



# Testiküler Germ Hücreli Tümörlerin Ayırıcı Tanısında DOG-1 ve CD117 Ekspresyonlarının Tanısal Önemi

## Diagnostic Significance of DOG-1 and CD117 Expressions in Testicular Germ Cell Tumors

Duygu GÜREL<sup>1</sup>, Mehtat ÜNLÜ<sup>1</sup>, Güven ASLAN<sup>2</sup>, Uğur MUNGAN<sup>2</sup>, Kutsal YÖRÜKOĞLU<sup>1</sup>, Burçin TUNA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İZMİR

<sup>2</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İZMİR

### ÖZET

**Amaç:** Gastrointestinal stromal tümörlerde gen profilini belirlemeye yönelik yapılan cDNA mikroarray çalışmalarında DOG-1'in (TMEM16A) gastrointestinal stromal tümörlerde en sık rastlanılan gen olduğu belirlenmiştir. İmmünohistokimyasal incelemeler, gastrointestinal stromal tümörlerin çoğunda DOG-1 protein ekspresyonunun olduğunu göstermektedir. DOG-1 protein ekspresyonunun genellikle CD117 pozitif tümörlerde söz konusu olup, melanom ve bazı karsinomlarda da bildirilmektedir. Ancak, testiküler germ hücreli tümörlerde DOG-1 ekspresyonu henüz tam olarak çalışılmamıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada seminomatöz ve seminomatöz olmayan testiküler germ hücreli tümörlerde DOG-1 ekspresyonu, CD117 ekspresyonu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada 26 mikst germ hücreli tümör, 15 seminom, 6 embriyonal karsinom, 2 koryokarsinom, 1 teratom olmak üzere 50 olgu değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** 36 olguda (14 seminom, 20 mikst germ hücreli tümör, 1 teratom ve 1 embriyonal karsinom) CD117 ekspresyonu, 4 olguda (3 mikst germ hücreli tümör, 1 embriyonal karsinom) ise DOG-1 ile pozitiflik belirlendi. Bir embriyonal karsinom dışında, seminomlarda (%93) ve mikst germ hücreli tümörlerin seminomatöz komponentinde CD117 pozitifliği gözlemlendi. Buna karşın, DOG-1 ekspresyonunun embriyonal karsinom ve mikst germ hücreli tümörlerin embriyonal karsinom komponentine sınırlı ve fokal olduğu görüldü.

**Sonuç:** Bu sonuçlar; DOG-1'in testiküler germ hücreli tümörlerde, seminomatöz ve seminomatöz olmayan tümörlerin ayırımında yeri olmadığını göstermektedir. Ancak, CD117 ekspresyonunun söz konusu olduğu retroperitoneal yerleşimli tümörlerde DOG-1, seminomlarda ekspresyon edilmemesi nedeniyle gastrointestinal stromal tümörlerin ayırımında önemli bir biyolojik belirteç olarak görülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Testis, Germ hücreli tümör, CD117, DOG-1, Ayırıcı tanı

### ABSTRACT

**Aim:** The cDNA microarray gene profile of gastrointestinal stromal tumors revealed that DOG1 gene (TMEM16A) was mostly expressed in these neoplasms. Immunohistochemically, DOG1 protein was found in a significant proportion of gastrointestinal stromal tumors. DOG-1 protein expression is generally found in CD117 positive tumors, and is also reported in melanoma and some carcinomas. However, testicular germ cell expression of DOG1 is not yet completely studied.

**Materials and Methods:** This study intended to identify DOG1 protein expression in seminomatous and non-seminomatous testicular germ cell tumors comparing with CD117 expression, using an anti-DOG1 polyclonal serum. Fifty cases including 26 mixed germ cell tumors, 15 seminomas, 6 embryonal carcinomas, 2 choriocarcinomas, and 1 teratoma were included in the study.

**Results:** CD117 expression was detected in 36 cases (14 seminomas, 20 mixed germ cell tumors, 1 teratoma and 1 embryonal carcinoma), and DOG-1 was detected in 4 cases (3 mixed germ cell tumors, 1 embryonal carcinoma). Except for an embryonal carcinoma, CD117 positivity was observed in seminomas (93%) and seminomatous component of mixed germ cell tumors. However, DOG-1 was positive in only 4 cases (3 mixed germ cell and 1 embryonal carcinoma). On the other hand, DOG-1 expression was found to be confined to the embryonal carcinoma component of MGHTs and embryonal carcinoma.

**Conclusion:** These results show that DOG1 has no role in distinguishing between seminomatous and nonseminomatous tumors in testicular germ cell tumors. However, in retroperitoneal tumors with CD117 expression, DOG-1 appears to be an important biomarker in discriminating gastrointestinal stromal tumors from seminoma.

**Key Words:** Testis, Germ cell tumor, CD117, DOG-1, Differential diagnosis

## GİRİŞ

Testiküler germ hücreli tümörler erkeklerde en sık görülen tümördür ve seminomatöz ve non-seminomatöz olarak ayrılır (1). Bu sınıflama prognoz ve tedavi yaklaşımları için önemlidir.

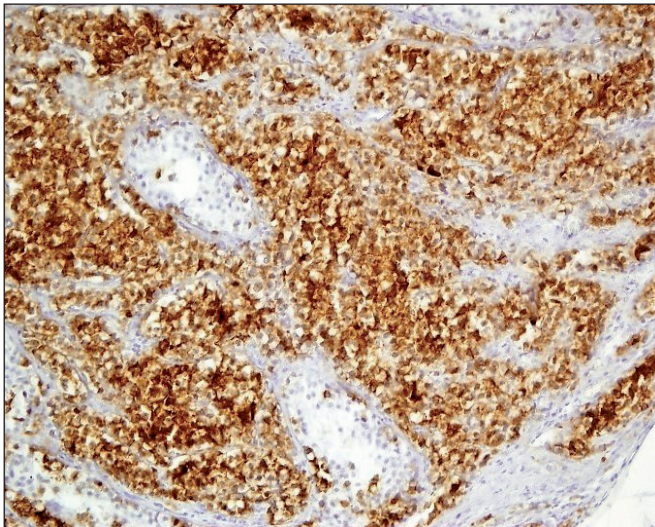
CD117, tip III reseptör tirozin kinaz ailesinin üyesi bir KIT gen ürünü olup, 145-kDa transmembran glikoproteindir. CD117 ekspresyonu GIST'lerin tanı ve tedavisinde önemlidir. Ancak GIST'lerin tümü bu antijeni eksprese etmez. Diğer bir antijen olan DOG-1, CD117 ve CD34 ile karşılaştırıldığında sensitivite ve spesifitesi fazladır (2-5). DOG-1 pozitif, CD117 negatif GIST hastaları da tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi seçeneğine sahiptir.

Testiküler germ hücreli tümörler için CD117 pozitifliği, seminom ve seminom dışı tümörlerin ayırıcı tanısında önemlidir (6,7). Seminomların %90-100'ünde CD117 ekspresyonu görülür, seminom dışı tümörlerde bu proteinin ekspresyonu seyrek. Literatür bilgilerimize göre, tirozin kinaz inhibitörleri kemoterapiye dirençli seminomlar için de etkili olabilmektedir (6-8). DOG-1 proteini, CD117 için tanımlanmış olduğu gibi, melanom ve bazı karsinomlarda da görülebilir (3).

Bu çalışmada DOG-1 ekspresyonunun, CD117 ekspresyonu ile karşılaştırılarak seminom ve seminom dışı testiküler germ hücreli tümörlerin ayırıcı tanısında, önemli bir belirleyici olup olmadığı değerlendirilmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma kapsamına 26 mikst germ hücreli tümör (MGHT), 15 seminom (S), 6 embriyonal karsinom (EK), 2 koryokarsinom (KK), 1 teratom (T) olmak üzere 50 olgu alındı. İmmünohistokimyasal olarak DOG-1 (SP31, 1/100 dilüsyon, Rabbit monoklonal, Cell marque) ve c-KIT (YR145, 1/100 dilüsyon, Rabbit monoklonal, Cell marque) antikoları standart streptavidin biotin immünperoksidaz yöntemi ile



Şekil 1: Seminomda kuvvetli C-KIT ekspresyonu.

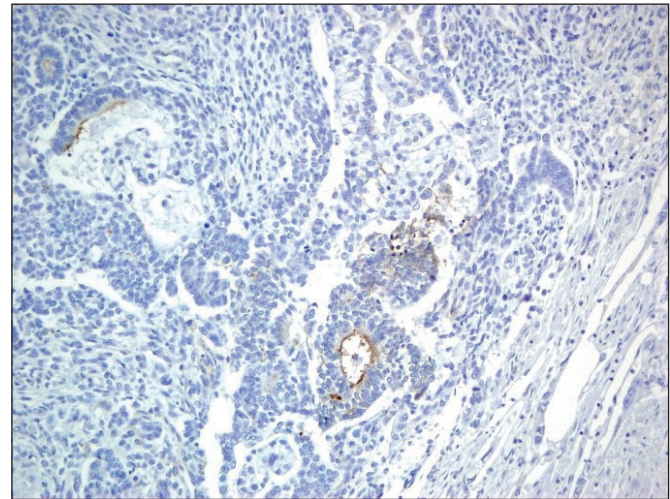
uygulandı. İmmünreaktivite semikantitatif olarak; boyanma yok=0, tümör hücrelerinde <%5 boyanma= +1, tümör hücrelerinde %5-25 boyanma= +2, tümör hücrelerinde %26-50 boyanma =+3 ve tümör hücrelerinde >%50 boyanma =+4 olarak değerlendirildi.

## SONUÇLAR

50 olgunun yaş aralığı 14 ile 68 arasında olup ortalama 32 yaş. 50 olgunun 36'sında (14 S, 20 MGHT, 1T, 1EK) CD117 ekspresyonu, 4'ünde (3 MGHT, 1 EK) ise DOG-1 ile pozitiflik belirlendi (Tablo 1). CD117 reaktivitesi, embriyonal karsinomların %17'sinde (1 olguda), seminomların %93'ünde (14 olguda) (Şekil 1) ve MGHT'lerin %77'sinde (20 olguda) seminom komponentinde pozitif idi. CD117 ile tümör hücrelerinin %50' sinden fazlasında sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma izlendi. Buna karşın, DOG-1 ekspresyonunun embriyonal karsinom ve MGHT'lerin embriyonal karsinom (Şekil 2) komponentinde görüldü. DOG-1 ile boyanma paterni luminal membranöz özellikte olup, tümör hücrelerinin %5'inden azında bulunmakta idi.

## TARTIŞMA

Seminom ve seminom dışı germ hücreli tümörlerin ayırıcı tedavi farklılıkları nedeniyle çok önemlidir. Seminomlar, özellikle uygun fiksasyon olmadığında embriyonel karsinomların solid paterniyle karışabilir. Bu tümörlerin ayırımı için CD117 ve CD30 reaktivitesi faydalı olabilir (9). Seminom serilerinde CD117 en sensitif belirleyici olarak bulunmuştur. Normal spermatogenezde gerekli olan Tip III transmembran tirozin kinaz reseptörünü kodlayan CD117, c-KIT onkogeninin bir ürünüdür (10). İnsan testiküler germ hücreli tümörlerinde, KIT sinyal aktarımı seminom karsinogenezi için önemli bir yolak gibi görünmektedir (11). CD117, seminomlarda %88-100 gibi yüksek oranında eksprese edilmekte ve en etkin immünohistokimyasal belirleyicilerden birisidir. Bizim olgularımızda da bu oran %93'dür.



Şekil 2: Embriyonal karsinomun glandüler komponentinde DOG-1 ile luminal membranöz boyanma.

DOG-1, 11q13 kromozomda CCND1-EMSI bölgesinde yer alan bir gendir (12). DOG-1, kalsiyum-bağımlı klorid kanal proteini olarak tanımlanmış hücre membran ilişkili bir proteindir (3,7,13,14). Kalsiyum-bağımlı klorid kanalları (KaKK) çeşitli dokularda bulunmakta olup, duyu iletişi, epitelial sekresyon ve düz kas kontraksiyonu gibi çeşitli fizyolojik olaylarda yer almaktadır (15). KaKK'ların ana bileşeni, son zamanlarda belirlenen TMMEM16A olarak isimlendirilen fonksiyonu bilinmeyen transmembran proteinlerini kapsamaktadır. Bu proteinler, TMMEM16'nın keşfinden önce, gastrointestinal stromal tümörler, oral kavite ve özofagus skuamöz hücreli karsinomları gibi bazı tümörlerdeki aşırı ekspresyonları nedeniyle, onkologlar tarafından DOG-1 (gastrointestinal stromal tumors protein 1) (3, 4), ORAOV2 (oral cancer over expressed 2) ve TAOS-2 (tumor-amplified and overexpressed sequence 2) (16,17) gibi farklı isimler altında bilinmektedir.

KaKK ların tümör biyolojisindeki yeri bilinmemekle birlikte DOG-1'in GIST tanısında kullanılması önerilmektedir. Ayrıca, DOG-1'in GIST'lerdeki yaygın ekspresyonu hakkında açıklayıcı bir bilgi de bulunmamaktadır. DOG 1'in tümör biyolojisindeki yeri ile ilgili hipotezlerden birisi; bu proteinin PDGFR, CSFR, Kit, FLT3 reseptör ailesinin yer aldığı Tip 3 reseptör tirozin kinaz sinyal ileti yolağında rol oynayabileceğidir (3). DOG-1' in mast hücrelerinde eksprese edilmesinin de bu hipotezi destekleyen bir bulgu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca West ve ark. nın (3) preparasyonları; DOG-1 reaktivitesinin, GIST dışı sarkomlar yanısıra melanom ve germ hücreli tümörlerin bir bölümünde CD117 ekspresyonu ile korele olduğu belirtilmektedir. Hipotezlerden bir diğeri ise, DOG-1'in, KIT ve PDGFRA sinyal yolağından bağımsız ve rastlantısal olarak GIST fenotipini yansıtan bir biyobelirleyici olma olasılığıdır. DOG1'in GIST'lerin ayırıcı tanısındaki yeri, CD117 pozitif tümörler yanısıra KIT ve PDGFR mutasyonu olmayanlarda da ekspresyonu ve DOG-1 pozitif tümörlerde tirozin kinaz inhibitör tedavisine yanıtın olması nedeniyle önemlidir. Bir başka bulgu ise kullanılan antikora bağımlı olarak (örn; K9 klonu), DOG-1'in CD117 negatif GIST için sensitivitesi daha da artmaktadır (18). Bu çalışmada, CD117 ekspresyonunun seminomatöz ve seminomatöz olmayan germ hücreli tümör ayırımındaki önemi, CD117 ve DOG-1 ekspresyonu arasındaki korelasyonu ve DOG1'in tip 3 reseptör kinaz sinyal yolağına rol alabileceği hipotezi de düşünülerek, DOG-1'in germ hücreli tümörlerin ayırıcı tanısında yeri olabilir mi sorusu yanıtlanmaya çalışılmıştır. Çalışmada, DOG-1 ile, CD117'nin aksine seminom ve MGHT'lerin seminom komponentinde ekspresyonu izlenmezken, embriyonel karsinomda (%17, n=1) ve MGHT'lerin (%12, n=3) embriyonel karsinom komponentine sınırlı ve fokal ekspresyon izlenmiştir. Literatürde germ hücreli tümörlerde DOG-1 ekspresyonu ile ilgili bir araştırma yayını görülmektedir (19). Osman ve ark. nın (19) seminom (n=23), yolk salk tümörü

(n= 25), embriyonel karsinom (n=23), koryokarsinom (n= 8), PNET (n= 2), teratom (n=14), sertoli hücreli tümör (n=6) ve leydig hücreli tümör (n=8) içeren 109 olgu içeren araştırmasında biri teratom diğeri sertoli leydig hücreli tümör olmak üzere 2 olguda DOG-1 ile pozitiflik belirtilmektedir. Osman ve ark. çalışması gibi bizim çalışmamızda, DOG-1'in germ hücreli tümörlerin ayırıcı tanısında faydası olmadığını göstermektedir. Ayrıca, Espinosa ve ark.larının, DOG-1 in GIST için spesifite ve sensitivitesini belirlemeye yönelik sarkomatöz ve nonsarkomatöz tümör serisi içeren çalışmasına dahil edilen 21 seminom olgusunun hiç birinde ekspresyona rastlanmamıştır (4). Bir başka deyişle GIST'lerde ve bazı tümörlerde tanımlanan CD117 ve DOG-1 ekspresyonlarının örtüşmesi durumu, germ hücreli tümörler için geçerli değildir. Bizim serimizde, DOG-1 ile embriyonel karsinomların birinde (%17) ve MGHT grubunun üçünde (%12), embriyonel karsinom alanına sınırlı, fokal membranöz boyanma gözlenmiştir.

Normal dokularlardaki DOG-1 pozitifliği, myenterik pleksus çevresindeki düz kas kontraksiyonunu düzenleyen kajal hücreleri yanısıra sekretuar aktivitenin olduğu tükürük bezi, pankreatik asinuslar, intrahepatik safra duktusları, safra kesesi bezleri ile ter bezlerinde bulunmaktadır (5). DOG-1, kajal hücrelerinden köken alan GIST'ler için spesifik ve sensitif bir belirleyicidir. Ayrıca, tükürük bezi tümörlerinin alt tiplendirilmesinde, duktal karsinomların (DOG-1 negatif) asiner ve interkaler duktus kökenli (DOG-1 pozitif) tümörlerden ayırımında yeri bulunmaktadır (20). Bu bulgular, tümör ve köken aldığı hücre arasındaki DOG-1 ekspresyon ilişkisini yansıtır olabilir. Testiste eksprese edilmediği veya seminiferöz tübüller ile spermatid ve spermatositlerde eksprese edildiği bildirilmektedir.

Sonuç olarak, testiküler germ hücreli tümörlerde CD117 ve DOG-1 ekspresyonu arasında korelasyonun bulunmadığı, DOG-1'in seminom ve nonseminomatöz germ hücreli tümör ayırımına katkı sağlamadığı görülmektedir. Ancak, DOG-1'in seminomlarda eksprese edilmemesi, özellikle retroperitoneal yerleşimli Gastrointestinal stromal tümörlerden ayırımında önemli olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Ulbright TM. Germ cell neoplasms of the testis. Am J Surg Pathol. 1993;17:1075-91.
2. Liegl B, Hornick JL, Corless CL, Fletcher CD. Monoclonal antibody DOG1.1 shows higher sensitivity than KIT in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors, including unusual subtypes. Am J Surg Pathol. 2009;33:437-46.
3. West RB, Corless CL, Chen X, Rubin BP, Subramanian S, Montgomery K, Zhu S, Ball CA, Nielsen TO, Patel R, Goldblum JR, Brown PO, Heinrich MC, van de Rijn M. The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGFRA mutation status. Am J Pathol. 2004;165:107-13.

4. Espinosa I, Lee CH, Kim MK, Rouse BT, Subramanian S, Montgomery K, Varma S, Corless CL, Heinrich MC, Smith KS, Wang Z, Rubin B, Nielsen TO, Seitz RS, Ross DT, West RB, Cleary ML, van de Rijn M. A novel monoclonal antibody against DOG1 is a sensitive and specific marker for gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol.* 2008;32:210-8.
5. Miettinen M, Wang ZF, Lasota J. DOG1 antibody in the differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a study of 1840 cases. *Am J Surg Pathol.* 2009;33:1401-8.
6. Liu DL, Lu YP, Shi HY, Zhu SX, Lü JW, Li WF, Rong X. [Expression of CD117 in human testicular germ cell tumors and its diagnostic value for seminoma and nonseminoma]. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2008;14:38-41 (Abstract).
7. Kemmer K, Corless CL, Fletcher JA, McGreevey L, Haley A, Griffith D, Cummings OW, Wait C, Town A, Heinrich MC. KIT mutations are common in testicular seminomas. *Am J Pathol.* 2004;164:305-13.
8. Pedersini R, Vattei E, Mazzoleni G, Graiff C. Complete response after treatment with imatinib in pretreated disseminated testicular seminoma with overexpression of c-KIT. *Lancet Oncol.* 2007;8:1039-40.
9. Lau SK, Weiss LM, Chu PG. D2-40 immunohistochemistry in the differential diagnosis of seminoma and embryonal carcinoma: a comparative immunohistochemical study with KIT (CD117) and CD30. *Mod Pathol.* 2007;20:320-5.
10. Nakai Y, Nonomura N, Oka D, Shiba M, Arai Y, Nakayama M, Inoue H, Nishimura K, Aozasa K, Mizutani Y, Miki T, Okuyama A. KIT (c-KIT oncogene product) pathway is constitutively activated in human testicular germ cell tumors. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;337:289-96.
11. Izquierdo MA, Van der Valk P, Van Ark-Otte J, Rubio G, Germa-Lluch JR, Ueda R, Scheper RJ, Takahashi T, Giaccone G. Differential expression of the c-kit protooncogene in germ cell tumours. *J Pathol.* 1995;177: 253-8.
12. Katoh M, Katoh M. FLJ10261 gene, located within the CCND1-EMS1 locus on human chromosome 11q13, encodes the eight-transmembrane protein homologous to C12orf3, C11orf25 and FLJ34272 gene products. *Int J Oncol.* 2003;22:1375-81.
13. Yang YD, Cho H, Koo JY, Tak MH, Cho Y, Shim WS, Park SP, Lee J, Lee B, Kim BM, Raouf R, Shin YK, Oh U.. TMEM16A confers receptor-activated calcium-dependent chloride conductance. *Nature.* 2008; 455:1210-5.
14. Caputo A, Caci E, Ferrera L, Pedemonte N, Barsanti C, Sondo E, Pfeffer U, Ravazzolo R, Zegarra-Moran O, Galiotta LJ. TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity. *Science.* 2008;322:590-4.
15. Huang F, Xiuming W, Jan YL. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXV: Calcium-Activated Chloride Channels. *Pharmacol Rev.* 2012; 64:1-15.
16. Huang X, Godfrey TE, Gooding WE, McCarty KS, Jr, Gollin SM. Comprehensive genome and transcriptome analysis of the 11q13 amplicon in human oral cancer and synteny to the 7F5 amplicon in murine oral carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006; 45:1058-69.
17. Kashyap MK, Marimuthu A, Kishore CJ, Peri S, Keerthikumar S, Prasad TS, Mahmood R, Rao S, Ranganathan P, Sanjeeviah RC, Vijayakumar M, Kumar KV, Montgomery EA, Kumar RV, Pandey A. Genomewide mRNA profiling of esophageal squamous cell carcinoma for identification of cancer biomarkers. *Cancer Biol Ther.* 2009; 8:36-46
18. Lopes LF, West RB, Bacchi LM, van de Rijn M, Bacchi CE. DOG1 for the diagnosis of gastrointestinal stromal tumor (GIST): Comparison between 2 different antibodies. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18:333-7.
19. Osman H, Cheng L, Ulbright TM, Idrees MT. The utility of CDX2, GATA3, and DOG1 in the diagnosis of testicular neoplasms: an immunohistochemical study of 109 cases. *Hum Pathol.* 2016;8:18-24.
20. Chênevert J, Duvvuri U, Chiosea S, Dacic S, Cieply K, Kim J, Shiwarski D, Seethala RR. DOG1: a novel marker of salivary acinar and intercalated duct differentiation *Mod Pathol.* 2012; 25: 919-29.