

Forsvarsdato: 16.11.2016
Titel: Local immune response in cutaneous basal cell carcinoma
Forfatter: Silje Haukali Omland
Hovedvejleder: Robert Gniadecki
Afdeling: Dermatologisk afdeling, Bispebjerg Hospital
<p>Dansk Resume: Kutant basal celle karcinom (BCC) er en immunogen tumor, hvilket fremgår af den øgede risiko for udvikling af BCC hos immunsupprimerede patienter samt forekomsten af tumorinfiltrerende lymfocytter (TILs) i det omgivende tumorstroma. Immunterapi spiller en stadig større rolle i behandlingen af diverse cancerformer, mens immunterapiens rolle i behandlingen af BCC fortsat er begrænset. Der findes dog topikale immunstimulatorer godkendt til behandling af superficielle BCC.</p> <p>Hovedformålet med denne afhandling er at karakterisere det immunologiske respons, der ses i forbindelse med BCC samt at karakterisere det omgivende tumorstroma. Der blev benyttet følgende laboratorteknikker til at opnå det ønskede formål: immunhistokemi, immunfluorescens, qRT-PCR og next-generation sequencing (NGS).</p> <p><u>Mikromiljøet i og omkring BCC</u></p> <p>T-regs udgør ca. 5-10% af de perifere CD4 positive T-celler og op til 20% af T-cellerne i huden. I det raske individ spiller T-regs en afgørende rolle for opretholdelsen af immunologisk tolerance, mens T-regs for mange cancerformer medvirker til tumor vækst. Ved at undersøge forekomsten af T-regs i BCC ved hjælp af immunhistokemi viste studie I, at T-regs gennemsnitligt udgjorde 45% af de CD4 positive celler. Den øgede forekomst af T-regs blev bekræftet ved hjælp af qRT-PCR, der viste øget ekspresion af FoxP3 mRNA i BCC og i det peritumorale væv, mens der ikke var ekspresion i normal hud. T-regs ser altså ud til at spille en rolle ikke kun i selve tumor, men også i det omgivende tumorvæv.</p> <p>Tumormiljøet er afgørende for en tumors vækstpotentiale. Udover interaktion mellem immunsystemets celler og cancerceller er kommunikation med nogle af bindevævs celler, kaldet CAFs, ligeledes afgørende. CAFs er fibroblaster, der i forbindelse med cancerudvikling aktiveres og medvirker til tumorvækst. De karakteriseres ved at udtrykke særlige markører, der adskiller dem fra normale fibroblaster. Studie II viste, ved gen-sekventering af mRNA ved brug af NGS, øget ekspresion af CAF-markørerne P4H og PDGFR-β i BCC. Efterfølgende analyse med qRT-PCR bekræftede dette og viste desuden øget ekspresion af disse markører også i det peritumorale væv. Ved qRT-PCR fandtes desuden øget ekspresion af FAP-α ekspresion, men kun i BCC og ikke i det peritumorale væv. Der var ingen ekspresion af de tre CAF-markører i den raske hud fra ballerne. CAFs er altså i høj grad tilstede i BCC ligesom fibroblasterne i det tumorfri væv, der omgiver BCC også udtrykker nogle af disse CAF-markører. Fibroblasterne i det tumorfri væv, der omgiver BCC antager således en intermediær fænotype mellem almindelige fibroblaster i rask hud og CAFs i BCC. Denne intermediære fænotype kan være aktiveret af UV-medieret sekretion af IL6, da der fandtes tilsvarende høj ekspresion af IL6 i det peritumorale</p>

væv, ligesom tidligere studier har vist sammenhæng mellem UV-bestråling og CAF-medieret stigning i IL6 ekspression i pladecelle hudcancer.

Rekruttering af TILs til BCC

Ved analyse af mRNA-ekspressionsniveauet af kemokinerne CCL17, CCL18, CCL22 og CXCL12 ved hjælp af qRT-PCR fandtes øget ekspression både i BCC og i den peritumorale hud. Disse kemokiner er alle involveret i rekruttering af T-regs til tumorvæv, og tilstedeværelse af disse sammen med T-regs understøtter den aktive rekruttering af T-regs til BCC. I den normale balle-hud var der ingen ekspression af disse kemokiner. Ved hjælp af immunfluorescens undersøgelse fandtes korrelation mellem kemokinerne CCL17 og CXCL12 og CAF-markører, hvilket understreger en rolle for CAFs i rekrutteringen af T-regs til tumor-områder.

Effektivt immunologisk anti-tumor respons kan opnås ved klonal ekspansion af T-celler rettet mod tumor-antigener. Ved forekomst af klonal ekspansion, ville TCR repertoireet i BCC være begrænset sammenlignet med repertoireet i den omgivende hud. Sekventering af α -og β -kæderne i TCR'en i studie III viste, at TCR-repertoireet ikke var begrænset, men derimod at der var høj diversitet. Studiet viste desuden, at der ikke var specifik selektion af V(D)J gener, ligesom der ikke var tegn på selekteret parring af V eller J gener. Ligeledes blev det vist, at CDR3 længde distributionen var næsten ens ved sammenligning mellem BCC og peritumoralt væv. Samlet er der derfor intet der tyder på specifik antigen-initieret klon selektion. Dette er i tråd med det i studie I påviste fravær af immunologisk Th1, Th2 eller Th17 polarisering af lymfocytterne i BCC.

Konklusion

Med disse studier omhandlende det lokale immunrespons i forbindelse med BCC er det vist, at immunsystemet aktiveres ved BCC vækst, hvilket bekræfter BCC som værende en immunologisk tumor. Dette respons er dog ikke tumorspecifikt. Lokal tumorvækst favoriseres via opbygning af en beskyttende niche bestående af både T-regs og CAFs, der medvirker til at hæmme adækvat anti-tumor respons. I et klinisk perspektiv vil fremtidig forskning med henblik på optimering af immunterapi af BCC være af stor interesse, da det immunologiske respons mod BCC, er til stede, men supprimeres af lokale immundæmpende faktorer.