

Journal Pre-proof

Different Mutational Profiles of Subcutaneous Panniculitis-like T-cell Lymphoma and Lupus Panniculitis: An Additional Case Series

S. Machan M. Rodríguez R. Manso J. Borregón C. Chamizo R. Alonso-Alonso J.L. Rodríguez-Peralto M.Á. Torres Nieto C. Monteagudo E. García Toro L. Cerroni C. García T. Estrach A. García Herrera B. Ferrer V. García-Patos N. Segues F. J. Díaz de la Pinta J.L. Afonso-Martin Y. Peñate M.Á. Limeres-Gonzalez M. Á González-Núñez C. González-Cruz E. García Fernández L. Cereceda P. Minguez L. de la Fuente L. Requena S.M. Rodríguez-Pinilla



PII: S0001-7310(24)00896-2
DOI: <https://doi.org/doi:10.1016/j.ad.2024.11.006>
Reference: AD 4174

To appear in: *Actas dermosifiliograficas*

Received Date: 4 December 2023
Accepted Date: 29 June 2024

Please cite this article as: Machan S, Rodríguez M, Manso R, Borregón J, Chamizo R, Alonso-Alonso R, Rodríguez-Peralto JL, Torres Nieto MÁ, Monteagudo C, García Toro E, Cerroni L, García C, Estrach T, García Herrera A, Ferrer B, García-Patos V, Segues N, de la Pinta FJD, Afonso-Martin JL, Peñate Y, Limeres-Gonzalez MÁ, González-Núñez MÁ, González-Cruz C, Fernández EG, Cereceda L, Minguez P, de la Fuente L, Requena L, Rodríguez-Pinilla SM, Different Mutational Profiles of Subcutaneous Panniculitis-like T-cell Lymphoma and Lupus Panniculitis: An Additional Case Series, *Actas dermosifiliograficas* (2024), doi: <https://doi.org/10.1016/j.ad.2024.11.006>

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2024 AEDV. Publicado por Elsevier España, S.L.U.

Refers to AD_4024

Original Article

Different Mutational Profiles of Subcutaneous Panniculitis-like T-cell Lymphoma and Lupus Panniculitis: An Additional Case Series

[[Artículo traducido]]Diferencias en el perfil mutacional del linfoma T paniculítico y la paniculitis lúpica. Nueva serie de casos

S. Machan,¹ M. Rodríguez,² R. Manso,^{2*} J. Borregón,² C. Chamizo,² R. Alonso-Alonso,² J. L. Rodríguez-Peralto,³ M. Á. Torres Nieto,⁴ C. Monteagudo,⁵ E. García Toro,⁶ L. Cerroni,⁷ C. García,⁸ T. Estrach,⁹ A. García Herrera,⁹ B. Ferrer,¹⁰ V. García-Patos,¹⁰ N. Segues,¹¹ F. J. Díaz de la Pinta,² J. L. Afonso-Martin,¹² Y. Peñate,¹² M. Á. Limeres-Gonzalez,¹³ M. Á. González-Núñez,¹⁴ C. González-Cruz,¹⁰ E. García Fernández,¹⁵ L. Cereceda,² P. Minguez,^{16,17,18} L. de la Fuente,^{16,17} L. Requena¹ and S. M. Rodríguez-Pinilla,².

1Department of Dermatology, Fundación Jiménez Díaz-IIS, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain; 2Department of Pathology, Fundación Jiménez Díaz-IIS, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain; CIBERONC (Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer); 3Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain; 4Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, Spain; 5Hospital Clínico Universitario de Valencia, Universidad de Valencia, Valencia, Spain; 6Hospital Universitario de Burgos, Burgos, Spain; 7Dermatopathology Research Unit, Department of Dermatology, Medical University of Graz, Graz, Austria; 8Hospital

Universitario de Canarias, Tenerife, Spain; 9Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain; 10Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; 11Hospital Universitario Donostia, San Sebastián, Spain; 12Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil, Las Palmas de Gran Canaria, Spain; 13Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria; Spain 14Hospital Ciudad de Coria y Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres, Spain; 15Department of Hematology, Fundación Jiménez Díaz-IIS, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain; 16Department of Genetics, Instituto de Investigación Sanitaria–Fundación Jiménez Díaz University Hospital, Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM), Madrid, Spain 17Bioinformatics Unit, Instituto de Investigación Sanitaria–Fundación Jiménez Díaz University Hospital, Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM), Madrid, Spain. 18Center for Biomedical Network Research on Rare Diseases (CIBERER), ISCIII, Madrid, Spain

*Corresponding author:

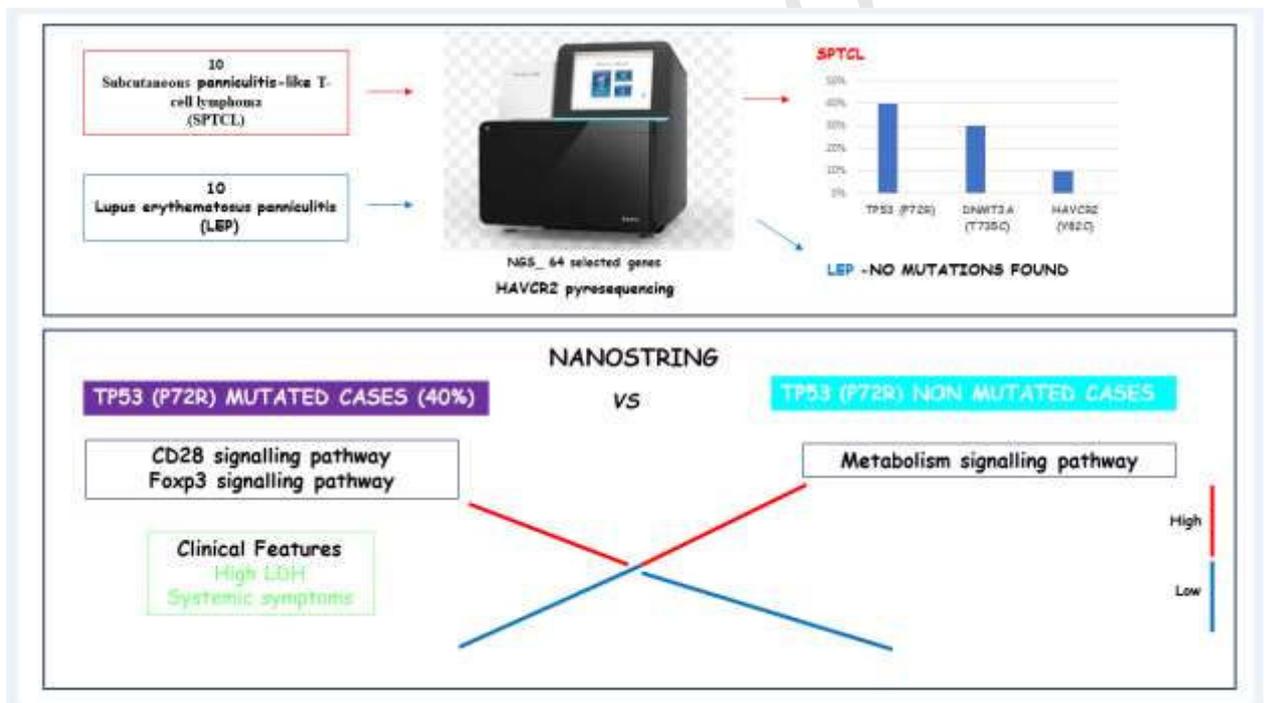
Rebeca Manso

E-mail address: rebeca.manso@quironsalud.es

Journal Pre-proof

Graphical abstract

fx1



ABSTRACT

Background and Objective: subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma (SPTCL) is a rare cytotoxic T-cell lymphoma with indolent behavior, mostly present in women and associated with immunological diseases whose pathogenic background is still poorly understood. SPTCL is associated with lupus erythematosus panniculitis (LEP) and histologically misdiagnosed.

Objectives: the aim of our study was to identify mutations affecting the pathogenesis of both SPTCL and LEP.

Materials and Methods: we studied a total of 10 SPTCL and 10 LEP patients using targeted Next Generation Sequencing and pyrosequencing. Differences in gene expression between molecular subgroups were investigated using NanoString technology. Clinical data were collected, and correlations sought with the molecular data obtained.

Results: the mutational profile of SPTCL and LEP is different. We identified fewer pathogenic mutations than previously reported in SPTCL, noting a single *HAVCR2*-mutated SPTCL case. Interestingly, 40% of our SPTCL cases showed the pathogenic *TP53* (p.Pro72Arg) (P72R) variant. Although cases showing *HAVCR2* mutations or the *TP53* (P72R) variant had more severe symptomatic disease, none developed hemophagocytic syndrome (HPS). Furthermore, *TP53* (P72R)-positive cases were characterized by a lower metabolic signaling pathway and higher levels of CD28 expression and *Treg* signaling genes. In addition, 30% of our cases featured the same mutation (T735C) of the epigenetic modificatory gene *DNMT3A*. None of the LEP cases showed mutations in any of the studied genes.

Conclusions: the mutational landscape of SPTCL is broader than previously anticipated. We describe, for the first time, the involvement of the *TP53* (P72R) pathogenic variant in this subgroup of tumors, consider the possible role of different genetic backgrounds in the development of SPTCL, and conclude that LEP does not follow the same pathogenic pathway as SPTCL.

Keywords: subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma; lupus panniculitis; next-generation sequencing; *TP53*, *DNMT3A*, *HAVCR2*.

Diferencias en el perfil mutacional del linfoma T paniculítico y la paniculitis lúpica. Nueva serie de casos.

RESUMEN

Introducción: El linfoma T paniculítico (LTP) es un linfoma de células T citotóxico poco frecuente, de comportamiento indolente, más frecuente en mujeres, relacionado con enfermedades autoinmunes, y cuyos antecedentes patogénicos aún no se conocen bien. Se asocia y se confunde histológicamente con la paniculitis lúpica (PL).

Objetivos: El objetivo de nuestro estudio fue identificar mutaciones implicadas en la patogénesis del LTP y de la PL.

Materiales y métodos: Se estudiaron 10 pacientes con LTP y 10 con PL mediante secuenciación masiva (con un panel de genes customizados) y pirosecuenciación dirigida. Se investigaron diferencias en la expresión genética mediante NanoString entre diferentes subgrupos moleculares encontrados. Se recopilaron datos clínicos y se correlacionaron con los datos moleculares obtenidos.

Resultados: El perfil mutacional del LTP y la LP es diferente. El porcentaje de mutaciones encontradas en el subgrupo de LTP fue inferior al ya publicado en la literatura. Sólo un paciente con LTP mostraba mutaciones en el gen *HAVCR2*. Curiosamente, el 40% de los LTP mostraron la variante patogénica *TP53* (p.Pro72Arg) (*P72R*). Los pacientes con mutaciones en el gen *HAVCR2* o con la variante *TP53* (*P72R*) sufrían enfermedad sintomática, aunque ninguno desarrolló síndrome hemofagocítico (SPH). El estudio de NanoString identificó que las muestras con alteración de *TP53* (*P72R*) se caracterizaban por una “down-regulation” de la vía de señalización del metabolismo y de una mayor expresión de los genes de las vías de señalización de CD28 y Treg si se comparaban con los casos negativos para *TP53* (*P72R*). Además, el 30% de nuestros casos presentaban la misma mutación (T735C) en el gen modificador epigenético *DNMT3A*. Ninguno de los pacientes con PL mostró mutaciones en ninguno de los genes estudiados.

Conclusiones: Ampliamos el perfil mutacional del LTP, describiendo por primera vez la implicación de la variante patogénica *TP53* (*P72R*) en este subgrupo de tumores. Además, sugerimos el posible papel de un fondo genético en el desarrollo de los LTP. La aparición de PL no parece seguir la misma vía patogénica que los LTPs.

Palabras clave: linfoma de células T tipo paniculitis subcutánea; lupus-paniculitis; secuenciación de próxima generación; *TP53*, *DNMT3A*, *HAVCR2*.

Introducción

El linfoma subcutáneo de células T de tipo paniculitis (SPTCL) es una enfermedad rara de células T citotóxicas TCR-ab que afecta al tejido subcutáneo. En general, aunque el SPTCL es una enfermedad indolente, su asociación con el síndrome hemofagocítico (HPS) empeora su pronóstico.^{1,2} Es más frecuente en mujeres que en hombres y suele tener una edad de aparición más temprana que otros linfomas de células T. En el SPTCL existen antecedentes familiares y además este se asocia con frecuencia a enfermedades inmunológicas, especialmente el lupus eritematoso.^{1,2} El diagnóstico diferencial con el LEP es a veces difícil tanto clínica como histológicamente. Morfológicamente, la presencia de folículos

con centros germinales, células plasmáticas y grupos de células dendríticas plasmocitoides apoya el diagnóstico de LEP.² Sin embargo, se han descrito características superpuestas de paniculitis lúpica eritematosa (LEP) y SPTCL en el mismo paciente.^{3,4} Por otro lado, el perfil de expresión génica de ambas enfermedades parece ser diferente⁵, siendo que los casos que presentan características histológicas superpuestas se aproximarán más al perfil del LEP que al del SPTCL. Estos datos sugieren un origen diferente en ambas enfermedades.

No obstante, el trasfondo patogénico tanto del LEP como del SPTCL sigue siendo poco conocido. En cuanto al SPTCL, la mayoría de las series destacan el papel de las mutaciones del gen HAVCR2 en la línea germinal de su patogenia.^{6,7} También se han descrito otros cambios somáticos en genes con funciones epigenéticas o implicados en las vías de señalización PI3K/AKT/mTOR o JAK/STAT sin mutaciones recurrentes en puntos críticos.^{8,9}

Los estudios de hibridación genómica comparada (CGH) también han mostrado un perfil distinto de pérdidas y ganancias.¹⁰ Así mismo, los estudios de los perfiles de expresión han revelado la existencia de genes y de vías que se expresan de forma distinta en ambas entidades.^{5,11} Hasta donde sabemos, hasta el momento no se han descrito mutaciones asociadas al desarrollo del LEP.

Realizamos un estudio comparativo del perfil mutacional de 10 casos de SPTCL y 10 ejemplos de LEP mediante secuenciación dirigida y pirosecuenciación para determinar si estas dos entidades compartían un trasfondo patogénico común.

Material y métodos

Pacientes y muestras

Se estudiaron 10 muestras de biopsias de SPTCL y 10 de LEP de pacientes diagnosticados en diversos centros de España. Se recogieron

secciones de tejido fijadas en formol e incluidas en parafina (FFPE) procedentes de biopsias diagnósticas realizadas entre el año 2006 hasta el 2017. El proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz-IIS (CEIm-FJD) (“Linfoma T paniculítico y simuladores. Marcadores moleculares de diagnóstico y terapia dirigida” PI17/02172. CI: 03/18) y realizado en total conformidad con la Declaración de Helsinki. Para más detalles, consúltese el Apéndice Datos y métodos suplementarios. Las características histológicas de estos 20 casos fueron revisadas por dos patólogos y dermatopatólogos expertos (SMRP y LR), respectivamente, y ya fueron previamente presentados.⁵ En el presente estudio no se han incluido casos con características que coincidieran entre el SPTCL y el LEP.

Inmunohistoquímica

Las características inmunohistoquímicas de todos estos casos ya han sido publicadas. Además, aparte de los marcadores inmunohistoquímicos convencionales necesarios para alcanzar el diagnóstico,⁵ se estudiaron el P53 y el FOXP3 en todos los casos de SPTCL. Para el primero, la inmunomarcación intensa de, al menos, el 10% de las células neoplásicas para el p53, o la ausencia completa de tinción para el p53 en las células neoplásicas, era indicativa de positividad. La expresión del FOXP3 se cuantificó en el núcleo de las células linfoides y se clasificó en dos grupos: positivos ($\geq 50\%$ de células positivas) y negativos ($< 50\%$ de células positivas).

Secuenciación de nueva generación dirigida

El ADN genómico se extrajo de tejido FFPE utilizando un kit de ADN FFPE truXTRAC (Covaris, Woburn, MA, Estados Unidos) siguiendo las instrucciones de uso del

fabricante. Se diseñó un panel personalizado de 61 genes implicados en las vías relevantes para la linfomagénesis utilizando la herramienta basada en la web SureDesign (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Estados Unidos) (Apéndice Tabla suplementaria 1 y datos y métodos suplementarios).

Diseño de cebadores PCR y amplificación PCR

Los cebadores específicos para la PCR se diseñaron utilizando el Entrez Global Query Cross-Database Search System y la Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) del sitio web del National Center for Biotechnology Information (NCBI) y el software de análisis de secuencias Lasergene (DNASar, Lasergene[®]). Se diseñaron cebadores de amplificación específicos para amplificar HAVCR2 (el gen que codifica TIM3) [GenBank: NG_030444.1, NM_032782.3, NP_116171.3] (Apéndice Figura suplementaria 1 y datos y métodos suplementarios).

Ensayo de expresión génica nCounter
Tras la revisión práctica histológica y el control de calidad, se realizaron con éxito los ensayos de expresión génica de 10 casos. El perfil de expresión génica (GEP) se realizó con la tecnología nCounter (NanoString Technologies, Seattle, WA, Estados Unidos). El ARN total de secciones FFPE se aisló a partir de muestras de diagnóstico utilizando un kit truXTRAC FFPE Total NA (Covaris Inc., Woburn, MA, Estados Unidos) siguiendo las instrucciones de uso del fabricante.⁵

Resultados

Los hallazgos clínicos de estas series de SPTCL se resumen en la Tabla 1. Nueve de los 10 pacientes con SPTCL eran mujeres frente a 1 hombre. Las edades media y mediana al diagnóstico fueron de 41,3 y 37,5 años, respectivamente. Las placas o nódulos solitarios (3/10) o múltiples (7/10) de SPTCL se

localizaron en las extremidades superiores (4/9), extremidades inferiores (4/9), cara (2/9) y/o tronco (3/9) (la localización de 1 paciente no constaba en los registros). Cuatro pacientes recibieron inmunomoduladores, dos recibieron quimioterapia, uno antiinflamatorios no esteroideos y un paciente falleció antes de haber recibido algún tratamiento (caso nº 2). Se observaron niveles elevados de LDH y citopenia en cinco y dos pacientes, respectivamente. Ninguno de nuestros casos presentó HPS. Excluyendo al paciente que murió antes de haber recibido el tratamiento debido a una enfermedad no relacionada, todos los pacientes estaban vivos con la enfermedad activa (cuatro pacientes) o libres de enfermedad (tres pacientes) en el último seguimiento, que osciló entre 1 y 10 años.

Mediante secuenciación de nueva generación (NGS) encontramos que el TP53 estaba alterado en el dominio rico en prolina (PRD) (Figs. 1 y 2 Figs. 1 y 2) en el 50% (5/10) de los

casos, siendo esta la alteración más frecuente en los pacientes estudiados (Tabla 2 Tabla 2). El residuo 72 estaba mutado de forma recurrente (P72R) en estos cinco casos. No se encontró correlación entre la presencia/ausencia de esta variante y el nivel de expresión proteica. Por el contrario, se encontraron diferencias en el perfil de expresión entre los casos con variante de TP53 (P72R) positiva y los casos con variante negativa identificados mediante la técnica NanoString (Apéndice Figuras suplementarias 2 y 3). Los casos positivos para la variante TP53 (P72R) sobreexpresaban las vías de señalización CD28 y Treg y su vía metabólica estaba regulada a la baja frente a los casos negativos para la variante de TP53 (P72R). El nivel de expresión de FOXP3 fue mayor en el subgrupo positivo para la variante TP53 (P72R) (Apéndice, Tabla suplementaria 2). Tres de los 5 casos de TP53 (P72R)-positivos mostraron niveles elevados de LDH y síntomas sistémicos.

Las mutaciones probablemente patogénicas en genes relacionados con la epigenética (TET2, DNMT3A, EZH2, ARID1A, ARID1B, NCOR) sólo se encontraron en el 30% de los pacientes con SPTCL (casos #6, #8 y #10). Estos tres pacientes tenían la misma variante Y735C en DNMT3A. El cambio se encontraba en el dominio de la metiltransferasa del gen (Fig. 2).

La pirosecuenciación reveló que sólo un caso (caso 35) -una mujer de 26 años con síntomas sistémicos sin HPS)- presentaba la mutación *HAVCR2* (Y82C) en homocigosis (Fig. 3 Fig. 3).

Ninguno de los casos de LEP presentaba ninguna de estas mutaciones, incluida la variante *TP53* (P72R).

Discusión

Los datos aquí presentados sugieren la presencia de diferencias etiopatogénicas entre el SPTCL y el LEP. Para poder comprender el fondo del LEP sería necesario la utilización de una tecnología con un mayor rendimiento. En cuanto al SPTCL, nuestros datos difieren de estudios anteriores.

La mutación de la línea germinal del receptor celular 2 del virus de la hepatitis A (HAVCR2, que codifica para la inmunoglobulina de células T y la proteína 3 que contiene el dominio de la mucina [TIM-3]) parece ser el sello distintivo del SPTCL.⁷ En estudios previos se ha informado acerca de un elevado número de pacientes con SPTCL esporádico, oscilando entre el 25% y el 85% de los casos analizados.^{6,7,12,13} El porcentaje más bajo de casos positivos se comunicó en la serie europea de Sonigo et al.¹² Se pudieron analizar trece de los 53 casos, de los cuales sólo tres eran de origen europeo (es decir, el 23% de los

casos positivos y el 6% de toda la serie). Sólo un paciente (10%, 1/10) de nuestra serie, y 0 de los 10 casos estudiados con LEP presentaban SPTCL mutado. Estos datos sugieren un trasfondo diferente para los pacientes asiáticos y europeos con respecto al desarrollo del SPTCL. El impacto de los antecedentes genéticos, y el de los factores microambientales, en la distribución mundial de otros subgrupos del SPTCL se ha descrito anteriormente.¹⁴⁻¹⁶

Se han descrito tres mutaciones principales en el gen HAVCR2 estrechamente relacionadas con el origen étnico de los pacientes: las variantes Y82C y T101I, que se asocian con la ascendencia asiática y polinesia, y la I97M, que se ha encontrado con mayor frecuencia en pacientes de origen norteafricano o caucásico.

También debemos mencionar que la variante I97M sólo se ha descrito muy raramente en poblaciones asiáticas,⁷ mientras que la variante Y82C sólo se ha encontrado

ocasionalmente en poblaciones distintas de la asiática, en la mayoría de los casos en heterocigosis.^{6,12} De hecho, sólo se ha encontrado un caso de la variante Y82C de la mutación del gen HAVCR2 en homocigosis en un paciente sudamericano.⁶ Curiosamente, nosotros encontramos la variante Y82C en homocigosis en una mujer española de 26 años sin antecedentes familiares extranjeros conocidos ni antecedentes familiares previos de linfoma o enfermedad autoinmune. Los pacientes con mutaciones en HAVCR2 tienen una mediana de edad más joven al inicio de la enfermedad, predominio del sexo masculino, una mediana de tiempo más larga hasta el diagnóstico, un curso más grave de la enfermedad, una mayor tasa de autoanticuerpos y más probabilidades de enfermedad sistémica y desarrollo de HPS.^{6,13,17,18} Además, los tumores con mutaciones en HAVCR2 son ricos en vías de señalización inflamatoria, IL6-JAK-STAT3, TNF- α y NFK-B. Por el contrario, los casos no mutados destacan por un perfil autoinmune y de

“homing” linfocitario. Nuestra paciente con HAVCR2-mutado presentaba síntomas sistémicos, pero no HPS. De hecho, ninguno de los pacientes estudiados en esta serie presentaba HPS.

Las diferencias respecto a estudios anteriores pueden estar asociadas a diferencias de etnia, edad de inicio de la enfermedad, antecedentes familiares de linfoma y porcentaje de casos con SPTCL en la presente serie.

Hemos notificado, por primera vez, la presencia de la mutación del gen TP53 (P72R) en los SPTCL. Se ha informado de que esta mutación es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) común, con un sesgo étnico significativo, por lo que está presente en homocigosis en hasta el 40% de los estadounidenses caucásicos frente a sólo ~8% de los afroamericanos. Sin embargo, no estaba presente en ninguno de los 10 LEP analizados. Aunque se supone que este SNP no influye en

el riesgo de cáncer, se ha asociado con un mayor peso, riesgo de diabetes tipo 2 e inflamación.¹⁹ Esta propiedad inflamatoria se ha implicado en el aumento de varios subtipos de agresividad tumoral.²⁰

Se encontraron diferencias fenotípicas entre los casos de SPTCL positivos y negativos para la variante TP53 (P72R). Los casos positivos para la variante TP53 (P72R) presentaban una regulación al alza y a la baja de las vías Treg/CD28 y metabólica, respectivamente. Se ha descrito una estrecha relación entre el CD28, el TNF y el desarrollo de Treg.²¹ Se ha descrito un aumento del TNF y una menor actividad metabólica en ratones transgénicos R72.¹⁹ Además, se ha demostrado que el p53 es un importante modulador de la diferenciación de células T CD4+, incluidas las células Th17 y Treg.²² No se encontraron diferencias en la expresión de la proteína p53 entre los casos positivos y negativos para la variante TP53 (P72R). Además, se ha propuesto

que las células Treg son los «actores clave» en la interacción entre el metabolismo y la inmunidad. Se ha descrito una correlación inversa entre los niveles de leptina (una adipocitoquina producida por el tejido adiposo en respuesta a la cantidad de grasa) y la abundancia de células Treg en enfermedades autoinmunes.²³ Se han descrito niveles elevados de leptina en el lupus eritematoso sistémico (LES),²⁴ y un metaanálisis ha descrito que la actividad del p53 no parece correlacionarse con la patogénesis de dicha enfermedad.²⁴

Curiosamente, las mutaciones detectadas aquí podrían ser dianas útiles en relación con el tratamiento. Existen varias estrategias dirigidas contra el TP53 mutante oncogénico en los cánceres. El polimorfismo en el codón 72 (Arg/Pro) del TP53, el factor de transcripción codificado por el TP53, afecta a la sensibilidad celular a fármacos anticancerígenos como la doxorrubicina a través de la inhibición del p73,

una proteína relacionada con el p53.²⁵ Además, los fármacos dirigidos a cambios epigenéticos han mostrado resultados prometedores.²⁶⁻²⁸ Romidepsina (un inhibidor de HDAC)⁸ ha demostrado recientemente ser una terapia eficaz para el linfoma subcutáneo de células T similar a la paniculitis, dando una respuesta completa como monoterapia en casos resistentes al tratamiento de la enfermedad.²⁹

Nuestro estudio amplía el panorama mutacional del SPTCL, sugiriendo que existe un importante trasfondo étnico subyacente al desarrollo de esta enfermedad, y resaltando la relevancia de los diferentes trasfondos moleculares en el desarrollo del SPTCL y el LEP. Sin embargo, nuestra serie es limitada y se necesitan más estudios en una serie de casos más amplia para validar nuestros hallazgos.

Conflictos de intereses

Ninguno declarado.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado gracias al apoyo de becas del <ce:grant-sponsor id=«gs1» sponsor-id=«<http://dx.doi.org/10.13039/501100004587>»>Instituto de Salud Carlos III</ce:grant-sponsor>, del <ce:grant-sponsor id=«gs2» sponsor-id="http://dx.doi.org/10.13039/100007225«>Ministerio de Ciencia e Innovación de España</ce:grant-sponsor>, <ce:grant-number refid=«gs2»>PI17/2172</ce:grant-number>; <ce:grant-sponsor id=«gs3»>ISCI-MINECO-AES-FEDER</ce:grant-sponsor>. R.A.-A. ha recibido una beca predoctoral PFIS. L.T.-R. recibe una beca individual Marie Skłodowska-Curie (n.º 882597). M.R.-M. cuenta con el apoyo del CIBERONC (CB16/12/00291). P.M. tiene un contrato Miguel Servet financiado por el ISCI (CP16/00116). L.d.l.F. cuenta con el apoyo del contrato CA18/00017 del ISCI.

Apéndice A Datos complementarios

Los datos suplementarios asociados a este artículo pueden encontrarse, en la versión en línea, en doi:10.1016/j.ad.2024.06.006.

Apéndice B [{{(Apéndice A)}}] Datos suplementarios

Los siguientes son los datos complementarios de este artículo:

mmc1

Referencias

<BIBL>

<BIB>

1

S Swerdlow F S.H.

S Harris F C.E.

S Jaffe F N.L.

S Pileri F E.S.

S Stein F S.A.

S Thiele F H.J.

BT WHO classification of tumours of
haematopoietic and lymphoid tissues (revised
4th edition)

PN IARC

PL Lyon

D 2017

</BIB>

<BIB>

2

S Musick F S.R.

S Lynch F D.T.

CT Subcutaneous panniculitis-like T-cell
lymphoma

BT StatPearls [Internet]

PL Treasure Island (FL)

PN StatPearls Publishing

D 2024

</BIB>

<BIB>

3

S Pincus F L.B.

S LeBoit F P.E.

S McCalmont F T.H.<ET-AL>

AT Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma with overlapping clinicopathologic features of lupus erythematosus: coexistence of 2 entities?

JT Am J Dermatopathol

V 31

D 2009

P 520-L 526

</BIB>

<BIB>

4

S Bosisio F F.

S Boi F S.

S Caputo F V.<ET-AL>

AT Lobular panniculitic infiltrates with overlapping histopathologic features of lupus panniculitis (lupus profundus) and subcutaneous T-cell lymphoma: a conceptual and practical dilemma

JT Am J Surg Pathol

V 39

D 2015

P 206-L 211

</BIB>

<BIB>

5

S Machan F S.

S Rodriguez F M.

S Alonso-Alonso F R.<ET-AL>

AT Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma, lupus erythematosus profundus, and overlapping cases: molecular characterization through the study of 208 genes

JT Leuk Lymphoma

V 62

D 2021

P 2130-L 2140

</BIB>

<BIB>

6

S Gayden F T.

S Sepulveda F F.E.

S Khuong-Quang F D.A.<ET-AL>

AT Germline HAVCR2 mutations altering TIM-3 characterize subcutaneous panniculitis-like T cell lymphomas with hemophagocytic lymphohistiocytic syndrome

JT Nat Genet

V 50

D 2018

P 1650-L 1657

</BIB>

<BIB>

7

S Polprasert F C.

S Takeuchi F Y.

S Kakiuchi F N.<ET-AL>

AT Frequent germline mutations of HAVCR2 in sporadic subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

JT Blood Adv

V 3

D 2019

P 588-L 595

</BIB>

<BIB>

8

S Li F Z.

S Lu F L.

S Zhou F Z.<ET-AL>

AT Recurrent mutations in epigenetic modifiers and the PI3K/AKT/mTOR pathway in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

JT Br J Haematol

V 181

D 2018

P 406-L 410

</BIB>

<BIB>

9

S Fernandez-Pol F S.

S Costa F H.A.

S Steiner F D.F.<ET-AL>

AT High-throughput sequencing of
subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma
reveals candidate pathogenic mutations

JT Appl Immunohistochem Mol Morphol

V 27

D 2019

P 740-L 748

</BIB>

<BIB>

10

S Hahtola F S.

S Burghart F E.

S Jeskanen F L.<ET-AL>

AT Clinicopathological characterization and genomic aberrations in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

JT J Invest Dermatol

V 128

D 2008

P 2304-L 2309

</BIB>

<BIB>

11

S Maliniemi F P.

S Hahtola F S.

S Ovaska F K.<ET-AL>

AT Molecular characterization of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma reveals upregulation of immunosuppression- and autoimmunity-associated genes

JT Orphanet J Rare Dis

V 9

D 2014

P 160

</BIB>

<BIB>

12

S Sonigo F G.

S Battistella F M.

S Beylot-Barry F M.<ET-AL>

AT HAVCR2 mutations are associated with severe hemophagocytic syndrome in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

JT Blood

V 135

D 2020

P 1058-L 1061

</BIB>

<BIB>

13

S Koh F J.

S Jang F I.

S Mun F S.<ET-AL>

AT Genetic profiles of subcutaneous
panniculitis-like T-cell lymphoma and
clinicopathological impact of HAVCR2
mutations

JT Blood Adv

V 5

D 2021

P 3919-L 3930

</BIB>

<BIB>

14

S Laurini F J.A.

S Perry F A.M.

S Boilesen F E.<ET-AL>

AT Classification of non-Hodgkin lymphoma in
Central and South America: a review of 1028
cases

JT Blood

V 120

D 2012

P 4795-L 4801

</BIB>

<BIB>

15

S Muller F A.M.

S Ihorst F G.

S Mertelsmann F R.

S Engelhardt F M.

AT Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): trends, geographic distribution, and etiology

JT Ann Hematol

V 84

D 2005

P 1-L 12

</BIB>

<BIB>

16

S Perry F A.M.

S Diebold F J.

S Nathwani F B.N.<ET-AL>

AT Non-Hodgkin lymphoma in the developing world: review of 4539 cases from the International Non-Hodgkin Lymphoma Classification Project

JT Haematologica

V 101

D 2016

P 1244-L 1250

</BIB>

<BIB>

17

S Ou F W.

S Zhao F Y.

S Wei F A.<ET-AL>

AT Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma associated with hemophagocytic lymphohistiocytosis: a systematic review of 63 patients reported in the literature

JT Clin Exp Med

V 23

D 2023

P 4575-L 4583

</BIB>

<BIB>

18

S Moonla F C.

S Polprasert F C.

S Komvilaisak F P.<ET-AL>

AT Germline HAVCR2 mutations and their relation to the clinical spectrum of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma and hemophagocytic lymphohistiocytosis: results from a multicenter study and meta-analysis

JT Haematologica

D 2023

</BIB>

<BIB>

19

S Barnoud F T.

S Parris F J.L.D.

S Murphy F M.E.

AT Common genetic variants in the TP53 pathway and their impact on cancer

JT J Mol Cell Biol

V 11

D 2019

P 578-L 585

</BIB>

<BIB>

20

S De Souza F C.

S Madden F J.

S Koestler F D.C.<ET-AL>

AT Effect of the p53 P72R polymorphism on mutant TP53 allele selection in human cancer

JT J Natl Cancer Inst

V 113

D 2021

P 1246-L 1257

</BIB>

<BIB>

21

S Bulygin F A.S.

S Khantakova F J.N.

S Shkaruba F N.S.

S Shiku F H.

S Sennikov F S.S.

AT The role of metabolism on regulatory T cell development and its impact in tumor and transplantation immunity

JT Front Immunol

V 13

D 2022

P 1016670

</BIB>

<BIB>

22

S Takatori F H.

S Kawashima F H.

S Suzuki F K.

S Nakajima F H.

AT Role of p53 in systemic autoimmune diseases

JT Crit Rev Immunol

V 34

D 2014

P 509-L 516

</BIB>

<BIB>

23

S de Candia F P.

S Procaccini F C.

S Russo F C.

S Lepore F M.T.

S Matarese F G.

AT Regulatory T cells as metabolic sensors

JT Immunity

V 55

D 2022

P 1981-L 1992

</BIB>

<BIB>

24

S Villa F N.

S Badla F O.

S Goit F R.<ET-AL>

AT The role of leptin in systemic lupus erythematosus: is it still a mystery?

JT Cureus

V 14

D 2022

P e26751

</BIB>

<BIB>

25

S Bergamaschi F D.

S Gasco F M.

S Hiller F L.<ET-AL>

AT p53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis

JT Cancer Cell

V 3

D 2003

P 387-L 402

</BIB>

<BIB>

26

S Herek F T.A.

S Bouska F A.

S Lone F W.<ET-AL>

AT DNMT3A mutations define a unique biological and prognostic subgroup associated with cytotoxic T cells in PTCL-NOS

JT Blood

V 140

D 2022

P 1278-L 1290

</BIB>

<BIB>

27

S Atallah-Yunes F S.A.

S Robertson F M.J.

S Dave F U.P.

AT Epigenetic aberrations and targets in
peripheral T-cell lymphoma

JT Clin Lymphoma Myeloma Leuk

V 22

D 2022

P 659-L 665

</BIB>

<BIB>

28

S Scotto F L.

S Kinahan F C.

S Douglass F E.<ET-AL>

AT Targeting the T-cell lymphoma epigenome
induces cell death, cancer testes antigens,
immune-modulatory signaling pathways

JT Mol Cancer Ther

V 20

D 2021

P 1422-L 1430

</BIB>

<BIB>

29

S Jothishankar F B.

S Espinosa F M.L.

S Zain F J.

S Parekh F V.

S Di Raimondo F C.

S Abdulla F F.

AT Complete response to romidepsin as
monotherapy in treatment-resistant
subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

JT JAAD Case Rep

V 6

D 2020

P 1245-L 1247

</BIB>

</BIBL>

Figura 1 Frecuencia de mutaciones en nuestros casos de linfoma subcutáneo de células T tipo paniculitis. gr1

Frequency of mutated genes = Frecuencia de genes mutados

DNMT3A = DNMT3A

HAVCR2 = HAVCR2

TP53 = TP53

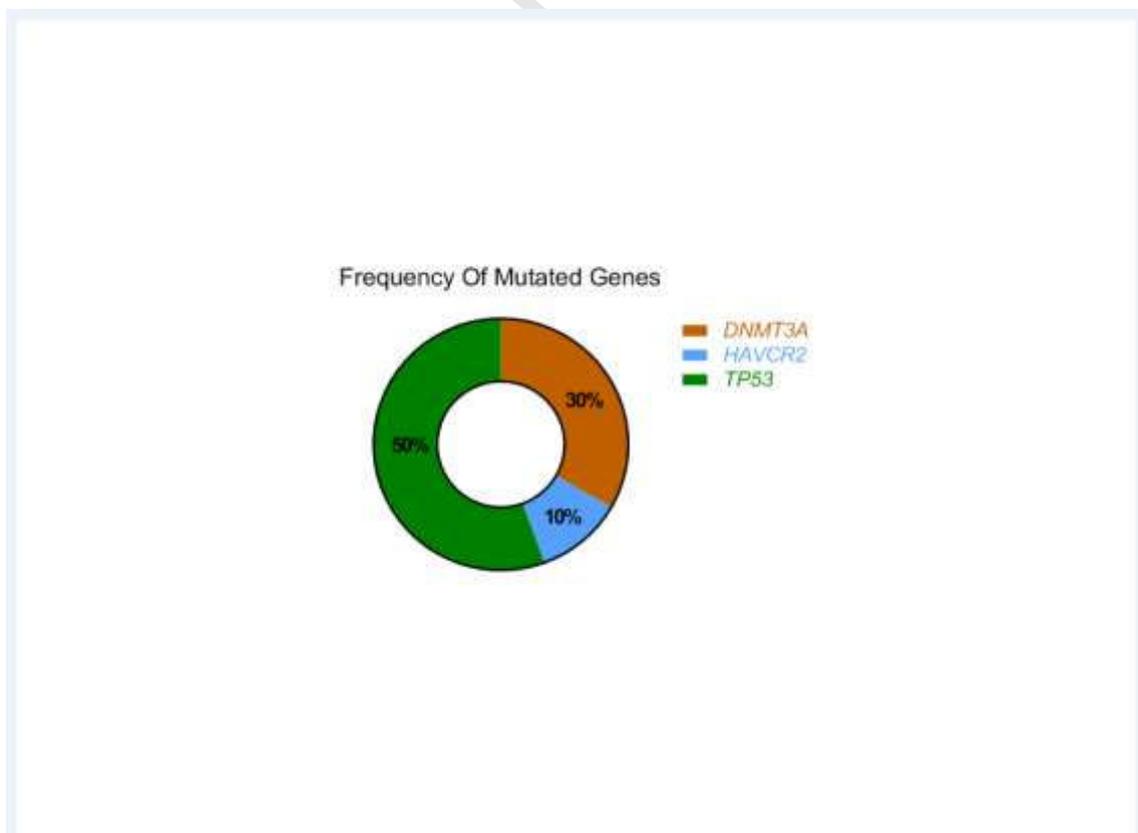


Figura 2 Mutaciones encontradas por NGS en el SPTCL. gr2

TP53 = TP53

TAD: Trasactivation = TAD: Transactivación

PRD: Proline – rich = PRD: rico en prolina

DNA – Binding = Unión-ADN

OD: Oligomerization = OD: Oligomerización

RD: Regulatory = RD: Regulación

DNMT3A = DNMT3A

PWWP: Proline-and tryptophan rich = PWWP:
Rico en prolina y triptófano

ADD: ATRX-DNMT3-DNMT3L = ADD: ATRX-
DNMT3-DNMT3L

MTase: Methyltransferase = MTasa:
Metiltransferasa

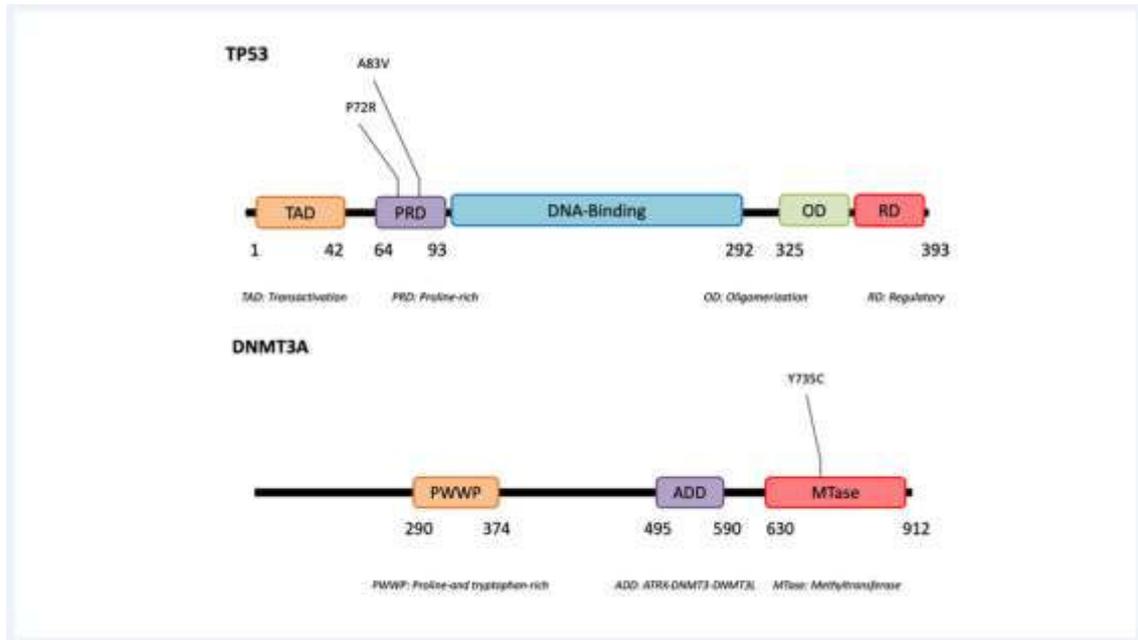


Figura 3 Pirogramas representativos de *HAVCR2* que detectan la mutación Y82C. gr3

Homozígote Mutante Sample Y82C = Muestra mutante homocigota Y82C

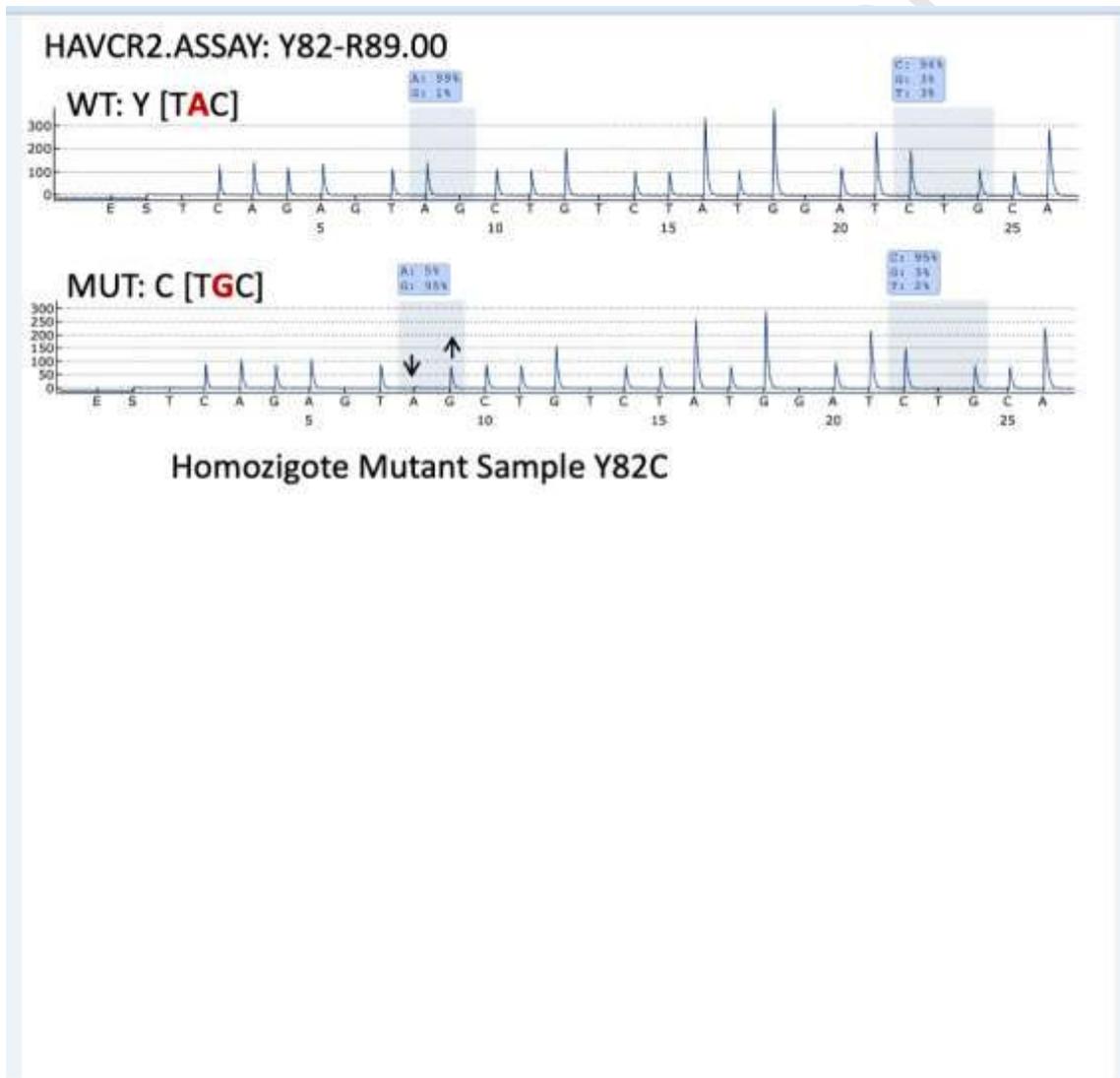


Tabla 1 Características clínicas de los casos de linfoma subcutáneo de células T de tipo paniculitis.

Ca so	Sexo/ edad	Exploraci ón física	No. de lesio nes	Localiza ción	Caracterí sticas clínicas sistémica s	H P S	Tratami ento	Resp uesta	Est ado	Segui miento (meses)
1.	F/23	Nódulos y aspecto cushingn oide	Múlti ple	Brazos y muslos	LDH elevado	N	Prednis ona y ciclospo rina	RP, recaí da	VC E	32
2.	F/69	Nódulo eritemat oso	Solit aria	Cara	LDH elevado. Artritis Reumato ide	N	No (falleció antes del tratami ento)	EE	MO E	<12
3.	F/36	Nódulos	Múlti ple	Brazos	LDH elevado, pulmone s	N	CHOP, gemcita bina, ciclospo rina, bendam ustine	RC	VSE	120
4.	F/39	Nódulo	Solit aria	Extremi dades inferior s	No	N	QT ₆ T 6 ciclos	RC, no recaí da	VSE	107
5.	F/26	Nódulos eritemat osos doloroso s (1- 3 cm), y contorno s de bordes variables	Múlti ple	Extremi dades, lumbar es y abdom en	Espleno megalia, LDH elevado, citopenia	N	Ciclosp orina	RP, no recaí da	VC E	23
6.	F/50	Placa eritemat o- violácea con zonas de hiperque	Múlti ple	Abdom en	Espleno megalia, LDH elevado, citopenia . Esclerosi	N	Prednis ona y ciclospo rina	RP, no recaí da	VSE	32

		ratosis, y 5-6 nódulos eritemat osos duros (6- 7 cm)			s Múltiple						
7.	F/53	Nódulos	Múltiple	Extremidades superiores	No	N	Corticoides sistémicos	RC	VC	EE	110
8.	F/25	Nódulos	Múltiples	Tórax y mejillas	ND	N	ND	RP	VC	EE	18
9.	M/68	Nódulo doloroso	Solitaria	ND	No	N	ND	ND	ND	ND	ND
10	F/24	Nódulos	Múltiple	Extremidades inferiores	ND	N	AINES	ND	ND	ND	ND

VCE, vivo con enfermedad; VSE, vivo sin enfermedad; QT, quimioterapia; RC, respuesta completa; MOE, muerto por otra enfermedad; ND, no determinado; AINESs, antiinflamatorios no esteroideos; RP, respuesta parcial; RT, radioterapia; EE, enfermedad estable.

Tabla 2 Mutaciones detectadas mediante secuenciación de nueva generación en nuestros casos de linfoma subcutáneo de células T similares a paniculitis.

Paciente	Gen	Locus	Cambio de aminoácidos	Cambio en el ADN	Cobertura	Frecuencia del alelo mutante (%)	Tipo de mutación	Efecto
1								[0,2-9] No mutaciones
[1,0] 2	<i>TET2</i>	chr4:106 164794	p.Cys12 21Tyr	c.3662 G>A	211	12,0	Cambio de sentido	VSI
	<i>TP53</i>	chr17:75 79472	p.Pro72 Arg	c.215C >G	112	61,9	Cambio de sentido	Probablemente benigno
[1,0] 3	<i>TP53</i>	chr17:75 79472	p.Pro72 Arg	c.215C >G	81	55,6	Cambio de sentido	Probablemente benigno
	<i>NCO R1</i>	chr17:16 068463	p.Gly41 Arg	c.121 G>A	182	30,0	Cambio de sentido	Benigno
[0,1-9] 4								[0,2-9] No mutaciones
[3,0] 5	<i>ARID 1A</i>	chr1:270 56218	p.Gln40 5Pro	c.1214 A>C	57	43,6	Cambio de sentido	Probablemente benigno

	<i>EZH2</i>	chr7:148 544377	p.Gly5V al	c.14G >T	69	12,8	Cambio de sentido	VSI
	<i>TP53</i>	chr17:75 79472	p.Pro72 Arg	c.215C >G	34	<1,0	Cambio de sentido	Probablemente benigno
	<i>NCO R1</i>	chr17:16 068463	p.Gly41 Arg	c.121 G>A	116	<1,0	Cambio de sentido	Benigno
[3,0] 6	<i>TP53</i>	chr17:75 79439	p.Ala83 Val	c.248C >T	267	60,8	Cambio de sentido	Benigno/ Probablemente benigno
	<i>TP53</i>	chr17:75 79472	p.Pro72 Arg	c.215C >G	267	59,9	Cambio de sentido	Probablemente benigno
	<i>PLCG 1</i>	chr20:39 797465	p.Ile813 Thr	c.2438 T>C	355	99,7	Cambio de sentido	VSI
	<i>DNM T3A</i>	chr2:254 63289	p.Tyr73 5Cys	c.2204 A>G	602	<1	Cambio de sentido	Probablemente patogénico
7	<i>TP53</i>	chr17:75 79472	p.Pro72 Arg	c.215C >G	78	58,2	Cambio de sentido	Probablemente benigno

[1,0] 8	<i>DNM</i> <i>T3A</i>	chr2:254 63289	p.Tyr73 5Cys	c.2204 A>G	552	2,3	Cambi o de sentid o	Probable mente patogéni co
	<i>EZH2</i>	chr7:148 544377	p.Gly5V al	c.14G >T	83	14,1	Cambi o de sentid o	VSI
[1,0] 9	<i>TET2</i>	chr4:106 164794	p.Cys12 21Tyr	c.3662 G>A	155	26,0	Cambi o de sentid o	VSI
	<i>ARID</i> <i>1B</i>	chr6:157 256650	p.Pro65 9=	c.1938 C>T	105	47,2	Sin sentid o	Benigno/ Probable mente benigno
[1,0] 10	<i>ARID</i> <i>1A</i>	chr1:270 56218	p.Gln40 5Pro	c.1214 A>C	62	39,3	Cambi o de sentid o	Probable mente benigno
	<i>DNM</i> <i>T3A</i>	chr2:254 63289	p.Tyr73 5Cys	c.2204 A>G	421	5,4	Cambi o de sentid o	Probable mente patogéni co

VSI, variante de significado incierto.

ART

10 Subcutaneous panniculitis – like T- cell lymphoma (SPTCL) = 10 Linfoma subcutáneo de células T tipo paniculitis (SPTCL)

10 Lupus erythematosus panniculitis (LEP) = 10 Paniculitis lúpica eritematosa (LEP)

NGS_64 selected genes HAVCR2 pyrosequencing = Pirosecuenciación NGS_64 genes seleccionados HAVCR2

SPTCL = SPTCL

TP53 (P72R) = TP53 (P72R)

DNMT3A (T735C) = DNMT3A (T735C)

HAVCR2 (Y82C) = HAVCR2 (Y82C)

LEP -NO MUTATIONS FOUND = LEP -NO SE HAN ENCONTRADO MUTACIONES

NANOSTRING = “NANOSTRING”

TP53 (P72R) MUTATED CASES (40%) = CASOS
CON MUTACIÓN TP53 (P72R) (40%)

CD28 signalling pathway = Vía de señalización
CD28

Foxp3 signalling pathway = Vía de señalización
Foxp3

Clinical Features = Características clínicas

High LDH = LDH elevada

Systemic symptoms = Síntomas sistémicos

vs= vs

TP53 (P72R) NON MUTATED CASES = CASOS DE
TP53 (P72R) NO MUTADO

Metabolism signalling pathway = Vía de señalización del metabolismo

High = alto

Low = bajo

Journal Pre-proof