DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-65-74



Молекулярно-генетические особенности развития Т-клеточных лимфом кожи на примере грибовидного микоза и синдрома Сезари

М.Б. Хаджиева^{1, 2}, Е.С. Захарова¹, Е.В. Калинина¹, Д.С. Абрамов¹, А.Г. Румянцев¹, С.С. Ларин¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117198 Москва, ул. Саморы Машела, 1; ²ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии»; Россия, 107031 Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2

Контакты: Марьям Борисовна Хаджиева mkhadzhieva@fnkcrr.ru

Т-клеточные лимфомы кожи представляют собой гетерогенную группу Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваний, поражающих кожу. Грибовидный микоз и синдром Сезари — наиболее изученные варианты Т-клеточных лимфом кожи. Обзор литературы включает последние опубликованные данные по развитию патологических процессов при грибовидном микозе и синдроме Сезари и диагностике этих заболеваний. Описаны особенности геномной нестабильности при Т-клеточных лимфомах кожи, рассмотрены существующие гипотезы происхождения данных заболеваний по результатам изучения репертуара Т-клеточного рецептора.

Ключевые слова: Т-клеточная лимфома кожи, грибовидный микоз, синдром Сезари, Т-клеточная клональность

Для цитирования: Хаджиева М.Б., Захарова Е.С., Калинина Е.В. и др. Молекулярно-генетические особенности развития Т-клеточных лимфом кожи на примере грибовидного микоза и синдрома Сезари. Онкогематология 2022;17(1):65–74. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-65-74.

Molecular genetic features of cutaneous T-cell lymphomas development on example of mycosis fungoides and Sezary syndrome

M.B. Khadzhieva^{1, 2}, E.S. Zakharova¹, E.V. Kalinina¹, D.S. Abramov¹, A.G. Rumyantsev¹, S.S. Larin¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow 117198, Russia;

²Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology; Build. 2, 25 Petrovka St., Moscow 107031, Russia

Contacts: Maryam Borisovna Khadzhieva *mkhadzhieva@fnkcrr.ru*

Cutaneous T-cell lymphomas are a heterogeneous group of T-cell lymphoproliferative diseases affecting the skin. Mycosis fungoides and Sezary syndrome are the most studied variants of them. The literature review includes the latest published data on the pathological processes development in mycosis fungoides and Sezary syndrome and the diagnosis of these diseases. The genomic instability features in cutaneous T-cell lymphomas are described, the existing hypotheses of the origin of these diseases are considered based on the results of T-cell receptor repertoire studying.

Key words: cutaneous T-cell lymphoma, mycosis fungoides, Sezary syndrome, T-cell clonality

For citation: Khadzhieva M.B., Zakharova E.S., Kalinina E.V. et al. Molecular genetic features of cutaneous T-cell lymphomas development on example of mycosis fungoides and Sezary syndrome. Onkogematologiya = Oncohematology 2022;17(1):65–74. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-1-65-74.

Введение

Лимфомы кожи — гетерогенная группа злокачественных опухолей кожи, обусловленных моноклональной пролиферацией клеток лимфоидной ткани. Около 60—65 % лимфом кожи составляют Т-клеточные лимфомы кожи (ТКЛК) вследствие того, что большинство иммунокомпетентных клеток кожи представлены

Т-лимфоцитами. ТКЛК являются экстранодальными неходжкинскими лимфомами, которые характеризуются инфильтрацией кожи злокачественными моноклональными Т-лимфоцитами [1]; частота встречаемости ТКЛК 0,29—0,87 на 100 тыс. населения [2]. Классификация ТКЛК достаточно часто претерпевает изменения и дополнения, что, с одной стороны, отражает

сложность диагностики этих заболеваний, с другой — свидетельствует о многообразии молекулярных форм данной патологии [3]. ТКЛК представляют крайне разрозненную группу заболеваний, объединяющую менее агрессивные формы с 5-летней выживаемостью более 90 % и высокоагрессивные заболевания с 5-летней выживаемостью 11–16 % [3]. Данный обзор посвящен современным представлениям о патогенезе и стандартам диагностики Т-клеточных злокачественных новообразований в дерматологии на примере классических форм ТКЛК — грибовидного микоза (ГМ) и синдрома Сезари (СС).

Клиническая картина грибовидного микоза и синдрома Сезари

Грибовидный микоз является наиболее распространенной формой ТКЛК. Средний возраст пациен-

тов на момент постановки диагноза составляет 40-60 лет. Заболевание в 2 раза чаще возникает у мужчин. Известны случаи поражения ГМ у детей и подростков (1 % случаев) [4, 5]. В дебюте ГМ характерно возникновение пятен с четкими краями преимущественно на ягодицах и других участках тела, редко подвергающихся воздействию солнечного света и характеризующихся поэтапной эволюцией пятен и папул (бляшек) в узлы. В течении классической формы заболевания четко выделяют 3 стадии: пятнистую (эритематозную), бляшечную и опухолевую [6]. ГМ имеет хроническое рецидивирующее течение, низкую степень пролиферации, устойчивость к химиотерапии и 5-летнюю выживаемость более 50 %. Точная причина возникновения ГМ пока неизвестна, однако считается, что данное заболевание возникает из резидентных Т-клеток памяти, которые, подвергаясь хронической антигенной

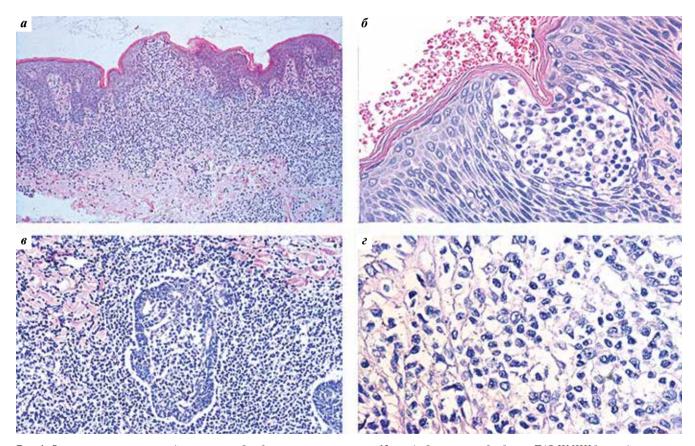


Рис. 1. Вариант микроскопической картины грибовидного микоза у пациента 12 лет (собственное наблюдение, ПАО НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева): а — эпидермис с признаками слабовыраженного гиперкератоза, акантоза, спонгиоза, в дерме субэпидермально расположен линейный инфильтрат из мелких лимфоцитов с признаками эпидермотропизма (окраска гематоксилином и эозином, ×200); б — лимфоцитарный эпидермотропизм с формированием микроскопической полости, заполненной мелкими опухолевыми лимфоцитами с примесью дендритных клеток и клеток Лангерганса (окраска гематоксилином и эозином, ×600); в — эпителиотропизм, деструкция волосяного фолликула (клинически проявляется как алопеция), плотный и интерстициальный инфильтрат из мелких лимфоцитов в окружающей дерме (окраска гематоксилином и эозином, ×600); г — морфология опухолевого субстрата, клетка мелкого или среднего размера с небольшой цитоплазмой и «церебриформным» ядром, ядерная мембрана имеет неровную границу (окраска гематоксилином и эозином, ×600)

Fig. 1. Microscopic picture of the mycosis fungoides in a 12-year-old patient (own observation, pathology department of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology): a — epidermis with signs of mild hyperkeratosis, acanthosis, spongiosis, a linear infiltrate of small lymphocytes with signs of epidermotropism is located in the subepidermal dermis (hematoxylin and eosin staining, ×200); 6 — lymphocytic epidermotropism with the formation of a microscopic cavity filled with small tumor lymphocytes with dendritic and Langerhans cells (hematoxylin and eosin staining, ×600); 8 — epitheliotropism, destruction of the hair follicle (clinically manifested as alopecia), dense and interstitial infiltration of small lymphocytes in the surrounding dermis (hematoxylin and eosin staining, ×600); 2 — tumor substrate morphology, a small or medium-sized cell with a small cytoplasm and a "cerebriform" nucleus, the nuclear membrane has an uneven border (hematoxylin and eosin staining, ×600)

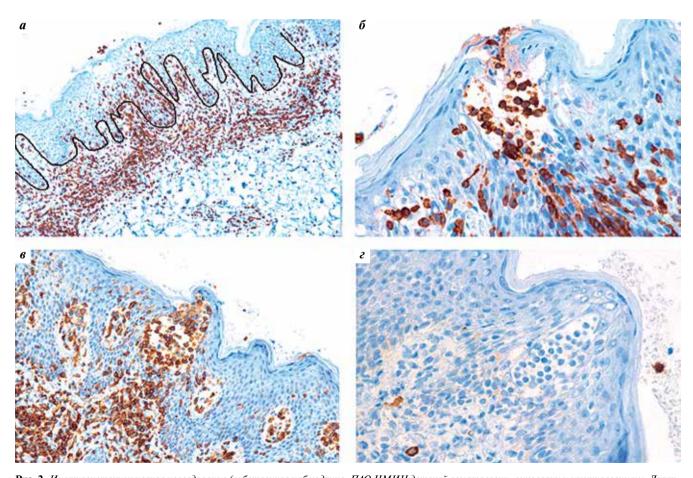
стимуляции (воздействие золотистого стафилококка, вируса Эпштейна—Барр, цитомегаловируса и т. д.), накапливают неопластические мутации, что приводит к неконтролируемой клональной пролиферации. Вариант микроскопической картины ГМ представлен на рис. 1.

Синдром Сезари представляет собой агрессивную ТКЛК, характеризующуюся эритродермией, генерализованной лимфаденопатией и наличием в крови циркулирующих злокачественных Т-лимфоцитов (≥1000 клеток Сезари/мм³) [3]. СС болеют преимущественно лица пожилого возраста с преобладанием пациентов мужского пола, средний возраст начала заболевания составляет 60—65 лет.

Иммунофенотип опухолевых клеток

Злокачественные лимфоциты при ГМ и СС имеют фенотип CD3⁺CD4⁺CD8⁻, при этом часто наблюдается аберрантная потеря пан-Т-клеточных антигенов, включая CD2, CD3, CD4, CD5 и CD7 [7]. Большинст-

во случаев ГМ характеризуется наличием инфильтрата из а/в Т-хелперов с иммунофенотипом βF1⁺CD3⁺CD4⁺CD5⁺CD7⁺CD8⁻CD45RO⁺, реже встречаются Т-цитотоксический (βF1+CD3+CD4-CD5+CD8+) и γ/δ (β F1-CD3+CD4+CD5+CD8+) фенотипы [6, 8]. Наличие на поздних стадиях ГМ значительной популяции клеток, в которых отсутствует экспрессия пан-Т-клеточных антигенов CD2, CD5 и/или CD7 в пределах всего поражения либо только в эпидермисе, является высокоспецифичным для ГМ (специфичность 90 %) [7]. Прогрессирование ГМ характеризуется переходом от Th1-фенотипа с повышенной экспрессией цитокинов фактора некроза опухоли α (TNF-α), интерлейкинов (IL) 2, 12 (IL-2, IL-12) и интерферона γ (IFN-γ) к Th2-фенотипу с цитокиновым профилем IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, который повышает чувствительность к бактериальным инфекциям, способствует развитию иммуносупрессии, появлению периферической эозинофилии, повышению сывороточного уровня иммуноглобулина E (IgE) и развитию эритродермии.



Увеличение активности IL-4 и IL-13 ингибирует экспрессию цитокинов Th1-фенотипа и стимулирует пролиферацию злокачественных клеток [9]. В 40−90 % случаев опухолевые клетки субстрата ГМ демонстрируют моноклональность Т-клеточного рецептора (TCR), преимущественно клональную перестройку генов, кодирующих β - или γ -цепь TCR [10]. При CC отмечается отсутствие в периферической крови экспрессии CD7 (≥40 % CD4+CD7-) или CD26 (≥30 % CD4+CD26-) на фоне увеличения CD3+CD4+клеток (коэффициент отношения CD4/CD8 ≥10) [3]. На рис. 2 представлен иммунофенотип опухолевых клеток при ГМ у пациента 12 лет.

Дифференциальная диагностика грибовидного микоза и синдрома Сезари

Дифференциальная диагностика ГМ и СС затруднена, так как некоторые варианты данных лимфом имитируют доброкачественные кожные заболевания и наоборот, такие как экзема, фолликулит, пигментированные пурпурные дерматозы, псориаз, витилиго и др. [11, 12]. В настоящее время в качестве дополнительных методов диагностики ГМ и СС используют морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-биологические методы. Молекулярно-биологический метод заключается в определении клональности популяций лимфоцитов методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с визуализацией результатов с использованием капиллярного электрофореза [13]. Выявляемость клональности различна на разных стадиях заболевания: клональная популяция Т-лимфоцитов регистрируется примерно в 50 % случаев пятнистой, в 73 % случаев бляшечной и в 83-100 % случаев опухолевой стадии ГМ [14]. Результаты молекулярно-биологического исследования необходимо оценивать в комплексе с данными других диагностических методов, так как доминантный клон Т-лимфоцитов может обнаруживаться в группе так называемых клональных дерматозов.

Методы определения клональности Т-клеточного рецептора

Классическая теория созревания Т-лимфоцитов подразумевает, что ТСR образуется в ходе дифференцировки предшественников Т-лимфоцитов в тимусе [15]. Генетические локусы, кодирующие ТСR, локализованы на 2 хромосомах: гены α- и δ-цепей (*TCRA* и *TCRD*) — на хромосоме 14 (14q11.2); локусы β-и γ-цепей (*TCRB* и *TCRG*) — на хромосоме 7 (7q35 и 7р15 соответственно) [16]. В каждом локусе присутствуют области, содержащие множественные копии (от 5 до 500) генных сегментов разного типа. В процессе созревания лимфоцитов генные сегменты соединяются с образованием функциональных генов ТСR. Этот процесс получил название генетических реаранжировок или V(D)Ј-рекомбинации по названию генных сегментов, составляющих вариабельную часть функ-

циональных генов. Первым перестраивается *TCRD*, затем — *TCRG* и *TCRB* и в последнюю очередь — *TCRA*. Для каждого Т-лимфоцита, прошедшего процесс созревания, характерна своя уникальная конфигурация генов TCR, которая является его «молекулярным паспортом», «генетическим отпечатком пальца», в норме популяция Т-лимфоцитов поликлональна по TCR. Считается, что в основе развития неопластического процесса лежит пролиферация одного злокачественного клона, вследствие чего значимая часть ткани опухоли представлена одной клональной субпопуляцией лимфоцитов.

В основе определения клональности TCR лежит метод (называемый далее классическим) мультиплексной ПЦР с визуализацией результатов с использованием капиллярного электрофореза. Международным консорциумом EuroClonality разработаны и стандартизированы протоколы исследования клональности популяций В- и Т-лимфоцитов [17]. Согласно данным протоколам можно исследовать клональность по у-, β- и δ-цепям ТСР (α-цепь не входит в данный перечень из-за сложности организации). ПЦР с использованием смеси специфических праймеров позволяет амплифицировать участки перестроенных генов TCR. Размеры полученных фрагментов будут варьировать для разных индивидуальных лимфоцитов вследствие уникальной генетической конфигурации вариабельного домена TCR. Анализ продуктов ПЦР с использованием капиллярного электрофореза с детекцией концевой флуоресцентной метки позволяет получить картину распределения интенсивности сигнала в зависимости от размера (длины) полученных генетических фрагментов. При клональной пролиферации лимфоцитов в популяции будет преобладать клон потомков одной клетки с уникальной последовательностью нуклеотидов в области рекомбинации. Как следствие, при детекции будут преобладать ампликоны одного размера, уникальные для данного клона и однозначно характеризующие его наличие.

Метод оценки клональности TCR широко применяется в молекулярной диагностике лимфопролиферативных заболеваний, кроме того, позволяет сравнивать клональные популяции лимфоцитов. В случае возникновения повторной опухоли у пациента при анализе нескольких образцов биопсий можно сделать вывод о природе повторного заболевания: если размер клонального фрагмента совпадает при анализе 2 последующих заболеваний, это первичная опухоль и рецидив; если не совпадает, это две независимо возникшие опухоли. Недостатком метода является затруднение в обнаружении небольшого количества опухолевых клеток на фоне большого числа реактивных лимфоцитов, а именно на начальных стадиях ГМ. Данный подход также применяется для исследования уровня минимальной остаточной болезни [18].

На рис. 3 представлены примеры электрофореграмм определения клональности Т-лимфоцитов

методом мультиплексной ПЦР с использованием капиллярного электрофореза.

Локус γ -цепи TCR является предпочтительной мишенью для определения клональности в лимфоидных популяциях, так как перестраивается на ранних этапах лимфоидного созревания и перестраивается в α/β - и в γ/δ -предшественниках [19]. В большинстве Т-клеточных злокачественных пролифераций частота перестроения TCRG достигает 90 %; ограниченный репертуар данного локуса облегчает протокол определения клональности с его использованием. Оценка генетических перестроек локуса β -цепи также вносит большой вклад в определение клональности при ожидаемых лимфопролиферативных расстройствах [20].

Внедрение в последние годы технологий NGS (пехt-generation sequencing, секвенирование нового поколения) позволило проводить более глубокий анализ реаранжировок генов В- и Т-клеточных рецепторов (IG/TCR): оценку клональности лимфоцитов, обнаружение минимальной остаточной болезни, анализ репертуаров IG/TCR [21]. EuroClonality-NGS на базе биоинформатической платформы ARResT/Interrogate в 2019 г. представил полный протокол для стандартизированного анализа реаранжировки генов IG/TCR с помощью NGS [22]. Использование данного подхода для определения клональности лимфоцитов обеспечивает высокую воспроизводимость, точность идентификации клона и его количественного определения при диагностике лимфопролиферативных заболева-

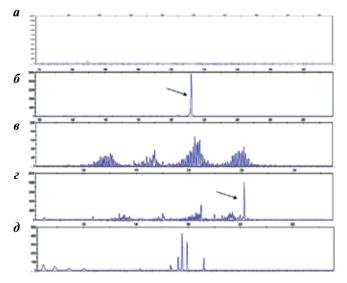


Рис. 3. Электрофореграммы определения клональности T-лимфоцитов методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с использованием капиллярного электрофореза на примере TCRG: a — отрицательный контроль; δ — моноклональная популяция T-лимфоцитов; ϵ — поликлональная популяция ϵ — моноклональная популяция ϵ — олигоклональная попул

Fig. 3. Electrophoregrams of T cell clonality by multiplex polymerase chain reaction using capillary electrophoresis on the example of TCRG: a-negative control; b-negative control; b-negative control b-negat

ний. В последние годы NGS-технологии внесли большой вклад в понимание молекулярных процессов, происходящих при ГМ и СС. Как классический метод определения клональности, так и NGS не требуют особого приготовления биологического материала; для работы могут быть использованы фиксированные в формалине, залитые парафином ткани кожи после рутинного гистологического и иммуногистохимического исследования.

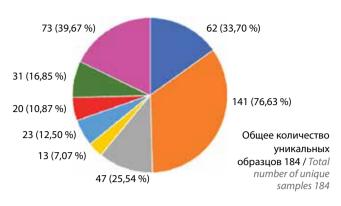
Введение вышеописанных методов определения клональности в популяциях лимфоцитов в рутинную практику стало очень важным шагом в диагностике лимфопролиферативных заболеваний. Данные технологии позволили повысить точность диагностики и ускорить процесс постановки диагноза.

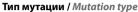
Особенности геномной нестабильности при Т-клеточных лимфомах кожи

В последнее время понимание этиопатогенеза ГМ и СС расширилось благодаря результатам фундаментальных молекулярно-биологических исследований. По данным NGS в патогенезе ТКЛК основную роль играет нарушение регуляции таких специфических внутриклеточных сигнальных путей, как JAK-STAT, MAPK, TCR и NF-кВ [23].

J. Park и соавт. проанализировали точечные мутации и вариации числа копий генов (copy number variations, CNVs) для 220 случаев ТКЛК с общедоступными данными секвенирования, в том числе для 186 случаев с СС и для 25 случаев с ГМ. Точечные мутации, способные привести к потере функции, наблюдались в генах ЈАК1 (в 0,9 % случаев), ЈАКЗ (2,7 %), STATЗ (0,9 %) и STAT5B (3,6 %), в то время как CNVs встречались в *JAK2* (13 %), *STAT3* (60 %) и *STAT5B* (60 %) и коррелировали с уровнем экспрессии соответствующих генов [24]. При ТКЛК выявлены мутации в генах *KRAS*. NRAS, MAP2K1, NF1, BRAF, CARD11, PRKG1, MAPK1, приводящие к повышению активности сигнального пути МАРК [25–27]. Гиперактивный сигнальный путь TCR может вызывать неконтролируемую пролиферацию злокачественных Т-лимфоцитов. В работе L. Wang и соавт. у 84 % из 37 пациентов с СС были идентифицированы соматические мутации в генах *CARD11*, *PLCG1*, *LAT*, RAC2, PRKCO, CD28, вовлеченных в сигналинг TCR [28]. При ГМ/СС отмечаются точечные мутации (в 5,4 % случаев) и увеличение числа копий (23 %) в гене САRD11, что приводит к увеличению активации NF-кВ [29]. Также у пациентов с ГМ/СС регистрировались точечные мутации и/или увеличение числа копий в генах TNFR2 (в 18 % случаев), TNFRSF1B (2,2-2,5 %), активирующих передачу сигналов NF-кB, и в гене *TNFAIP3* (в 25 % случаев СС), который кодирует ингибитор TNF-α-индуцированного сигналинга NF-кВ [24, 30].

Изучение молекулярно-генетических механизмов ТКЛК осложняется гетерогенностью патологических процессов, возникающих в связи с развитием этих заболеваний. По данным ресурса COSMIC (Catalogue





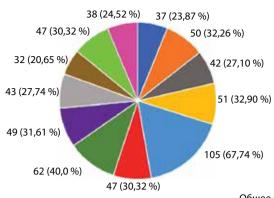
- Нонсенс-мутация / Nonsense mutation
- Миссенс-мутация / Missense mutation
- Синонимичная замена / Synonymous substitution
- Инсерция внутри рамки считывания / Inframe insertion
- Инсерция со сдвигом рамки считывания / Frameshift insertion
- Делеция внутри рамки считывания / Inframe deletion
- Делеция со сдвигом рамки считывания / Frameshift deletion
- Другие / Other

Puc. 4. Типы мутаций у пациентов при грибовидном микозе/синдроме Сезари по данным ресурса COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer)

Fig. 4. Mutation types in patients with mycosis fungoides/Sezary syndrome according to COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) data

оf Somatic Mutations in Cancer) [31] нами была сгенерирована группа из 184 пациентов с ГМ/СС (данные от 18.12.2020). Наибольшее число мутаций было выявлено для генов *ТР53*, *PLCG1*, *CARD11*, *ARID1A*, *NCOR1*, *FAT1*, *TET2*. Анализ данных COSMIC показал, что от общего числа зарегистрированных мутаций 76,63 % составляют миссенс-мутации (рис. 4). В работе L. Wang и соавт. средняя частота соматических мутаций составила 3,85 мутации на Мегабазу (Мb) целевой ДНК, а частота несинонимичных мутаций — 2,75 на Мb, что сопоставимо с солидными опухолями у взрослых [28].

Большинство соматических однонуклеотидных замен, наблюдаемых при ГМ/СС, являются транзициями C>T (67,74 % по данным COSMIC) (рис. 5). Высокая частота С>Т обусловлена 2 отдельными мутационными процессами: заменами в тринуклеотидах NpCpG (связывают со старением) и NpCpC (связывают с воздействием ультрафиолетового излучения). Замены С>Т в NpCpG обусловлены повышенной скоростью спонтанного дезаминирования 5-метилцитозина, что приводит к возникновению остатка тимина и образованию неканонической пары оснований G:Т [32]. Число мутаций, вызванных воздействием средневолнового ультрафиолетового излучения, являющегося мощным мутагеном, при СС выше, чем при остром лимфобластном и остром миелоидном лейкозах, но сходно с таковым при плоскоклеточном раке кожи. При СС отмечается относительно большая доля (2,2 %) динуклеотидных мутаций, более половины из которых



Общее количество уникальных образцов 155 / Total number of unique samples 155

Однонуклеотидные замены / Single nucleotide substitutions



Puc. 5. Однонуклеотидные замены, наблюдаемые при грибовидном микозе/синдроме Сезари по данным ресурса COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer)

Fig. 5. Single nucleotide substitutions observed in mycosis fungoides/Sezary syndrome according to COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) data

составляют замены СС>ТТ [28]. Вероятно, это делает СС перспективной мишенью для различных иммунотерапевтических подходов, так как большое количество новых уникальных мутаций создает потенциальные опухолевоспецифические антигены и может быть хорошей целью для дальнейших протеогеномных исследований [33].

Отличительной особенностью ТКЛК является то, что соматические вариации копий генов (somatic copy number variants, SCNV) составляют основную долю (более 90 %) драйверных мутаций, способствующих развитию злокачественных новообразований: в среднем 11,8 патогенной SCNV против 1,0 соматического однонуклеотидного варианта (somatic single nucleotide variants, SSNV) [34]. В частности, фокальные делеции приводят к частой гемизиготной инактивации геновсупрессоров опухолевого роста [26, 34].

Одной из причин развития комплексных геномных изменений при ГМ/СС называют хромотрипсис (одномоментные множественные случайные перестройки в пределах одной хромосомы) и хромоплексию (множественные смежные транслокации между 2 и более хромосомами) [35]. Механизм хромотрипсиса до конца неизвестен, предполагается, что он может быть сгенерирован в момент формирования микроядер. Критерием хромотрипсиса считается наличие более 10 CNVs на 1 хромосому [36]. В работе J. Choi и соавт. 65 % образцов ТКЛК имели признаки по крайней мере одной хромотрипсис-подобной перестройки, при этом наиболее часто эти события происходили в хромосомах, содержащих многочисленные опухолевые супрессоры ТКЛК [34].

Эпигенетические аспекты развития Т-клеточных лимфом кожи

В качестве эпигенетических механизмов рассматриваются модификации хроматина, метилирование и ацетилирование гистонов, метилирование/деметилирование ДНК. В опухолевых клетках отмечается дисбаланс метилирования — локальное гиперметилирование CpG-островков в области промоторов ряда генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла, дифференцировку и апоптоз на фоне общего гипометилирования генома, что способствует нестабильности генома и нарушению транскрипции генов. При СС зарегистрированы фокальные делеции и мутации в гене ДНК-метилтрансферазы *DNMT3A*, катализирующем метилирование СрG-участков, и в генах семейства TET (ten-eleven translocation), отвечающих за процессы деметилирования [26, 34]. В работе R. van Doorn и соавт. в CD4+-T-лимфоцитах пациентов с CC выявлено гиперметилирование промоторов 126 генов, включая гены-супрессоры опухолевого роста; в 94-100 % случаев отмечалось гиперметилирование промоторов генов CMTM2, C2orf40, G0S2, HSPB6, PROM1, РАМ [37]. Также при СС отмечаются мутации в генах, отвечающих за метилирование/деметилирование по лизину (КМТ2С, КМТ2D, SETDB2, КDМ6A) и ацетилирование/деацетилирование гистонов (СКЕВВР, NCOR1, BCOR, TRRAP) и ремоделирование хроматина (ARID1A, ARID5B, SMARCC1) [29, 38, 39]. В настоящее время разработаны терапевтические препараты вориностат и ромидепсин для лечения ТКЛК, действие которых основано на ингибировании гистондеацетилаз, однако только в 30 % случаев они являются эффективными [40, 41]. Гистондеацетилазы удаляют ацетильные группы от гистоновых белков, что вызывает конденсацию хроматина, уменьшает доступность для транскрипционных факторов и приводит к прекращению экспрессии содержащихся в нем генов. Устойчивость к ингибиторам гистондеацетилаз может быть обусловлена повышением ацетилирования гистонов и повышением экспрессии генов, вовлеченных в адгезию/миграцию клеток (CXCR4, LAIR2), ингибирование апоптоза (BIRC5), клеточный цикл (RRM2) и антиоксидантную систему/систему детоксикации (TXNDC5, GSTM1) [41].

Современные модификации метода бисульфидного секвенирования позволяют легко и быстро получать данные о статусе метилирования ДНК в образцах биологического материала [42]. Полученная таким образом информация потенциально может помочь рациональному назначению ингибиторов гистондеацетилаз для терапии ТКЛК.

Изучение репертуара Т-клеточного рецептора при грибовидном микозе и синдроме Сезари

В связи с низкой популяционной частотой ТКЛК существует сложность в сборе больших статистически значимых когорт пациентов для исследования. При

ТКЛК наблюдается клональная экспансия злокачественных Т-клеток с уменьшением количества нормальных лимфоцитов, что приводит к снижению общей сложности репертуара рецепторов Т-лимфоцитов. Эта потеря создает относительную лимфопению, которая может играть определенную роль в иммуносупрессии, наблюдаемой у пациентов с прогрессирующим заболеванием [43]. Американские исследователи проанализировали репертуар TCR в группе из 32 пациентов с СС методом секвенирования транскриптомов [28]. У 97 % пациентов обнаружены 1 или 2 доминантных Vβ- или Vα-экспрессирующих клона. В исследуемой группе локус *TCRB* являлся моно-, би- и поликлональным у 56, 22 и 22 % пациентов соответственно. Аналогичные данные для локуса *TCRA* составили 66, 22 и 12 %. Согласно современным представлениям в норме *TCRB* перестраивается и экспрессируется на поверхности клетки с последующим перестроением *TCRA*. Клетки с полностью сформированным и гетеродимеризованным TCR покидают тимус и мигрируют в периферические органы и ткани, где находятся до стимуляции антигеном или получения других сигналов. Таким образом, в злокачественном клоне СС авторы ожидали увидеть экспрессирующимися один TCRB и один TCRA. Из 32 пациентов 11 соответствовали этим ожиданиям. У 6 пациентов при моноклональности *TCRB* наблюдались биклональные или поликлональные варианты TCRA, из чего следует, что после злокачественной трансформации клетки СС имели возможность перестраивать свой локус *TCRA* до биклональности или даже поликлональности. Авторы проверили, не является ли это следствием вклада реактивных Т-лимфоцитов, и опровергли это предположение, так как исследуемые клетки были моноклональными в отношении онкогенных мутаций. Еще более удивительными были пациенты, у которых при моноклональном TCRA наблюдался би- и поликлональный ТСКВ (21,9 %). Поскольку каноническая дифференцировка TCR обусловливает перестройку *TCRB*, происходящую до *TCRA*, трудно объяснить, как злокачественный клон может быть моноклональным для TCRA и поликлональным для TCRB. Данное явление может быть обусловлено нарушением порядка реаранжировки ТСК локусов. Еще одна гипотеза, предлагаемая L. Wang и соавт., заключается в том, что при злокачественной трансформации первоначально реаранжированный Vβ теряется и происходит новый раунд реаранжировки данного локуса, когда злокачественные клетки делятся с образованием поликлонального Vβ [28].

Другая группа авторов выдвинула предположение, что злокачественная трансформация T-клетки может происходить не на стадии зрелой T-клетки памяти, как сейчас принято считать для ΓM , а на стадии клетки-предшественника до перестроений локусов TCRB и TCRA. Данные выводы были сделаны на основе исследования перестроений TCR (TCRG, TCRB, TCRA)

методом секвенирования экзомов и транскриптомов 27 пациентов с ГМ [44]. В эксперименте было несколько пар образцов из разных очагов опухоли от одного пациента; всего 33 биопсии для 27 пациентов. Соотношение опухолевых и реактивных клеток в каждом образце определялось гистологически. Авторы ожидали обнаружить моноклональные перестроения, соответствующие злокачественному клону Т-лимфоцитов, однако выявили, что в большинстве образцов присутствует несколько клонотипов по TCRG, TCRB, TCRA. Отмечалось наличие общих клонотипов опухолевых клеток в разных опухолевых очагах для одного пациента: среди проанализированных 5 пар образцов, взятых от одного пациента, 4 пары имели от 1 до 3 общих клонотипов, однако полностью репертуар доминантных клонотипов не совпадал. Всего для исследуемых пациентов было выявлено 45 общих клонотипов для TCRA, 10 для TCRB и 25 для TCRG. Особенно информативными были случаи, в которых доля моноклональной реаранжировки *TCRG* соответствовала доле ДНК, полученной из опухоли, что указывает на то, что образец состоит из популяции злокачественных клеток, имеющих идентичный клонотип *TCRG*. Вместо ожидаемой моноклональности *TCRB* были обнаружены от 2 до 7 клонотипов *TCRB* и несколько клонотипов TCRA. Это указывает на то, что по крайней мере в некоторых случаях ГМ начальная трансформация происходит не на уровне резидентных Т-клеток памяти, а, возможно, намного раньше, во время развития лимфоцитов после завершения реаранжировки *TCRG*, но до инициации рекомбинации TCRB и TCRA [45]. Клонотипическая гетерогенность ТКЛК отмечается также и в других работах [46, 47]. Согласно современным представлениям, реаранжировки генетических локусов, кодирующих цепи ТСР, происходят

при созревании Т-лимфоцитов внутри тимуса с участием ферментов RAG1 (Recombination Activating 1) и RAG2 (Recombination Activating 2). Под действием RAG1/RAG2 на первом этапе перестроения осуществляется соединение D- и J-сегмента, а завершает V(D)J-рекомбинацию присоединение V-участка [48]. Способность злокачественных клеток рекомбинировать TCR на периферии маловероятна, так как ферменты RAG1 и RAG2 неактивны в зрелых Т-лимфоцитах и клетках ТКЛК [49]. Данные о том, что точки разрыва хромосом при ТКЛК содержат гептамеры, узнаваемые RAG1/RAG2, подтверждают гипотезу о том, что начальные стадии злокачественной трансформации происходят на ранних стадиях развития лимфоцитов, когда ферменты RAG активны [44]. Вопрос о происхождении ТКЛК в настоящее время остается открытым.

Заключение

Основной отличительной чертой ТКЛК является редкая встречаемость, вследствие чего данные о происхождении и патогенезе этих заболеваний накапливаются очень медленно. Расширение выборки пациентов данной группы заболеваний, появление новых системных подходов и современных методов исследования в ближайшее время позволят разработать рациональные способы ранней диагностики и новые методы терапии. Одним из перспективных направлений терапии при ТКЛК является развитие терапевтических стратегий, нацеленных на ранние клетки-предшественники лимфомы. Если гипотеза происхождения ТКЛК из ранних клеток-предшественников получит дальнейшее подтверждение, то развитие терапии, нацеленной на клетки-предшественники, представляется одним из перспективных направлений.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- 1. Демина О.М., Акилов О.Е., Румянцев А.Г. Т-клеточные лимфомы кожи: современные данные патогенеза, клиники и терапии. Онкогематология 2018;3(13):25—38. [Demina O.M., Akilov O.E., Rumyantsev A.G. T-cell cutaneous lymphomas: current data on pathogenesis, clinic and therapy. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;3(13):25—38. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-25-38.
- 2. Dobos G., Pohrt A., Ram-Wolff C. et al. Epidemiology of cutaneous T-Cell lymphomas: a systematic review and meta-analysis of 16,953 patients. Cancers (Basel) 2020;12(10):2921. DOI: 10.3390/cancers12102921.
- 3. Willemze R., Cerroni L., Kempf W. et al. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lym-

- phomas. Blood 2019;133(16):1703–14. DOI: 10.1182/blood-2018-11-881268.
- 4. Willemze R., Jaffe E.S., Burg G. et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood 2005;105(10):3768–85. DOI: 10.1182/blood-2004-09-3502.
- Wilson L.D., Hinds G.A., Yu J.B. Age, race, sex, stage, and incidence of cutaneous lymphoma. Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2012;12(5):291–6.
 DOI: 10.1016/j.clml.2012.06.010.
- Quaglino P., Fava P., Pileri A. et al. Phenotypical markers, molecular mutations, and immune microenvironment as targets for new treatments in patients with mycosis fungoides and/or Sézary syndrome.
 J Invest Dermatol 2021;141(3):484–95.
 DOI: 10.1016/j.jid.2020.07.026.
- 7. Wilcox R.A. Cutaneous T-cell lymphoma: 2016 update on diagnosis, risk-stratifica-

- tion, and management. Am J Hematol 2016;91(1):151–65. DOI: 10.1002/ajh.24233.
- Ding X., Chen J., Kuai L. et al. CD4/CD8 dual-positive mycosis fungoides: a case report and literature review. Medicine (Baltimore) 2020;99(42):e22786. DOI: 10.1097/MD.000000000022786.
- 9. Воронцова А.А., Карамова А.Э., Знаменская Л.Ф. Современные представления о патогенезе грибовидного микоза. Онкогематология 2018;13(3):39—46. [Vorontsova A.A., Karamova A.E., Znamenskaya L.F. Modern ideas about the pathogenesis of fungal mycosis. Onkogematologiya = Oncohematology 2018;13(3):39—46. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-3-39-46.

- 10. Jawed S.I., Myskowski P.L., Horwitz S. et al. 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):205.e1–16. DOI: 10.1016/j.jaad.2013.07.049.
- Sarantopoulos G.P., Palla B., Said J. et al. Mimics of cutaneous lymphoma: report of the 2011 Society for Hematopathology/ European Association for Haematopathology workshop. Am J Clin Pathol 2013;139(4):536–51.
 DOI: 10.1309/AJCPX4BXTP2QBRKO.
- Hodak E., Amitay-Laish I. Mycosis fungoides: a great imitator. Clin Dermatol 2019;37(3):255–67.
 DOI: 10.1016/j.clindermatol.2019.01.004.
- 13. Захарова Е.С., Казило Н.А., Стефанов Д.Н. и др. Генетические основы разнообразия репертуара иммуноглобулинов в приложении к диагностике клональности В-клеточных лимфоидных популяций. Генетика 2011;47(6):752—64. [Zakharova E.S., Kazilo N.A., Stefanov D.N. Genetic bases of diversity of the repertoire of immunoglobulins in application to diagnostics of clonality of B-cell lymphoid populations. Genetika = Genetics 2011;47(6):752—64. (In Russ.)].
- 14. Bergman R., Faclieru D., Sahar D. et al. Immunophenotyping and T-cell receptor gamma gene rearrangement analysis as an adjunct to the histopathologic diagnosis of mycosis fungoides. J Am Acad Dermatol 1998;39(4 Pt 1):554–9. DOI: 10.1016/s0190-9622(98)70003-9.
- Spits H. Development of alphabeta T cells in the human thymus. Nat Rev Immunol 2002;2(10):760–72.
 DOI: 10.1038/nri913.
- Van Dongen J.J., Langerak A.W., Brüggemann M. et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia 2003;17(12): 2257–317. DOI: 10.1038/sj.leu.2403202.
- Langerak A.W., Groenen P.J., Brüggemann M. et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. Leukemia 2012;26(10):2159–71.
 DOI: 10.1038/leu.2012.246.
- 18. Захарова Е.С., Гнучев Н.В., Георгиев Г.П., Ларин С.С. Мониторинг минимальной остаточной болезни в перспективе лечения острых лимфобластных лейкозов у детей. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2016;15(4):34—41. [Zakharova E.S., Gnuchev N.V., Georgiev G.P., Larin S.S. Monitoring of minimal residual disease in the perspective of treatment of acute lymphoblastic leukemias in children. Voprosy gematologii/onkologii i immu-

- nopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2016;15(4):34–41. (In Russ.)]. DOI: 10.20953/1726-1708-2016-4-34-41.
- Blom B., Verschuren M.C., Heemskerk M.H. et al. TCR gene rearrangements and expression of the pre-T cell receptor complex during human T-cell differentiation. Blood 1999;93(9):3033-43.
- Sidorova Y.V., Chernova N.G., Ryzhikova N.V. et al. Clonal rearrangements and Malignant Clones in Peripheral T-cell Lymphoma. Acta Naturae 2015;7(3):116–25.
- Brüggemann M., Kotrová M., Knecht H. et al. Standardized next-generation sequencing of immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations for MRD marker identification in acute lymphoblastic leukaemia; a EuroClonality-NGS validation study. Leukemia 2019;33(9):2241–53.
 DOI: 10.1038/s41375-019-0496-7.
- Knecht H., Reigl T., Kotrová M. et al. Quality control and quantification in IG/TR next-generation sequencing marker identification: protocols and bioinformatic functionalities by EuroClonality-NGS. Leukemia 2019;33(9):2254–65. DOI: 10.1038/s41375-019-0499-4.
- Pérez C., Mondéjar R., García-Díaz N. et al. Advanced-stage mycosis fungoides: role of the signal transducer and activator of transcription 3, nuclear factor-κB and nuclear factor of activated T cells pathways. Br J Dermatol 2020;182(1):147–55. DOI: 10.1111/bjd.18098.
- Park J., Yang J., Wenzel A.T. et al. Genomic analysis of 220 CTCLs identifies a novel recurrent gain-of-function alteration in RLTPR (p.Q575E). Blood 2017;130(12):1430–40.
 DOI: 10.1182/blood-2017-02-768234.
- 25. Kiessling M.K., Oberholzer P.A., Mondal C. et al. 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;117(8):2433–40. DOI: 10.1182/blood-2010-09-305128.
- Da Silva Almeida A.C., Abate F., Khiabanian H. et al. The mutational landscape of cutaneous T cell lymphoma and Sézary syndrome. Nat Genet 2015;47(12): 1465–70. DOI: 10.1038/ng.3442.
- 27. Yanagi T., Nishihara H., Fujii K. et al. Comprehensive cancer-related gene analysis reveals that active KRAS mutation is a prognostic mutation in mycosis fungoides. J Dermatol Sci 2017;88(3):367–70. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2017.07.013.
- Wang L., Ni X., Covington K.R. et al. Genomic profiling of Sézary syndrome identifies alterations of key T cell signaling and differentiation genes. Nat Genet 2015;47(12):1426–34.
 DOI: 10.1038/ng.3444.
- Bastidas Torres A.N., Najidh S., Tensen C.P., Vermeer M.H. Molecular advances in cutaneous T-cell lymphoma. Semin Cutan

- Med Surg 2018;37(1):81–6. DOI: 10.12788/j.sder.2018.007.
- Ungewickell A., Bhaduri A., Rios E. et al. Genomic analysis of mycosis fungoides and Sézary syndrome identifies recurrent alterations in TNFR2. Nat Genet 2015;47(9):1056–60. DOI: 10.1038/ng.3370.
- 31. https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic.
- Alexandrov L.B., Nik-Zainal S., Wedge D.C. et al. Signatures of mutational processes in human cancer. Nature 2013;500(7463):415–21. DOI: 10.1038/nature12477.
- 33. Lobas A.A., Pyatnitskiy M.A., Chernobrovkin A.L. et al. Proteogenomics of malignant melanoma cell lines: the effect of stringency of exome data filtering on variant peptide identification in shotgun proteomics. J Proteome Res 2018;17(5):1801–11.
 DOI: 10.1021/acs.jproteome.7b00841.
- 34. Choi J., Goh G., Walradt T. et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma. Nat Genet 2015;47(9):1011–9. DOI: 10.1038/ng.3356.
- 35. Steininger A., Ebert G., Becker B.V. et al. Genome-wide analysis of interchromosomal interaction probabilities reveals chained translocations and overrepresentation of translocation breakpoints in genes in a cutaneous T-cell lymphoma cell line. Front Oncol 2018;8:183.

 DOI: 10.3389/fonc.2018.00183.
- Rausch T., Jones D.T., Zapatka M. et al. Genome sequencing of pediatric medulloblastoma links catastrophic DNA rearrangements with TP53 mutations. Cell 2012;148(1-2):59-71. DOI: 10.1016/j.cell.2011.12.013.
- 37. Van Doorn R., Slieker R.C., Boonk S.E. et al. Epigenomic analysis of Sézary syndrome defines patterns of aberrant DNA methylation and identifies diagnostic markers. J Invest Dermatol 2016;136(9):1876–84.
 DOI: 10.1016/j.jid.2016.03.042.
- Kiel M.J., Sahasrabuddhe A.A., Rolland D.C.M. et al. Genomic analyses reveal recurrent mutations in epigenetic modifiers and the JAK-STAT pathway in Sézary syndrome. Nat Commun 2015;6:8470. DOI: 10.1038/ncomms9470.
- Iżykowska K., Przybylski G.K., Gand C. et al. Genetic rearrangements result in altered gene expression and novel fusion transcripts in Sézary syndrome. Oncotarget 2017;8(24):39627–39.
 DOI: 10.18632/oncotarget.17383.
- Zhao L., Okhovat J.P., Hong E.K. et al. Preclinical studies support combined inhibition of BET family proteins and histone deacetylases as epigenetic therapy for cutaneous T-cell lymphoma. Neoplasia 2019;21(1):82–92.
 DOI: 10.1016/j.neo.2018.11.006.
- 41. Andrews J.M., Schmidt J.A., Carson K.R. et al. Novel cell adhesion/migration pathways are predictive markers of HDAC inhibitor resistance in cutaneous T cell

17

- lymphoma. EBioMedicine 2019;46:170—83. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.07.053.
- 42. Tanas A.S., Borisova M.E., Kuznetsova E.B. et al. Rapid and affordable genome-wide bisulfite DNA sequencing by XmaI-reduced representation bisulfite sequencing. Epigenomics 2017;9(6):833—47. DOI: 10.2217/epi-2017-0031.
- 43. Yawalkar N., Ferenczi K., Jones D.A. et al. Profound loss of T-cell receptor repertoire complexity in cutaneous T-cell lymphoma. Blood 2003;102(12):4059–66. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1044.
- 44. Iyer A., Hennessey D., O'Keefe S. et al. Clonotypic heterogeneity in cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides) re-

- vealed by comprehensive whole-exome sequencing. Blood Adv 2019;3(7):1175–84. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018027482.
- Hamrouni A., Fogh H., Zak Z. et al. Clonotypic diversity of the T-cell receptor corroborates the immature precursor origin of cutaneous T-cell lymphoma.
 Clin Cancer Res 2019;25(10):3104–14.
 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-4099.
- 46. Linnemann T., Gellrich S., Lukowsky A. et al. Polyclonal expansion of T cells with the TCR V beta type of the tumour cell in lesions of cutaneous T-cell lymphoma: evidence for possible superantigen involvement. Br J Dermatol 2004;150(5):1013–7. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2004.05970.x.
- Ruggiero E., Nicolay J.P., Fronza R. et al. High-resolution analysis of the human T-cell receptor repertoire. Nat Commun 2015;6:8081. DOI: 10.1038/ncomms9081.
- Ru H., Zhang P., Wu H. Structural gymnastics of RAG-mediated DNA cleavage in V(D)J recombination. Curr Opin Struct Biol 2018;53:178–86.
 DOI: 10.1016/j.sbi.2018.11.001.
- Nielsen P.R., Eriksen J.O., Lindahl L.M. et al. Diagnostic two-gene classifier in early-stage mycosis fungoides: a retrospective multicenter study. J Invest Dermatol 2021;141(1):213–7.e5.
 DOI: 10.1016/j.jid.2020.04.026.

Вклад авторов

- М.Б. Хаджиева: сбор данных литературы и их интерпретация, написание текста статьи, подготовка иллюстративного материала;
- Е.С. Захарова: сбор данных литературы и их интерпретация, написание текста статьи;
- Е.В. Калинина: сбор данных литературы, подготовка списка литературы;
- Д.С. Абрамов: написание текста статьи, научное редактирование статьи, подготовка иллюстративного материала;
- А.Г. Румянцев: научное редактирование статьи, окончательное одобрение рукописи;
- С.С. Ларин: разработка концепции и дизайна исследования, научное редактирование статьи, окончательное одобрение рукописи. Authors' contributions
- M.B. Khadzhieva: collection of literature data and their interpretation, article writing, preparation of illustrative material;
- E.S. Zakharova: collection of literature data and their interpretation, article writing;
- E.V. Kalinina: collection of literature data, preparation of a bibliography;
- D.S. Abramov: article writing, scientific editing, preparation of illustrative material;
- A.G. Rumyantsey: scientific editing, final approval of the article;
- S.S. Larin: concept and design development, scientific editing, final approval of the article.

ORCID abtopob / ORCID of authors

- М.Б. Хаджиева / М.В. Khadzhieva: https://orcid.org/0000-0002-8980-4851
- Д.С. Абрамов / D.S. Abramov: https://orcid.org/0000-0003-3664-2876
- С.С. Ларин / S.S. Larin: https://orcid.org/0000-0002-2128-0078

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The work was performed without external funding.