wachstumsfaktoren bzw. -Signalwege über die Beeinflussung von Tumorstammzellen, bis hin zur Blockade der tumorspezifischen Neoangiogenese (39).

Eine Inhibition von c-Met ist über mehrere Ansätze möglich - siehe Abbildung 18:

1. Bei dem sogenannten Decoy-Met handelt es sich um die komplette extrazelluläre Komponente des Rezeptors. Decoy-Met konkurriert mit dem c-Met auf der Zelloberfläche um die Bindung von HGF und verhindert so die Initiierung der intrazellulären Signalkaskaden. Des Weiteren interagiert es mit den membrangebundenen c-Met-Proteinen. Diese Komplexe sind auch bei Bindung des Liganden HGF inaktiv (33).

2. Monoklonale Antikörper gegen c-Met oder HGF können den Signalweg blockieren, indem sie die Bindung des Liganden an den Rezeptor verhindern (siehe Abbildung 18). Antikörper beeinträchtigen aber nur die Liganden-abhängige Aktivierung von c-Met. In den meisten Tumoren kommt es jedoch parallel zu einer Liganden-unabhängigen Aktivierung von c-Met (25). Aus diesem Grund sind die monoklonalen Antikörper gegen c-Met oder HGF im Bereich der Onkologie eher wieder in den Hintergrund geraten. Lediglich bei dem nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom, bei dem eine überwiegend Liganden-abhängige c-Met-Aktivierung vorliegt, hat der Rezeptor-Antikörper Onartuzumab signifikante Therapieerfolge aufweisen können, die sich durch Kombinationen zum Beispiel mit EGFR (epithelial growth factor receptor)-Inhibitoren noch steigern ließen (38).

3. Ein nicht prozessierbares HGF, welches mit hoher Affinität an c-Met bindet, den Rezeptor aber nicht aktiviert, kann ebenfalls eine c-Met-Blockade verursachen. Dieses nicht-prozessierbare HGF kompetiert darüber hinaus mit pro-HGF um die Bindung an die prozessierenden Proteasen. Dadurch wird zusätzlich die Synthese des physiologisch aktiven HGF reduziert (43).

4. Tyrosin-Kinase-Inhibitoren blockieren die intrazelluläre Kinase-Domäne von c-Met im Bereich der ATP-Bindungsstelle (23,26) – siehe Abbildung 18. Diese lassen sich wiederum je nach genauem Bindungsverhalten an der Kinase-Domäne in drei unterschiedliche Typen einteilen, wobei alle die ATP-Bindungsstelle so blockieren, dass die weitere Autophosphorylierung und damit Aktivierung des Rezeptors nicht vollzogen werden können (23,26). Hieraus resultiert eine Unterbrechung der oben genannten Signalkaskaden und die Zelle ist in ihrer

Proliferation gehemmt und geht vermehrt in die Apoptose über. Ein Charakteristikum der Tyrosin-Kinase-Inhibitoren besteht darin, dass sie nicht selektiv ansetzen und dadurch auch andere Kinasen blockieren können (25). Dies kann ein Vorteil sein, wenn diese Kinasen ebenfalls onkogenes Potential haben.

Die Typ I-Inhibitoren der c-Met-Tyrosin-Kinase-Inhibitoren haben beispielsweise neben der Blockade des c-Met-Rezeptors noch eine starke Aktivität gegen die potentiell onkogene anaplastische Lymphom Kinase (ALK) und somit einen multifaktoriellen Wirkungseinsatz, der sich in Studien zum Beispiel bei nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen bewährt hat (23,38,41,40). So konnte der Einsatz von dem c-Met-Inhibitor Crizotinib bei c-Met-positiven Bronchialkarzinomen zu einer revolutionären Verbesserung der Behandlung mit einer Ansprechrate von 57% (47 von 82) und einem stable disease im metastasiertem Stadium bei 33% (27 von 82) führen (62). Zudem sind Crizotinib und Tivantinib Typ-I-Inhibitoren von c-Met, deren Wirkung bereits in zahlreichen Studien für unterschiedliche Indikationen im onkologischen Bereich untersucht wurde, zu denen unter anderem auch systemische Lymphome gehören (39,41,42). C-Met-Inhibitoren werden weitgehend gut toleriert, Nebenwirkungen beschränken sich zumeist auf leichte Übelkeit, Diarrhö, Fatigue und Muskelschwäche sowie selten Sehstörungen oder Transaminasenerhöhung (41,42). Voraussetzung für den Einsatz von c-Met-Inhibitoren sollte der vorherige Nachweis einer c-Met-Expression am Tumorgewebe sein, obwohl es auch Hinweise dafür gibt, dass die c-Met-Expression sowie dessen Aktivierung nicht linear zusammenhängen. So sprechen zum Teil auch Tumore - wie das Glioblastom - auf eine c-Met-Blockade an, obwohl sie nur eine geringe c-Met-Expression aufweisen (33).

Ein allgemeines Problem der Tyrosin-Kinase-Inhibitoren ist, dass im weiteren Verlauf zahlreiche Resistenzmechanismen bei der Behandlung auftreten können, welche die weitere Wirksamkeit verhindern. Hier sind zum einen die primären Resistenzen zu nennen, die schon bei Beginn einer Therapie durch genetische Abweichungen einzelner Tumorzellen vorliegen, die im Verlauf einen Selektionsvorteil haben, während die anderen Tumorzellen durch einen c-Met-Inhibitor gehemmt werden. Zum anderen existieren sekundäre

Resistenzmechanismen, welche die Tumorzelle unter der Therapie mit c-Met-Inhibitoren erwerben kann (25). Sekundäre Resistenzen können dabei nicht nur durch Spontanmutationen in der Tumorzelle auftreten, sondern ebenfalls durch, zum Beispiel, eine verstärkte Expression von Transportermolekülen, welche den Inhibitor aus dem Zytosol der Tumorzelle ausschleusen, durch eine kompensatorische Aktivierung anderer pro-mitogener oder anti-apoptotischer Signalkaskaden oder auch durch eine veränderte Verstoffwechslung des c-Met-Inhibitors (25). Eine potentielle Option solche Resistenzentwicklungen zu unterbinden könnten kombinatorische Therapieansätze, zum Beispiel mit Angiogenese-Inhibitoren, sein (23,25,40).

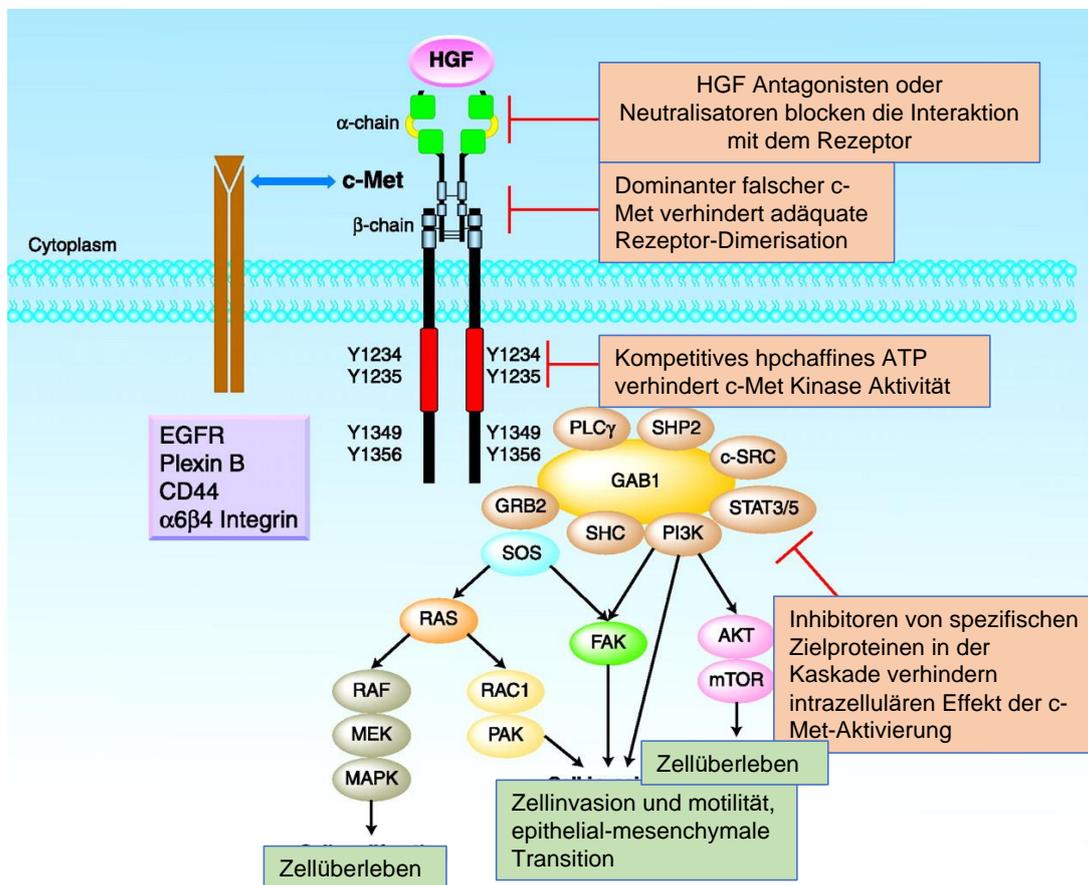


Abbildung 18: c-Met-Signalwege-Komplex mit Blockierungsmöglichkeiten. Modifiziert nach: <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/15/7/2207/F1.large.jpg>

1.5. C-MET-ÜBEREXPRESSION BEI SOLIDEN TUMOREN

Die Bedeutung von *MET* als Onkogen bei der Entwicklung und Metastasierung von Tumoren ist allgemein anerkannt (26,27,38,39,43). Existierende Analysen liefern zahlreiche Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen einer c-Met-Überexpression und dem klinischen Verlauf und der Prognose in unterschiedlichen Tumorentitäten (z.B. NSCLC, Nierenzellkarzinome, nasopharyngeale Plattenepithelkarzinome, Adenokarzinome im Magen oder Ösophagus, kolorektale Tumoren, ovarielle Karzinome, Leukämien) (23,27,28,29,30). Zumeist ist eine c-Met-Überexpression mit einer schlechteren Prognose sowie vermehrten Metastasen assoziiert (23,26,27,28,29,30). Ursachen für eine Überaktivierung des c-Met-Signalweges können Mutationen und Amplifikationen im *MET*-Gen oder eine vermehrte Sekretion / gesteigerte Aktivierung des Bindungspartners HGF sein (32,33,38,43). Auch eine Hypoxie kann über eine Bindung des Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) an die c-MET-Promotorregion zu einer c-Met-Aktivierung führen (43). Aus den bisherigen publizierten Daten sind mögliche Behandlungsstrategien auf der Basis einer c-Met-Blockade für verschiedene Tumorentitäten entstanden. Tumorzellen mit einer Überexpression des *MET*-Gens sprechen besonders gut auf c-Met-blockierende Medikamente an (33).

1.6. C-MET-ÜBEREXPRESSION BEI SYSTEMISCHEN LYMPHOMEN

Auch einige systemische Lymphome wurden bereits auf die Bedeutung einer potentiellen c-Met-Überexpression untersucht. Vor allem bei einigen systemischen BCL konnte eine vermehrte c-Met-Expression gezeigt werden (33,44,45,46,47). C-Met spielt in der Entwicklung und beim Überleben von reifen B-Lymphozyten eine tragende Rolle. Eine c-Met-Aktivierung durch HGF führt bei B-Lymphozyten sowohl in vitro als auch in vivo zur Proliferation sowie zu einem verlängerten Überleben, während eine c-Met-Blockade die Apoptose induziert (44). Naive B-Zellen exprimieren sowohl c-Met als auch HGF, was über eine autokrine Stimulation die Differenzierung und ein verlängertes Überleben der Zellen sichert (44). Benigne periphere B-Lymphozyten exprimieren im Normalfall kein c-Met, sondern erst nach Aktivierung im Keimzentrum. Auf benignen Plasmazellen wird

c-Met exprimiert (33,44). Diese Befunde legen die Vermutung nahe, dass eine Aktivierung die B-Lymphozyten zu einer c-Met-Expression anregt.

Eine vermehrte c-Met-Expression tritt vor allem bei systemischen DLBCL auf (33,48,49). Zudem konnten sowohl in der direkten Tumorumgebung von DLBCL als auch im Serum der betroffenen Patienten erhöhte HGF-Level nachgewiesen werden obwohl die Tumorzellen selber kein HGF sezernieren (33). Allerdings synthetisieren diese Tumorzellen eine Protease, die das Vorläufer-HGF in seine aktive Form überführt. Damit wird die überwiegend parakrine Aktivierung von c-Met durch eine autokrine Funktion getriggert (33,49). Die c-Met-Expression bei DLBCL ist in den meisten Studien mit einer schlechteren Prognose assoziiert (33,45,48,49). Es existiert jedoch ebenfalls eine Untersuchung, bei der eine c-Met-Expression mit einer besseren Prognose korrelierte (50).

Genau wie auf benignen Plasmazellen lässt sich ebenfalls auf Plasmazytom-Zellen c-Met nachweisen (33,44,49,51). Zusätzlich synthetisieren Plasmazytom-Zellen jedoch auch HGF und können Vorläufer-HGF prozessieren, wodurch eine autokrine c-Met-Aktivierung möglich wird (33,51). Auch bei Plasmazytom-Patienten ist HGF im Serum meist erhöht und korreliert mit einer signifikant schlechteren Prognose (33,45,50). Der HGF/c-Met-Signalweg führt bei Plasmazytom-Zellen zu einer vermehrten Proliferation und zu einem verlängerten Überleben durch anti-apoptotische-Prozesse (33). Des Weiteren beeinflusst er die Migration und Adhäsion der Tumorzellen und fördert die Neoangiogenese in der Tumorumgebung (33,44,52). Auch bei der Entwicklung der für Plasmazytome typischen Knochenläsionen spielt die HGF/c-Met-Signalkaskade möglicherweise eine Rolle (33).

Hodgkin-Lymphome zeigen ebenfalls eine übermäßige c-Met-Expression (>30% der Tumorzellen), wobei HGF nicht oder kaum (ca. 8% der Tumorzellen) synthetisiert wird (53). Damit liegt bei dieser Entität eher eine parakrine Aktivierung des Rezeptors durch HGF der umliegenden dendritischen Zellen vor (53). Das Bemerkenswerte beim Hodgkin-Lymphom ist, dass eine c-Met-Expression unabhängig vom Tumorstadium mit einer signifikant besseren Prognose einhergeht, obwohl die Tumorzellen (Hodgkin-Zellen und Sternberg-Reed-Riesenzellen) in vitro durch eine c-Met-Aktivierung zur Proliferation angeregt

werden (53,54). Der antitumoröse Effekt von c-Met beruht wahrscheinlich auf der Inhibition der Synthese des Wachstumsfaktors Transforming-growth-factor beta (TGF- β), der in dieser Entität eine zentrale Rolle spielt. Des Weiteren wird vermutet, dass c-Met das Mikroklima in der Tumorumgebung beeinflusst, so dass Hodgkin-Zellen und Sternberg-Reed-Riesenzellen schlechter wachsen und überleben können (53). Insgesamt bleiben die Zusammenhänge jedoch noch unklar, zumal auch beim Hodgkin-Lymphom erhöhte HGF-Serumlevel in aktiven Tumoren gefunden wurden, die bei einer Remission abnehmen (33) und darüber hinaus andere Studien auf eine schlechtere Prognose bei c-Met-positiven Hodgkin-Lymphomen hinweisen konnten (55,63).

Bislang existieren kaum Daten über die Bedeutung der c-Met-Expression bei systemischen TCLs. In einer japanischen Untersuchung zeigten 78% der Typ-II-primär intestinalen Enteropathie-assoziierten TCL (EATCL) eine c-Met-Expression. In 65% der Fälle konnte eine Amplifikation des *MET*-Gens nachgewiesen werden (56). Über die klinische oder prognostische Bedeutung dieses Befundes wird jedoch in dieser Studie nicht eingegangen.

Zusammenfassend (siehe Tabelle 5) zeigen also DLBCL – sowohl systemische als auch primär intestinale –, Plasmazytome, Hodgkin-Lymphome und teilweise Burkitt-Lymphome, Keimzentrumslymphome (KZL) und chronisch lymphatische Leukämien eine gesteigerte c-Met-Expression. Hingegen konnten bei systemischen Marginalzonenlymphomen (MZL) oder B-Zell-Vorläufer-Neoplasien kaum c-Met-Expression nachgewiesen werden (33,44,45,49,53). Das Vorliegen von c-Met ist – wie bei den meisten soliden Tumoren – mit einer überwiegend schlechteren Prognose assoziiert (33,44,45). Hiervon ausgenommen scheint das Hodgkin-Lymphom, welches in einer Untersuchung bei übermäßiger c-Met-Expression eine bessere Prognose gezeigt hat (53). Darüber hinaus ergaben sich diskrepante Ergebnisse bei den systemischen DLBCL, wo sich ebenfalls in einer Studie eine bessere Prognose bei c-Met-Positivität dargestellt hat (50). Analysen zu CBCLs sind ausstehend und Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Tabelle 5: Tabellarische Zusammenfassung der wichtigsten Literaturstellen zu dem Thema c-Met-Positivität bei systemischen Lymphomen

Lymphom	c-Met +	Literatur (Referenz-Nr)
Klassisches Hodgkin Lymphom	52% (80/153)	Xu C, Plattel W et al. (Haematol. 2012) (53)
1.Keimzentrumslymphom 2.diffus großzelliges BCL 3.Burkitt-Lymphom 4.Hodgkin-Lymphom	1. 72,72% (8/11) 2. 83,33% (5/6) 3. 33,33% (1/3) 4. 75% (6/8)	Weimar I S, de Jong D et al. (Blood 1997) (52)
1.Lymphom- und Leukämie-Zelllinien 2.Plasmozytomzelllinien 3.Hodgkin-Lymphom-Zelllinien	1. 47% (43/92) 2. 100% (6/6) 3. 91% (10/11)	Pons E., Uphoff CC et al. (Leukemia Res 1998) (57)
Reed- Stern-berg-Zellen beim Hodgkin-Lymphom	100%	Teofili L, Di Febo A L et al. (Blood 2001) (54)
50 Lymphomzellreihen +23 hämatopoetische Zellreihen Davon: 1. Hodgkin-Lymphom 2. Burkitt-Lymphom 3. AML	1. 57% (4/7) 2. 10% (1/10) 3. 7% (1/14)	Jücker M, Günther A et al. (Leukemia Res 1993) (58)
Plasmozytomzellreihen	80% (4/5)	Börset M, Seidel C (Leuk Lymph 1999) (51)
Diffus großzelliges BCL (DLBCL)	73,2% (220/301)	Uddin S, Hussain AR et al. (Lab Invest 2010) (50)
Intestinales DLBCL	71% (20/28) hatten eine hohe c-MET-Gen-Copynumber Insgesamt 8,2% (6/73) c-Met+	Huang WT et Chuang SS (Diagnostic Pathology 2013) (45)
1. Plasmozytom 2. DLBCL 3. KZL, Burkitt-L., B-CLL 4. Mantelzell-L. (n=5), MZL (n=3), B-Zell-Vorläuferneoplasien (n=3)	1. 48% (10/21) 2. 30% (13/43) 3. 7% (1/15), 8% (1/12), 25% (2/8) 4. c-MET-negativ	Tjin E, Groen R et al. (Blood 2006) (49)
Enteropathie-assoziiertes intestinales TCL Typ II	78% (18/26)	Kikuma K, Yamada K et al. (Hum Path 2013) (56)
TCL-Entwicklung bei TPR-MET-knock-in Mäusen im Thymus	100% (84/84)	Accornero P, Lattanzio G et al (Clin Cancer Res 2008) (59)

1.7. C-MET-EXPRESSION BEI KUTANEN LYMPHOMEN UND ZIEL DIESER STUDIE

Zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Arbeit existierten - nach besten Gewissen der Autorin - keine Veröffentlichungen zur c-Met-Expression bei kutanen Lymphomen und deren eventuellen therapeutischen Bedeutung. Interessanterweise sind einige der, durch c-Met initiierten Signalwege (RAS, AKT, PI3K, PTEN), bei CTCLs aktiviert (35,36,37). In der Literatur wurde eine vermehrte c-Met-Expression vor allem bei Entitäten systemischer BCL thematisiert (45,46,47,49,50,51,52,53,54,57,58). Nach einer c-Met-Aktivierung adhären B-Lymphom-Zellen an Fibronectin und Kollagen, was die Migration und Invasion dieser Tumorzellen ins Gewebe einleitet (48), und somit deren Ausbreitung und Infiltration begünstigt.

Bezüglich der TCL existiert eine japanische Untersuchung zu dem Typ II EATCL, die eine übermäßige c-Met-Expression in 78% der Fälle nachweisen konnte (56). Eine andere Untersuchung konnte nachweisen, dass bei knock-in Mäusen mit dem *TPR-MET*-Onkogen, in allen Fällen ein T-Zell-Lymphom innerhalb von mindestens zwei Monaten im Thymus auftrat (59). Diese Hinweise lassen vermuten, dass auch bei primär kutanen T-Zell-Lymphomen die c-Met-Expression möglicherweise eine Rolle spielen könnte.

In der vorliegenden Studie soll der Frage nachgegangen werden, ob kutane Lymphome eine vermehrte c-Met-Expression zeigen. Zudem werden Korrelationen zwischen klinischen Merkmalen des Tumors (Entität, Tumor-, Lymphknoten- und Metastasierungsstadium nach WHO, Mortalität) und des Patienten (Lebensalter, Geschlecht) und der c-Met-Expression analysiert.

Therapien mit c-Met-Blocker stehen bereits bei anderen Tumorentitäten im Fokus (61). Letztendlich soll mit dieser Arbeit indirekt gezeigt werden, ob eine c-Met-Expression in kutanen Lymphomen ein potentielles therapeutisches Target sein könnte.

2. Material und Methoden

2.1. PATIENTENPOPULATION UND PRÄPARATEAUSWAHL

Aus dem Patientenkollektiv der Dermatologie der Helios-Klinik in Krefeld der Jahre 2004–2015 wurden insgesamt 30 Patienten mit CBCL und 54 Patienten mit CTCL ausgewählt. Die exakte Tumorentität, das Tumorstadium bei Erstdiagnose sowie beim letzten Arzt-Patienten Kontakt bzw. bei Ableben des Patienten, das Geburtsdatum, das Geschlecht, das Datum der Erstdiagnose, ggf. das Todesdatum und die Todesursache (Lymphom-(Therapie)-assoziiert oder andere Ursache) wurde in Excel-Tabellen dokumentiert. Darüber hinaus wurden alle systemischen Therapien sowie lokale und Lichttherapien bei CTCL sowie Radiatio und operative Therapien bei CBCL aufgenommen.

Die Formalin-fixierten Gewebelöcke der Hautproben der Patienten, durch die das kutane Lymphom histologisch nachgewiesen oder erneut gesichert wurde, wurden aus dem Archiv des pathologischen Instituts der Helios-Klinik Krefeld bezogen. Diese Gewebelöcke wurden von der Autorin der vorliegenden Arbeit daraufhin geprüft, ob ausreichend Gewebematerial für eine weitere immunhistochemische Anfärbung vorlag. Die Präparatenummer, Patienteninitialen sowie die Tumorentität wurden ebenfalls in einer Excel-Tabelle katalogisiert. Die immunhistochemischen Anfärbungen an den Tumorpräparaten wurden an dem Institut für Pathologie der Charité Berlin vorgenommen.

2.1.1. Einschlusskriterien

Zunächst wurden alle Patienten der Helios-Hautklinik in Krefeld aus dem Zeitraum 2004–2015 eingeschlossen, bei denen ein primäres CBCL oder CTCL histologisch und immunhistologisch, anhand der aktuellen WHO-Klassifikation, nachgewiesen worden war. Ein weiteres Einschlusskriterium war eine ausreichende und nachvollziehbare Dokumentation der klinischen Basisdaten (Geschlecht, Geburtsdatum) sowie des Behandlungsverlaufs. Zusätzlich musste der im pathologischen Institut der Helios-Klinik Krefeld archivierte, Formalin-fixierte Gewebelöck der Hautprobe zum Nachweis des kutanen Lymphoms ausreichend kutanes Gewebe für eine erneute immunhistochemische Untersuchung aufweisen.

2.1.2. Ausschlusskriterien

Alle Patienten, bei denen ein kutanes Lymphom nicht mit vollständiger Sicherheit histologisch nachweisbar war oder bei denen kein Gewebepblock im pathologischen Institut der Helios-Klinik Krefeld archiviert worden war (z.B. bei externer histologischer Sicherung des Lymphoms) wurden nicht in die Studie einbezogen. Weiter wurden Patienten mit insuffizient dokumentierten Daten und Behandlungsverläufen ausgeschlossen. Patienten, deren Gewebeblöcke nicht ausreichend Hautmaterial für eine erneute immunhistochemische Untersuchung aufwiesen oder deren Tumor sich in den angefertigten Gewebeschnitten nicht ausreichend darstellte, wurden ebenfalls nicht in die Auswertung aufgenommen.

2.2 IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG AM HISTOLOGISCHEN PRÄPARAT UND BESTIMMUNG EINER C-MET-EXPRESSION

Die Analyse der c-Met-Expression an den paraffinfixierten Gewebeproben mit kutanem Lymphommaterial über c-Met-Antikörper (mouse monoclonal, Clone 3D4, 18-7366, Invitrogen) (C-28) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) erfolgte im Institut für Pathologie an der Charité Berlin, Deutschland. Zur Visualisierung der Expression wurden Meerrettich-Peroxidase-gekoppelte Sekundärantikörper und 3,3-Diaminobenzidin (Sigma Aldrich St. Louis, MO, USA) verwendet. Als Negativkontrolle dienten jeweils fünf Gewebeproben mit nachgewiesener Psoriasis und Dermatitis. Für die Positivkontrolle wurden c-Met-positive kleinzellige Bronchialkarzinome verwendet. Zusätzlich dienten die physiologisch c-Met-positiven Schweißdrüsen und Epidermiszellen in allen Präparaten als Positivkontrolle.

Von jedem Tumorpräparat wurde darüber hinaus ein Hämatoxylin-Eosin-gefärbter (HE-) Schnitt und die, für die jeweilige Lymphomdiagnose notwendige Immunhistochemie beurteilt. Die für die Immunhistochemie verwendeten Antikörper und dazugehörigen Klone wurden von der Firma Ventana Medical Systems (Californien, USA) bezogen und sind in der unten folgenden Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6: Antikörper für die immunhistochemische Lymphomdiagnose

Immunhistochemischer Marker	Art des verwendeten Antikörpers (Ak) zum Nachweis	Klon des verwendeten Antikörpers (Ak)
Bcl-2	Primärer monoklonaler Maus-Ak	124
Bcl-6	Primärer monoklonaler Maus-Ak	G1191E/A8
CD3	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	2GV6
CD4	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP35
CD5	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP19
CD7	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP94
CD8	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP57
CD10	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP67
CD20	Primärer Ak	L26
CD23	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP23
CD30	Primärer monoklonaler Maus-Ak	Ber-H2
CD34	Primärer Ak	QBEnd/10
CD38	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP149
CD56	primärer monoklonaler Kaninchen-AK	MRQ-42
CD68	Primärer Ak	KP-1
CD79a	Primärer monoklonaler Kaninchen-Ak	SP18
CD138	primärer monoklonaler Kaninchen-AK	B-A38
Granzym B	polyklonaler Kaninchen-Ak	Polyklonal
Kappa	polyklonaler Kaninchen-Ak	Polyklonal
Lambda	polyklonaler Kaninchen-Ak	Polyklonal
MUM1	primärer polyklonaler Kaninchen-AK	MRQ-43
ALK1	Primärer Ak	ALK01

2.3. AUSWERTUNG DER C-MET-EXPRESSION

Die histologischen Gewebeschnitte aller Patienten wurden von der Verfasserin dieser Arbeit und dem Betreuer PD Dr. med. Chalid Assaf gemeinschaftlich an einem mehrarmigen Mikroskop der Firma Leica Typ DM 2.500 beurteilt. Hierbei wurden pro Lymphom-Fall alle diagnostisch relevanten Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Schnitte (sog. HE-Schnitte) sowie die dazugehörigen immunhistochemischen Analysen miteingeschlossen. Daraufhin wurden im Anschluss die immunhistochemisch angefärbten Schnitte mit dem c-Met-Antikörper zu dem dazugehörigen Fall ausgewertet und mit der jeweiligen histopathologischen Lymphomdiagnose in Relation gesetzt. Die Resultate wurden als positiv gewertet sobald sich bei $\geq 50\%$ der Tumorzellen eine c-Met-Expression nachweisen ließ.

2.4. STATISTISCHE METHODIK

Die statistischen Berechnungen wurden mithilfe von Frau Prof. Dr. hum. biol. Maria Weyermann MPH von der Fakultät Public Health, Epidemiologie und Biometrie der Hochschule Niederrhein vorgenommen. Alle Ursprungsdaten (exakte Tumorentität, das Tumorstadium bei Erstdiagnose sowie beim letzten Arzt-Patienten Kontakt bzw. bei Ableben des Patienten, das Geburtsdatum, das Geschlecht, das Datum der Erstdiagnose, ggf. das Todesdatum und die Todesursache, z.B. Lymphom-(Therapie)-assoziiert oder andere Ursache) wurden zunächst durch die Verfasserin dieser Arbeit in Exxel-Tabellen dokumentiert und in Folge in das aktuelle SPSS-Programm (IBM SPSS-Statistik-Programm 23) übertragen.

Zur Beschreibung der Studienpopulation dienten das Alter der Patienten (Mittelwert und Standardabweichung ($MW \pm SD$, Maximum, Minimum) bei Erstdiagnose, das Geschlecht der Patienten, die Tumorcharakteristika (Tumorentität und -stadium), der Anteil der im Verlauf verstorbenen Patienten sowie die c-Met-Expression der Tumorpräparate. Ein potentieller Zusammenhang zwischen einer starken c-Met-Expression ($\geq 50\%$ der Tumorzellen) und den Patientencharakteristika (Alter, Geschlecht), klinischen Merkmalen (Tumorentität

und -stadium) sowie dem Therapieverlauf (Mortalität) wurde in bivariaten Analysen untersucht.

Für die Analyse des Zusammenhangs zwischen einer starken c-Met-Expression und der (diskret) stetigen Variable Alter wurde der U-Test nach Mann-Whitney (siehe Abb. 19) verwendet, welcher als Homogenitätsanalyse dient. Der Zusammenhang einer starken c-Met-Expression mit den dichotomen Merkmalen Geschlecht (männlich/weiblich), verstorben (ja/nein), N-Staging (N0/N1 oder 2) und M-Staging (M0/M1) sowie der kategoriellen Variable T-Staging wurde mit dem Chi-Quadrat-Test (siehe Abb. 20) bzw. Fisher`s Exact Test (siehe Abb. 21) überprüft. Diese Tests dienen zur stochastischen Unabhängigkeitsanalyse innerhalb einer Kontingenztafel. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang wurde bei einem p-Wert $\leq 0,05$ angenommen.

$$U_a = n_a n_b + \frac{n_a(n_a + 1)}{2} - \sum R_a$$

Abbildung 19: U-Test nach Mann Whitney für stetige Variablen

$$\chi^2 = \chi^2 \cdot (n_{11}, n_{10}, n_{01}, n_{00}) = n \cdot \frac{(n_{11}n_{00} - n_{10}n_{01})^2}{(n_{1.} \cdot n_{0.} \cdot n_{.1} \cdot n_{.0})} \dots$$

Abbildung 20: Chi-Quadrat-Test für dichotome Variablen

$$H_{0:n_1=n_2} \text{ vs. } H_1:n_1 \neq n_0$$

Abbildung 21: exakter Test nach Fisher

3. Ergebnisse

3.1. AUSWERTUNGEN DER BASISDATEN DER CBCL-GRUPPE

Von den initial 30 Patienten mit CBCL hatten vier eine nicht eindeutige Lymphomdiagnose oder es gab von diesen Patienten kein ausreichendes Tumormaterial. Daher wurden diese Patienten aus der Untersuchung ausgeschlossen.

Innerhalb der Gruppe der CBCL (n=26) – siehe Tabelle 7 - gab es 20 Männer (76,9%) und sechs Frauen (23,1%). Die Patienten waren mindestens 22 und höchstens 86 Jahre, im Durchschnitt 61 Jahre alt ($\pm 17,6$). Sechs Patienten hatten ein PCBLT (23,1%) und 20 ein niedrigmalignes CBCL vom PCFCL- oder PCMZL-Typ (76,9%). Von 26 Patienten sind fünf innerhalb des Auswertungszeitraumes verstorben (19,2%). Die Todesursache war bei drei von fünf Patienten (11,5%) die Lymphomerkkrankung. Alle drei Patienten, die innerhalb der CBCL-Gruppe an dem Lymphom verstorben waren, gehörten der Entität PCBLT an.

Tabelle 7: Statistische Auswertungen klinischer Daten der CBCL-Gesamtgruppe (n=26)

		n (%)
Alter bei Erstdiagnose [Jahre] (Mittelwert \pm Standardabweichung)		61 \pm 18
Range, Alter (Minimum-Maximum)		22-86
Geschlecht	Männlich	20 (76,9)
	Weiblich	6 (23,1)
Tumorentität	diffus großzelliges CBCL vom Beintyp (PCBLT)	6 (23,1)
	Marginalzonen- (PCMZL)/ Keimzentrumslymphome (PCFCL)	20 (76,9)
Tumorstadium TNM bei Erstdiagnose		
T	1a	12 (46,2)
	1b	1 (3,8)
	2a	5 (19,2)
	2b	2 (7,7)
	3	1 (3,8)
	3a	1 (3,8)
	3b	3 (11,5)
	4	1 (3,8)
N	0	24 (92,3)
	1	2 (7,7)
M	0	26 (100,0)
Verstorben	Insgesamt	5 (19,2)
	Todesursache Lymphom	3 (11,5)

Bei den Patienten mit PCBLT (siehe Tabelle 8) gab es zwei Männer (33,3%) und vier Frauen (66,7%). Die Betroffenen waren 72-86 Jahre alt (80 ± 5 Jahre). Drei Patienten zeigten initial das Tumorstadium T3b (50%) und jeweils ein Patient (16,7%) das Stadium T1b, T2a oder T4. Des Weiteren hatten vier Patienten (66,7%) ein Lymphknotenstadium von N0 und zwei (33,3%) N1. Alle Patienten (100%) präsentierten sich bei Erstdiagnose mit einem Metastasierungsstadium von M0. Vier Patienten (66,7%) mit PCBLT verstarben innerhalb des Auswertungszeitraumes, davon war bei dreien (50%) das Lymphom die Todesursache.

Tabelle 8: Charakteristika der Patienten mit diffus großzelligem BCL vom Beintyp (PCBLT), (n=6)

		n (%)
Alter bei Erstdiagnose [Jahre] (Mittelwert \pm Standardabweichung)		80 \pm 5
Range, Alter (Minimum-Maximum)		72-86
Geschlecht		Männlich
		2 (33,3)
		Weiblich
		4 (66,7)
TNM bei Erstdiagnose		
T	1a	0
	1b	1 (16,7)
	2a	1 (16,7)
	2b	0
	3a	0
	3b	3 (50)
	4	1 (16,7)
N	0	4 (66,7)
	1	2 (33,3)
M	0	0
Verstorben		Insgesamt
		4 (66,7)
		Todesursache Lymphom
		3 (11,5)

Von den 20 Patienten mit niedrigmalignen CBCL (PCFCL und PCMZL) waren 18 Männer (90%) und zwei Frauen (10%) (siehe Tabelle 9). Die Patienten dieser Gruppe waren 22-78 Jahre alt, das Durchschnittsalter lag bei 55 ± 16 Jahren. Zwölf Patienten (60%) hatten initial ein Tumorstadium von T1a, vier (20%) Patienten ein T2a und jeweils zwei (10%) Patienten ein T2b oder T3a. Alle 20 Patienten (100%) präsentierten sich bei Erstdiagnose mit einem Lymphknotenstadium von N0 und einem Metastasierungsstadium von M0. In dieser Gruppe verstarb ein Patient (5%)

innerhalb des Auswertungszeitraumes, wobei die Todesursache nicht das Lymphom war.

Tabelle 9: Charakteristika der Patienten mit Keimzentrums- (PCFCL) und Marginalzonen-Lymphomen (PCMZL) (n=20)

		n (%)
Alter bei Erstdiagnose [Jahre] (Mittelwert ± Standardabweichung)		55 ± 16
Range, Alter (Minimum-Maximum)		22-78
Geschlecht		Männlich
		18 (90)
		Weiblich
		2 (10)
TNM bei Erstdiagnose		
T	1a	12 (60)
	1b	0
	2a	4 (20)
	2b	2 (10)
	3a	2 (10)
	3b	0
	4	0
	N	0
1		0
M	0	20 (100)
Verstorben		Insgesamt
		1 (5)
		Todesursache Lymphom
		0

3.2. AUSWERTUNGEN DER BASISDATEN DER CTCL-GRUPPE

Bei den initial 54 Patienten mit CTCL gab es sechs mit einer nicht eindeutigen Lymphomdiagnose oder nicht ausreichendem Tumormaterial. Auch diese Patienten wurden aus der Untersuchung ausgeschlossen.

Wie in Tabelle 10 beschrieben, gab es bei den CTCL-Patienten (n=48) 31 Männer (64,6%) und 17 Frauen (35,4%), sie waren 16-97 Jahre alt (Mittelwert 68,2±14,9 Standardabweichung). Es gab hierunter 27 Patienten (56,2%) mit MF, sechs (12,5%) mit SS, sieben (14,6%) mit CD30+ CTCL (LyP und PCALCL), drei (6,2%) mit SPTL und einen (2,1%) mit aggressivem zytotoxischen epidermotropen CD8+ CTCL. Vier (8,3%) Patienten waren von der Diagnose BPDCN, die genau genommen - weder zu den CTCLs noch zu den CBCLs gehört, sondern zu den hämatodermischen Vorläuferneoplasien, aber aus statistischen Gründen in der vorliegenden Arbeit zu den CTCL gezählt werden musste (siehe Einleitung, Kapitel 1.1.). Zehn CTCL-Patienten (20,8%) hatten initial ein Tumorstadium T1, 19

(39,6%) Patienten ein T2, sieben (14,6%) Patienten ein T3 und 12 (25%) Patienten ein T4. Das Lymphknotenstadium war bei 44 (91,7%) Patienten N0, bei drei (6,2%) Patienten N1 und bei einem Patienten (2,1%) N2. Bei Erstdiagnose befanden sich alle Patienten im Metastasierungsstadium M0. Aus der CTCL-Gruppe verstarben 25 (52,1%) Patienten im Auswertungszeitraum, darunter 14 (29,2%) Patienten an dem Lymphom.

Tabelle 10: Charakteristika der CTCL-Gesamtgruppe (n=48)

		n (%)
Alter bei Erstdiagnose [Jahre] (Mittelwert ± Standardabweichung)	68,2 ± 14,9	
Range, Alter (Minimum – Maximum)	16-97	
Geschlecht	Männlich	31 (64,6)
	Weiblich	17 (35,4)
Tumorentität	MF	27 (56,2)
	SS	6 (12,5)
	CD30+ CTCL	7 (14,6)
	SPTL	3 (6,2)
	CD8+ aggr. CTCL	1 (2,1)
	BPDCN	4 (8,3)
TNM bei Erstdiagnose		
T	1	10 (20,8)
	2	19 (39,6)
	3	7 (14,6)
	4	12 (25,0)
N	0	44 (91,7)
	1	3 (6,2)
	2	1 (2,1)
M	0	48 (100)
Verstorben	Insgesamt	25 (52,1)
	Todesursache Lymphom	14 (29,2)

Bei der numerisch größten Subgruppe mit MF (siehe Tabelle 11) waren 18 (66,7%) Patienten männlich und 9 (33,3%) Patienten weiblich. Die Patienten waren 38-97 Jahre alt, das Durchschnittsalter betrug 68,4±19,4 Jahre. Sieben (25,9%) Patienten hatte initial ein Tumorstadium T1, 11 (40,7%) Patienten ein Tumorstadium T2, drei (11,1%) Patienten ein T3 und sechs (22,2%) Patienten ein T4. Der Lymphknotenstatus war bei 24 Patienten (88,9%) N0, bei zwei Patienten (7,4%) N1 und bei einem Patienten (3,7%) N3. Alle MF-Patienten zeigten initial ein Metastasierungsstadium von M0. In dem Auswertungszeitraum verstarben 11 MF-

Patienten (40,7%), davon war bei vier Patienten (15,4%) das Lymphom die Todesursache, bei sechs Patienten (22,2%) waren die anderen Todesursachen bekannt und in einem Fall (3,7%) war die Todesursache unbekannt.

Tabelle 11: Charakteristika der Patienten mit Mycosis fungoides (MF) (n=27)

		n (%)
Alter bei Erstdiagnose [Jahre] (Mittelwert ± Standardabweichung)	69,4 ± 14,9	
Range, Alter (Minimum-Maximum)	38,4-97,2	
Geschlecht	Männlich	18 (66,7)
	Weiblich	9 (33,3)
TNM bei Erstdiagnose		
T	1	7 (25,9)
	2	11 (40,7)
	3	3 (11,1)
	4	6 (22,2)
N	0	24 (88,9)
	1	2 (7,4)
	2	1 (3,7)
M	0	27 (100)
verstorben	Insgesamt	11 (40,7)
	Todesursache Lymphom	4 (15,4)

3.3. AUSWERTUNGEN DER C-MET-EXPRESSION IN DER CBCL-GRUPPE

Innerhalb der CBCL-Gruppe zeigten 13 der 26 Patienten (50%) eine c-Met-Überexpression ($\geq 50\%$ der Tumorzellen positiv, siehe Tabelle 12). Bei den PCBLT-Patienten war in allen sechs Fällen (100%) eine deutliche c-Met-Expression ($\geq 70\%$ der Tumorzellen positiv) zu erkennen (siehe Abbildung 22). In vier Fällen (66,7%) waren sogar mehr als $\geq 90\%$ der Tumorzellen positiv (siehe Tabelle 13). In der Gruppe der niedrigmalignen CBCL vom Keimzentrums- oder Marginalzonen-Typ (siehe Abbildung 23 und 24) gab es sieben Fälle (35,0%) mit einer vermehrten c-Met-Expression (siehe Tabelle 14).

Tabelle 12: Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CBCL-Gesamtgruppe (n=26)

	C-Met-Expression der Tumorzellen (%)	n (%)
	<10	7 (26,9)
	20	1 (3,8)
	30	1 (3,8)
	40	4 (15,4)
	50	1 (3,8)
	60	3 (11,5)
	70	1 (3,8)
	80	3 (11,5)
	90	5 (19,2)
C-Met-Expression der Tumorzellen		
< 50%		13 (50)
≥ 50%		13 (50)

Tabelle 13: Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CBCL-Untergruppe mit diffus großzelligem CBCL vom Beintyp (PCBLT, n=6)

	C-Met-Expression der Tumorzellen (%)	n (%)
	<10	0
	20	0
	30	0
	40	0
	50	0
	60	0
	70	1 (16,7)
	80	1 (16,7)
	90	4 (66,7)
C-Met-Expression der Tumorzellen		
< 50%		0
≥ 50%		6 (100)

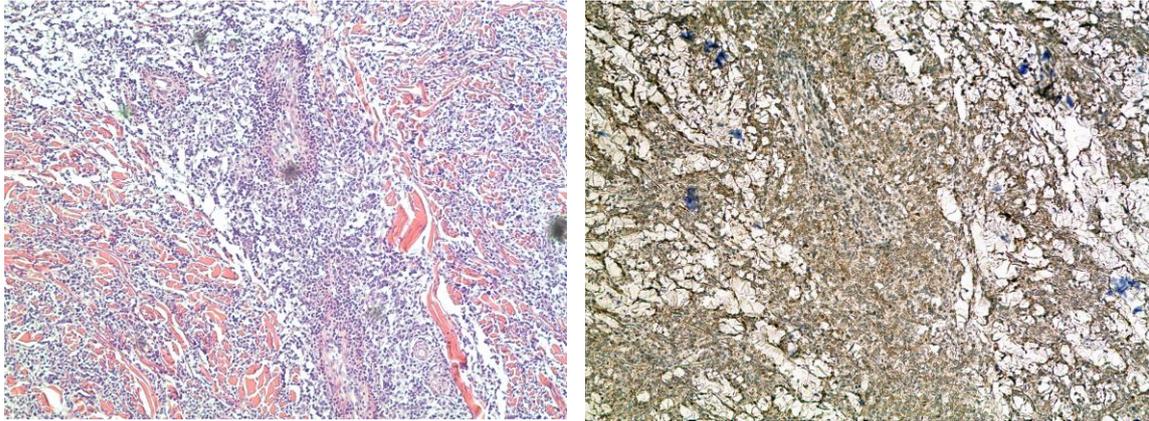


Abbildung 22: Histologie eines PCBLT, links HE-Färbung (Vergrößerung x100), rechts c-Met-Färbung (Vergrößerung x200) (c-Met-Expression: positiv)

Tabelle 14: Anteil der Tumorzellen (%) mit c-MET-Expression in der CBCL-Untergruppe mit Keimzentrums- (PCFCL) und Marginalzonen-Lymphomen (PCMZL) (n=20)

	C-Met-Expression der Tumorzellen (%)	n (%)
	<10	7 (35,0)
	25	1 (5,0)
	30	1 (5,0)
	40	4 (20,0)
	60	1 (5,0)
	70	2 (10,0)
	80	3 (15,0)
	90	1 (5,0)
C-Met-Expression der Tumorzellen		
< 50%		13 (65)
≥ 50%		7 (35)

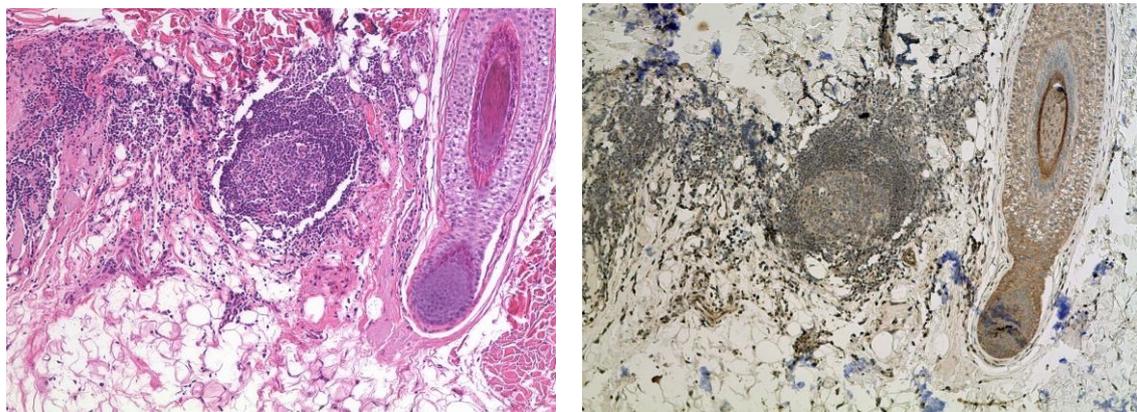


Abbildung 23: Histologie eines primär kutanen Keimzentrumslymphoms, links HE-Färbung, rechts c-Met-Färbung (Vergrößerung x100)

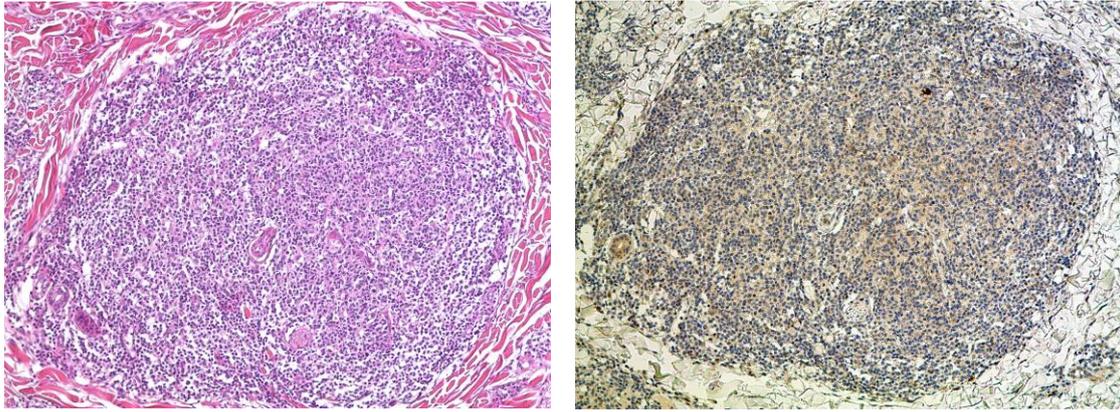


Abbildung 24: Histologie eines primär kutanen Marginalzonenlymphoms, links HE-Färbung, rechts c-Met-Färbung (Vergrößerung x100)

3.4. AUSWERTUNGEN DER C-MET-EXPRESSION IN DER CTCL-GRUPPE

Bei den CTCL-Patienten (n=48) ließ sich in insgesamt 38 Fällen (79,2%) eine starke c-Met-Expression ($\geq 50\%$ der Tumorzellen positiv) nachweisen (siehe Tabelle 15). Patienten mit den Entitäten SS, SPTL und primär kutanem aggressives epidermotropen CD8+ waren zu jeweils 100% c-Met-positiv (6/6, 3/3, 1/1) – siehe dazu Abbildungen 25 und 26. Auch die BPDCN-Fälle (4/4) waren zu 100% deutlich c-Met-positiv ($\geq 90\%$ der Tumorzellen). Bei Patienten mit MF (siehe Tabelle 16 und Abbildungen 27 und 28) zeigten 20 (74,1%) Patienten und mit CD30+ CTCL (n=7) vier (57%) Patienten eine übermäßige c-Met-Expression.

Tabelle 15: Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CTCL-Gesamtgruppe (n=48)

	C-Met-Expression der Tumorzellen in %	n (%)
	<10	4 (8,3)
	20	1 (2,1)
	25	2 (4,2)
	30	2 (4,2)
	40	1 (2,1)
	50	5 (10,4)
	60	6 (12,5)
	70	6 (12,5)
	80	14 (29,2)
	90	4 (8,3)
	100	3 (6,3)
C-Met-Expression der Tumorzellen		
< 50%		10 (20,8)
$\geq 50\%$		38 (79,2)

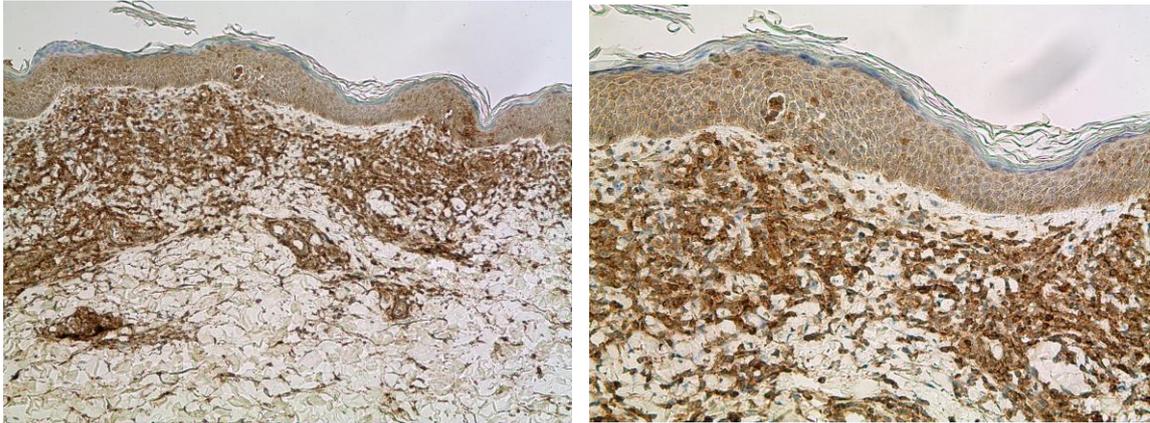


Abbildung 25: deutlich positive c-Met-Färbung eines Sézary Syndroms (SS), links Vergrößerung x100, rechts x200

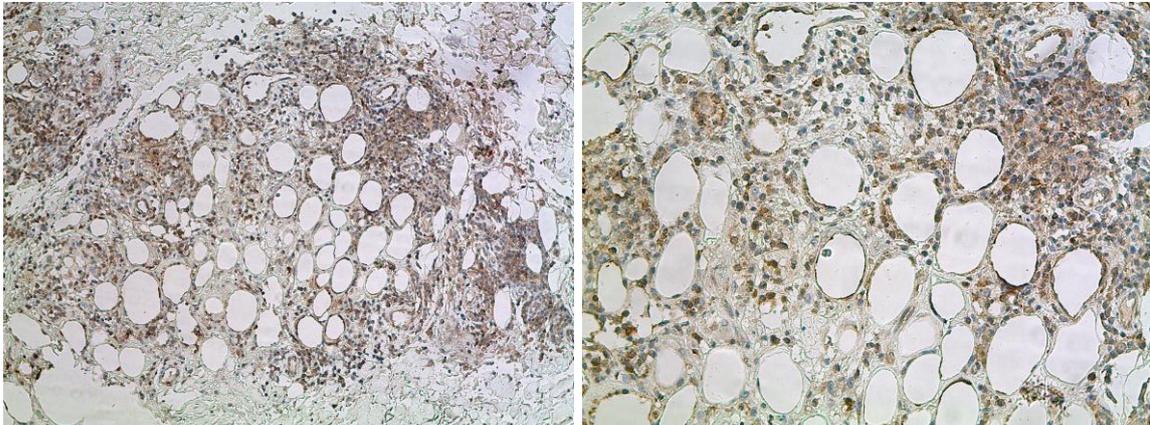


Abbildung 26: positive c-Met-Färbung eines subkutan pannikulitisartigen CTCL (SPTL), links Vergrößerung x100, rechts x200

Tabelle 16: Anteil der Tumorzellen (%) mit c-Met-Expression in der CTCL-Untergruppe mit Mycosis fungoides (n=27)

	C-Met-Expression der Tumorzellen in %	n (%)
	<10	2 (7,4)
	20	1 (3,7)
	25	1 (3,7)
	30	2 (7,4)
	40	1 (3,7)
	50	4 (14,8)
	60	1 (3,7)
	70	4 (14,8)
	80	8 (29,6)
	90	3 (11,1)
C-Met-Expression der Tumorzellen		
<50%		7 (25,9)
≥ 50%		20 (74,1)

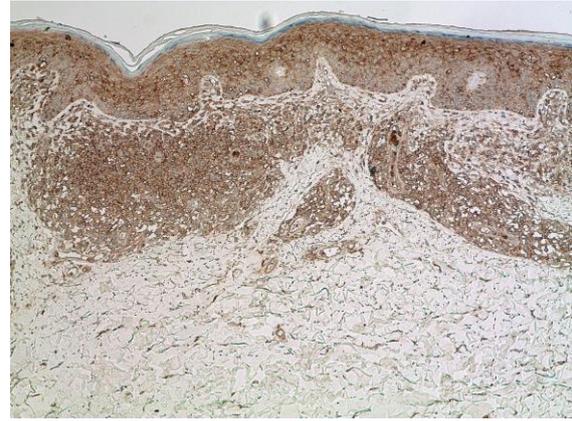
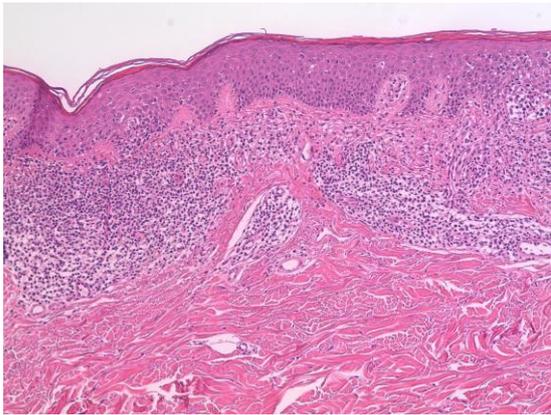


Abbildung 27: Histologie einer Mycosis fungoides (MF), links HE-Färbung, rechts c-Met-Färbung (Vergrößerung x100)

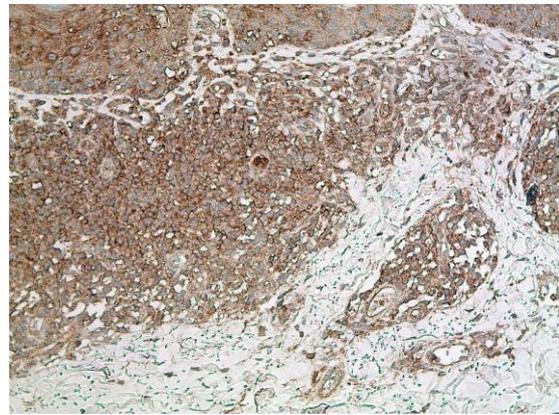
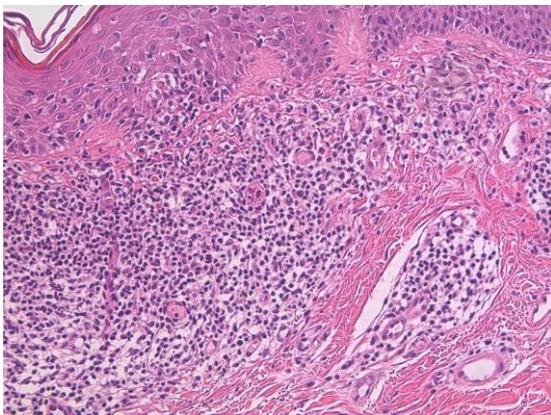


Abbildung 28: Histologie einer Mycosis fungoides (MF) Vergrößerung x200, links HE-Färbung, rechts c-Met-Färbung (positiv)

3.5. ASSOZIATION DER C-MET-EXPRESSION ZU ALTER UND GESCHLECHT DER PATIENTEN SOWIE ZU TUMORENTITÄT, -STADIUM UND –PROGNOSE IN DER CBCL-GRUPPE

Wie der Tabelle 17 zu entnehmen ist gab es bei den 26 Patienten mit CBCL einen signifikant positiven Zusammenhang zwischen starker c-Met-Expression und höherem Alter ($p=0,006$). Zudem waren Fälle mit den höheren Tumorstadien T3 und T4 signifikant häufiger c-Met-positiv ($p=0,018$). Weiter zeigten Patienten mit einem PCMZL oder PCFCL im Vergleich zu Patienten mit PCBLT signifikant seltener eine übermäßige c-Met-Expression ($p=0,015$). Darüber hinaus waren alle am Lymphom verstorbenen CBCL-Patienten ($n=3$) c-Met-positiv. Aufgrund der geringen Fallzahl zeigte die Mortalität jedoch keine signifikante Korrelation zum c-Met-Status ($p=0,22$).

Des Weiteren bestand bei den CBCL-Fällen keine signifikante Korrelation zwischen der c-Met-Expression und dem Geschlecht ($p=0,645$) oder dem Lymphknotenstadium ($p=0,48$).

Tabelle 17: Zusammenhang der c-Met-Überexpression mit Patienten- und Tumorcharakteristika in der CBCL-Gesamtgruppe (n=26)

		N	C-Met-Expression der Tumorzellen		p-value (Test)
			< 50 %	≥ 50 %	
CBCL Gesamtgruppe		26	13 (50,0)	13 (50,0)	
Alter bei Erstdiagnose [Jahre]	(MW ± SD)	61,1 ± 17,6	52,2±13,5	69,5 ± 17,6	0,006 (Mann-Whitney U-Test)
	Median (Range)	60,3 (22-86)	52,6 (22-76)	76,9 (27-86)	
Geschlecht	Männlich	20	11 (55,0)	9 (45,0)	0,645 (Fisher)
	Weiblich	6	2 (33,3)	4 (66,7)	
Tumorentität	1 (PCBLT)	6	0 (0,0)	6 (100,0)	0,015 (Fisher)
	2 (PCMZL, PCFCL)	20	13 (65,0)	7 (35,0)	
TNM bei Erstdiagnose					
T	1	13	9 (69,2)	4 (30,8)	0,018 (Fisher)
	2	7	4 (57,1)	3 (42,9)	
	3 und 4	6	0 (0,0)	6 (100,0)	
N	0	24	13 (54,2)	11 (45,8)	0,48 (Fisher)
	1	2	0 (0,0)	2 (100,0)	
M	0	26	13	13	-
Verstorben am Lymphom	Nein	23	13 (56,5)	10 (43,5)	0,22 (Fisher)
	Ja	3	0 (0,0)	3 (100,0)	

Das Tumorgewebe von Patienten mit den niedrig malignen CBLCs PCMZL und PCFCL (n=20) zeigten mit zunehmendem Alter der Betroffenen zwar häufiger c-Met-Positivität, dieser Zusammenhang war jedoch nicht signifikant (p=0,219, siehe Tabelle 18). Weiter bestand keine signifikante Assoziation zwischen einer starken c-Met-Expression und dem Tumorstadium (p=0,119) oder dem Geschlecht (p=0,52).

Tabelle 18: Zusammenhang der c-Met-Expression mit Patienten- und Tumorcharakteristika in der CBCL-Untergruppe mit Marginalzonen- und Keimzentrumslymphom (n=20)

				C-Met-Expression der Tumorzellen		
		N	< 50 %	≥ 50 %	p-value (Test)	
Marginalzonen- und Keimzentrumslymphome		20	13 (65,0)	7 (35,0)	-	
Alter bei Erstdiagnose [Jahre]	(MW ± SD)	55,5 ± 16,0	52,7±13,5	60,6 ± 20,0	0,219 (Mann-Whitney U-Test)	
	Median (Range)	57,0 (22-78)	52,7 (22-76)	72,0 (27-78)		
Geschlecht	Männlich	18	11 (61,1)	7 (38,9)	0,52 (Fisher-Test)	
	Weiblich	2	2 (100,0)	0 (0,0)		
TNM bei Erstdiagnose						
T	1	12	9 (75,0)	3 (25,0)	0,119 (Fisher-Test)	
	2	6	4 (66,6)	2 (33,3)		
	3 und 4	2	0 (0,0)	2 (100,0)		
N	0	20	13 (65,0)	7 (35,0)	-	
	1	0	-	-		
M	0	20	13 (65,0)	7 (35,0)	-	
Verstorben (CBCL)	Nein	20	13 (65,0)	7 (35,0)	-	
	Ja	0	-	-		

3.6. ASSOZIATION DER C-MET-EXPRESSION ZU ALTER UND GESCHLECHT DER PATIENTEN SOWIE ZU TUMORENTITÄT, -STADIUM UND -PROGNOSE IN DER CTCL-GRUPPE

Wie der Tabelle 19 zu entnehmen ist, fiel bei den CTCL-Patienten (n=48) eine signifikante Assoziation zwischen dem weiblichen Geschlecht und der Häufigkeit des Auftretens einer starken c-Met-Expression auf (p=0,009). Alle 17 eingeschlossenen Frauen mit CTCL waren c-Met-positiv (100%), dagegen nur 21 der insgesamt 31 Männer (67,7%).

Zudem wiesen die c-Met-positiven Fälle in der CTCL-Gruppe tendenziell ein höheres Alter auf; dieser Zusammenhang war jedoch ohne statistische Signifikanz (p=0,134). Bezüglich der Tumorentität wurden die CTCL-Patienten in fünf

Untergruppen (Gruppe 1= MF n=27, 2= SS n=6, 3=CD30+ CTCL n=7, 4= SPTL n=3, 5= CD8+ aggressives epidermotropes CTCL n=1) unterteilt. Patienten mit BPDCN (n=4) wurden ebenfalls hinsichtlich der c-Met-Positivität getrennt ausgewertet. Aufgrund der sehr kleinen Fallzahl musste diese Gruppe für weitere Korrelationsanalysen zu klinischen Merkmalen zu der CTCL-Gruppe hinzugenommen werden (siehe Tabelle 19).

Im Gegensatz zu den CBCL-Patienten war bei den CTCL-Patienten kein Zusammenhang der Häufigkeit einer vermehrten c-Met-Expression mit einem höheren Tumorstadium erkennbar ($p=0,503$). Das Lymphknotenstadium ($p=0,566$) und die Mortalität ($p=0,704$) zeigten sich ähnlich wie bei den CBCL-Patienten ebenfalls unabhängig vom c-Met-Status ($p=0,566$).

Tabelle 19: Zusammenhang der c-Met-Expression mit Patienten- und Tumorcharakteristika in der CTCL-Gesamtgruppe (n=48)

		C-Met-Expression der Tumorzellen			
		N	< 50 %	≥ 50 %	p-value (Test)
CTCL-Gesamtgruppe		48	10 (20,8)	38 (79,2)	
Alter bei Erstdiagnose [Jahre]	(MW ± SD)	68,2 ± 14,9	63,2±14,1	69,5 ± 15,0	0,134 (Mann-Whitney U-Test)
	Median (Range)	69,2 (16-97)	56,3 (48-85)	71,7 (16-97)	
Geschlecht	Männlich	31	10 (32,3)	21 (67,7)	0,009 (Fisher)
	Weiblich	17	0 (0,0)	17 (100,0)	
Tumorentität	MF	27	7 (25,9)	20 (74,1)	0,29 (Chi-Quadrat)
	SS	6	0 (0,0)	6 (100,0)	
	CD30+ CTCL	7	3 (42,9)	4 (57,1)	
	SPTL	3	0 (0,0)	3 (100,0)	
	CD8+ aggr. epidermotr. CTCL	1	0 (0,0)	1 (100,0)	
	BPDCN	4	0 (0,0)	4 (100,0)	
TNM bei Erstdiagnose					
T	1	10	1 (10,0)	9 (90,0)	0,503 (Chi-Quadrat)
	2	19	6 (31,6)	13 (68,4)	
	3	7	1 (14,3)	6 (85,7)	
	4	12	2 (16,7)	10 (83,3)	
N	0	44	10 (22,7)	34 (87,3)	0,566 (Fisher)
	1 und 2	4	0 (0,0)	4 (100,0)	
M	0	48	10 (20,8)	38 (79,2)	-
Verstorben am Lymphom	Nein	33	7 (11,2)	26 (88,8)	0,704 (Fisher)
	Ja	14	2 (14,3)	12 (85,7)	

Die größte Subgruppe mit MF (n=27) wurde hinsichtlich statistischer Zusammenhänge isoliert betrachtet (siehe Tabelle 20). Hier zeigte sich weiterhin die Tendenz, dass Patienten mit zunehmendem Alter häufiger zu einer c-Met Überexpression neigen; dieser Zusammenhang war jedoch statistisch nicht signifikant (p=0,219). Der in der Gesamtgruppe der CTCL-Patienten signifikante Zusammenhang zwischen der Häufigkeit einer c-Met-Positivität und dem Geschlecht, erreichte in dieser Subgruppe mit einem p-Wert von 0,059 keine

statistische Signifikanz, obwohl alle neun Frauen mit MF c-Met-positiv waren. Bei der Analyse des Tumorstadiums war eine c-Met-Positivität tendenziell bei den niedrigen Tumorstadien T1 und T2 häufiger, jedoch ohne statistische Signifikanz ($p=0,859$). Keine Zusammenhänge zum c-Met-Status bestanden für das Lymphknotenstadium ($p=0,545$) und für die Mortalität ($p=0,218$). 18 von 22 der überlebenden Patienten (81,8%) und zwei von vier verstorbenen Patienten (50%) waren c-Met-positiv.

Tabelle 20: Zusammenhang der c-Met-Expression mit Patienten- und Tumorcharakteristika in der CTCL-Untergruppe mit Mycosis fungoides (n=27)

		N	C-Met-Expression der Tumorzellen		p-value (Test)
			< 50 %	≥ 50 %	
MF-Subgruppe		27	7 (25,9)	20 (74,1)	-
Alter bei Erstdiagnose [Jahre]	(MW ± SD)	55,5 ± 16,0	52,7±13,5	60,6 ± 20,0	0,219 (Mann-Whitney U-Test)
	Median (Range)	57,0 (22-78)	52,7 (22-76)	72,0 (27-78)	
Geschlecht	Männlich	18	7 (38,9)	11 (61,1)	0,059 (Fisher)
	Weiblich	9	0 (0,0)	9 (100,0)	
TNM bei Erstdiagnose					
T	1	7	1 (14,3)	6 (85,7)	0,859 (Chi-Quadrat)
	2	11	3 (27,3)	8 (72,7)	
	3	3	1 (33,3)	2 (66,6)	
	4	6	2 (33,3)	4 (66,6)	
N	0	24	7 (29,2)	17 (71,8)	0,545 (Fisher)
	1 und 2	3	0 (0,0)	3 (100,0)	
M	0	27	7 (25,9)	20 (74,1)	-
Verstorben am Lymphom	Nein	22	4 (18,2)	18 (81,8)	0,218 (Fisher)
	Ja	4	2 (50,0)	2 (50,0)	

4. Diskussion

Die Gruppe kutaner Lymphome umfasst unterschiedliche Entitäten, die sich in ihrer Ausprägung, Prognose und Behandlungsmöglichkeiten stark unterscheiden. Insbesondere bei den hochmalignen Varianten, wie beispielsweise fortgeschrittenen Stadien einer Mycosis fungoides (MF) oder eines Sézary Syndroms (SS), dem primär kutanem diffus großzelligen B-Zell-Lymphom vom Beintyp (PCBLT) und der blastären plasmazytoiden dendritischen Zell Neoplasie (BPDCN), besteht noch großer Bedarf an effizienten Therapieoptionen (3,4,6,17).

C-Met ist ein membranständiger Tyrosinkinase-Rezeptor der physiologisch vorkommt und beispielsweise bei der Wundheilung beteiligt ist (23,24,26). Seit den 80er Jahren gerät er zunehmend in den Fokus der Onkologie, da sich gezeigt hat, dass er bei zahlreichen soliden und hämatologischen Neoplasien verstärkt exprimiert wird (24,27,28,29,30,33,38,43,45,47,48,49,51,60) und, dass dies therapeutisch genutzt werden kann. Eine c-Met-Aktivierung führt unter anderem zu einer vermehrten Zellproliferation sowie zu einer leichteren Ablösung aus einem Zellverband und höheren Motilität (23,25,26,32). Eine starke c-Met-Expression ist häufig mit einer höheren Metastasierungsrate und einer schlechteren Prognose assoziiert (27,28,29,30,60). Basierend auf diesen Erkenntnissen sind bereits unterschiedliche Behandlungsmöglichkeiten erprobt worden, die c-Met blockieren und dadurch zu einer Hemmung des Tumorwachstums führen können. Zu diesem Thema stehen insbesondere nicht-kleinzellige Bronchialkarzinome mit mutiertem *MET*-Onkogen im Fokus, bei denen der Kinaseinhibitor Crizotinib vielfach erprobt wird (25,33,38,41). Hier konnte in Studien eine revolutionäre Verbesserung der Behandlung von c-Met-positiven Bronchialkarzinomen mit einer Ansprechrate von 57% (47 von 82) sowie stable disease Raten bei 33% (27 von 82) im metastasiertem Stadium durch eine c-Met-Inhibition gezeigt werden (61).

In der bisherigen Literatur existieren mehrere Hinweise auf eine c-Met-Überexpression bei einigen Entitäten systemischer B-Zell Lymphome (33,44,45,46,47,48,49,50,51,53,54,57,58,67). Hier korreliert eine hohe c-Met-Expression überwiegend mit einer schlechteren Prognose und einer aggressiveren Infiltration der Tumore (45,48,51,52,55,63,67). Andere Untersuchungen konnten hingegen bei dem systemischen DLBCL und dem M.

Hodgkin eine bessere Prognose bei übermäßiger c-Met-Expression nachweisen (50,53,67). In der Gruppe der systemischen T-Zell Lymphome gibt es bisher nur eine Untersuchung, welche bei Typ-II-enteropathieassoziierten intestinalen TCLs eine c-Met-Expression in 78% der Fälle nachweist (56). Da bei dieser Untersuchung der Fokus auf histologischen Markern lag, wurden hier keine weiteren Assoziationen zu Stadium oder Prognose der Erkrankung untersucht.

Bislang gibt es – soweit uns bekannt - keine publizierten Daten zu der Rolle von c-Met-Expression bei kutanen Lymphomen. Die bisherige Literatur zu c-Met bei systemischen Lymphomen (45,46,47,48,49,50,51,53,54,56,57,58,59,67) sowie die proliferations- und mobilisations-steigernde Funktion des c-Met Rezeptors bei B-Lymphomzellen liefern die Grundlage für die vorliegende c-Met-Analyse an Tumorgewebe kutaner Lymphome (49,52,54).

4.1. VERGLEICH DER METHODIK

Die c-Met Expression wurde mittels immunhistochemischer Analysen (Antikörper: mouse monoclonal, Clone 3D4, 18-7366, Invitrogen, C-28, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) am paraffinfixiertem Tumorgewebe von Patienten mit primär kutanen Lymphomen untersucht. Der Einsatz dieses Antikörpers für immunhistochemische Analysen an Tumorgewebe wurde bereits zuvor sowohl bei soliden Neoplasien als auch bei systemischen Lymphomen, wie dem Hodgkin-Lymphom oder dem DLBCL, evaluiert, so dass die Analysen vergleichbar sind (27,28,29,30,38,47,48,49,53,56). Wir haben für diese Studie den cut-off einer starken c-Met-Expression bei $\geq 50\%$ der Tumorzellen gesetzt. Dieser cut-off ist vergleichbar zu anderen immunhistologischen Auswertungen kutaner Lymphome (62). Im Gegensatz zu der bisherigen Literatur zu c-Met bei systemischen Lymphomen, in der cut-off Werte zwischen 20-30% zu finden sind (53,63), ist unser cut-off hingegen relativ hoch angesetzt.

Die statistische Korrelationsanalyse der c-Met-Positivität zu den klinischen Daten (Alter, Geschlecht, Tumorstadium nach WHO, Mortalität) erfolgte über das IBM SPSS-Statistik-Programm 23. Bezüglich dieser Korrelationsanalysen gab Berechnungen für die Gesamtgruppen mit CTCL (n=48) und CBCL (n=26), sowie

für die größten Subgruppen mit MF (n=27) und niedrigmalignen CBCLs (n=20) – siehe Tabellen 16 bis 19. Hinsichtlich der c-Met-Positivität haben wir die einzelnen Entitäten weitgehend isoliert betrachtet – siehe Tabellen 11-15 und 18. Diese Unterteilung ist klinischen Gesichtspunkten sinnvoll, da die jeweiligen Entitäten sowohl in ihrem Tumorverhalten als auch in ihrer Prognose sehr differieren. Es handelt sich hierbei ausschließlich um seltene bis sehr seltene Tumorentitäten. Durch die Untergliederung, mussten wir allerdings z.T. mit kleinen Fallzahlen arbeiten, welche die Berechnung von statistisch signifikanten Ergebnissen bei den Korrelationsanalysen einschränkten. Um verwertbare Ergebnisse zu erhalten, mussten wir somit die Korrelationsanalysen der c-Met-Positivität zu den klinischen Daten, außer bei den größten Subgruppen mit MF (n=27, Tabelle 19) und niedrigmalignen CBCLs (n=20, Tabelle 17), in erster Linie an den Gesamtgruppen CBCL und CTCL vornehmen (Tabelle 16 und 18).

4.2. C-MET-EXPRESSION IN DER GRUPPE DER CBCL-PATIENTEN

Zu den Ergebnissen der c-Met-Expression bei unserer CBCL-Gruppe (n=26) existieren mehrere Vergleichsdaten durch die Untersuchungen zu c-Met an systemischen BCLs (45,46,47,49,50,51,52,53,54,58,67).

1. In den Analysen der zusammengefassten CBCL-Gesamtgruppe (indolente PCFCL, PCMZL sowie aggressive PCBLT) fiel auf, dass 50% (13 von 26) eine starke c-Met-Expression aufwiesen (c-Met-Expression $\geq 50\%$). In den Untersuchungen zu systemischen BCLs, zeigten sich bei DLBCLs, Hodgkin-Lymphomen, Plasmazytomen, Burkitt-Lymphomen und systemischen Keimzentrumslymphomen starke c-Met-Expressionen bei 30-83% (48,49,50,52,53). Der Anteil der c-Met-positiven Fälle betrug bei den DLBCL 30-83% (n=6-301), bei den Hodgkin-Lymphomen 52-75% (n=8-53), Hodgkin-Lymphom-Zelllinien waren mit n=7-11 zu 57-100% c-Met-positiv, bei den Plasmazytomen (n=21) 48% (Plasmazytom-Zellreihen mit n=5-6 in 75-100% c-Met-positiv), bei den Burkitt-Lymphomen (n=12) 33,3% und bei den systemischen Keimzentrumslymphomen (n=15) 7% (45,49,50,51,52,53,54,58), siehe dazu Tabelle 5 auf Seite 49. Auch Zell-Linien des schwer behandelbaren KSHV positiven primären Effusionslymphoms (PEL, n=4) exprimieren nachweislich c-Met

auf ihrer Oberfläche (47). In Präparaten von anderen systemischen BCLs wie den systemischen Marginalzonenlymphomen (n=3), den Mantelzell-Lymphomen (n=5) und den B-Zell-Vorläufer-Neoplasien (n=3) konnte man bislang keine vermehrte c-Met-Expression finden (49). Immunhistochemische Untersuchungen am Tumorgewebe gab es zu den zuletzt genannten Lymphomentitäten unseres Wissens bislang nicht.

In unserer Untersuchung waren die CBCLs in 50% (13 von 26) c-Met positiv. Dieses Ergebnis muss jedoch vor dem Hintergrund des hoch gewählten „cut-off“ von $\geq 50\%$ der Tumorzellen betrachtet werden. Somit sind einige Fälle als c-Met-negativ gewertet worden, die bei Kriterien der bisherigen Studien zu systemischen BCLs (cut-off-Werte zwischen 20-30% der Tumorzellen) zu den c-Met-positiven Fällen gezählt worden wären.

2. Vergleicht man die c-Met-Expression bei den Subentitäten innerhalb der CBCL-Gruppe, sieht man, dass 6/6 Fälle (100%) mit dem hochmalignen PCBLT eine außergewöhnlich starke c-Met-Expression hatten. Hier war eine c-Met-Expression bei mindestens $\geq 70\%$ der Tumorzellen zu finden, also noch über dem cut-off von $\geq 50\%$. Bei den niedrigmalignen CBCLs (PCFCL und PCMZL) war hingegen nur bei 7/20 (35%) eine hohe c-Met-Expression nachweisbar. C-Met scheint somit vor allem bei dem aggressiven Subtyp PCBLT der CBCL stark exprimiert zu werden.

Eine mögliche Erklärung könnten die präklinischen Daten mit B-Zellreihen liefern. Hier zeigt sich, dass die Aktivierung von c-Met in Zell-Linien B-Lymphozyten zur Proliferation anregt und dessen Überleben fördert (33). Zudem wird die integrinabhängige Adhäsion, Invasion und Migration sowie die Neoangiogenese in der Umgebung von B-Lymphomzellen durch die HGF/c-Met-Aktivierung gefördert (49,52), was zu einer höheren Aggressivität und Invasivität bei einem Tumor beitragen kann. Insgesamt ist jedoch – insbesondere die klinische - Datenlage zu der Rolle von c-Met bei Lymphomen noch zu dünn, um eine fundierte Erklärung für die auffällige Präsenz von c-Met gerade bei den aggressiven kutanen Lymphomen zu liefern.

3. Bei unserer Untersuchung hatten alle 6/6 CBCL-Fälle mit einem höheren Tumorstadium T3 oder T4 eine starke c-Met-Expression. Bei den niedrigeren

Tumorstadien T1 waren 4/13 (30,8%) und bei T2 3/7 (42,9%) c-Met-positiv. Daraus ergab sich ein signifikanter Zusammenhang einer hohen c-Met-Expression zu den höheren Tumorstadien T3 und T4 ($p=0,018$). Da alle eingeschlossenen Fälle zum Zeitpunkt der Hautprobe keine Metastasierung aufwiesen, ließen sich keine Berechnungen zu dem Zusammenhang von c-Met mit der Metastasierungsrate von kutanen Lymphomen bei Erstdiagnose vornehmen. Siehe ausführlich dazu 4.3.

4.3. KORRELATION DER C-MET-EXPRESSION ZU TUMOR-, LYMPHKNOTEN- UND METASTASIERUNGSSTADIUM SOWIE ZUR MORTALITÄT IN DER CBCL-GRUPPE

1. Bezüglich des Zusammenhangs zwischen c-Met-Expression und Tumorstadium zeigte sich in unserer Untersuchung bei der CBCL-Gruppe ($n=26$) ein signifikanter Zusammenhang einer starken c-Met-Expression mit höheren Tumorstadien T3 und T4 ($p=0,018$). Alle 6/6 CBCL-Fälle mit einem höheren Tumorstadium T3 oder T4 waren c-Met-positiv (100%), hingegen waren es bei den niedrigen Tumorstadien T1 nur 4/13 (30,8%) und bei T2 3/7 (42,9%).

Eine vermehrte c-Met-Expression korreliert bei einigen soliden Tumoren – wie beispielsweise dem kolorektalen Karzinom oder dem Plattenepithelkarzinom im Kopf-Hals-Bereich – mit höheren Tumorstadien (29,30). Bei systemischen B-Zell-Lymphomen wurde ein solcher Zusammenhang bislang noch nicht aufgezeigt. Hier konnte man teilweise eine Korrelation der c-Met-Positivität mit einer schlechteren Prognose – unabhängig vom Tumorstadium – nachweisen (45,48,49). Jedoch gibt es auch jeweils eine Studie zu Hodgkin-Lymphomen und DLBCL, die eine signifikant bessere Prognose für c-Met positive Varianten aufzeigt (50,53). Genaue Subgruppenanalysen, welche die einzelnen Tumorstadien isoliert betrachten, wurden zu Lymphomen bislang noch nicht vorgenommen.

2. Alle eingeschlossenen CBCL-Fälle waren bei der Erstdiagnose frei von Metastasen, so dass hier keine Berechnungen bezüglich einer höheren Metastasierungsrate bei c-Met-Positivität vorgenommen werden konnte. Beide CBCL-Fälle (2x PCBLT) mit einem höheren initialen Lymphknotenstatus von N1 waren c-Met-positiv (2/2), jedoch ergab sich hieraus aufgrund der kleinen Fallzahl

keine Signifikanz ($p=0,48$). Derzeit existieren noch keine Untersuchungen zu der Assoziation von c-Met-Expression und erhöhter Tumordinfiltration bei systemischen DLBCLs. Lediglich ließ sich zum Teil eine schlechtere Prognose sowie eine vermehrte Perforationsrate bei höherer c-Met-Expression ließen sich bei DLBCL-Patienten zeigen (45,48).

Pathophysiologisch könnten aus der Aktivierung von c-Met, durch die daraus resultierende gesteigerte Proliferation, Motilition und Migration der Tumorzellen, verbesserte Metastasierungsbedingungen bei Lymphomen folgen (45,49,52,54). So konnte im Labor gezeigt werden, dass über den HGF/c-Met-Signalweg die integrinabhängige Adhäsion der Tumorzellen von DLBCL und Burkitt-Lymphomen sowie die Neoangiogenese in deren Umgebung gefördert wird (49). Sowohl durch die Adhäsion von Tumorzellen als auch durch eine vermehrte Neoangiogenese wird die Ausbreitung eines Tumors substantiell gefördert. Teofili et al. wies nach, dass Reed-Sternberg-Zellen des Hodgkin-Lymphoms zu 100% c-Met exprimieren und, dass bei diesen eine Koexpression von $\alpha 4$ -Integrinen zur Adhäsion an die extrazelluläre Matrix zu finden ist (54). Auch Weimar et al. zeigten in ihrer Untersuchung von verschiedenen systemischen BCL eine deutlich vermehrte Adhäsion, Invasion und Migration der Lymphomzellen nach HGF/c-Met-Aktivierung (52). Die c-Met-Expression war in unserer Untersuchung mit einem erhöhten Tumorstadium bei CBCL-Patienten assoziiert und alle CBCL-Fälle mit einem höheren Lymphknotenstadium waren c-Met-positiv. Hieraus lässt sich vermuten, dass eine c-Met-Expression bei CBCL-Fällen mit einer höheren Aggressivität und Invasivität der Tumore einhergeht, so wie es in den bisherigen Studien zu systemischen BCLs beschrieben ist (45,48,49) und wie es diese genannten präklinischen Daten mit erklären können.

3. Die Mortalität war in unserer Untersuchung bei den c-Met-positiven CBCL-Patienten im Gegensatz zu der bisherigen Datenlage zu systemischen BCLs (33,45,48,49) nicht erhöht. Allerdings fiel auf, dass die drei Fälle, die in unserer untersuchten CBCL-Gruppe ($n=26$) am kutanen Lymphom verstorben sind, in allen Fällen (3/3) eine auffällig starke c-Met Expression ($\geq 70\%$ der Tumorzellen, alles PCBLT-Fälle) aufwiesen. Aufgrund der kleinen Fallzahl hat sich hier statistisch lediglich eine Tendenz ($p=0,22$) und keine Signifikanz ergeben.

Die Bedeutung einer c-Met Expression hinsichtlich der Prognose von Lymphomen wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Kawano et al. haben eine signifikant schlechtere Prognose für c-Met positive systemische DLBCL-Patienten nachgewiesen (48). Hier wurden 96 formalinfixierte Tumorgewebsschnitte von Patienten mit DLBCL untersucht, wovon 66 Fälle eine vermehrte c-Met-Expression hatten ($\geq 20\%$ der Tumorzellen). Die Prognose dieser c-Met-überexpressiven Fälle war signifikant schlechter als die c-Met negativen Fälle ($p=0,0002$) und insbesondere in der Gruppe der low-risk DLBCL-Fälle hatten die c-Met-negativen Fälle eine deutliche Assoziation zu einer besseren Prognose ($p<0,0001$). Die Autoren schlussfolgerten hieraus, dass der c-Met-Status ein geeigneter klinischer Marker zur Abschätzung der Prognose bei DLBCL-Patienten sein könnte (48). Huang et al. konnte bei intestinalen DLBCLs ($n=28$) eine Assoziation zwischen hoher c-MET-Copynumber und schlechterer Prognose aufzeigen ($p=0,0004$) (45), so dass sie c-Met-Blocker als mögliche Therapieoption für c-Met-positive intestinale DLBCLs vorschlagen. Diese Ergebnisse widersprechen der Untersuchung von Uddin et al., die eine bessere Prognose für Patienten mit c-Met-positiven systemischen DLBCLs nachgewiesen haben (50). Hier wurden 301 DLBCL-Gewebeschnitte auf c-Met untersucht, wobei mehr c-Met-positive als negative Fälle ein 5-Jahresüberleben hatten (76,2% vs. 57,5%, $p=0,0025$). Auch bei Hodgkin-Lymphomen existieren kontroverse Daten zu der Rolle von c-Met. So konnten Xu et al. eine signifikant bessere Prognose für c-Met-positive Hodgkin-Lymphome ($n=153$) finden ($p<0,001$) (53). Hierzu mögen jedoch die Ergebnisse von Bedewy et al. nicht recht passen, die eine mehr vermehrte B-Symptomatik und niedrigere Raten kompletter Remissionen bei c-Met-positiven Hodgkin Patienten ($n=34$) zeigen (63). Da es in unserer Untersuchung zu kutanen Lymphomen keinen Fall gab, der an einem CBCL verstorben war und nicht eine sehr starke c-Met-Expression hatte, sollte in zukünftigen Studien mit höheren Fallzahlen dem Zusammenhang von c-Met Expression und Mortalität bei CBCL weiter nachgegangen werden.

4.4. KORRELATION DER C-MET-EXPRESSION ZU ALTER UND GESCHLECHT DER PATIENTEN IN DER CBCL-GRUPPE

In der CBCL-Gruppe wurde ein hoch signifikanter Zusammenhang der c-Met-Expression mit einem höheren Alter ersichtlich ($p= 0,006$) während es keine Assoziation zu einem bestimmten Geschlecht gab ($p=0,645$). Das durchschnittliche Alter der CBCL-Patienten betrug in unserer Studie $61,1\pm 17,6$ (MW \pm SD), was bei den untersuchten Entitäten (PCFCL, PCMZL, PCBLT) der bisherigen Literatur entspricht (1,2,3). Auch Bedewy et al. fiel auf, dass ein c-Met-positiver Status bei Hodgkin-Lymphom Patienten mit höherem Alter assoziiert ist (63). Insgesamt finden sich zu diesem Thema – unseres Wissens – noch recht wenig publizierte Daten.

Zudem muss hinzugefügt werden, dass in unserer Untersuchung alle PCBLT Fälle stark c-Met positiv waren. Diese Entität tritt vornehmlich bei älteren Patienten auf (1,3). Hingegen sind die niedrigmalignen und weniger c-Met-positiven CBCLs, insbesondere die PCMZLs, eher bei einem jüngeren Patientengut zu finden. Da in diese Entitäten für die Korrelationsanalysen aus statistischen Gründen zusammengefasst wurden, kann die Assoziation der c-Met-Positivität zu höherem Alter somit auch sekundär entstanden sein.

4.5. C-MET-EXPRESSION IN DER GRUPPE DER CTCL-PATIENTEN

Generell liegen bei T-Zell Lymphomen (systemisch und kutan) bislang kaum Untersuchungen zu dem Thema c-Met-Expression vor. Unsere Studie hat mit 48 CTCL – soweit der Autorin bekannt - die bislang größte Gruppe an TCL auf eine c-Met-Expression untersucht.

1. In der CTCL-Gesamtgruppe waren 38/48 (79,2%) der Fälle c-Met positiv. Betrachtet man die Subpopulationen waren alle Fälle mit SS ($n=6$), SPTL ($n=3$) und das eine aggressive epidermotrope CD8+ CTCL c-Met-positiv. Bei den MF-Patienten wiesen 20/27 (74%) eine übermäßige c-Met Expression auf und bei den CD30+CTCL 4/7 (57%).

Bislang gibt es – nach unserem Wissen- in der Literatur nur eine klinische Studie zu T-Zell-Lymphomen, die einen möglichen Vergleich zu unserer Untersuchung

bietet (56). Hier hatten Kikuma et al. den Fokus auf klinisch-pathologische Charakteristika bei enteropathieassoziiertem intestinalen TCL Typ II in Japan gesetzt. Dafür untersuchten sie das formalinfixierte Tumorgewebe von 26 Fällen auf vier verschiedene immunhistochemische Marker, darunter auch c-Met, welches hier in 78% der Fälle positiv war. In dieser Studie wurden aber keine weiteren Analysen der Zusammenhänge zwischen der c-Met-Positivität und der Prognose des Tumors oder weiteren Patientencharakteristika vorgenommen, da der Fokus lediglich auf die Präsenz verschiedener immunhistologisch nachweisbarer Oberflächenmarker bei dieser Tumorentität gerichtet war.

Hinweise, dass eine c-Met Expression eine funktionelle Bedeutung bei TCL haben könnte, ergeben sich aus experimentelle Daten von Maus-Modellen. Diese Studie zeigt, dass bei 85/85 (100%) knock-in Mäusen mit dem Translocated promoter region (TPR)-MET-Onkogen in mindestens zwei Monaten ein TCL im Thymus auftritt (59). Daraus lässt sich vermuten, dass c-Met eine Rolle bei der Entwicklung von TCLs spielen könnte. Dieser Hinweis sollte - aufgrund der bisher noch sehr spärlichen Datenlage zu c-Met bei TCLs - durch größer angelegte Untersuchungen sowohl zu systemischen als auch zu kutanen T-Zell-Lymphomen weiter nachgegangen werden.

4.6. KORRELATION DER C-MET-EXPRESSION ZUM TNM SOWIE ZUR MORTALITÄT BEI CTCL

1. In der Gruppe der CTCL gab es keine signifikante Korrelation einer c-Met-Expression zu höheren Tumor-($p=0,503$) oder Lymphknotenstadien ($p=0,566$). Da alle eingeschlossenen Patienten keine Metastasierung bei der Erstdiagnose aufwiesen, ließ sich keine Assoziation zu dem Zusammenhang einer erhöhten Metastasierungsrate bei c-Met-positiven CTCL-Fällen berechnen. Trotzdem waren - wie in der CBCL-Gruppe - alle drei MF-Patienten (3/3) und der eine SS-Patient (1/1) (100%), die zu Beginn ein höheres Lymphknotenstadium von mindestens N1 hatten, c-Met-positiv. Durch die kleine Fallzahl und die hohe Rate an c-Met-positiven Fällen bei einem Lymphknotenstadium N0 von 87,3% (34/44) kam diese Begebenheit jedoch nicht signifikant zur Geltung.

2. In unserer Untersuchung konnten wir weder in der CTCL-Gesamtgruppe noch in der isoliert betrachteten MF-Untergruppe einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Mortalität und dem c-Met-Status finden ($p=0,704$ und $p=0,218$). In der Gruppe der MF-Fälle gab es sogar eher die Tendenz zu einer geringeren Mortalität bei c-Met-Positivität. Auch wenn die bisherige Literatur insgesamt auf eine höhere Mortalität bei c-Met-positiven Neoplasien und systemischen Lymphomen hinweist (23,26,27,28,29,30,67) und auch die biochemische Funktion des c-Met-Rezeptors hierfür eine gute Erklärung bietet (26,32,28), ist hier die Datenlage diesbezüglich nicht komplett eindeutig. So gibt es Studien, die eine bessere Prognose bei c-Met-positiven systemischen Lymphomen (DLBCL und Hodgkin-Lymphomen) nachweisen konnten (50,53). Bei den Hodgkin-Lymphomen wurde die bessere Prognose bei c-Met-positiven Varianten zum einen mit der Rolle des Wachstumsfaktors Transforming-growth-factor beta (TGF- β), dessen Produktion durch die c-Met-Aktivierung gedrosselt wird, und zum anderen durch ein verschlechtertes Mikroklima für die Hodgkin-Zellen durch die c-Met-Aktivierung erklärt (53). Da bei T-Zell-Lymphomen nur eine Studie aus Japan mit 26 Fällen eines Typ II enteropathie-assoziierten intestinalen TCL existiert, in der keine weiteren Analysen zu klinischen Assoziationen vorgenommen wurde (56), fehlen hier zu der CTCL-Gruppe Vergleichsdaten. Die scheinbar widersprüchliche Beobachtung, dass ein Zusammenhang der c-Met-Expression zur Mortalität fehlt bzw. ein c-Met-positiver Status die Prognose sogar begünstigt, hebt insbesondere die Gruppe der TCL für künftige Studien zur genauen Funktion des c-Met-Rezeptors hervor. Zudem beinhaltet unsere Untersuchung das Problem der kleinen Fallzahlen sowie einer sehr heterogenen Erkrankungsgruppe. Hierdurch ließen sich - außer zu der etwas größeren Gruppe mit MF ($n=27$) - nur statistische Korrelationsanalysen zu der Gesamtgruppe mit CTCL vornehmen. Es werden daher Entitäten wie die LyP mit sehr indolentem Verlauf und einer 5-Jahres-Überlebensrate von fast 100% mit deutlich aggressiveren Varianten wie dem SS, das eine 5-Jahres-Überlebensrate von 24% hat – zusammengefasst, um eine statistische Aussagekraft zu erreichen. Die Schwierigkeit mit kleinen Fallzahlen arbeiten zu müssen ist bei Untersuchungen zu so seltenen Tumorentitäten wie den kutanen Lymphomen häufig. Eine Umgehung dieses Problems könnte eine

multizentrische, langfristig angelegte Untersuchung zu dem Thema c-Met bei kutanen Lymphomen sein.

4.7. KORRELATION DER C-MET-EXPRESSION ZU GESCHLECHT UND ALTER IN DER CTCL-GRUPPE

Besonders auffällig war in der CTCL-Gruppe der hoch signifikante Zusammenhang einer starken c-Met-Expression mit dem weiblichen Geschlecht ($p=0,009$). Von den 48 Fällen mit CTCL waren 17 weiblich, was einer normalen Verteilung bei kutanen T-Zell-Lymphomen entspricht (1,3). Alle diese 17 Frauen (100%) hatten eine vermehrte c-Met-Expression, hingegen nur 21 der 31 Männer (67,7%). Diese Assoziation einer c-Met-Positivität zum weiblichen Geschlecht wurde – soweit uns bekannt - bislang noch nicht in der Literatur beschrieben. Es ist aber hinzuzufügen, dass in der hier einzigen Vergleichsgruppe der systemischen oder der primär intestinalen T-Zell-Lymphome nur eine Studie bezüglich einer c-Met-Expression vorliegt (56), die jedoch keinen Zusammenhang der c-Met-Positivität zu klinischen Merkmalen untersucht hat. Im Vergleich dazu war in der Gruppe mit CBCL der Zusammenhang der c-Met-Überexpression mit dem Geschlecht nicht signifikant ($p=0,645$), auch wenn hier ebenfalls prozentual mehr Frauen (4 von 6, 66,7%) als Männer (9 von 20, 45%) c-Met-positiv waren.

Die Korrelation des c-Met-Status zu höherem Alter war im Gegensatz zu der CBCL-Gruppe weder in der CTCL-Gesamtgruppe noch in der isoliert betrachteten MF-Gruppe signifikant ($p=0,134$ und $p=0,219$). Lediglich ließ sich hier eine Tendenz zu höherem Alter bei c-Met-positiven Fällen erkennen.

4.8. C-MET-EXPRESSION BEI DER BLASTÄREN NEOPLASIE DER PLASMAZYTOID DENDRITISCHEN ZELLEN (BPDCN)

Ein deutliches Ergebnis lieferte in unserer Studie die immunhistochemische Untersuchung der vier Fälle mit der sehr seltenen Entität der BPDCN. Hier gab es bei allen Fällen (4/4) eine massive c-Met-Expression von mindestens 90% oder zum Teil auch 100% der Tumorzellen. Bislang gibt es – soweit uns bekannt - weder klinische noch laborchemische Untersuchungen zur c-Met-Expression bei BPDCN.

Durch die ausgesprochene Seltenheit dieser Entität, liegen nur mangelhafte Daten zu therapeutischen Alternativen vor. Aufgrund des klaren Ergebnisses unserer Untersuchung und der spärlichen Behandlungsmöglichkeiten, wäre der Einsatz von c-Met-Inhibitoren als eine mögliche Therapie bei dieser schwer zu behandelbaren Erkrankung zu diskutieren.

4.9. AUSBLICK: C-MET-INHIBITION ALS MÖGLICHE THERAPIEOPTION KUTANER LYMPHOME

In dieser Studie war bemerkenswert, dass sowohl in der CBCL- als auch in der CTCL-Gruppe viele hochmaligne Varianten - PCBLT (6/6), SS (6/6), aggressives zytotoxisches epidermotropes CD8+ CTCL (1/1), BPDCN (4/4) – zu 100% eine übermäßige c-Met-Expression aufwiesen. Bei den PCBLT und den BPDCN fiel darüber hinaus auf, dass diese Fälle eine sehr starke c-Met-Expression von $\geq 70\%$ (PCBLT) bzw. $\geq 90\%$ (BDCN) der Tumorzellen hatten. So kann man schlussfolgern, dass insbesondere die aggressiven Varianten kutaner Lymphome einer vermehrten c-Met-Expression unterliegen. Gerade diese aggressiven Varianten kutaner Lymphome stellen immer noch eine große therapeutische Herausforderung dar (21). Zudem handelt es sich hierbei ausschließlich um seltene bis sehr seltene Erkrankungen, so dass die Ergebnisse dieser Untersuchung - trotz der teilweise fehlenden statistischen Signifikanz, durch die kleinen Fallzahlen - von relevantem klinischen Interesse sind.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten c-Met medikamentös zu blockieren und einen Tumor dadurch im Wachstum zu hemmen (23,25,26,33,38,43) – siehe ausführlich dazu in Kapitel 1.4. Die gängigste Methode ist über Kinaseinhibitoren wie Crizotinib oder Tivantinib, welche die intrazelluläre Kinaseregion des c-Met-Rezeptors bei der ATP-Bindungsstelle blockieren (23,26). Hierdurch werden die intrazellulären Signalkaskaden abgebrochen, die Proliferation, Motilation und Adhäsion der Tumorzellen gehemmt und die Zelle geht vermehrt in die Apoptose über (23,26). Ein Vorteil von Kinaseinhibitoren wie Crizotinib ist es, dass sie auch andere onkogene Kinasen – wie die anaplastische Lymphomkinase (ALK) - blockieren. Dieser synergistische Effekt wird bei der Behandlung von Bronchialkarzinomen genutzt (23,38,41). Crizotinib hat in Studien auch bei

systemischen Lymphomen Wirksamkeit gezeigt (39,41,64). Gambacorti-Passerini et al. haben Crizotinib bei zwei Patienten mit anaplastischen großzelligen Lymphom angewendet, die zuvor ein Therapieversagen auf eine CHOP-Behandlung hatten (64). Beide Patienten hatten innerhalb einer Woche eine komplette Remission des Lymphoms, die über mehrere Monate bis dato anhielt. Dieser Effekt wurde hierbei in erster Linie der Blockade des ALK durch Crizotinib angerechnet. Ein zusätzlicher synergistischer Effekt durch die Blockade von c-Met ist jedoch ebenfalls naheliegend. So haben Dai et al. eine signifikanten Zell-Zyklus-Arrest, DNA-Zerstörung und Apoptose-Induktion bei Karposi-Sarkom-assoziierten (KSHV) primären Effusions-Lymphomen (PEL) durch den selektiven c-Met-Inhibitor PF-2341066 nachweisen können (47). Uddin et al. konnte in *in-vitro*-Untersuchungen nachweisen, dass eine c-Met-Blockade zu einer caspase-abhängigen Apoptose der Tumorzellen von systemischen DLBCL führt (50). Auch bei Zamans et al. Untersuchungen zum Plasmozytom gingen in allen 12 Zellreihen mindestens 50% der Zellen durch den Zusatz des c-Met-Inhibitors Tivantinib (ALQ197) in die Apoptose über und das Wachstum ließ sich somit signifikant reduzieren (65). In dieser Studie war außerdem bemerkenswert, dass der c-Met-Inhibitor Tivantinib auch die stromabedingte Therapieresistenz der Tumorzellen gegenüber anderer Medikamente reduzieren konnte (65). Accornero et al. versetzte T-Zell-Lymphomzellen, die aus dem Thymus TPR-MET-knock-in-Mäuse extrahiert wurden, mit dem c-Met-Inhibitor PHA-665752, was zu einer signifikanten Tumorreduktion führte (59). Kumai et al. wies nach, dass der HGF/c-Met-Signalweg eine zentrale Rolle bei der Proliferation von NKTC-Lymphomzellen spielt und sich die Proliferation in drei NK/T-Zelllinien durch den c-Met-Inhibitor Tivantinib (ALQ 197) signifikant hemmen ließ (66). Zudem konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass die c-Met-Aktivierung die TGF- β -Produktion der Tumorzellen hemmt, welches mitverantwortlich für die Resistenz gegenüber Immuntherapien ist. Daraus schließen die Autoren, dass der Einsatz von c-Met-Inhibitoren ebenfalls zu einer Effizienzsteigerung von Immunbehandlungen führen kann (66).

Auch wenn der Einsatz von c-Met-Inhibitoren noch keine Standardtherapie für Lymphome darstellt, so lässt sich aus den oben genannten Daten die Rolle von c-Met bei Lymphomen sowie die Wirksamkeit einer c-Met-Blockade, annehmen. Die

deutliche Präsenz von c-Met, die wir in dieser Untersuchung bei kutanen Lymphomen nachweisen konnten, könnte ebenso ein Hinweis darauf sein, dass c-Met-Inhibitoren einen relevanten therapeutischen Nutzen erzielen. Da zu den c-Met-positiven kutanen Lymphomen vor allem die hoch malignen und sehr seltenen Varianten - wie beispielsweise die BPDCN - zählen, bei denen noch Bedarf an effizienten Behandlungsmöglichkeiten besteht, sollte diesen Ergebnissen weiter nachgegangen werden. Aufgrund der Seltenheit dieser Varianten und dem daraus folgenden statistischen Problem kleiner Fallzahlen, wäre eine multizentrische Analyse sinnvoll.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde – soweit der Autorin bekannt - erstmals ein c-Met-Nachweis an Tumorgewebe von Patienten mit kutanem Lymphom vorgenommen. Die biochemische Funktion von c-Met liefert zahlreiche Erklärungen für ein aggressiveres Verhalten von c-Met-positiven Neoplasien. Bislang existieren mehrere Nachweise, dass c-Met ebenfalls bei einigen Entitäten systemischer BCLs vorkommt und hier auch meist mit einer schlechteren Prognose korreliert. Einige Arbeiten lassen darüber hinaus ein therapeutisches Ansprechen von c-Met-Inhibitoren bei c-Met-positiven systemischen Lymphomen vermuten.

In unserer Studie waren insgesamt 50% (13 von 26) der CBCL c-Met-positiv, wobei sich hier eine signifikante Korrelation zu höherem Alter der Patienten und höherem Tumorstadium ergab. Bei den CTCL Patienten zeigten sich 79,2% (38 von 48) c-Met-positiv, wobei hier interessanterweise ein signifikanter Zusammenhang zum weiblichen Geschlecht vorlag, was in der bisherigen Literatur zu c-Met bei jeglichen anderen Tumoren noch nicht zu finden ist. Bei beiden Gruppen (CBCL und CTCL) war bemerkenswert, dass einige Tumorvarianten, hierunter vor allem die hochaggressiven - wie das PCBLT, SS oder das eine aggressive epidermotrope CD8+ CTCL - zu 100% c-Met-Überexpression aufwiesen. Ebenso die sehr aggressiv verlaufende und schwer behandelbare BPDCN war zu 100% c-Met-überexpressiv und hatte in allen Fällen einen positiven c-Met-Nachweis von mindestens 90-100% der Tumorzellen. Die numerisch größte Gruppe mit MF (n=27) zeigte sich zu 74% c-Met-positiv (20 von 27).

Aus diesen sehr klaren Ergebnissen lässt sich annehmen, dass c-Met – so wie in der bisherigen Literatur zu systemischen Lymphomen beschrieben (67) – auch bei kutanen Lymphomen eine Rolle bei der Aggressivität und Invasivität des Tumors spielt. In Anbetracht der Seltenheit dieser aggressiven kutanen Lymphome und dem fortbestehenden Behandlungsbedarf sollten weitere Untersuchungen hinsichtlich einer therapeutischen Wirksamkeit von c-Met-Inhibitoren bei kutanen Lymphomen folgen.

6. Literatur

- 1 Dippel E, Assaf C, Becker JC, von Bergwelt-Baildon M, Beyer M, Cozzio A, Eich HT, Follmann M, Grabbe S, Hillen U, Klapper W, Klemke CD, Lamos C, Loquai C, Meiß F, Mestel D, Nashan D, Nicolay JP, Oschlies I, Schlaak M, Stoll C, Vag T, Weichenthal M, Wobser M, Stadler R: S2k-Leitlinie - Kutane Lymphome Update 2016 - Teil 1: Klassifikation und Diagnostik (ICD10 C82 - C86). *J Dtsch Dermatol Ges.* 2017;15(12):1266-1273.
- 2 Kempf W, Mitteldorf C. Kutane Lymphome. Neue Entitäten und seltene Varianten. *Der Pathologe* 2015;36(1):62-9.
- 3 Stadler R, Kremer A. Kutane maligne Lymphome - Klinik, Diagnostik und Therapiestrategien. Uni-Med-Verlag 2006; 1. Auflage
- 4 Jawed SI, Myskowski PL, Horwitz S, Moskowitz A, Querfeld C. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome) – part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers. *J Am Acad Dermatol* 2014; 70(2):205e1-16.
- 5 Plewig G, Landthaler M, Burgdorf WHC, Hertl M, Ruzicka T. Braun Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie. Springer-Verlag 2012; 6. überarbeitete und erweiterte Auflage
- 6 Kim YH, Liu HL, Mraz-Gernhard S., Varghese A, Hoppe RT. Long term outcome of 525 patients with mycosis fungoides and Sézary-Syndrome: clinical prognostic factors and risk for disease progression. *Arch Dermatol* 2003;139(7):857-66.
- 7 Huang KP, Weinstock MA, Clarke CA, MC Millan A., Hoppe RT, Kim YH. Second lymphomas and other malignant neoplasms in patients with mycosis fungoides and Sézary Syndrome: evidence from population-based and clinical cohorts. *Arch Dermatol* 2007;143(1):45-50.
- 8 Desai M, Shuling L, Parker S. Clinical characteristics, prognostic factors, and survival of 393 patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome in the southern United States: a single-institution cohort. *J Am Acad Dermatol* 2015;72(2):276-85.
- 9 Kerl H, Garbe C, Cerroni L, Wolff HH. Histopathologie der Haut. Thieme Verlag 2003: 869-913.
- 10 Ahn C, Sayyah AA, Sangüeza O. Mycosis fungoides: An Update Review of Clinicopathologic Variants. *Am J Dermatopathol* 2014;36(12):933-51.
- 11 Vakiti A, Singh D. Sézary Syndrome. StatPearls Publishing; 2018;9:13-20.
- 12 Vonderheid EC, Benengo MG, Burg G, Duvic m, Heald P, Laroche L, Olsen E, Pittelkow M, Russell-Jones R, Takigawa M, Willemze R. Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: a report of the International Society for Cutaneous Lymphomas. *J Am Acad Dermatol* 2002;46(1):95-106.

-
- 13 Kempf W, Pfaltz K, Maarten H, Cozzio A, Ortiz-Romero PL, Bagot M, Olsen E, Kim YH, Dummer R, Pimpinelli N, Whittaker S, Hodak E, Cerrone L, Berti E, Horwitz S, Prince HM, Guitart J, Estrach T, Sanches J, Duvic M, Ranki A, Dreno B, Ostheeren-Michaelis S, Knobler R, Wood G, Willemze R. EORTC, ISCL and USCLC consensus recommendations for the treatment of primary cutaneous CD30-positive lymphoproliferative disorders: lymphomatoid papulosis and primary cutaneous anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2011;118(15):4024-35.
 - 14 Willemze R, Hodak E, Zinzani PL, Specht L, Ladetto M. Primary cutaneous lymphomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2018 Jun 6. doi: 10.1093/annonc/mdy133. [Epub ahead of print]
 - 15 Benner MF, Willemze R. Applicability and prognostic value of the new TNM classification system in 135 patients with primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma. *Arch Dermatol.* 2009; 145(12):1399-404.
 - 16 Parveen Z, Thompson K. Subcutaneous panniculitis-like T-cell-lymphoma: redefinition of diagnostic criteria in the recent World Health Organization-European Organization of research and treatment of cancer classification for cutaneous lymphomas. *Arch of pathol and laborator med* 2009; 133(2):303-8.
 - 17 Dippel E, Assaf C, Becker JC, von Bergwelt-Baildon M, Beyer M, Cozzio A, Eich HT, Follmann M, Grabbe S, Hillen U, Klapper W, Klemke CD, Lamos C, Loquai C, Meiß F, Mestel D, Nashan D, Nicolay JP, Oschlies I, Schlaak M, Stoll C, Vag T, Weichenthal M, Wobser M, Stadler R. S2k-Leitlinie - Kutane Lymphome Update 2016 - Teil 2: Therapie und Nachsorge (ICD10 C82 - C86). *J Dtsch Dermatol Ges.* 2018 Jan;16(1):112-123.
 - 18 Jawed S, Myskowski PL, Horwitz S, Moskowitz A, Querfeld C. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome) - Part II. Prognosis, management and future directions. *J Am Acad Dermatol* 2014;70(2):223e1.-17.
 - 19 Petrella T, Bagot M, Willemze R, Beylot-Barry M, Vergier B, Delaunay M, Meijer CJ, Courville P, Koly P, Grange F, De Muret A, Machet L, Dompormartin A, Bosq J, Durlach A, Bernard P, Dalac S, Dechelotte P, D'Incan M, Wechler J, Teitell MA. Blastic NK-cell lymphomas (agranular CD4+CD56+ hematodermic neoplasm): a review. *J Clin Pathol* 2005;123(5):662-75.
 - 20 Humme D, Nast A, Erdmann R, Vandersee S, Beyer M. Systematic review of combination therapies for mycosis fungoides. *Cancer Treat Rev* 2014;40(8):927-33.
 - 21 Terhorst D, Mestel DS, Humme D, Sterry W, Beyer M. Evaluation of different methods in the follow up of patients with indolent types of primary cutaneous lymphomas. *Br J Dermatol* 2012; 166(6):1295-300.
 - 22 Zhang XH, Nam S, Wu J, Chen CH, Liu X, Li H, McKeithan T, Gong Q, Chan WC, Yin HH, Yuan YC, Pillai R, Querfeld C, Home D, Chen Y, Rosen ST. Multi-kinase inhibitor with anti-p38y activity in cutaneous T cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 2018; S0022-202X(18)31967-5 doi:10.1016/j.jid.2018.04.030. (Epub ahead of print)
 - 23 Gherardi E, Birchmeier W, Birchmeier C, Vande Woude G. Targeting MET in cancer: rationale and progress. *Nat Rev Cancer* 2012;12(2):89-103.
 - 24 Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, Chan AM, Kmiecik TE et al. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-Met proto-oncogene product. *Science* 1991;251(4995):802-4.

-
- 25 Faden B, Blaukat A, Blatt F, Trumpp A. Generierung und Charakterisierung von resistenten Zellen gegen selektive c-MET-Inhibitoren. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der naturwissenschaftlichen-mathematischen-Gesamtfakultät der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg. Okt. 2012
 - 26 Organ SL, Tsao MS. An overview of the c-MET signaling pathway. *Ther Adv Med Oncol* 2011; 3(1):7-19.
 - 27 Luan T, Yu Y. Increased hepatocyte growth factor and c-MET-Receptor expression in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Clin Exp Med* 2014;7(12):5583-7.
 - 28 Fuse N, Kuboki Y, Kuwat T, Nishina T, Kadowaki Sh, Shinozaki E, Machida N, Yuki S, Ooki A, Kajiura Sh, Kimura T, Yamanaka T, Shitara K, Nagatsuma AK, Yoshino T, Ochiai A, Ohtsu A.: Prognostic impact of HER2, EGFR, and c-MET status on overall survival of advanced gastric cancer patients. *Gastric Cancer* 2016;19(1):183-91.
 - 29 Gao H, Gian M, Sun Z, Bai CM. High c-MET expression is a negative prognostic marker for colorectal cancer: a meta-analysis. *Tumor Biol* 2015;36(2):515-20.
 - 30 Baschnagel AM, Williams L, Hanna A, Chen PY, Krauss DJ, Pruetz BL, Akervall J, Wilson GD. C-MET expression is a marker of poor prognosis in patients with locally advanced head and neck squamous cell carcinoma treated with chemoradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014; 88(3):701-7.
 - 31 C-Met (Accessed 16.05.2018, at <http://en.wikipedia.org/wiki/C-Met>, free encyclopedia)
 - 32 Trusolino L, Bertotti A, Comoglio PM. MET signaling: principles and functions in development, organ regeneration and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010;11(12):834-48.
 - 33 Mahtouk K, Tjin EPM, Spaargaren M, Pals ST. The HGF/MET pathway as a target for the treatment of multiple myeloma and B-cell lymphomas. *Biochim Biophys Acta* 2010;1806(2):208-19.
 - 34 Abouder R, Reznik T, Colantuoni C, Martinez-Murillo F, Rosen EM, Laterra J. Regulation of c-Met-dependent gene expression by PTEN. *Oncogene* 2004;23(57):9173-82.
 - 35 Horwitz SM, Koch R, Porcu P, Oki Y, Moskowitz A, Perez M, Myskowski P, Officer A, Jaffe JD, Morrow SN, Allen K, Douglas M, Stern H, Sweeney J, Kelly P, Kelly V, Aster JC, Weaver D, Foss FM, Weinstock DM Activity of the PI3K- δ,γ inhibitor duvelisib in a phase 1 trial and preclinical models of T-cell lymphoma. *Blood.* 2018 Feb 22;131(8):888-898.
 - 36 Kiessling MK, Oberholzer PA, Mondal C, Karpova MB, Zipser MC, Lin WM, Girardi M, Macconail LE, Kehoe SM, Hatton C, French LE, Garraway LA, Polier G, Süss D, Klemke CD, Krammer PH, Gülow K, Dummer R. High-throughput mutation profiling of CTCL samples reveals KRAS and NRAS mutations sensitizing tumors toward inhibition of the RAS/RAF/MEK signaling cascade. *Blood.* 2011 Feb 24;117(8):2433-40.
 - 37 da Silva Almeida AC, Abate F, Khiabani H, Martinez-Escala E, Guitart J, Tensen CP, Vermeer MH, Rabadan R, Ferrando A, Palomero T. The mutational landscape of cutaneous T-cell lymphoma and Sézary syndrome. *Nat Genet* 2015;47(12):1465-70.

-
- 38 Sattler M, Reddy MM, Hasina R, Gangadhar T, Salgia R. The role of the c-MET-pathway in lung-cancer and the potential for targeted therapy. *Ther Adv Med Oncol*. 2011;3(4):171-84.
- 39 Malek NP, Bitzer M. Neue Medikamente in der Onkologie. *Internist (Berl)* 2014;55(4):359-66.
- 40 Fu L, Guo L, Zhen Y, Zhu Z, Zhang M, Zhao X, Cui H. Synergistic antitumor activity of low dose c-Met tyrosine kinase inhibitor and sorafenib on human non-small lung cancer cells. *Oncol Lett* 2018;15(4):5081-5086.
- 41 Gadgeel SM, Bepler G. Crizotinib: an anaplastic lymphoma kinase inhibitor. *Future Oncol* 2011; 8(12):947-53.
- 42 Baljevic M, Zamam S, Baladandayuthapani V, Lin YH, dePartovi CM, Berkova Z, Amini B, Thomas SK, Shah JJ, Weber DM, Fu M, Cleeland CS, Wang XS, Stellrecht CM, Davis RE, Gandhi V, Orlowski RZ. Phase II study of c-Met inhibitor tivantinib (ARQ 197) in patients with relapsed or relapsed/refractory multiple myeloma. *Ann Hematol* 2017;96(6):977-985.
- 43 Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM. The Met tyrosin kinase receptor in development and cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2008;27(1):85-94.
- 44 Gordin M, Tesio M, Cohen S, Gore Y, Lantner F, Leng L, Bucala R, Shachar I. C-MET and its ligand HGF regulate mature B cell survival in a pathway induced by CD74. *J Immunol* 2010; 185(4):2020-31.
- 45 Huang W, Chuang SS. High MET gene copy number predicted poor prognosis in primary diffuse large B-cell lymphoma. *Diagn pathol*, 2013;8:16.
- 46 Capello D, Gaidano G, Gallicchio M, Gloghini A, Medico E, Vivenza D, Buonaiuto D, Fassone L, Avanzi GC, Saglio G et al. The tyrosine kinase receptor Met and its ligand HFG are co-expressed and functionally active in HHV-8 positive primary effusion lymphoma. *Leukemia*. 200;14(2):285-91.
- 47 Dai L, Trillo-Tinoco J, Cao Y, Bonstaff K, Doyle L, De Valle L, Whitby D, Parsons C, Reiss K, Zabaleta J et al. Targeting HGF/c-Met induces cell cycle arrest, DNA damage and apoptosis for primary effusion lymphoma (PEL). *Blood* 2015;126(26):2821-31.
- 48 Kawano R, Ohshima K, Karube K, Yamaguchi T, Kohno S, Suzumiya J, Kikuchi M, Tamura K. Prognostic significance of hepatocyte growth factor and c-MET expression in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2004;127(3):305-307.
- 49 Tjin E P M, Groen R W J, Vogelzang I, Derksen P W B, Klok M D, Meijer H P, van Eeden S, Pals S T, Spaargaren. Functional analysis of HGF/MET signaling and aberrant HGF-activator expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2006;107(2):760-768.
- 50 Uddin S, Hussain AR, Ahmed M, Al-Dayel F, Bu R, Bavi P, Al-Kuraya KS. Inhibition of c-MET is a potential therapeutic strategy for treatment of diffuse large B-cell lymphoma. *Lab Invest* 2010; 90(9):1346-56.
- 51 Börset M, Seidel C, Hjorth-Hansen H, Waage A, Sundan A. The Role of Hepatocyte Growth Factor and its receptor c-MET in Multiple Myeloma and other blood malignancies. *Leuk Lymph* 1999; 32(3-4):249-256.

-
- 52 Weimar I, de Jong D, Muller E J, Nakamura T, van Gorp J M H H, de Gast G C, Gerritsen W R. Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor promotes adhesion of lymphoma cells to extracellular matrix molecules via alpha4beta1 and alpha5beta1 integrins. *Blood* 1997; 89(3):990-1000.
- 53 Xu C, Plattel W, van den Berg A, R  ther N, Huang X, Wang M, de Jong D, van Imhoff G, Viardot A, M  ller P, Poppema S, Diepstra A, Visser L. Expression of the c-MET oncogene by tumor cells predicts a favorable outcome in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematol* 2012;97(4):572-8.
- 54 Teofili L, Di Febo A L, Pierconti F, Maggiano N, Bendandi M, Rutella S, Cingolani, Di Renzo N, Musto P, Pileri S, Leone G, Larocca L M. Expression of the c-MET proto-oncogene and its ligand hepatocyte growth factor, in Hodgkin disease. *Blood* 2001;97(4):1063-1069.
- 55 Scott DW, Chan FC, Hong F et al. Gene expression-based model using formalin-fixed paraffin-embedded biopsies predicts overall survival in advanced-stage classical Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2013;31(6):692-700.
- 56 Kikuma K, Yamada K, Nkamura Sh, Ogami A, Nimura S, Hirahashi M, Yonemasu H, Urabe Sh, Naito Sh, Matsuki Y, Sadahira Y, Takeshita M. Detailed clinicopathological characteristics and possible lymphangiogenesis of type II intestinal enteropathy-associated T-cell lymphoma in Japan. *Hum Pathol* 2014;45(6):1276-84.
- 57 Pons E, Uphoff CC, Drexler HG. Expression of hepatocyte growth factor and its receptor c-met in human leukemia-lymphoma cell lines. *Leuk Res* 1998;22(9):797-804.
- 58 J  cker M, Günther A, Gradl G, Fonatsch C, Krueger G, Diehl V, Tesch H. The MET/Hepatocyte Growth Factor receptor (HGFR) gene is overexpressed in some cases of human leukemia and lymphoma. *Leukemia Res* 1994;18(1):7-16.
- 59 Accornero P, Lattanzio G, Mangano T, Chiarle R, Taulli R, Bersani F, Forni PE, Miretti S, Scuoppo C, Dastr   W, Christensen JG, Crepaldi T, Ponzetto C. An in vivo model of Met-driven lymphoma as a tool to explore the therapeutic potential of Met inhibitors. *Clin Cancer Res* 2008;14(7):2220-6.
- 60 Matsumoto K, Umitsu M, De Silva DM, Roy A, Bottaro DP. Hepatocyte Growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery. *Cancer Sci* 2017;108(3):296-307.
- 61 Eunice L. Kwak, M.D., Ph.D., Yung-Jue Bang, M.D., Ph.D., D. Ross Camidge et al. Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibition in Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2010;363(18):1693-1703.
- 62 Benner MF, Jansen PM, Meijer CJ, Willemze R. Diagnostic and prognostic evaluation of phenotypic markers TRAF1, MUM1, BCL2 and CD15 in cutaneous CD30-positive lymphoproliferative disorders. *Br J Dermatol*.2009;161(1):121-7.
- 63 Bedewy M, El-Maghraby S, Bedewy A. CD 163 and c-Met expression in the lymph node and the correlations between elevated levels of serum free light chain and the different clinicopathological parameters of advanced classical Hodgkin's lymphoma. *Blood Res* 2013;48(2):121-7.
- 64 Gambacorti-Passerini C, Messa C, Pogliani EM. Crizotinib in anaplastic large-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2011;364(8):775-557.
- 65 Zamam S, Shentu S, Yang J, He J, Orlowski R, Stellrecht C, Gandhi V. Targeting the pro-survival protein MET with Tivantinib (ARQ 197) inhibits growth of multiple myeloma cells. *Neoplasia* 2015; 17(3):289-300.

-
- 66 Kumai T, Matsuda Y, Ohkuri T, Oikawa K, Ishibashi K, Aoki N, Kimura S, Harabuchi Y, Celis E, Kabayachi H. c-MET is a novel tumour associated antigen for T-cell based immunotherapy against NK/T cell lymphoma. *Oncolimmunology* 2015;4(2):e976077-1/-10.
- 67 Lam BQ, Dai L, Qin Z. The role of HGF/c-MET signaling pathway in lymphoma. *J of Hematol Oncol* 2016(9):135.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Minka Laturnus-Chang, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „c-Met-Expression bei kutanen Lymphomen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht

Minka Laturnus-Chang



Danksagung

Im Besonderen möchte ich mich bei meinem Betreuer und Dr.-Vater dieser Arbeit, PD Dr. Assaf, für die wertvolle, unermüdliche und zuverlässige Mitgestaltung sowie produktiven Korrektur dieser Arbeit bedanken.

Zudem möchte ich Frau Prof. Dr. Weyermann, Herrn Prof. Hummel und seinen Mitarbeitern (vor allem Frau Erika Berg) aus dem Institut für Pathologie der Charité Berlin und meinem Kollegen Dr. Baltaci für ihre wichtigen Beiträge danken.

Mein ganz persönlicher Dank geht an meine Familie, insbesondere an meinen Mann, an meine Mutter und Schwiegermutter, deren liebevolle Mithilfe dazu beigetragen hat, dass ich mich dieser Arbeit widmen konnte. Auch meinen Söhnen Tamino und Phileas möchte ich danken: sie haben stets für Ablenkung gesorgt, so dass der Alltag während dieses Projektes nie einseitig wurde.