

## КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕДИАСТИНАЛЬНОЙ ЛИМФОМЫ СЕРОЙ ЗОНЫ

**А. Артемьева, М. Моталкина, Д. Звягинцева,  
Т. Семиглазова**, доктор медицинских наук,  
**Г. Франк**, доктор медицинских наук, профессор  
НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург  
РМАПО, Москва  
**E-mail:** oinochoya@gmail.com

*Медиастинальная лимфома серой зоны представляет собой редко встречающийся промежуточный вариант между классической лимфомой Ходжкина и первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомой. При выявлении несоответствия морфологической картины и иммунофенотипа нужно думать о вероятности лимфомы серой зоны.*

**Ключевые слова:** медиастинальная лимфома серой зоны, иммуногистохимическое исследование, зонд СІТА.

**М**едиастинальная лимфома серой зоны (МЛСЗ) – редко встречающийся вариант лимфомы с характеристиками, промежуточными между классической лимфомой Ходжкина (ЛХ) и первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (ПМВЛ), что представляет существенные сложности для диагностики [1].

МЛСЗ впервые была описана в 2005 г., а в классификацию ВОЗ в качестве провизорной единицы «В-клеточная лимфома, неклассифицируемая, с чертами, промежуточными между диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой и классической лимфомой Ходжкина» (ICD-O код 9596/3) была включена только в 2008 г. Заболевание чаще выявляется у молодых мужчин в возрасте 20–40 лет, однако описана МЛСЗ у 13-летнего подростка и у взрослых старше 70 лет. Вирус Эпштейна–Барр определяется не более чем в 20% случаев [1, 9].

МЛСЗ ассоциирована с:

- объемным образованием в переднем средостении с вовлечением (или без него) ткани легкого и других органов средостения посредством прямой инвазии;
- синдромом верхней полой вены или дыхательными нарушениями;
- редким вовлечением других групп периферических лимфатических узлов;
- более редким по сравнению с ПМВЛ поражением нелимфоидных органов [2, 3, 5];
- феноменом возникновения из классического варианта ЛХ или из ПМВЛ.

Развитие сложных, 2-компонентных лимфом возможно последовательно в разные отрезки времени (композитные и метахронные лимфомы). Хотя любой вариант лимфомы может быть первым, изначально, как правило, возникает ЛХ, которая рецидивирует в течение первых нескольких лет в виде ПМВЛ. Эти лимфомы характеризуются более агрессивным клиническим течением и худшим прогнозом, чем обычный классический вариант ЛХ или ПМВЛ. У пациентов с классическим вариантом ЛХ выраженная экспрессия

CD20, как правило, рассматривается как признак, позволяющий отнести лимфому к переходной (индикатор плохого прогноза).

Не достигнут консенсус в отношении оптимального варианта лечения МЛСЗ. Считается, что этот вариант лимфомы не отвечает на терапию, используемую как при ПМВЛ, так и при ЛХ [3]. Так, по данным проспективных исследований эффективности полихимиотерапии по схеме DA-EPOCH-R с ритуксимабом (таргетная терапия к CD20), у больных МЛСЗ результаты хуже, чем у пациентов с ПМВЛ (бессобытийная и общая выживаемость составила соответственно 62 и 74% против 93 и 97%) [6]. Биологические предпосылки таких различий остаются неясными; остается открытым и вопрос о перспективах применения лучевой терапии у данной категории больных.

Исследование проводилось с 2005 по 2014 г. с использованием диагностического и архивного материала патологоанатомического отделения с прозектурой НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России и патологоанатомического отделения МНИОИ им. П.А. Герцена Минздрава России.

Материал для исследования получен от 122 пациентов с В-клеточными крупноклеточными лимфомами средостения: 67 (54,9%) больных ПМВЛ, 30 (24,6%) больных ЛХ, 14 (11,5%) больных диффузной В-клеточной лимфомой (ДВКЛ) и 11 (9%) больных МЛСЗ.

Детально изучены 11 случаев МЛСЗ с применением:

- рутинной окраски гематоксилином и эозином;
- иммуногистохимического (ИГХ) исследования со спектром антител: LCA, CD20, CD3, CD15, CD30, CD10, CD23, EMA, ALK, PAX-5, BOB.1, OCT-2, mum 1, p65, MAL, Ki67;
- FISH-исследования с зондом СРТА.

Изученные образцы получены путем субтотального удаления образования (3 случая), медиастиноскопической биопсии (7) и эксцизионной биопсии подключичного лимфатического узла (1). Средний возраст пациентов составил 35 лет (от 25 до 42 лет); мужчин среди них было 7, женщин – 4 (1,75:1).

ИГХ-исследование выполняли по стандартной методике с использованием термической демаскировки антигенов в приборе PTLINK (DAKO) в соответствующем буфере (с учетом рекомендаций производителя антител). Характеристика антител приведена в табл. 1.

Результаты ИГХ-исследования оценивали в светлом поле. Мембранное или мембранно-цитоплазматическое окрашивание >30% опухолевых клеток считалось положительным для маркеров LCA, CD20, CD23, >10% – для маркеров: CD15, CD30, CD10 и MAL. Для антител с ядерной экспрессией пороговое значение в 30% было выбрано для PAX-5, BOB.1 и OCT-2; в 10% – для p65. Маркер пролиферации (Ki67) оценивали в процентах как долю окрашенных клеток (ядер) на 2000 опухолевых клеток. Ядерная экспрессия mum1 измерялась полуколичественно: 0–10% – 0, 10–30% – 1+, 30–70% – 2+ и >70% – 3+.

Во всех 11 случаях МЛСЗ, 10 случаях ПМВЛ и 3 случаях ЛХ было выполнено FISH-исследование с зондом СРТА (с использованием реагентов и оборудования фирмы DAKO, с учетом рекомендаций производителя). Для просмотра и анализа изображений использовали микроскоп ZeissAxioImager с программным обеспечением для FISH-анализа Metasystems.

Гистологическое исследование при рассматриваемой патологии продемонстрировало широкий спектр морфологических изменений как в пределах одной группы, так и в самой ткани лимфом. Сложности при оценке морфологических изменений чаще были обусловлены малыми размерами и деформацией фрагментов ткани материала, полученного при медиастиноскопии.

Клеточный состав был представлен крупными лимфоидными клетками со светлыми ядрами, содержащими одно или несколько ядрышек, напоминающих клетки Ходжкина (Ходжкиноподобные клетки – ХПК), либо содержащими грубый комковатый хроматин. Степень клеточного полиморфизма, а также изменения гистоархитектоники ткани и степень фиброза существенно варьировали.

В 1 случае микроскопическая картина была характерна для классической ЛХ: широкие кольцевидные фиброзные прослойки, нодулярные скопления крупных ХПК и двуядерных клеток, напоминающих клетки Рид–Штернберга. Крупные клетки располагались на фоне умеренно выраженного смешанноклеточного лимфоидно-

Характеристика антител

Таблица 1

Антитело/clone	Время инкубации, мин	Разведение	Система детекции	Буфер
LCA/CD45/2B11+PD7/26	30	1:500	EnVision	TRS6.0
CD20/L26	30	1:200	Real	TRS6.0
CD3/F7.2.38	30	1:100	—>—	TRS6.0
CD10/NCL-L-CD10-270	30	1:100	—>—	TRS9.0
CD15/Carb	30	1:150	—>—	TRS9.0
CD23/SP23	30	1:50	Novolink	TRS9.0
CD30/Ber-H2	30	1:50	—>—	TRS6.0
EMA/E29	30	1:100	—>—	TRS9.0
PCK/NCL-L-CK5/6/8/18	30	1:100	—>—	TRS9.0
ALK/CD246	30	1:50	—>—	TRS9.0
PAX-5/bcl24	30	1:100	—>—	TRS9.0
BOB.1/TG14	30 с	1:100	—>—	TRS9.0
OCT-2/oct-207	30	1:100	—>—	TRS6.0
Mum1/mum1p	30	1:100	—>—	TRS9.0
Ki67/MB1	30	1:75	—>—	TRS9.0
MAL/ab15418	30	1:100	—>—	TRS9.0
p65/ab16502	30	1:200	—>—	TRS9.0

го инфильтрата (рис. 1). Однако при ИГХ-исследовании была выявлена интенсивная диффузная экспрессия крупными клетками CD20, интенсивная ядерная экспрессия PAX-5 и OCT-2 (рис. 2). Кроме того, при повторной биопсии, выполненной на фоне прогрессирования опухоли у данного больного клеточный состав был более мономорфным, фоновый инфильтрат – скудным, фиброз – минимальным, отмечалась интенсивная экспрессия пан-В-клеточных маркеров (CD20, PAX-5, OCT2, BOB.1).

В 1 биоптате лимфома была представлена крупными, умеренно полиморфными центробластоподобными клетками, фиброз стромы слабо выражен, альвеолярного характера, т.е. морфологическая картина (рис. 3) напоминала ПМВЛ, однако при иммунофенотипировании выявлены потеря экспрессии CD20 и PAX-5, низкая интенсивность экспрессии общего лейкоцитарного антигена (LCA). Реакция с CD30 и OCT-2 была положительной, с CD15 – отрицательной.

Чаще встречались случаи, когда участки, напоминающие по клеточному составу и гистоархитектонике ПМВЛ и ЛХ, были перемешаны. Иммунофенотип в таких случаях также был транзитным: в 3 случаях все клетки (в том числе ХПК) экспрессировали В-линейные антигены и транскрипционные факторы В-клеток; в 1 – часть клеток с соответствующей морфологией сохраняла соответствующий фенотип, но определялись клетки с переходной морфологией и фенотипом. В 3 случаях опухоли были комбинированного строения: отдельные участки различного строения и иммунофенотипа. У 2 пациентов зафиксировано метатронное возникновение МЛСЗ: заболевание дебютировало как классическая ЛХ (вариант нодулярного склероза) с поражением внутригрудных лимфатических узлов. Лимфома имела первично резистентное течение, и при повторной биопсии на фоне прогрессирования выявлено изменение морфологии и иммунофенотипа: в 1 случае выявлялось смешение участков, характерных для ЛХ и ПМВЛ, в другом морфология и иммунофенотип были характерны для ПМВЛ (табл. 2).

При FISH-исследовании перестройка в гене СПТА из 11 случаев МЛСЗ была выявлена в 3, при этом во всех случаях преобладали морфологические изменения, более характерные для ПМВЛ. Кроме того, выявлена перестройка в 4 из 10 случаев ПМВЛ и в 1 из 3 случаев ЛХ.

Клетки МЛСЗ демонстрируют иммунофенотип, промежуточный между нодулярным склерозом ЛХ и ПМВЛ [1, 4]. Обычно МЛСЗ экспрессируют ИГХ-маркер CD45, что подтвердили и наши данные, хотя доля положительных клеток и интенсивность окрашивания могут варьировать.

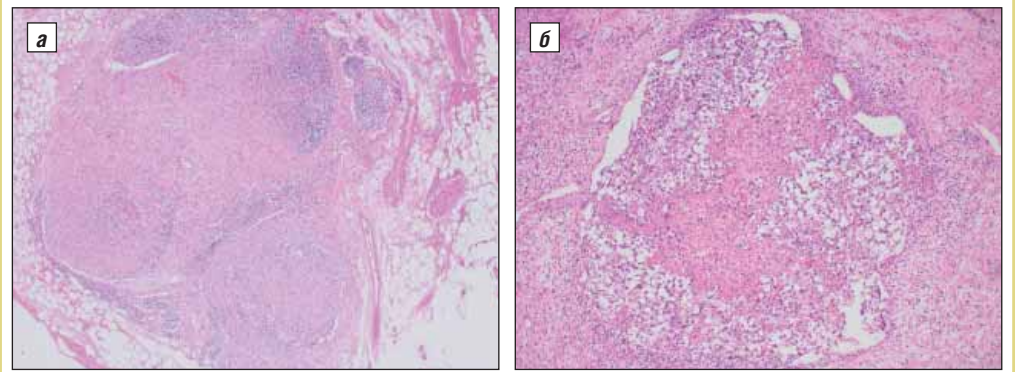


Рис. 1. МЛСЗ. Ходжкиноподобный вариант. Окраска гематоксилином и эозином: а –  $\times 40$ , б –  $\times 100$

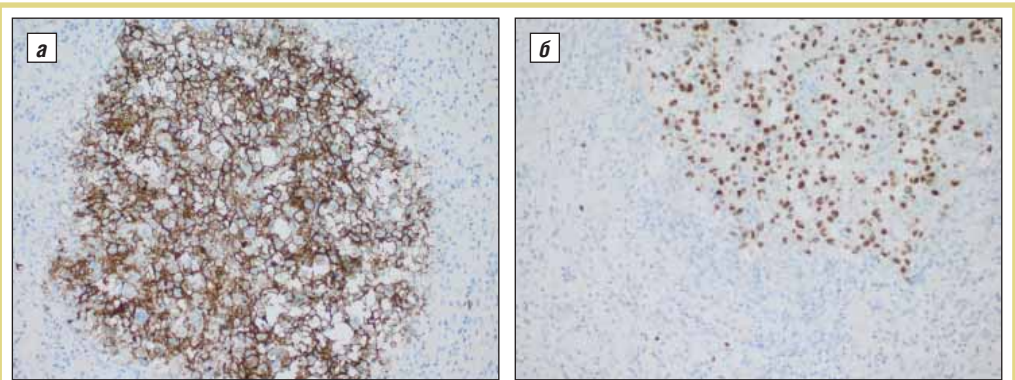


Рис. 2. МЛСЗ. Ходжкиноподобный вариант: а – CD20  $\times 200$ ; б – PAX-5;  $\times 200$

В противоположность ЛХ В-клеточная программа часто сохранена, но aberrantly экспрессируется в сочетании с маркерами, характерными для ЛХ (такими как CD30 и CD15). Маркеры CD20 и CD79a часто положительные и могут стойко выявляться в клетках ЛХ. В исследованной группе CD30 был положительным в большинстве случаев, а CD15 выявлен только в 1/5 случаев. Обычно экспрессируются транскрипционные факторы PAX5, OCT-2 и BOB.1, тогда как CD10 и ALK отрицательные во всех изученных случаях. Фоновые лимфоциты преимущественно представлены CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-клетками, как

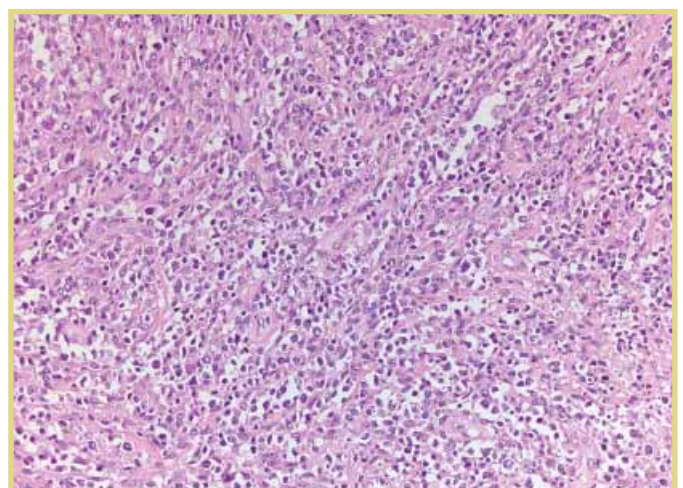


Рис. 3. МЛСЗ. ПМВЛ-подобный вариант;  $\times 200$

при классическом варианте ЛХ. MAL как маркер, ассоциированный с ПМВЛ, экспрессируется в 36% случаев. Ядерной экспрессии белка REL/p65, часто выявляемой при ПМВЛ, в тестируемых случаях МЛСЗ не обнаружено. Специфические генетических изменений, ассоциированных с трансформацией лимфомы или ее компонентов в классическую ЛХ или ПМВЛ, не обнаружено.

Так как морфологические и фенотипические изменения обратимы, более вероятны эпигенетические, чем генетические повреждения, ответственные за изменение морфологии и иммунофенотипа. Близкая взаимосвязь между нодулярным склерозом ЛХ и ПМВЛ продемонстрирована при изучении профилей экспрессии генов. При изучении эпигенетического профиля ПМВЛ, МЛСЗ и классической ЛХ (вариант с нодулярным склерозом) выявлено, что профиль МЛСЗ имеет отличительные черты при общем сходстве профилей всех этих заболеваний [5, 7, 9].

Метилирование ДНК – лучший адаптированный эпигенетический маркер. Изучение метилирования ДНК помога-

ет лучше определить факторы, влияющие на поведение злокачественной опухоли, и может быть полезно не только для клинической диагностики, но и для подбора противоопухолевой терапии. Большие надежды на прорыв в терапии МЛСЗ связаны с деацетилазой гистоновых белков и ингибиторами ДНК-метилтрансферазы, а также других лимфом, плохо отвечающих на химиотерапию.

Общие генетические изменения, характерные для группы В-клеточных лимфом средостения из крупных клеток (ПМВЛ, МЛСЗ и ЛХ), отражают повреждения в 3 основных биологических процессах: в JAK-STAT-сигнальном пути (повышение активности генов *JAK2*, *STAT6* и снижение активности генов *SCOS1*, *PTPNI*), иммунорегуляторных генах (повышение активности *PD-L1*, *PD-L2* и снижение – *CIITA*, *HLADR*, *B2M*) и NFkB-сигнальном пути (повышение активности *REL* и снижение – *TNPAIP3*).

Наиболее часто встречающиеся при МЛСЗ генетические нарушения отражены в табл. 3.

Гипометилирование в зоне гена *HOAX5*, обнаруживаемое при МЛСЗ, может свидетельствовать об уникальной роли данного гена в онкогенезе данной лимфомы. Ген *HOAX5* описан как промотор лейкемической трансформации в сочетании с хромосомной транслокацией. Описано также участие генов белков семейства NF-kB в патогенезе МЛСЗ [7, 8].

Полученные нами результаты и данные литературы позволяют сделать ряд заключений.

На основании гистологического строения МЛСЗ можно выделить несколько вариантов:

- Ходжкиноподобный – кольцевидный фиброз, выраженный клеточный полиморфизм, крупные клетки, напоминающие клетки Ходжкина и Рид–Штернберга, смешанноклеточный фоновый инфильтрат; интенсивная экспрессия CD20 и других В-линейных антигенов;
- ПМВЛ-подобный – относительно монотонный клеточный состав, диффузный альвеолярный фиброз стромы, скудный фоновый инфильтрат; интенсивная диффузная экспрессия CD30 и (или) отсутствие экспрессии LCA и (или) CD20;
- смешанный – смесь клеток, напоминающих ПМВЛ и ЛХ, неравномерно выраженный фиброз, отсутствие зональности; транзиторный иммунофенотип;
- композитный – четкая зональность: участки Ходжкиноподобного строения с сохранением (или без) фенотипа и ПМВЛ-подобного строения;
- метакронный – переключение морфоиммунофенотипа при прогрессировании или рецидиве.

Вследствие высокой частоты композитного строения МЛСЗ необходимо выполнять расширенные биопсии из разных участков образования. Во всех случаях В-клеточных лимфом средостения следует использовать ИГХ-исследование экспрессии маркеров LCA, CD3, CD20, CD15, CD30, PAX-5. При несоответствии морфологической картины и иммунофенотипа возможна вероятность МЛСЗ, в связи с чем необходимо расширение панели антител, в том числе за счет транскрипционных факторов В-клеток (BOB.1, OCT-2, CD20, CD10, bcl6, tum1).

FISH-исследование имеет ограниченное диагностическое значение МЛСЗ. Использование зонда CIITA позволяет выявить перестройку в зоне соответствующего гена, отвечающего за снижение иммунного надзора в отношении опухолевых клеток.

Таблица 2  
Сравнительная характеристика экспрессии ИГХ-маркеров крупноклеточными В-клеточными лимфомами средостения; %

Антитело (доля позитивных случаев)	ДВКЛ	ПМВЛ	МЛСЗ	Классическая ЛХ
LCA	100	100	100	6
CD20	100	98	82	12
CD3	0	0	0	0
CD10	37,5	3,5	0	0
CD15	0	1,8	18	60
CD23	8	68	18	0
CD30	8	81	91	100
EMA	0	0	0	0
PCK	0	0	0	0
ALK	0	0	0	0
PAX-5	100	100	36	100
BOB.1	100	100	55	6
OCT-2	100	98	45	12
Mum1	54	79	55	100
Ki67/MIB1 (индекс, %)	61	76	57,5	80
MAL	0	68	36	6
p65 (ядерная экспрессия)	0	45	0	0

Таблица 3  
Часто выявляемые при МЛСЗ генетические перестройки

Ген	Протеин	Тип перестройки
<i>XPO1</i>	E571K	Миссенс-мутация
<i>IGH</i>	IGH-CIITA fusion	Слияние
<i>TNFAIP3</i>	Q110	Нонсенс-мутация
<i>B2M</i>	S14fs	Сдвиг рамки считывания
<i>CIITA</i>	CIITA-IGH fusion	Слияние

Основой диагностики МЛСЗ остается морфологическая картина. Дальнейшее изучение биологии лимфомы необходимо для улучшения ее диагностики и поиска более эффективных методов лечения. Отсутствие единого мнения об оптимальном подходе к терапии этой группы заболеваний отчасти обусловлено сложностями прецизионной диагностики, что, в свою очередь, определяется биологией этих опухолей.

---

## Литература

1. Артемьева А.С., Семиглазова Т.Ю., Франк Г.А. В-клеточные лимфомы средостения из крупных клеток // *Вопр. онкол.* – 2015; 61 (2): 280–8.
2. Мазурок Л.А., Коломейцев О.А., Тумян Г.С. и др. Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома // *Онкогематология.* – 2007; 2: 16–23.
3. Тумян Г.С., Ковригина А.М., Кичигина М.Ю. и др. Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома: диагностика, клиническая картина и лечение // *Онкогематология.* – 2008; 10 (3).
4. Artemyeva A., Frank G. Primary mediastinal large B-cell lymphoma: immunohistochemical features and differential diagnostics // *Virchov Archiv.* – 2013; 463: 136.
5. Hutchinson Ch., Wang E. Primary Mediastinal (Thymic) large B-Cell lymphoma: a short review with brief discussion of mediastinal gray zone lymphoma // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2011; 135 (3): 394–8.
6. Dunleavy K., Wilson W. Primary mediastinal B-cell lymphoma and mediastinal gray zone lymphoma: do they require a unique therapeutic approach? // *Blood.* – 2015; 125 (1): 33–9.
7. Eberle F., Rodriguez-Canales J., Lai Wei et al. Methylation profiling of mediastinal gray zone lymphoma reveals a distinctive signature with elements shared by classical Hodgkin's lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma // *Haematologica.* – 2011; 96 (4): 558–66.
8. Eberle F., Salaverria I., Steidl C. et al. Gray zone lymphoma: chromosomal aberrations with immunophenotypic and clinical correlations // *Mod. Pathol.* – 2011; doi: 10.1038/modpathol.2011.116.
9. Grant C., Dunleavy K., Eberle F. et al. Primary mediastinal large B-cell lymphoma, classic Hodgkin lymphoma presenting in the mediastinum, and mediastinal gray zone lymphoma: what is the oncologist to do? // *Curr Hematol. Malig. Rep.* – 2011; 6 (3): 157–63.

---

### CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MEDIASTINAL GRAY ZONE LYMPHOMA

**A. Artemyeva; M. Motalkina; D. Zvyagintseva; T. Semiglazova, MD; Professor G. Frank, MD**

*N.N. Petrov Oncology Research Institute, Saint Petersburg  
Russian Academy of Postgraduate Education, Moscow*

*Mediastinal gray zone lymphoma is a rare intermediate variant between classical Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. When a discrepancy is found between their morphological pattern and immunophenotype, the risk of mediastinal gray zone lymphoma should be thought.*

**Key words:** Mediastinal gray zone lymphoma, immunohistochemical examination, CIITA probe.