

Feline Papillomavirusinfektion bei einer Katze mit Bowen-like disease und kutanem Plattenepithelkarzinom

U. Schwittlick¹, P. Bock¹, S. Lapp¹, K. Henneicke², P. Wohlsein¹

¹Institut für Pathologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, ²Institut für Pathologie, Neuropathologie und Molekularpathologie Hannover Zentrum

Zusammenfassung

Einer 13jährigen Katze wurde eine Umfangsvermehrung der Haut am Hals reseziert. Die histologische Untersuchung ergab ein multizentrisches Plattenepithelkarzinom *in situ*, das dem Bild der Bowen's disease des Menschen ähnelt. Der Tumor zeigte eine multifokale Transformation zu einem invasiv wachsenden Plattenepithelkarzinom. Eine Abgrenzung von der aktinischen Keratose und den «feline viral plaques» sowie eine Zuordnung zum nicht-hyperkeratotischen Typ des multizentrischen Plattenepithelkarzinoms *in situ* basierten auf den histologischen und immunhistologischen Untersuchungsbefunden. Der Nachweis von felinem Papillomavirus Typ 2 mittels nested PCR aus dem formalinfixierten Gewebe stellt einen Hinweis auf die mögliche Ursache der Neoplasie dar.

Schlüsselwörter: Katze, multizentrisches Plattenepithelkarzinom *in situ*, felines Papillomavirus

Feline papillomavirus infection in a cat with Bowen-like disease and cutaneous squamous cell carcinoma

A cutaneous mass in the neck was excised in a 13-year-old cat. Histopathological examination of the resected tissue revealed a multicentric squamous cell carcinoma *in situ* resembling Bowen's disease of man. The tumor showed a multifocal transformation to an infiltrative squamous cell carcinoma. Histological and immunohistological findings excluded actinic keratosis and feline viral plaques and allowed a classification as an irregular non-hyperkeratotic type of multicentric squamous cell carcinoma *in situ*. As a possible causative agent feline papillomavirus type 2 was detected using nested PCR in formalin-fixed material.

Keywords: cat, multicentric squamous cell carcinoma *in situ*; feline papillomavirus

Einleitung

Das multizentrische Plattenepithelkarzinom *in situ* stellt eine seltene, prämaligne Proliferation der Haut bei älteren Katzen dar, die sich histologisch durch neoplastische Keratinozyten in der Epidermis und im Haarfollikel epithel bei intakter Basalmembran auszeichnet (Baer und Helton, 1993; Goldschmit et al., 1998). Diese Veränderung wird in der Literatur auch als «multicentric squamous cell carcinoma *in situ*» (MSCCa *in situ*), «Bowenoid *in situ* carcinoma» (BISC) oder «bowen-like disease» bezeichnet und ähnelt der Bowen's disease des Menschen. Einzelfälle einer ähnlichen Erkrankung sind auch beim Hund (Gross und Brimacombe, 1986), Frettchen (Rodrigues et al., 2010) und Paka (*Agouti paca*; Luppi et al., 2008) beschrieben.

Bei Katzen finden sich morphologisch unregelmäßige, geringgradig erhabene oder ausgeprägt krustöse Plaques sowie papilläre Veränderungen der Haut mit einem Durchmesser von bis zu 5 cm (Gross et al., 2005; Ginn et al., 2007). Es können sowohl pigmentierte als auch unpigmentierte Hautareale betroffen sein. Eine Disposition für bestimmte Hautlokalisationen ist nicht bekannt. Meist handelt es sich um multiple Läsionen, aber auch solitär auftretende MSCCa *in situ* kommen vor (Baer und Helton, 1993; Gross et al., 2005; Ginn et al., 2007). Die Veränderungen werden als chronisch und nicht schmerzhaft beschrieben und sind nur mit geringem Juckreiz assoziiert (Baer und Helton, 1993). Es ist weder eine Geschlechts- oder Rassedisposition noch ein Zusammenhang mit ultravioletter (UV) Strahlung bekannt (Goldschmidt et al., 1998; Gross et al., 2005; Ginn et al., 2007).

574 Fallberichte

Eine Progression zu einem invasiven Plattenepithelkarzinom tritt bei etwa 17 % bis 25 % der felines MSCCa *in situ* auf (Baer und Helton, 1993; Gross et al., 2005).

Differentialdiagnostisch muss die aktinische Keratose (syn. solare Keratose) berücksichtigt werden, die meist solitär an Ohrmuscheln, Nasenspiegel oder Augenlidern von Katzen mit unpigmentierter Kopfhaut auftritt. Die Differenzierung ist nicht immer ohne Schwierigkeiten möglich. Der Nachweis einer ausgeprägten, ortho- oder parakeratotischen Hyperkeratose, einer dermalen Fibrose, einer lymphozytär-plasmazellulären Interface-Dermatitis sowie von p53-Protein, das sich nach einer UV-induzierten Mutation in der Zelle anreichert, spricht für eine aktinische Keratose (Favrot et al., 2009). «Feline viral plaques» sind ebenfalls von differentialdiagnostischer Bedeutung. Sie zeichnen sich durch einen abrupten Übergang zur normalen Epidermis, eine geringgradige Akanthose sowie eine meist deutliche epidermale Melanose als flache, plaqueförmige, selten warzenähnliche Hautveränderungen aus (Gross et al., 2005). Beide Läsionen stellen möglicherweise Vorstufen eines MSCCa *in situ* dar (Wilhelm et al., 2006).

Ein ätiologischer Zusammenhang zwischen felines MSCCa *in situ* und einer Papillomavirusinfektion wird kontrovers diskutiert (Wilhelm et al., 2006; Munday et al., 2008; Munday und Witham, 2009). Dieser Fallbericht beschreibt die klinischen, morphologischen, immunhistologischen und molekularbiologischen Befunde eines MSCCa *in situ* mit gleichzeitiger Transformation in ein Plattenepithelkarzinom bei einer Katze und diskutiert ätiologische und differentialdiagnostisch bedeutsame Aspekte.

Anamnese

Eine 13 Jahre alte, männlich-kastrierte Europäisch Kurzhaar-Katze aus Einzelhaltung mit regelmäßigem Freilauf

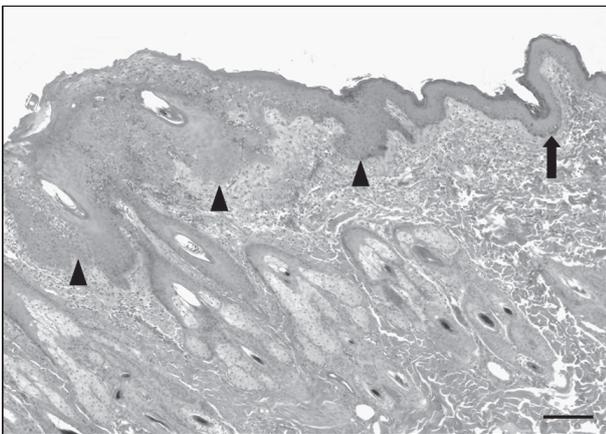


Abbildung 1: MSCCa *in situ* gekennzeichnet durch eine prominente Proliferation von Epithelzellen der Epidermis und Haarfollikel (Pfeilspitzen) ohne Destruktion der Basalmembran und kontinuierlichem Übergang zu normaler Epidermis (Pfeil); HE-Färbung, Balken = 100 µm.

wurde dem Haustierarzt aufgrund von Bissverletzungen vorgestellt. Klinisch wurde eine etwa 1.0 cm im Durchmesser große, teils haarlose Verdickung der Haut am linken, seitlichen Nacken festgestellt. Das Tier zeigte weder Juckreiz noch weitere Umfangsvermehrungen dieser Art. Es bestand ein regelmäßiger Impfschutz gegen Katzenschnupfen, feline Panleukopenie und Tollwut. Vorerkrankungen des Tieres und der Infektionsstatus bezüglich feline Leukose- und feline Immundefizienz-Virus waren unbekannt. Therapeutisch wurde ein Kombinationspräparat mit den Wirkstoffen Miconazol, Polymyxin B und Prednisolon (Surolan®, Janssen Cilag, Deutschland) eingesetzt. Anlässlich einer Zahnsanierung erfolgte etwa einen Monat später die vollständige, chirurgische Resektion der Neubildung. Innerhalb der folgenden sieben Monate trat kein Rezidiv auf.

Pathomorphologische und immunhistologische Untersuchungsbefunde

Das eingesandte Gewebestück von 2.5 x 1.5 x 1.0 cm Größe bestand aus behaarter Haut mit Unterhaut und wies oberflächlich ein rundes, raues Areal von etwa 1.0 cm Durchmesser auf, das durch Alopezie und eine unscharf demarkierte, geringgradig verdickte, feinknotige Epidermis gekennzeichnet war. Mehrere repräsentative Lokalisationen wurden routinemäßig histologisch aufgearbeitet und mit einer Übersichts- (Hämatoxylin und Eosin [HE]) und einer Spezialfärbung («Periodic Acid-Schiff Reaktion» [PAS]) zur Darstellung der Basalmembran gefärbt.

Histologisch zeigte sich in dem makroskopisch veränderten Areal multifokal eine mittelgradige Akanthose der Epidermis mit fokal geringgradiger, parakeratotischer Hyperkeratose (Abb. 1). Auch das Epithel der Haarfollikel war in dem betroffenen Bereich gering- bis mittelgra-

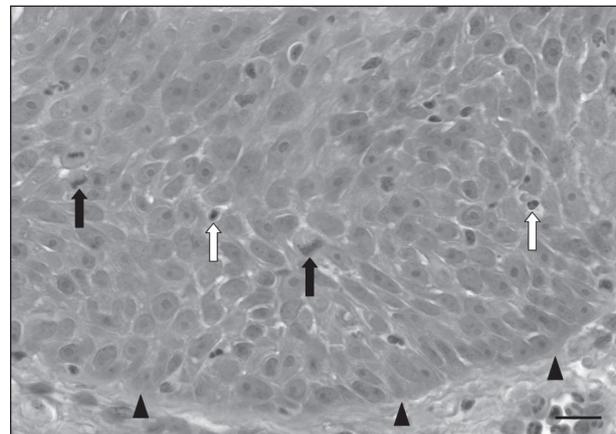


Abbildung 2: MSCCa *in situ* der Haut mit irregulärer epidermaler Architektur, dysplastischen Epithelzellen, Mitosefiguren (schwarze Pfeile), apoptischen Zellen (weiße Pfeile) und intakter Basalmembran (Pfeilspitzen); HE-Färbung, Balken = 50 µm.

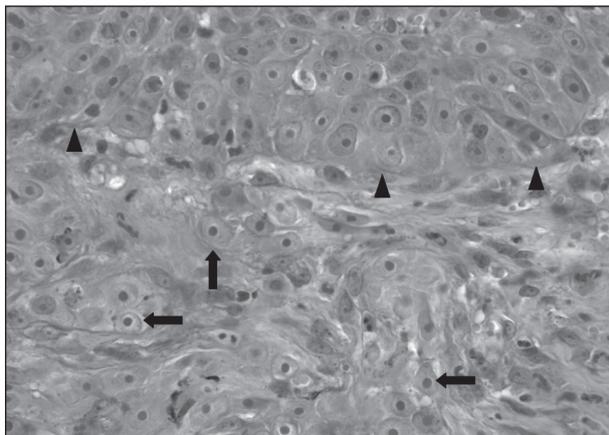


Abbildung 3: Invasiv im Korium wachsende neoplastische Epithelzellen eines Plattenepithelkarzinoms (Pfeile) in unmittelbarer Nachbarschaft zum MSCCa in situ mit intakter Basalmembran (Pfeilspitzen); PAS-Reaktion, Balken = 40 μm .

dig verdickt. Das Stratum spinosum bestand aus mehreren, irregulären Schichten dysplastischer Keratinozyten. Sie zeichneten sich durch eine polygonale Gestalt, einen Durchmesser von ca. 30 bis 50 μm , deutliche Zellgrenzen und prominente Interzellularbrücken aus. Ihr mäßig ausgebildetes Zytoplasma war eosinophil und homogen bis feingranuliert. Die großen, vesikulären, runden bis ovalen Kerne lagen zentral, zeigten feingranuläres Heterochromatin und enthielten 1 bis 2 prominente, magentafarbene Nukleoli. Es bestanden eine mittelgradige Anisozytose und Anisokaryose. Pro Gesichtsfeld bei hoher Vergrößerung wurden bis zu vier Mitosen in unterschiedlichen Schichten des veränderten Epithels beobachtet (Abb. 2). Weiterhin ließen sich disseminiert apoptotische Zellen finden (Abb. 2). Die Basalmembran stellte sich mittels PAS-Reaktion meist intakt dar, zeigte

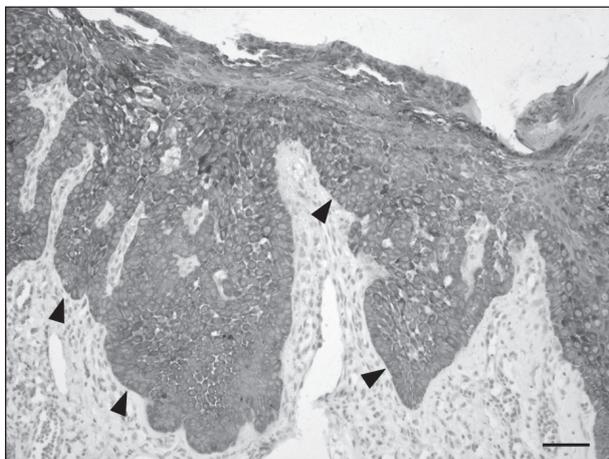


Abbildung 4: Expression von Zytokeratinen in neoplastischen Epithelzellen eines MSCCa in situ mit intakter Basalmembran (Pfeilspitzen); ABC-Methode, Gegenfärbung mit Hämalaun nach Mayer, Balken = 80 μm .

jedoch in einzelnen Lokalisationen eine Destruktion mit Infiltration von neoplastischen Zellen in das angrenzende Korium (Abb. 3). Zusätzlich lagen multifokal Erosionen, eine umschriebene Ulzeration mit perifokaler Infiltration von Entzündungszellen sowie eine geringgradige Fibrose des Koriums vor.

Immunhistologische Untersuchungen wurden unter Verwendung verschiedener, monoklonaler Antikörper mit der Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (ABC-) Methode durchgeführt (Döpke et al., 2007), die gegen das Tumorsuppressorgenprodukt p53 (Verdünnung 1:50), humane Zytokeratine (Klone AE1/AE3; Verdünnung 1:500; alle Dako, Hamburg) und gegen felines Leukosevirus (Verdünnung 1:200; Custom Monoclonals, USA) gerichtet sind. Der Zytokeratinnachweis führte zu einer deutlichen Markierung der die Basalmembran respektierenden neoplastischen Keratinozyten des MSCCa *in situ* (Abb. 4) sowie der invasiv wachsenden Epithelzellen des Plattenepithelkarzinoms (Abb. 5). Die Untersuchungen auf p53 und felines Leukosevirus verliefen negativ.

Zum molekularbiologischen Nachweis von Papillomaviren wurde eine nested PCR mit anschließender Sequenzierung durchgeführt (Munday et al., 2008). Dabei wurden zwei Primersets verwendet. In der ersten PCR wurden die Consensus-Primer FAP59/64 verwendet, die ein 480 bp-Fragment einer großen Gruppe von Papillomaviren erfasst. Die zweite PCR wurde mit den Primern JMPF/JMPR durchgeführt, die eine Gruppe von Papillomaviren erfasst, die bowenoide in-situ-Karzinome bei Katzen verursachen. So wurde ein 177 bp-Fragment generiert, das zur genauen Typisierung sequenziert wurde. Es handelte sich um ein Genomfragment des felinen Papillomavirus Typ 2, das in der Sequenzierung eine 100%ige Übereinstimmung mit der entsprechenden DNA-Sequenz in der Genbank (NCBI BLAST, Accession-Nr.: EU796884.1) aufwies.

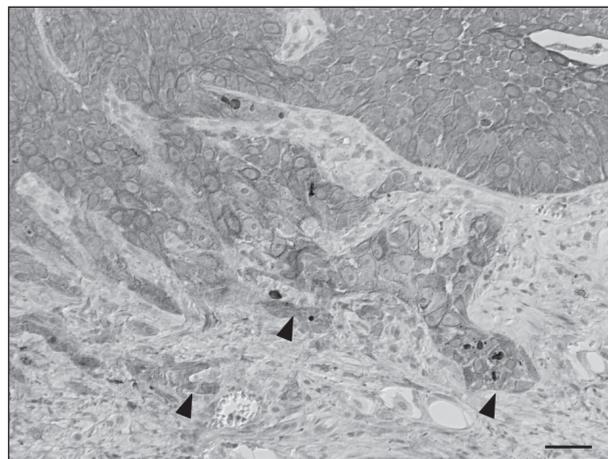


Abbildung 5: Expression von Zytokeratinen in neoplastischen Epithelzellen eines invasiv in das Korium wachsenden Plattenepithelkarzinoms (Pfeilspitzen); ABC-Methode, Gegenfärbung mit Hämalaun nach Mayer, Balken = 60 μm .

Diskussion

Die vorliegenden Befunde des Hautresektates bei dieser Katze sprechen für ein multizentrisches Plattenepithelkarzinom (MSCCa) *in situ* mit multifokalem Übergang zu einem Plattenepithelkarzinom und begleitender, subakuter, erosiver bis ulzerativer Dermatitis. Aufgrund der histologisch festgestellten Akanthose mit nur geringfügiger Hyperkeratose und schwach undulierender Oberfläche kann das MSCCa *in situ* im vorliegenden Fall dem unregelmäßigen, nicht-hyperkeratotischen Typ zugeordnet werden, der einer verrukösen, hyperkeratotischen Variante gegenübersteht (Baer und Helton, 1993). Histologisch wurden auch andere, differentialdiagnostisch wichtige Hauttumoren, wie das Basalzellkarzinom und das basosquamöse Karzinom ausgeschlossen, die zwar vorwiegend im Korium auftreten, jedoch auch Verbindungen zur Epidermis aufweisen können (Goldschmidt et al., 1998). Sichere Hinweise auf eine aktinische Keratose, die durch ausgeprägte Hyperkeratose, relativ wenig alterierte epidermale Architektur und eine Akkumulation von p53-Protein charakterisiert ist und auf einer UV-induzierten Pathogenese basiert, wurden nicht festgestellt. Ätiologisch wird eine Assoziation von feline MSCCa *in situ* mit einer Papillomavirus-Infektion diskutiert. Zwei Studien haben in 11 %, respektive 48 % der untersuchten Fälle Papillomavirusantigen immunhistologisch nachgewiesen (Wilhelm et al., 2006; Favrot et al., 2009). Durch Immunhistologie (Wilhelm et al., 2006) und PCR (Munday et al., 2008) wurde in der Mehrzahl der «feline viral plaques» Papillomavirus nachgewiesen. Mittels nested PCR gelang die Amplifikation von Papillomavirus-DNA auch in allen 20 untersuchten feline MSCCa *in situ* (Munday et al., 2008). Außerdem wurde bei drei Katzen mit einem MSCCa *in situ* virale DNA aus veränderten Hautbereichen isoliert, deren Amplifikation und Sequenzierung ein bisher unbekanntes felines Papillomavirus ergab, das als felines Papillomavirus Typ 2 bezeichnet wurde (Lange et al., 2009). Dieses Virus wurde auch im vorliegenden Fall nachgewiesen, allerdings lagen histologisch keine Hinweise auf Koilozyten vor, bei denen es sich um eine virusinduzierte Zellschädigung mit einem wenig gefärbten Zytoplasma, Kernpyknose und vereinzelt nukleären Einschlusskörperchen handelt. Andere Untersuchungen zeigten jedoch, dass 52 % der untersuchten Katzen eine asymptomatische Infektion mit felinem Papillomavirus Typ 2 aufwiesen (Munday und Witham, 2009). Allerdings bleibt unklar, ob dieses Virus ursächlich an der Pathogenese des MSCCa *in situ* beteiligt ist oder lediglich als «innocent bystander» eine Rolle spielt. Kürzlich wurde nachgewiesen, dass in nicht UV-exponierten Plattenepithelkarzinomen häufig felines Papillomavirus Typ 2 und gleichzeitig eine erhöhte Expression des onkogenen p16^{INK4A} Proteins nachweisbar ist, so dass damit die Hypothese einer viralen Ätiologie von «feline viral plaques», MSCCa *in situ* und Plattenepithelkarzinomen unterstützt wird (Munday et al., 2011). Ob

die Papillomavirusinfektion im vorgestellten Fall tatsächlich ursächlich für die Hautveränderung verantwortlich ist, bleibt unklar. Die Untersuchung von unveränderten Hautpartien des Patienten zum Nachweis einer Virusinfektion war nicht möglich.

Im beschriebenen Fall gab es vorberichtlich und immunhistologisch keine Hinweise auf eine Infektion mit felinem Leukosevirus (FeLV), und der Status bezüglich felinem Immundefizienzvirus (FIV) blieb unbekannt. Beide Virusinfektionen können mit einer systemischen Immunsuppression einhergehen und werden als prädisponierende Faktoren für MSCCa *in situ* diskutiert (Gross et al., 2005). Eine Untersuchung von 44 klinisch gesunden Katzen wiederum zeigte, dass eine Infektion mit Papillomaviren nicht signifikant mit einer FIV-Infektion assoziiert ist (Munday und Witham, 2009).

Die Prognose eines MSCCa *in situ* ist als vorsichtig zu bewerten. Ohne chirurgische Entfernung besteht die Gefahr der Progression zum Plattenepithelkarzinom, die auch in diesem Fall beobachtet wurde. Rezidive treten nach vollständiger, chirurgischer Resektion gewöhnlich nicht auf (Baer und Helton, 1993; Goldschmidt et al., 1998; Gross et al., 2005).

Das MSCCa *in situ* sollte differentialdiagnostisch bei Umfangsvermehrungen in der Haut von Katzen Beachtung finden. Allerdings sind eine exakte Diagnosestellung und eine ätiologische Aufarbeitung nur durch histologische, immunhistologische und molekularbiologische Untersuchungen möglich.

Dank

Frau B. Buck und Frau P. Grünig wird herzlich für die Durchführung der histologischen Arbeiten gedankt.

Literatur

- Baer K.E., Helton, K.: Multicentric squamous cell carcinoma *in situ* resembling Bowen's disease in cats. *Vet. Pathol.* 1993, 30: 535–543.
- Döpke C., Fehr M., Thiele A., Pohlenz J., Wohlsein P.: Morphological and immunohistochemical characterization of spontaneous mammary tumours in European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*). *J. Comp. Pathol.* 137:22–29.
- Favrot C., Welle M., Heimann H., Godson D.L., Guscetti F.: Clinical, histologic, and immunohistochemical analyses of feline squamous cell carcinoma *in situ*. *Vet. Pathol.* 2009, 46: 25–33.
- Ginn P.E., Mansell J.E.K.L., Rakich P.M.: Skin and appendages. In: Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Hrsg: M.G. Maxie, Saunders Elsevier, Edingburgh, 2007, 751–753.
- Goldschmidt M., Dunstan, R.W., Stannard, A.A.: Histological Classification of Epithelial and Melanocytic Tumors of the

Skin of Domestic Animals. American Registry of Pathology, US, 1998.

Gross T.L., Ihrke P.J., Walder E.J., Affolter V.K.: Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis, Blackwell science, United Kingdom, 2005.

Gross T.L.D., Brimacombe B.H.: Multifocal intraepidermal carcinoma in a dog histologically resembling Bowen's disease. Am. J. Dermatopathol. 1986, 8: 509–515.

Lange C., Tobler K., Markau T., Alhaidari Z., Bornand V., Stöckli R., Trüssel M., Ackermann M., Favrot C.: Sequence and classification of FdPV2, a papillomavirus isolated from feline Bowenoid *in situ* carcinomas. Vet. Microbiol. 2009, 137: 60–65.

Luppi M.M., Malta M.C.C., Costa M.E.L.T., Motta R.O.C., Santos R.L.: Multicentric squamous cell carcinoma in a paca (Agouti paca) resembling Bowen's disease. J. Zoo Wildl. Med. 2008, 39: 244–247.

Munday J.S., Kiupel M., French A.F., Howe L.: Amplification of papillomaviral DNA sequences from a high proportion of feline cutaneous *in situ* and invasive squamous cell carcinomas using a nested polymerase chain reaction. Vet. Dermatol. 2008, 19: 259–263.

Munday J.S., Witham A.I.: Frequent detection of papillomavirus DNA in clinically normal skin of cats infected and non infected with feline immunodeficiency virus. Vet. Dermatol. 2009, 21: 307–310.

Munday J.S., Gibson I., French A.F.: Papilloaviral DNA and increased p16DCKN2A protein are frequently present within feline cutaneous squamous cell carcinomas in ultraviolet-pro-

ected skin. Vet. Dermatol. 2011 Mar 10. doi: 10.1111/j.1365–3164.2011.00958.x. [Epub ahead of print].

Rodrigues A., Gates L., Payne H.R., Kiupel M., Mansell J.: Multicentric squamous cell carcinoma *in situ* associated with papillomavirus in a ferret. Vet. Pathol. 2010, 47: 964–968.

Wilhelm S., Degorce-Rubiales F., Godsan D., Favrot C.: Clinical, histological and immunohistochemical study of feline viral plaques and bowenoid *in situ* carcinomas. Vet. Dermatol. 2006, 17:424–431.

Korrespondenz

Dr. Peter Wohlsein
Institut für Pathologie
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17
DE-30559 Hannover
Tel.: + 49 (0)511 95 38 627
Fax: + 49 (0)511 95 38 675
E-Mail: peter.wohlsein@tiho-hannover.de

Manuskripteingang: 7. März 2011
Angenommen: 6. Juni 2011