

## CD30 İLETİŞİM YOLU AKTİVASYONUNUN CD30+ ANAPLASTİK BÜYÜK HÜCRELİ DERİ LENFOMASI HÜCRE SERİLERİNE ETKİLERİ

Edi LEVİ<sup>1</sup>, Walther M PFEIFER<sup>2</sup>, Marshall E. KADIN<sup>2</sup>.

### ÖZET

**Amaç:** CD30 aktivasyonu çeşitli CD30+ lenfoma hücre kültürleri üzerinde farklı etkilere sahiptir; nodal T hücreli CD30+ anaplastik büyük hücreli lenfoma hücrelerinde proliferasyon hızında azalmaya ve sitolize, Hodgkin lenfoması hücre kültürlerinde ise proliferasyona yol açar. Mac-1 ve Mac-2A aynı hastanın erken ve geç evre CD30+ cilt lenfomasından elde edilmiş hücre kültürü serileridir. Bu iki hücre serisi klonal olarak ilişkilidir. Mac-1 hücre serisinin büyümesi transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) tarafından inhibe edilebilmektedir. Mac-2A ise TGF- $\beta$  tarafından inhibe edilememektedir. Bu hücre serilerinin CD30 aktivasyonuna nasıl yanıt verdikleri bilinmemektedir.

**Yöntem:** CD30 aktivasyonunun Mac hücre serilerinin büyüme özelliklerine etkilerini araştırmak amacıyla hücreler CD30 aktive edici antikor HeFi-1 ile inkübe edilmiş, <sup>3</sup>H-thymidine inkorporasyonu, Tümör nekrozis faktör reseptör asosiyatif faktör (TRAF1) ekspresyonu ve nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) aktivitesi değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Mac-1 ve Mac-2A HeFi-1 ile inkübasyon sonucu artmış bir proliferatif yanıt göstermişlerdir. Kontrol olarak kullanılan nodal anaplastik büyük hücreli lenfoma hücreleri ise büyüme inhibisyonu göstermişlerdir. Mac-1 hücreleri HeFi- ve TGF- $\beta$  nötralize edici antikorla inkübe edildiklerinde, proliferatif yanıt tek başına HeFi-1 inkübasyonuna oranla ciddi şekilde artmıştır. TGF- $\beta$ 'ya rezistan hücre kültürü Mac-2A ise aynı yanıtı göstermemiştir. Mac-1 and Mac-2A HeFi-1 aracılığıyla CD30 aktivasyonuna NF- $\kappa$ B nükleer bağlanma aktivitesi artımı ve artmış TRAF1 ekspresyonu ile yanıt vermiştir.

**Sonuç:** Bu çalışma CD30+ anaplastik büyük hücreli deri lenfomalarında CD30 iletişim yolunun işlevselliğinin gösterildiği ilk çalışmadır. Mac-1 hücrelerinden otokrin salınan TGF- $\beta$  CD30 aktivasyonundan doğan proliferatif yanıtı kısmen inhibe etmektedir. Bu sonuçlar TGF- $\beta$  nın CD30 iletişim sistemi ile interaksyonu olduğunu ve bunun CD30+ deri lenfomaları patojenezinde bir rol oynayabileceğini de düşündürmektedir.

**Anahtar sözcükler:** CD30, lenfoma, NF- $\kappa$ B, TRAF1

### Effects Of Activation Of CD30 Signaling Pathway On CD30+ Cutaneous Anaplastic Large Cell Lymphoma Cell Lines

#### ABSTRACT

**Aims:** CD30 activation has pleiotropic effects on different cell lines representing CD30+ lymphomas. In nodal T-cell anaplastic large cell lymphomas (ALCL), CD30 activation causes cytolysis and decreased proliferation while in Hodgkin's disease there is either no change or proliferation depending on the cell lines. Mac-1 and Mac-2A are two clonally related cutaneous CD30+ anaplastic large cell lymphoma cell lines developed from early (Mac-1) and advanced (Mac-2A) disease from the same patient. Mac-1 is sensitive to transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) mediated growth inhibition while Mac-2A is resistant. Both cell lines secrete an activated form of TGF- $\beta$ . Our aim was to investigate the effects of CD30 activation on Mac cell lines.

**Methods:** To understand the effects of CD30 activation, Mac cell lines were incubated with a CD30 agonistic antibody (HeFi-1). <sup>3</sup>H-thymidine incorporation, tumor necrosis factor receptor associated factor 1 (TRAF1) expression and nuclear factor- $\kappa$ B activity was determined.

**Results:** Mac-1 and Mac-2A showed increased proliferation with HeFi-1 while the nodal ALCL cell lines were inhibited. When Mac-1 cells were incubated with HeFi-1 and TGF- $\beta$  neutralizing antibody, the proliferative rate markedly increased compared to HeFi-1 only. TGF- $\beta$  resistant cell line Mac-2A did not show the same increase. Mac-1 and Mac-2A had activation of NF- $\kappa$ B binding activity and increased expression of TRAF1 in response to CD30 activation by HeFi-1.

**Significance:** This is the first demonstration of functionality of the CD30 signaling pathway in cutaneous CD30+ ALCLs. Autocrine TGF- $\beta$  secreted from Mac-1 cells partially inhibits the proliferative signal from CD30 activation. These results suggest that TGF- $\beta$  may interact with the CD30 signaling pathway in the pathogenesis of cutaneous ALCL.

**Key words:** CD30, anaplastic large cell lymphoma, NF- $\kappa$ B, TRAF1

<sup>1</sup> Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, AYDIN

<sup>2</sup> Department of Pathology, Beth Israel-Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston MA, ABD

CD30+ anaplastik büyük hücreli deri lenfomaları yeni önerilen Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasında ayrı bir biyolojik kategori olarak tanımlanmıştır. İyi prognozu olan tümörler olmalarına rağmen bazı vakalarda agresif bir klinik seyir izlenebilmektedir.<sup>1,2</sup> CD30+ deri lenfomaları ayrıca yüksek oranda kendiliğinden regresyona uğrama özelliğine sahiptirler.<sup>1,3-5</sup> Spontan regresyonun mekanizması halen bilinmemektedir. T hücreli deri lenfomalarında CD30 ekspresyonu çok önemli bir prognostik faktördür.<sup>4</sup> Mycosis fungoides dışındaki CD30-negatif T hücreli lenfomalar çok daha agresif bir klinik seyir ve kötü prognoz gösterirler. CD30 aktivasyonu CD30+ deri lenfomalarının regresyonunda bir rol oynuyor olabilir. CD30+ deri lenfomalarının patogenezinde CD30 iletişim sisteminin rolünün araştırılması yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasına yol açabilir.

CD30, tümör nekrozis faktör (TNF) reseptör ailesinin bir üyesidir. Normal olarak sadece lenf nodu germinal merkezlerinin etrafında gözlenen bazı immunoblastlar tarafından eksprese edilir.<sup>6</sup> CD30+ hücreler B, T veya null-cell fenotipine sahiptirler ve aktive olduklarında CD30 ekspresyonu gösterirler. Bunun yanında klasik Hodgkin hastalığında Reed-Sternberg hücrelerinin yaklaşık %90'ında ve anaplastik büyük hücreli lenfomalarda (ALCL) CD30 ekspresyonu gözlenir.<sup>6</sup>

CD30 ligand (CD30L) TNF ailesinin bir üyesidir ve nötrofil, histiosit, eozinofiller ve aktive T hücrelerince eksprese edilir. Normal olarak CD30 aktivasyonu sadece bu ligandın CD30 ile hücre yüzeyinde temas etmesiyle sağlanır.<sup>7</sup> CD30 aktivasyonu hücre membranından "tumor necrosis factor receptor associated factor" (TRAF) adı verilen moleküller aracılığıyla hücre çekirdeğine aktarılır. Burada ise nükleer faktör-kappa B (NF-kB) aktivasyonuna yol açar.<sup>6,7</sup> CD30 aktivasyonunun normal immun sistem üzerindeki etkisi iyi bilinmemektedir. CD30 knock-out farelerde normal bir immun sistem vardır. Bu farelerde sadece timusta hiperplazi ve timosit negatif seleksiyonu ile ilgili bir defekt vardır.<sup>8</sup> CD30L tarafından CD30 aktivasyonu farklı etkiler gösterir.<sup>9</sup> Periferik T hücreleri proliferasyon gösterirken bazı T-T hücresi hibridomaları CD30 aktivasyonuna apoptozla yanıt verirler.<sup>10</sup> Nodal anaplastik büyük hücreli lenfomalar CD30 aktivasyonuna sitostaz ve sitolizle yanıt verirken Hodgkin lenfoması hücre serileri proliferasyon gösterir.<sup>9</sup> CD30+ deri lenfomalarının CD30 aktivasyonuna yanıtı konusunda herhangi bir bilgi yoktur.

Bu çalışmada CD30 aktivasyonunun birbiriyle ilintili iki anaplastik büyük hücreli deri lenfoma hücre serisi üzerindeki fonksiyonel etkilerini araştırdık ve bunu sistemik anaplastik lenfomalarla karşılaştırdık.

## ARAÇ VE YÖNTEMLER

**Hücre serileri:** KMH2 bir Hodgkin lenfoması hücre serisidir. Karpas 299, DHL ve JB6 nodal ALK+ anaplastik büyük hücreli lenfoma serileridir. Mac-1 ve Mac-2A anaplastik büyük hücreli deri lenfoma serileridir. Mac-1 and Mac-2A aynı tümör klonundan gelmektedirler. Mac-1 bir hastanın erken deri lezyonundan köken alırken Mac-2A aynı hastanın daha ilerlemiş bir deri tümöründen kaynaklanmıştır.<sup>11</sup>

**Antikorlar:** HeFi-1 (NCI) insan CD30 molekülüne karşı geliştirilmiş bir fare monoklonal antikorudur. Bu antikorun CD30 iletişim sistemi üzerinde agonistik bir etkisi vardır. İzotip spesifik kontrol olarak fare IgG<sub>1</sub> (Caltag) kullanılmıştır. TGF- $\beta$  nötralize edici antikor bir fare monoklonal antikorudur (R&D systems). 1 mg/ml antikor 2.5 ng/ml rhTGF- $\beta$  1'i nötralize edebilir.

**<sup>3</sup>H-Thymidine inkorporasyon assay:** Hücreler U-tabanlı 96'lık kuyucuklarda %10' luk fetal kalf serumunda üçerli seriler halinde inkübe edilmişlerdir. Çözünmüş haldeki antikorlarla 72 saat inkübasyonu takiben kuyular içindeki hücreler 1 mCi <sup>3</sup>H-thymidine ile 12 saat daha inkübe edilmişlerdir. Hücreler bir otomatik sistemle (cell harvester) filtre kağıtları üzerinde toplanmış (PhD systems, Cambridge MA) ve radyoaktivite bir sintilasyon sayacı ile kaydedilmiştir (Wallac 1409).

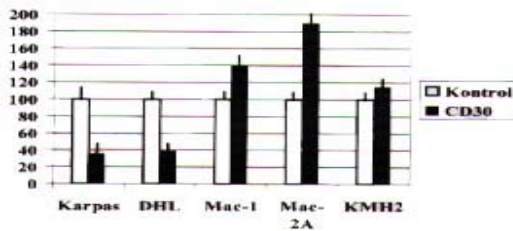
**Elektroforetik mobilite kayması deneyleri:** Hücrelerin nükleer ekstraları HeFi-1 antikoruyla 1 saat inkübasyondan önce ve sonra elde edilmişlerdir. Ekstreler <sup>32</sup>P uç-ışaretli NF-kB bağlama bölgesi oligoları (5'-AGCTTGGGGTATTTCCAGCCG-3'), mutant oligolar (5'-AGCTTGGCATAGGTCCAGCCG-3') ve aşırı miktarda işaretlenmemiş oligolarla inkübe edilmiş ve sonrasında bir denature etmeyen % 6 poliakrilamid jel elektroforezine tabi tutulmuşlardır. Jel kurutularak filmi çekilmiştir (Gelshift kit, Geneka, Montreal) Nuclear extreler şöyle hazırlanmıştır: 10x10<sup>6</sup> hücre 1xPBS'de yıkanmış ve 400 ml soğuk tampon A'da lizise uğratılmıştır. Örnekler 15 dakika buzda bekletilmiş sonrasında 10 saniye süreyle vortekslenmiştir. Çekirdekler 10 saniye santrifüj edilerek pelet oluşturulmuş ve bu pelet 40 mikrolitre tampon B'de çözündürülmüştür. Bunu takiben 20 dakika buzda bekletilmiş ve 3 dakika boyunca 4 °C'da santrifüj edilerek yeniden pelet haline getirilmiştir. Süpernatant toplanmış ve deneylerde kullanılmak üzere -80 °C'de saklanmıştır. Tampon A: 10 mM HEPES, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 0.5 mM DTT, 0.2 mM PMSF, pH:7.9. Tampon B: 20 mM HEPES, 25% gliserol, 420 mM NaCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM EDTA, 0.5 mM DTT, 0.2 mM PMSF.

**Western blotlar:** Total hücre lizatları 24 saat boyunca HeFi-1 ile 24 saat inkübasyon öncesi ve sonrası elde edilmiştir. Proteinler eşit miktarlarda bir denature edici %12'lik SDS-poliakrilamid jel

elektroforezine tabi tutulmuştur. Jel bir nitroselüloz membrana emdirilerek proteinlerin membrana transferi sağlanmıştır. Membran TRAF1 antikoruna ile inkübe edilmiş (klon H3, Santa Cruz, Santa Cruz CA); ve antikor bağlanması ImmunoStar kemiluminesans deteksiyon sistemi (BioRad, Hercules, CA) ile tavsiye edilen protokole göre araştırılmıştır. Total hücre lizatları RIPA tamponunda proteaz inhibitörleri varlığında inkübasyon ile elde edilmiştir. Elde edilen lizatlarda protein miktarı Bio-Rad sistemi ile ölçülerek jelle eşit miktarda protein yüklenmesine dikkat edilmiştir.

## SONUÇLAR

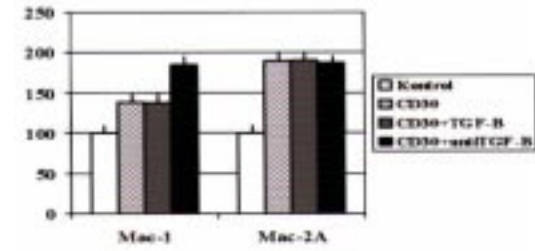
**Proliferasyon assayleri:** CD30 sisteminin aktivasyonu, çalışılan hücre serilerinde pleiotropic yanıtlara yol açmıştır. Nodal anaplastik büyük hücreli lenfoma hücre serileri Karpas 299 ve DHL thymidine uptake'inde azalmayla yanıt vermişlerdir. CD30+ deri lenfoma hücre serileri Mac-1 ve Mac-2A ise belirgin bir proliferasyon artışıyla yanıt vermişlerdir. Hodgkin lenfoması hücre serisi KMH2 minimal bir proliferatif yanıt göstermiştir. (Şekil 1).



**Şekil 1:** <sup>3</sup>H-Thymidine inkorporasyon assayleri ile ölçülen proliferatif yanıtlar. Karpas 299 ve DHL nodal ALK+ anaplastik büyük hücreli lenfoma hücre serileridir. Mac-1 ve Mac-2A CD30+ anaplastik büyük hücreli deri lenfoması hücre serileridir, KMH2 ise bir Hodgkin lenfoması hücre serisidir. Sonuçlar kontrol grubunun yüzdesi olarak verilmiştir (ortalama + standart sapma)

Mac-1 ve Mac-2A ayrıca 10 ng/ml insan rekombinan TGF- $\beta$  (R&D systems) ve anti-TGF- $\beta$  antikoruna (10 ng/ml, R&D systems), ile HeFi-1 varlığında ve yokluğunda inkübe edilmiştir. Bu hücrelerin TGF- $\beta$ 'nın aktif bir formunu sekrete ettikleri bilinmektedir<sup>12</sup>. Mac-1 TGF- $\beta$ 'nın büyümeyi inhibe edici etkilerine duyarlıdır. Ancak Mac-2A TGF- $\beta$  tip II reseptöründeki dominant negatif bir mutasyondan dolayı TGF- $\beta$ 'ya dirençlidir.<sup>13</sup> Mac-1 anti-TGF- $\beta$  antikoruna ve HeFi-1 ile birlikte inkübe edildiğinde, tek başına HeFi-1'le inkübasyona göre daha fazla bir proliferatif yanıt göstermiştir. Mac-2A ile aynı deney tekrarlandığında

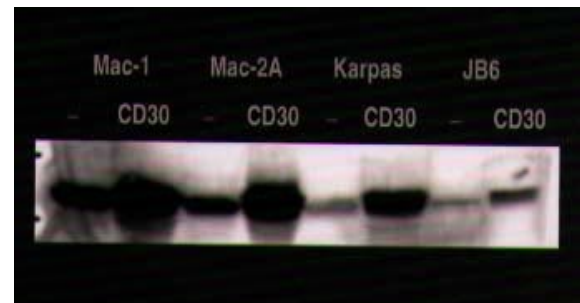
ise böyle bir yanıt gözlenmemiştir. (Şekil 2).



**Şekil 2:** <sup>3</sup>H-Thymidine inkorporasyon sonuçları: Mac-1 ve Mac-2A IgG<sub>1</sub> (kontrol) HeFi-1 (CD30), HeFi-1 +TGF- $\beta$ , HeFi-1 + anti-TGF- $\beta$  ile inkübe edilerek proliferasyon ölçülmüştür.

### Western blot and mobilite kayması deneyleri:

Mac-1 ve Mac-2A'da TRAF1'in eksprese edildiği gözlenmiştir. Ancak, CD30 aktivasyonu sonrasında her iki hücre serisi de TRAF1 ekspresyonunda artış göstermişlerdir (Şekil 3). Karpas ve JB6 nodal ALCL hücre serilerinde TRAF1 ekspresyonu çok daha az olmakla birlikte CD30 aktivasyonu bir miktar ekspresyon artışına neden olmaktadır.



**Şekil 3:** Western blotla Mac-1 ve Mac-2A hücre serilerinde CD30 aktivasyonundan önce ve sonra TRAF1 ekspresyonu. Karpas ve JB6 nodal anaplastik büyük hücreli lenfoma hücreleridir ve karşılaştırma amacıyla deneyde kullanılmışlardır.

Mobilite kayması deneylerinde Mac-1 ve Mac-2A'da az miktarda bazal şartlarda NF- $\kappa$ B aktivitesi, Hodgkin hücre serisi KMH2'de ise yüksek miktarda bazal NF- $\kappa$ B aktivitesi gözlenmiştir. Nodal anaplastik büyük hücreli lenfoma hücre serisi Karpas, bazal koşullarda NF- $\kappa$ B aktivitesi göstermemektedir. HeFi-1 ile inkübasyon aracılığıyla temin edilen CD30 aktivasyonunu takiben bütün hücre serilerinde kuvvetli NF- $\kappa$ B aktivasyonu gözlenmiştir (Şekil 4).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada CD30+ deri lenfoma hücre serilerinde CD30 aktivasyonunun fonksiyonel



**Şekil 4:** NF-kB jel kayması sonuçları. KMH2, Karpas, Mac-1 ve Mac-2A hücre serileri <sup>32</sup>P işaretli oligo (H), (H) + işaretli oligo (C), ve (H) + işaretli mutant oligo (M), ile HeFi-1 ile inkubasyondan önce ve sonra elde edilmiştir. Jurkat hücre serisinin nükleer ekstraktları bilinen negatif (N) ve pozitif (P) kontroller olarak kullanılmışlardır.

olduğu, proliferatif yanıtlardaki artma, TRAF1 ekspresyonunda artma ve NF-kB aktivasyonu ile gösterilmiştir. İncelenen nodal ve deri lenfoma hücre serileri CD30 aktivasyonuna zıt yanıtlar vermişlerdir. Bu bulgular nodal ve deri anaplastik büyük hücreli lenfomalarının biyolojik olarak farklı tümörler oldukları kavramı ile uyum göstermektedir.<sup>14</sup> ALK+ nodal ALCL'lerde gözlenen CD30 aktivasyonuna bağlı büyüme inhibisyonu bu tümörleri HeFi-1 gibi CD30 aktive edici antikolar kullanılarak yapılan immunoterapiler için iyi bir aday haline getirmektedir.<sup>15</sup> Şu anda CD30 lenfomalarda HeFi-1' in kullanıldığı bir faz 1 çalışması Beth Israel Deaconess Hastanesinde devam etmektedir. Bu çalışmada deri CD30+ ALCL'li hastaların böyle bir tedavi için uygun bir aday olup olmayacaklarını tespit etmek istedik. Elde ettiğimiz sonuçlar, bu hastalarda böyle bir tedavinin uygun olmayacağını ve ayrıca böyle bir tedavi öncesi aday hastaların tümör hücrelerinin in vitro testlerle bu tedaviye yanıtlarının değerlendirilmesinin gerekli olabileceğini ortaya koymuştur.

CD30 iletişim sistemi CD40, Fas, CD27 gibi diğer tümör nekroz faktörü aile üyelerine benzer özellikler göstermektedir.<sup>16</sup> CD30 aktivasyonunun TRAF adaptör moleküllerinin aracılığıyla NF-kB aktivasyonuna yol açtığı bilinmektedir.<sup>17,18</sup> Ayrıca Hodgkin lenfoması hücre serilerinde konstitutif NF-kB aktivasyonu ve yüksek düzeyde TRAF1 ekspresyonu gösterilmiştir.<sup>19,20</sup> Çalışmamızda Mac-1 ve Mac-2A hücre serilerini bu yönlerden nodal anaplastik büyük hücreli lenfoma ve Hodgkin lenfoma serileriyle karşılaştırdık. Bilindiği gibi CD30+ anaplastik deri lenfomaları morfolojik ve immunhistokimyasal yönden Hodgkin ve nodal anaplastik büyük hücreli lenfomalarla benzerlikler göstermektedir. Bunun yanında lenfomatoid papulozisli hastalarda sıklıkla Hodgkin lenfoması ve diğer

lenfomalar oluşabilmektedir. Mac hücre serilerinin elde edildiği hastada lenfomatoid papulozis sonrasında Hodgkin lenfoması ve mukozis fungoides ortaya çıkmıştı. Bu hastanın lenfomatoid papulozis lezyonlarının sonradan geliştirdiği diğer lezyonlarla aynı klondan olduğu daha önce gösterilmişti.<sup>11</sup> Bu çalışmada Mac-1 ve Mac-2A hücre serilerinin TRAF1 ekspresyon etiketleri ve CD30 aktivasyonu sonrasında ekspresyon düzeyinde belirgin bir artış olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında CD30 aktivasyonu ile şiddetli bir NF-kB aktivite artışı da ortaya konmuştur.

Bu bulgularla CD30 iletişim yolunun CD30+ deri lenfomalarının patogenezinde önemli bir rol oynadığını düşünmekteyiz. Bu iletişim yolunun aktivasyonu bu Mac hücre serilerinde proliferasyona yol açmakta ve NF-kB aktivasyonuna yol açmaktadır. Hodgkin lenfoma hücre serilerinde bazal NF-kB aktivasyonu olduğu bilinmekte ve bu nedenle CD30 aktivasyonunun önemli oranda bir proliferasyona yol açmayacağı tahmin edilmektedir.<sup>20</sup>

Anaplastik büyük hücreli deri lenfomalarının sıklıkla spontan regresyon gösterdiği bilinmektedir. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte TGF- $\beta$  gibi inhibitör ajanların bu olguda bir rolü olduğu düşünülmektedir.<sup>21</sup> TGF- $\beta$ 'ya karşı direncin tümör oluşumunun daha geç bir evresinde ortaya çıktığını ve bunun tümör progresyonu açısından bir avantaj sağladığını ortaya çıkaran çalışmalar vardır.<sup>13,22</sup>

Çalışmamızda gözlediğimiz bir ilginç bulgu da fonksiyonel TGF- $\beta$  iletişim sisteminin CD30 iletişim sistemini antagonize etmesidir. Buna benzer bir bulgu daha önceki bir çalışmada IL-2 ve TGF- $\beta$  arasında gene aynı hücre serilerinde gözlenmişti.<sup>12</sup> Bu bulgular da TGF- $\beta$  reseptörlerindeki mutasyonların T hücreli deri lenfomalarının patogenezinde bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Kısa bir süre önce yeni bir anaplastik büyük hücreli deri lenfoma hücre serisinde TGF- $\beta$  tip I reseptöründe bir kısmi delesyon tanımlandık.<sup>23</sup>

Özet olarak, bu çalışmada anaplastik büyük hücreli deri lenfomalarının progresyonunda iki önemli faktör olarak CD30 aktivasyonu ve buna gösterilen proliferatif yanıt, ve TGF- $\beta$  ile inhibisyona direnci saptadık. Bu bulgular CD30+ deri lenfomalarının patogenezinin anlaşılmasına yardımcı olabileceği gibi, ileride alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde yararlı olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Willemze R, Kerl H, Sterry W et al. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the EORTC. Blood 1997; 90: 354-71.
2. Jaffe ES, Harris NL, Diebold J, Muller-Hermelink HK. WHO classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. A

- progress report. *Am J Clin Path* 1999; 111 (Suppl 1): S8-S12.
3. Paulli M, Berti E, Rosso R et al. CD30/Ki-1 positive lymphoproliferative disorders of the skin-clinico-pathologic correlation and statistical analysis of 86 cases: A multicentric study from the European Organization for Research and Treatment of Cancer, Cutaneous Lymphoma Project Group. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1343-54.
  4. Willemze R, Beljaards RC. Spectrum of primary cutaneous CD30 (Ki-1) - positive lymphoproliferative disorders. A proposal for classification and guidelines for management and treatment. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 973-80.
  5. Cabanillas F, Armitage J, Pugh WC et al. Lymphoma to transform into malignant lymphoma. *Ann Intern Med* 1995; 122: 210-7.
  6. Falini B, Pileri S, Pizzolo G et al. CD30 (Ki-1) molecule: a new cytokine receptor of the tumor necrosis factor receptor superfamily as a tool for diagnosis and immunotherapy. *Blood* 1995; 85: 1-14.
  7. Smith CA, Gruss HJ, Davis T, et al. CD30 antigen, a marker for Hodgkin's lymphoma, is a receptor whose ligand defines an emerging family of cytokines with homology to TNF. *Cell* 1993; 73: 1349-60.
  8. Amakawa R, Hakem A, Kundig TM, et al. Impaired negative selection of T cells in Hodgkin's disease antigen CD30-deficient mice *Cell* 1996; 84: 551-62.
  9. Gruss HJ, Boiani N, Williams DE et al. Pleiotropic effects of the CD30 ligand on CD30 expressing cells and lymphoma cell lines. *Blood* 1994; 83:2045-56.
  10. Lee SY, Park CG, Choi Y. T cell receptor-dependent cell death of T cell hybridomas mediated by the CD30 cytoplasmic domain in association with tumor necrosis factor receptor-associated factors. *J Exp Med* 1996; 183: 669-74.
  11. Davis TH, Morton CC, Miller-Cassman R et al. Hodgkin's disease, lymphomatoid papulosis and cutaneous T cell lymphoma derived from a common T cell clone. *N Eng J Med* 1992; 326: 1115-22.
  12. Newcom SR, Tagra KK, Kadin ME. Neutralizing antibodies against transforming growth factor beta potentiate the proliferation of Ki-1 positive lymphoma cells. Further evidence for negative autocrine regulation by transforming growth factor beta. *Am J Pathol* 1992; 140: 709-18.
  13. Knaus PI, Lindemann D, DeCoteau JF et al. A dominant inhibitory mutant of the type II transforming growth factor beta receptor in the malignant progression of a cutaneous T cell lymphoma. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 3480-9.
  14. DeCoteau JF, Butmarc JR, Kinney MC et al. The t(2;5) chromosomal translocation is not a common feature of primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders: Comparison with anaplastic large cell lymphoma of nodal origin. *Blood* 1996; 87: 3437-41.
  15. Tian SG, Longo DL, Funakoshi S et al. In vivo anti-tumor effects of unconjugated CD30 monoclonal antibodies on human anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Res* 1995; 55: 5335-41.
  16. Gruss HJ, Dower SK. Tumor necrosis factor ligand superfamily: involvement in the pathology of malignant lymphomas. *Blood* 1995; 85: 3378-404.
  17. Duckett CS, Gedrich RW, Gilfian MC et al. Induction of nuclear factor kB by the CD30 receptor is mediated by TRAF1 and TRAF2. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 1535-42.
  18. Ansieau S, Scheffrahn I, Mosialos G et al. Tumor necrosis factor receptor-associated factors TRAF1, TRAF2 and TRAF3 interact in vivo with HD, Dermel G et al. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 1 is overexpressed in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease and Epstein-Barr virus transformed lymphoid cells. *Blood* 1999; 93: 617-23.
  20. Bargou RC, Emmerich F, Krappman D et al. Constitutive nuclear factor kB-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells. *J Clin Invest* 1997; 100: 2961-9.
  21. Filmus J, Kerbel RS. Development of resistance mechanisms to growth inhibitory effects of transforming growth factor-beta during tumor progression. *Curr Opin Oncol* 1993; 5: 123-9.
  22. Kadin ME, Cavaille-Coll MW, Gertz et al. Loss of receptors for transforming growth factor beta in human T cell malignancies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6002-6.
  23. Schiemann W, Pfeifer WM, Levi E et al. A deletion in the gene for transforming growth factor B type I receptor abolishes growth regulation by TGF-b in a cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1999; 94: 2854-61.

#### YAZIŞMA ADRESİ

*Edi Levi*  
*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi*  
*Patoloji Anabilim Dalı AYDIN*

*Geliş Tarihi* : 25.04.2000  
*Kabul Tarihi* : 09.06.2000