

Emberi daganatokat infiltráló immunsejtek funkcionális és prognosztikai jelentősége

Ladányi Andrea

Országos Onkológiai Intézet, Tumor Progressziós Osztály, Budapest

A mononukleáris infiltrátum jelenléte illetve mennyisége több tumortípus esetén prognosztikus jelentőségű. Különböző sejtpopulációk, elsősorban T-limfociták és dendritikus sejtek infiltrációja összefüggést mutatott a daganatok méretével, stádiumával, áttétképzésével, illetve a betegek túlélésével. Az egyes sejttípusok prognosztikai szerepének meghatározásában jelentősége van az infiltrátum lokalizációjának (intra- ill. peritumorális), a sejttípusnak, és egyes esetekben a tumor illetve a betegek jellemzőinek is. A különböző immunsejt-populációk szerepe az egyes daganattípusokon belül is esetenként ellentmondásos, ami részben sokrétű funkcióikból is adódhat, pl. a tumor-asszociált makrofágok immunológiai funkciójuk mellett az angiogenezis szabályozásában is részt vesznek. Az immunsejtek jelenléte emellett önmagában nem jelenti hatásos immunreakció kialakulását, s így az infiltráció mértéke sem utal egyértelműen az immunválasz erősségére. Ezért az utóbbi időben a funkcionális megközelítés szerepe nő, előtérbe került például a T-sejtek aktiváltsági állapotának, ill. jelátvitelben részt vevő molekuláik expressziójának vizsgálata. A tanulmányban az infiltráló sejtek prognosztikai jelentőségének összefoglaló elemzése mellett melanomán végzett saját vizsgálataink eredményét mutatjuk be. *Magyar Onkológia 48:49–56, 2004*

The presence of a mononuclear infiltrate has prognostic importance in a variety of human cancers. The infiltration by different cell types, mainly T lymphocytes and dendritic cells has been correlated to tumor size, stage, metastatization, and patients' survival. Their pathophysiological role is influenced by the cell types, their localization (intra- or peritumoral), and by tumor characteristics or patient subgroups. The prognostic significance of the different cell populations in the individual tumor types is frequently controversial, which is due, in part, to their multiple functions; for example, tumor-associated macrophages are involved in the regulation of angiogenesis beside their immunologic functions. Moreover, the presence of immune cells in the tumor does not guarantee the development of an efficient immune reaction, consequently, the degree of infiltration does not necessarily correlate with the intensity of the immune response. Therefore, recent studies emphasize the importance of the assessment of the functional and activation state of tumor infiltrating lymphocytes. Here we summarize results on the prognostic role of infiltrating mononuclear cells in human neoplasms, and present our data on studies performed on cutaneous malignant melanoma. *Ladányi A. Function and prognostic significance of immune cells infiltrating human tumors. Hungarian Oncology 48:49–56, 2004*



Bevezetés

A rosszindulatú daganatok gyakran tartalmaznak jelentős mennyiségű immunsejtet. A mononukleáris infiltrátum nagyrészt T-limfocitákból és makrofágokból, valamint kisebb számban jelenlevő dendritikus sejtekből, NK-sejtekből és B-limfocitákból tevődik össze. A felsoroltak közül a T-sejtek

és a dendritikus sejtek kulcsfontosságú szerepet játszanak a tumorok elleni immunválasz létrejöttében, míg a B-limfociták és NK-sejtek jelentősége vitatott, a makrofágok hatásával kapcsolatban pedig ellentmondásos eredmények láttak napvilágot.

A tumorokat infiltráló immunsejtek szerepe

T-limfociták

A daganatok elleni immunválaszban elsődlegesnek tekintett sejtközvetített immunitás indukciós és végrehajtási fázisában központi szerepet játszanak a CD4⁺ (helper) és CD8⁺ (citotoxikus) T-limfociták. Tumorspecifikus CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek egyaránt izolálhatók a legtöbb szolid daganat ún. tumor-infiltráló limfocitáiból (TIL). Több daganattípus esetén

Közlésre érkezett: 2003. XV. 18.
Elfogadva: 2004. II. 10.

Levelezési cím: Dr. Ladányi Andrea,
Országos Onkológiai Intézet,
1122 Budapest, Ráth Gy. u. 7-9. Tel.: 224-8600/1155,
Fax: 224-8706, E-mail: ladanyi@oncol.hu

A jelen közlemény a Biomedica Kft. támogatásával, a „Patológiai vizsgálatok az új évezredben” tárgyú szakmai továbbképző ülésen elhangzott előadás alapján készült.

kimutatható volt specifikus CD8⁺ sejtek szelektív expanziója a tumorban, ami valószínűleg immunválasz kialakulását jelzi (15, 52). Gyakran megfigyelhető ugyanakkor, hogy nagymértékű limfoid infiltráció ellenére a tumorok progrediálnak, tehát ez az immunreakció láthatóan nem képes a daganat növekedését hatékonyan gátolni. Ennek hátterében többféle mechanizmus állhat, így (többek között) a TIL szuboptimális aktiválódása a tumorantigének nem kielégítő szintű expressziója illetve prezentálása következtében, vagy a tumorsejtek és más, környezetükben levő gazdaszervezeti sejtek által immun-suppresszív anyagok termelése (39). Az emberi daganatokat infiltráló T-sejtek sokszor funkcionálisan sérültek, illetve válaszképtelenek, proliferációs, citokintermelési illetve citotoxici-tási képességük csökkent (2, 44). Kimutatták, hogy a tumorsejtek a specifikus T-sejtek klonális válaszképtelenségét idézhetik elő (5, 34). Számos daganattípus esetében a tumoron belül és a perifériás vérben a T-limfociták T-sejt-receptorhoz kapcsolt jelátviteli molekuláinak (CD3 ζ-lánc, ZAP70, p56lck, NF-κB) abnormális expresszióját írták le (73).

B-limfociták

Többnyire kis számban fordulnak elő a szolid tumorokban, és feltételezik, hogy az általuk termelt ellenanyagokon alapuló (humorális) immunitás szerepe másodlagos a daganatok elleni immunválasz létrehozásában. Kivételt képezhetnek bizonyos emlőrák-al típusok, melyekben igazolták a B-limfociták antigén hatására bekövetkező klonális proliferációját és szelektációját, ami B-sejtes immunreakció kialakulására utal (12, 50). Kérdéses azonban ennek hatása a betegség kimenetelére, valamint az anti-test-közvetített immunitás jelentősége más daganattípusokban. A B-sejtek antigénprezentáló funkciót is elláthatnak, de egyes kísérletek eredménye szerint ehhez megfelelő aktivációs jeleket kell kapniuk; nyugvó állapotban toleranciát idézhetnek elő (8). E folyamatoknak a tumorelles immunválaszban betöltött szerepe nem ismert.

NK-sejtek

Az NK-sejtek (natural killer, természetes ölősejtek) ritkán infiltrálják a primer daganatokat, és elsősorban a szisztémás védekezésben, a hematogén áttétek kialakulásának megelőzésében feltételezik szerepüket. A daganatsejtek elpusztításának fő mechanizmusa a perforin- illetve halálreceptor-közvetített citotoxicitás (63). Bizonyos, tumorsejtek által is szekretált immun-suppresszív citokinek (pl. TGF-β) a T-limfociták mellett az NK-sejtek működését is gátolják (6, 39, 63), és a jelátvitelben résztvevő CD16 ζ-lánc csökkent expresszióját írták le daganatos betegek keringő és tumor-infiltráló NK-sejtjeiben (47).

Dendritikus sejtek

A dendritikus sejtek (DC) a leghatékonyabb ún. professzionális antigénprezentáló sejtek. A daganatsejtekből származó antigének feldolgozása,

ezek peptid epitópjainak a CD4⁺ és CD8⁺ T-limfociták számára való tállása révén kiemelkedő jelentőségűek az immunválasz elindításában, emellett kostimulációs molekulák és citokinek (pl. IL-12) révén is fokozzák annak hatékonyságát. A csontvelői prekurzor- vagy monocita-eredetű éretlen dendritikus sejtek a perifériás szövetekben az antigénnel való találkozás, valamint citokinek és gyulladásos mediátorok hatására végbemenő érési folyamat során válnak alkalmassá arra, hogy a nyirokcsomókba vándorolva az antigénfragmentumokat a T-sejtek számára bemutassák, és azokat stimulálják. A DC-érést kiváltó hatás hiányában azonban immunválasz helyett toleranciát idézhetnek elő, amit daganatos betegek esetében is leírtak (16). A dendritikus sejtek érését gátolhatják, sőt apoptózist is kiválthatják egyes, tumorsejtek által is termelt citokinek (pl. VEGF, TGF-β) (17, 18).

Makrofágok

A dendritikus sejtekhez hasonló módon (bár kisebb hatékonysággal) a makrofágok is rendelkeznek antigénprezentáló funkcióval. Emellett – aktivált állapotban – közvetlen tumorsejttől hatást is kifejthetnek különböző toxikus anyagok termelésén keresztül (pl. TNF-α, NO, H₂O₂) (38, 42). Ezeket a „pozitív” tulajdonságokat azonban ellensúlyozzák olyan „negatív” hatások, melyek inkább a daganat progresszióját segítik elő. Immun-suppresszív anyagok kibocsátása révén gátolhatják az immunreakció kialakulását (28), a vérárvadási rendszer aktiválásán és proteázok termelésén keresztül pedig a tumorsejtek inváziójában és áttétképzésében játszhatnak szerepet (38). Emellett a tumornövekedést stimulálhatják részint közvetlenül, a sejtosztódást fokozó növekedési faktorok (pl. EGF, PDGF, bFGF, IGF-I) szekréciójával, részint az angiogenezist serkentő faktorok, citokinek (bFGF, VEGF, GM-CSF, IL-1, IL-8, stb.) kibocsátása révén (38, 66).

Granulociták

A granulociták közül elsősorban az eozinofileknek tulajdonítanak jelentőséget a tumorok elleni védekezésben. Ebben feltételezik az általuk termelt citotoxikus anyagok (pl. MBP – major basic protein –, TNF-α, IL-1, TGF-β), illetve más effektor sejtek aktiválásának szerepét, a pontos mechanizmus azonban nem ismert. A daganatok elleni immunválaszban játszott szerepüket valószínűsíti az is, hogy különböző immunterápiás beavatkozásokat követően a tumorok infiltrátumában – más immunsejtek, mint pl. T-limfociták mellett – eozinofil granulociták akkumulációját figyelték meg (19, 64).

A tumorokat infiltráló sejtek prognosztikai jelentősége

Limfociták

Bár a limfoid infiltrátum jelenlétét a gazdaszervezet tumor elleni immunreakciója megnyilvánulásának tartják, a tumor-infiltráló limfociták patofi-

ziológiai jelentősége nem teljes mértékben tisztázott. A TIL jelenléte ill. mennyisége és a tumor mérete, stádiuma, valamint a betegek túlélése között több daganattípus esetében összefüggést találtak. Így vastag- és végbélrákokban (276 eset) fordított korrelációt mutattak ki a TIL-denzitás és a Dukes' stádium között, és az intenzív infiltráció hosszabb túléléssel járt együtt (58). Ugyancsak prognosztikai értékű volt a limfocita-infiltráció prosztata- (325 eset) és gyomorrákban (324 eset) (13, 71). Ezzel szemben egy veserákkal foglalkozó tanulmányban (166 eset) nem találtak ilyen összefüggést (70), egy másikban (221 eset) pedig a nagyszámú TIL rossz prognózt jelentett (48). Több vizsgálat arra az eredményre vezetett, hogy a limfoid infiltráció általában véve nem mutat korrelációt a túléléssel, csak akkor mutatkozik meg a hatása, ha különbséget tesznek a limfociták típusára, lokalizációjára, a tumor jellemzőire, vagy a betegek csoportjaira nézve. Emlőrákoknál pl. csak a gyorsan proliferáló tumorok esetében (489 beteg), illetve 40 évesnél fiatalabb betegekben (1919 eset) találtak összefüggést (1, 43), míg tüdőrákban a limfociták közül csak az intratumorális T-sejtek mennyisége bírt prognosztikai jelentőséggel (összesen 710 eset, T-sejtekre vizsgált 95) (27). Melanomák esetében ellentmondásos a szakirodalom: számos, nagy betegszámra támaszkodó vizsgálat eredménye azt mutatta, hogy az erőteljes limfoid infiltráció, különösen, ha a tumor ún. vertikális növekedési fázisát (VGP) infiltráló sejteket vették csak figyelembe, jó prognózisa utaló független paraméter (9, 10, 65), mások azonban nem találtak szignifikáns összefüggést, vagy a limfoid infiltráció nem független prognosztikai markernek bizonyult (4, 69).

T-sejtek és szubpopulációik

A T-limfociták és ezek alcsoportjai prognosztikai szerepének tanulmányozása egyes rájuk jellemző sejtfelszíni antigének (CD3 – összes T-sejt, illetve a leggyakrabban vizsgált szubpopulációk: CD4 – helper, ill. CD8 – citotoxikus T-sejtek markere) detektálásán alapuló immunhisztokémiai (ritkábban flow citometriai) technikával történt. A vizsgálatokból nem vonhatók le általános érvényű következtetések. A CD3⁺ T-limfociták jelenléte a tumorsejtszigeteken belül jelentős túlélési előnnyel járt petefészekrákban (174 eset) (74). Ugyancsak az intratumorális T-sejtek szerepére utalt tüdőrákos betegek esetében a már említett tanulmány, ezen belül azonban a CD8⁺ populáció nem befolyásolta a túlélést (27); hasonló eredményre vezetett egy másik, tüdőrákban CD8⁺ sejtek szerepére vonatkozó vizsgálat (128 eset) (45). Colorectalis carcinomáknál (131 eset) a tumorsejt-szigeteket infiltráló CD8⁺ T-limfociták száma bizonyult prognosztikus markernek (46). Nyelöcsőrákban (106 eset) ugyanakkor a CD8⁺ T-sejtek denzitása nem befolyásolta a túlélést (60), veserákban pedig (221 eset) mind a peritumorális CD4⁺ és CD8⁺ T-limfociták, mind az intratumorális CD8⁺ sejtek száma fordított korrelációt mutatott a betegek túlélésével (48).

A T-limfociták funkcionális aktivitásának vizsgálata

A tumorokat infiltráló T-sejtek prognosztikai jelentőségével kapcsolatos, ellentmondásos eredmények egyik magyarázata az lehet, hogy az immunsejtek jelenléte önmagában nem jelenti hatásos immunválasz létrejöttét, s így az infiltráció mértéke sem utal egyértelműen az immunválasz erősségére. Fontos lenne ezért a tumorokat infiltráló immunsejtek funkcionális és aktiváltsági állapotát is jellemezni, s ennek prognosztikai célú alkalmazhatóságát értékelni, mégis csak kevés ilyen irányú vizsgálatról számoltak be. Az említett, veserákkal foglalkozó tanulmányban, amelyben a nagy mennyiségű, tumort infiltráló CD8⁺ T-sejt negatív prognosztikai markerként viselkedett, ugyanezen sejtek fokozott proliferációs aktivitása (a Ki-67 proliferációs antigént kifejező CD8⁺ limfociták magas száma) kedvező prognózis jele volt (48). Előrehaladott szájüregi carcinomában (138 eset) illetve gyomorrákban (185 eset) szenvedő betegekben a T-sejt-receptor jelátvitelében szerepet játszó CD3 ζ-lánc hiánya vagy csökkent expressziója rövidebb túléléssel járt együtt (23, 55). A T-limfociták aktiváltsági állapotának lemérésére alkalmasak a különböző T-sejt-aktivációs markerek. Ezek közül a CD25 (IL-2-receptor-α) általában a tumorokat infiltráló limfocitáknak csak kis részén jelenik meg, és a sejtosztódást szabályozó receptorként a T-sejtek működésében is kiemelten fontos szerepe van. E sajátosságai révén hasznos markernek bizonyulhat prognosztikai szempontból, eddig azonban inkább csak immunterápiás protokollok hatásának előrejelzésére illetve monitorozására használták néhány vizsgálatban (41, 62). Újabb, még kihasználatlan, ám igen specifikus T-sejt-aktivációs marker az OX40 (CD134), mely a frissen aktivált, elsősorban CD4⁺ T-limfocitákon jelenik meg. Jelenlétét daganatokban is kimutatták (51, 54, 72), és colorectalis carcinomában szemikvantitatív vizsgálattal a betegek túlélésével való összefüggést állapítottak meg (51).

B-limfociták és plazmasejtek

Minthogy általában a daganatokat infiltráló mononukleáris sejteknek csak kisebb hányadát alkotják és tumorelles aktivitásuk is vitatott, kevés vizsgálat foglalkozott az B-sejtek prognosztikai jelentőségével. A medulláris emlőrákoknak a többi emlőráktípushoz viszonyított kedvező klinikai kimenetelét részben a kifejezettebb B- ill. plazmasejtes infiltrációnak tulajdonítják (12, 50, 57). Tüdőrákokban ezzel szemben (95 eset) a B-sejtek mennyisége nem befolyásolta a betegek túlélését (27). Bár több szerző szerint melanomában elenyésző ezen sejtek száma, a tumorok egy kisebb hányadában azért jelentős B-sejtes ill. plazmasejtes infiltráció figyelhető meg, s ennek prognosztikai relevanciáját is igazolták (40).

NK-sejtek

Hasonlóan a B-sejtekhez, viszonylag kevés tanulmány látott napvilágot a tumorokat infiltráló NK-

sejtek prognosztikai szerepére vonatkozóan. A szignifikáns NK-sejtes infiltráció colorectalis carcinoma (157 beteg), gyomor- (145 beteg) és tüdőrák (150 beteg) esetében jó prognózist jelzett (11, 24, 67).

Dendritikus sejtek

A fokozott DC-infiltráció a legtöbb vizsgált daganattípus esetében összefüggést mutatott a tumorstádiummal illetve a betegek túlélésével. Colorectalis carcinomában (121 eset), nyelőcső- (203 eset) és gyomorrákban (165 ill. 120 eset) éppúgy a kedvező prognózis jele volt, mint szájüregi carcinomákban (132 eset) és tüdőrákban (88 ill. 132 eset) (3, 20-22, 27, 56, 59). Emlőrák esetében (143 beteg) ilyen összefüggést nem állapítottak meg, sőt, nagyobb számú dendritikus sejtet találtak az előrehaladott, nagyobb méretű, illetve a nyirokcsomóáttétet adó tumorokban (36). Az érett DC-re jellemző CD83 markert hordozó sejtek emelkedett denzitása azonban hosszabb relapszusmentes-, valamint teljes túléléssel járt együtt (130 eset) (26). A DC-szám több tumortípus esetében fordítottan korrelált a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) expressziójával, mely – angiogenezist serkentő funkciója mellett – a dendritikus sejtek fejlődését, érését és működését is gátolja (20, 26, 59). Melanomában egy szemikvantitatív vizsgálat kimutatta, hogy vastagabb daganatokban ritkábban fordul elő nagy mennyiségű DC (7), ám ezek prognosztikai értéke nem ismert.

Makrofágok

A daganatok növekedése és progressziója szempontjából nézve igen ellentmondásos aktivitásuk ismeretében nem meglepő, hogy a tumor-asszociált makrofágok mennyiségének prognosztikai szerepe sem egyértelmű, az egyes tumortípusokban igen eltérő eredmények születtek. Míg prosztaták esetében (81 beteg) a makrofágok csökkent száma korrelált a tumorstádiummal és a nyirokcsomóáttét kialakulásával, és a rossz prognózis jele volt (61), addig veserákban (166 eset) nem találtak összefüggést a betegek túlélésével (70). Számos vizsgálatban pedig a fokozott makrofáginfiltráció rövidebb túléléssel járt együtt, így invazív emlőrák (91 beteg), tüdő-adenocarcinoma (113 beteg), gyomorrák (97 beteg), illetve uveális melanoma (139 beteg) esetén (25, 35, 37, 68). A makrofágok száma általában arányos volt a daganatok érdenzitásával (35, 37, 68), ami arra utal, hogy az angiogenezis serkentése állt a makrofágok hatása hátterében. Kiegészítő mechanizmusként felmerült a tumort infiltráló T-sejtekben a CD3 ζ -lánc csökkent expressziója is (25).

Granulociták

A granulociták jelenlétének prognosztikai vonatkozásait viszonylag kevés daganattípus esetében tanulmányozták. A nagymértékű eozinofil-infiltrációt kedvező prognózisra utaló tényezőnek ta-

lálták gyomorrákban (324 eset), colorectalis carcinomában (584 eset), valamint szájüregi lap-hámrákban (125 eset) (13, 14, 49).

A tumor-infiltráló sejtek vizsgálata melanomában – összefüggés a tumorprogresszióval

A bőr malignus melanomáját infiltráló sejtek prognosztikai szerepének tanulmányozása túlnyomórészt a limfociták mennyiségi meghatározására korlátozódott. Néhány munkában beszámoltak ugyan a dendritikus sejtek, makrofágok és egyes T-sejt-szubpopulációk denzitásának a tumorvastagsággal történő összefüggéseiről (7), ezek prognosztikai vonatkozásait azonban nem tárgyalták. Az elmúlt néhány évben primer bőr melanomán végzett vizsgálatainkban a mononukleáris infiltrátum összetételét tanulmányoztuk különböző progressziós stádiumból származó, formalinban rögzített, paraffinba ágyazott tumormintákon immunhisztokémiai módszerrel. Az egyes sejtípusok arányát szemikvantitatívan, illetve néhány kiemelt sejtípus (dendritikus sejtek és aktivált T-limfociták) esetén kvantitatívan értékeltük, s elemeztük ezek összefüggését a tumorok vastagságával, áttétképző képességével, és a betegek túlélésével.

A mononukleáris infiltrátum összetételének vizsgálata

A legtöbb szolid daganathoz hasonlóan a melanoma sejtes infiltrátumát is nagyrészt T-limfociták és makrofágok, valamint kisebb számban előforduló dendritikus sejtek, B-limfociták és NK-sejtek alkotják (53). Mintáinkban az egyes sejtípusokra jellemző marker antigéneket (CD1a: Langerhans/dendritikus sejt; CD68: monocita/makrofág; CD3: T-limfocita, CD8: citotoxikus-, CD45R0: memória T-sejt; CD20: B-limfocita) hordozó sejteket jelöltük, majd ezek relatív mennyiségét elemeztük. A vizsgált (88 db) primer melanoma mintában a dendritikus sejtek, makrofágok és limfoid sejtek infiltrációja a tumorvastagság növekedésével párhuzamosan csökkent. Az utóbbiak közül a tumorok többségében – az irodalmi adatokkal egyezően – a T-limfociták domináltak, azonban nagyfokú B-sejtes infiltráció is megfigyelhető volt több melanoma mintában (29, 30).

A dendritikus sejtek infiltrációjának kvantitatív elemzése

A mononukleáris infiltrátum sejtes összetevői közül legmarkánsabbnak a dendritikus sejtek előfordulásának különbsége tűnt, ezért ezen sejtek denzitását kvantitatívan is kiértékeltek, a dendritikus sejteket lokalizációjuk alapján is megkülönböztetve (a melanoma-sejtfészkeket infiltráló – intratumorális, illetve a tumorokat körülvevő infiltrátumban megjelenő – peritumorális DC-k) (1. ábra). Mindkét lokalizációban megfigyelhető volt, hogy a CD1a⁺ dendritikus sejtek mennyisége a tumorvastagság növekedésével csökkent (2.

ábra) (31). Az áttétet nem adó daganatokban magasabb volt a dendritikus sejtek száma, mint a metasztatizáló tumorokban. Ez azonban a tumorvastagsággal való fordított korreláció eredménye, és a különbség eltűnt, ha a legvékonyabb melanomák csoportját (≤ 1 mm) a vizsgálatból kihagytuk, azaz a DC-szám nem annyira a metasztatizáló képességgel, mint a daganatok vastagságával függött össze. A nagymértékű peritumorális DC-infiltráció túlélési előnnyel is járt (78% vs. 54%), azonban ha a vékony melanomákat nem vesszük figyelembe, a különbség itt sem szignifikáns. Ez azt jelenti, hogy a vizsgálat szerint a dendritikus sejtek denzitása nem alkalmazható prognosztikus faktorként, minthogy hatása a tumorvastagság függvénye, és a középvastag-vastag kategóriákban, ahol a legbizonytalanabb a betegség kimenetele, nem ad e tekintetben használható információt.

A T-sejtek aktiváltsági állapotának vizsgálata

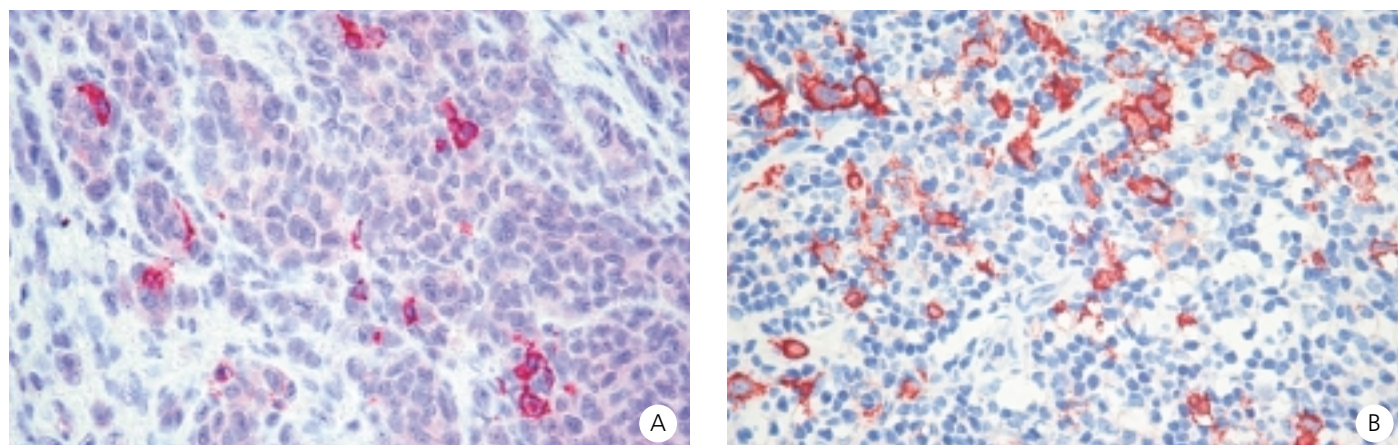
A melanomát infiltráló T-sejtek aktivációs állapotának meghatározását két marker antigén, a CD25 (IL-2-receptor- α) és a CD134 (OX40) kimutatása alapján végeztük el (3. ábra). Mindkét mar-

ker megjelenési gyakorisága a peritumorális infiltrátumban a nem metasztatikus vagy csak regionális nyirokcsomóáttétet adó tumorok esetében magasabb volt a szervi áttétet (is) adóknál. Azok a betegek, akiknek daganatát nagyfokú peritumorális CD25⁺ illetve OX40⁺ limfocitás infiltráció jellemezte, szignifikánsan hosszabb túlélési idővel rendelkeztek, mint azok, akiknél ezen sejtek denzitása alacsony volt (4. ábra). A két marker tehát prognosztikai faktorként alkalmazható melanomás betegekben (31-33).

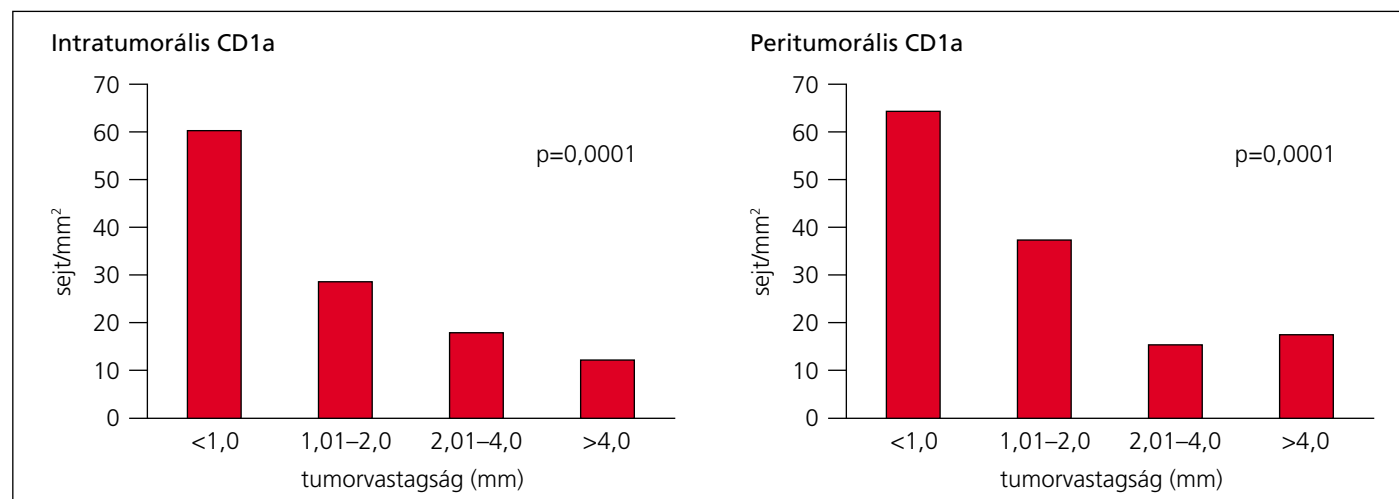
Konklúzió

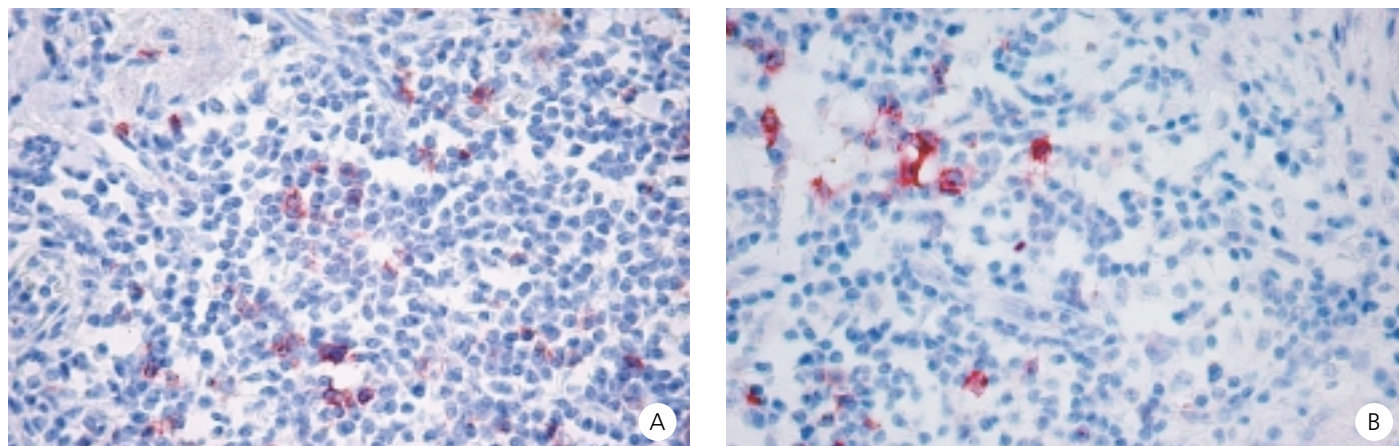
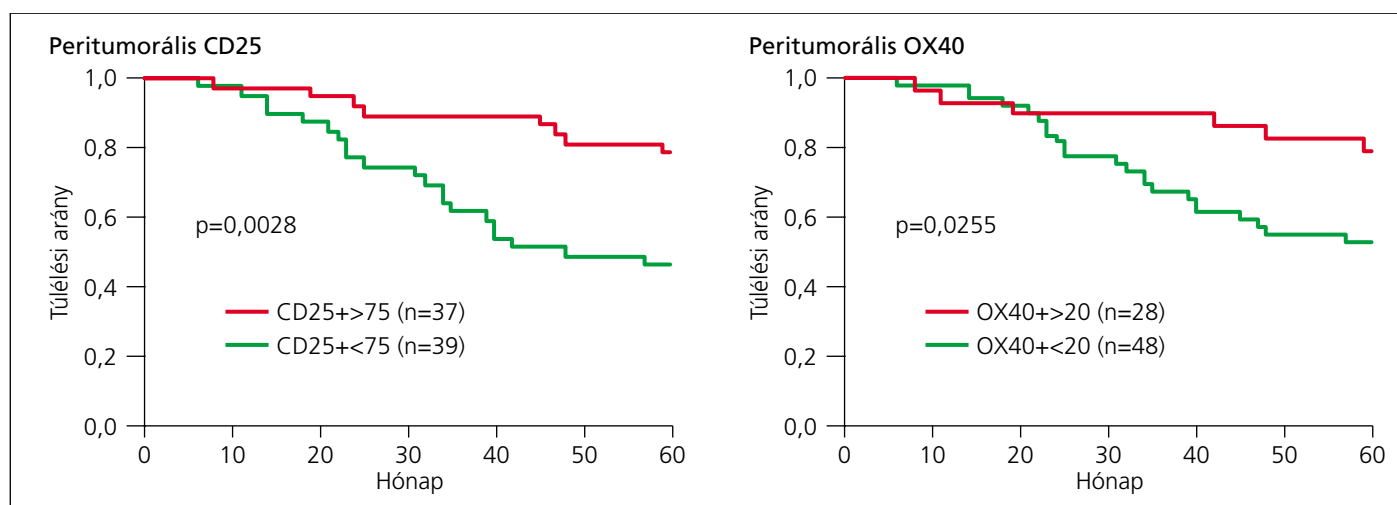
A mononukleáris infiltrátum különböző sejtpopulációinak infiltrációja összefüggést mutatott a daganatok méretével, stádiumával, áttétképzésével, illetve a betegek túlélésével. Általános következtetés nem vonható le; jelentősége van az infiltrátum lokalizációjának (intra- ill. peritumorális), a sejtípusnak, és egyes esetekben a tumor jellemzőinek is. A különböző immunsejt-populációk szerepe az egyes daganattípusokon belül is esetenként ellentmondásos, ami részben sokrétű funkcióikból is adódhat, pl. a tumor-asszociált makrofágok immunológiai funkciójuk mellett az angiogenezis szabályozásában is részt vesznek. A

1. ábra. Intratumorális (A) ill. peritumorális (B) CD1a⁺ dendritikus sejtek melanomában (magfestés: kék; CD1a: piros színreakció)



2. ábra. CD1a⁺ dendritikus sejtek számának összefüggése a melanomák vastagságával (átlag; n=77)



3. ábra. Peritumorális CD25⁺ (A) ill. OX40⁺ (B) limfociták melanomában (magfestés: kék; CD25 ill. OX40: piros színreakció)4. ábra. Melanomás betegek Kaplan-Meier túlélési görbéje az aktivált T-limfociták (CD25⁺ ill. OX40⁺) peritumorális infiltrációjának intenzitása szerinti csoportosításban (n = 76; ref. 32)

dendritikus sejtek infiltrációjának tanulmányozása tűnik a legígéretesebbnek, minthogy a legtöbb tumortípusban egyértelmű összefüggés mutatható ki a betegek túlélésével. A T-limfociták szerepe már kevésbé egyöntetű; ennek egyik oka az lehet, hogy jelenlétük önmagában nem jelenti hatásos immunreakció kialakulását, s így az infiltráció mértéke sem utal egyértelműen az immunválasz erősségére. Fontos ezért a T-sejtek funkcionális illetve aktiváltsági állapotának vizsgálata.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom a bőrgyógyász kollégáknak (Dr. Somlai Beáta, Dr. Gilde Katalin és Dr. Fejős Zsuzsanna) a beteganyaggal kapcsolatos információk rendelkezésre bocsátásáért, Gaudi Istvánnak a statisztikai elemzésben nyújtott segítségért, valamint Dr. Kiss Juditnak, Parragné Derecskei Katalinnak és Piurkó Violetának az immunhisztokémiai reakciók kivitelezéséért.

A munkát az ETT 444/2000 és ETT 308/2003 támogatásával végeztem.

Irodalom

1. Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, et al. Lymphocyte infiltrates as prognostic variable in female breast cancer. *Eur J Cancer* 28A: 859-864, 1992
2. Alexander JP, Kudoh S, Melsop KA, et al. T-cells infiltrating renal cell carcinoma display a poor proliferative response even though they can produce interleukin 2 and express interleukin 2 receptors. *Cancer Res* 53: 1380-1387, 1993
3. Ambe K, Mori M, Enjoji M. S-100 protein-positive dendritic cells in colorectal adenocarcinomas. *Cancer* 63: 496-503, 1989
4. Barnhill RL, Fine JA, Roush GC, Berwick M. Predicting five-year outcome for patients with cutaneous melanoma in a population-based study. *Cancer* 78: 427-432, 1996
5. Becker JC, Brabletz T, Czerny C, et al. Tumor escape mechanisms from immunosurveillance: induction of unresponsiveness in a specific MHC-restricted CD4⁺ human T cell clone by the autologous MHC class II⁺ melanoma. *Internat Immunol* 5: 1501-1508, 1993
6. Bellone G, Aste-Amezaga M, Trinchieri G, Rodeck U. Regulation of NK cell functions by TGF-β1. *J Immunol* 155: 1066-1073, 1995
7. Bröcker EB, Zwadlo G, Holzmann B, et al. Inflammatory cell infiltrates in human malignant melanoma at different stages of tumor progression. *Int J Cancer* 41: 562-567, 1988
8. Buhlmann JE, Foy TM, Aruffo A, et al. In the absence of a CD40 signal, B cells are tolerogenic. *Immunity* 2: 645-653, 1995

9. Clark WH Jr, Elder DE, Guerry D IV, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 81: 1893-1904, 1989
10. Clemente CG, Mihm MC Jr, Bufalino R, et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer* 77: 1303-1310, 1996
11. Coca S, Perez-Piqueras J, Martinez D, et al. The prognostic significance of intratumoral natural killer cells in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 79: 2320-2328, 1997
12. Coronella JA, Tellemann P, Kingsbury GA, et al. Evidence for an antigen-driven humoral immune response in medullary breast cancer. *Cancer Res* 61: 7889-7899, 2001
13. Cuschieri A, Talbot IC, Weeden S; MRC Upper GI Cancer Working Party. Influence of pathological tumour variables on long-term survival in resectable gastric cancer. *Br J Cancer* 86: 674-679, 2002
14. Dorta RG, Landman G, Kowalski LP, et al. Tumour-associated tissue eosinophilia as a prognostic factor in oral squamous cell carcinomas. *Histopathology* 41: 152-157, 2002
15. Echchakir H, Vergnon I, Dorothee G, et al. Evidence for in situ expansion of diverse antitumor-specific cytotoxic T lymphocyte clones in a human large cell carcinoma of the lung. *Int Immunol* 12: 537-546, 2000
16. Enk AH, Jonuleit H, Saloga J, Knop J. Dendritic cells as mediators of tumor-induced tolerance in metastatic melanoma. *Int J Cancer* 73: 309-316, 1997
17. Esche C, Lokshin A, Shurin GV, et al. Tumor's other immune targets: dendritic cells. *J Leukoc Biol* 66: 336-344, 1999
18. Gabrilovich DI, Chen HL, Girgis KR, et al. Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nature Med* 2: 1096-1103, 1996
19. Huland E, Huland H. Tumor-associated eosinophilia in interleukin-2-treated patients: evidence of toxic eosinophil degranulation on bladder cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 118: 463-467, 1992
20. Inoshima N, Nakanishi Y, Minami T, et al. The influence of dendritic cell infiltration and vascular endothelial growth factor expression on the prognosis of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 8: 3480-3486, 2002
21. Ishigami S, Aikou T, Natsugoe S, et al. Prognostic value of HLA-DR expression and dendritic cell infiltration in gastric cancer. *Oncology* 55: 65-69, 1998
22. Ishigami S, Natsugoe S, Matsumoto M, et al. Clinical implications of intratumoral dendritic cell infiltration in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 10: 1237-1240, 2003
23. Ishigami S, Natsugoe S, Tokuda K, et al. CD3- ζ chain expression in intratumoral lymphocytes is closely related to survival in gastric carcinoma patients. *Cancer* 94: 1437-1442, 2002
24. Ishigami S, Natsugoe S, Tokuda K, et al. Prognostic value of intratumoral natural killer cells in gastric carcinoma. *Cancer* 88: 577-583, 2000
25. Ishigami S, Natsugoe S, Tokuda K, et al. Tumor-associated macrophage (TAM) infiltration in gastric cancer. *Anticancer Res* 23: 4079-4084, 2003
26. Iwamoto M, Shinohara H, Miyamoto A, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating dendritic cells expressing CD83 in human breast carcinomas. *Int J Cancer* 104: 92-97, 2003
27. Johnson SK, Kerr KM, Chapman AD, et al. Immune cell infiltrates and prognosis in primary carcinoma of the lung. *Lung Cancer* 27: 27-35, 2000
28. Kono K, Salazar-Onfray F, Petersson M, et al. Hydrogen peroxide secreted by tumor-derived macrophages down-modulates signal-transducing zeta molecules and inhibits tumor-specific T cell- and natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Eur J Immunol* 26: 1308-1313, 1996
29. Ladányi A, Kiss J, Somlai B, et al. Immune phenotype of tumor cells and infiltrating cells in human melanoma. *J Tumor Marker Oncol* 14: 61-62, 1999
30. Ladányi A, Kiss J, Somlai B, et al. Tumor antigen expression and distribution of infiltrating cells in primary human melanoma. *Proc Amer Assoc Cancer Res* 41: 511, 2000
31. Ladányi A, Somlai B, Gilde K, et al. Dendritic cells and activated T cells in cutaneous malignant melanoma. *Proc Amer Assoc Cancer Res* 44: 886, 2003
32. Ladányi A, Somlai B, Gilde K, et al. T-cell activation marker expression on tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic factor in cutaneous malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 10: 521-530, 2004
33. Ladányi A, Somlai B, Gilde K, et al. T-cell activation markers on lymphocytes infiltrating human cutaneous melanoma. *Rev Oncol* 4(Suppl 1): 126-127, 2002
34. Lee PP, Yee C, Savage PA, et al. Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients. *Nature Med* 5: 677-685, 1999
35. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, et al. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 56: 4625-4629, 1996
36. Lespagnard L, Gancberg D, Rouas G, et al. Tumor-infiltrating dendritic cells in adenocarcinomas of the breast: A study of 143 neoplasms with a correlation to usual prognostic factors and to clinical outcome. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 84: 309-314, 1999
37. Makitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivela T. Tumor-infiltrating macrophages (CD68⁺ cells) and prognosis in malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42: 1414-1421, 2001
38. Mantovani A, Bottazzi B, Colotta F, et al. The origin and function of tumor-associated macrophages. *Immunol Today* 13: 265-270, 1992
39. Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ, Ferrone S. Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance. *Adv Immunol* 74: 181-273, 2000
40. Mascaro JM, Molgo M, Castel T, Castro J. Plasma cells within the infiltrate of primary cutaneous malignant melanoma of the skin. A confirmation of its histoprognostic value. *Am J Dermatopathol* 9: 497-499, 1987
41. Maxwell-Armstrong CA, Durrant LG, Robins RA, et al. Increased activation of lymphocytes infiltrating primary colorectal cancers following immunisations with the anti-idiotypic monoclonal antibody 105AD7. *Gut* 45: 593-598, 1999
42. McBride WH. Phenotype and functions of intratumoral macrophages. *Biochim Biophys Acta* 865: 27-41, 1986
43. Ménard S, Tomasic G, Casalini P, et al. Lymphoid infiltration as a prognostic variable for early-onset breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 3: 817-819, 1997
44. Miescher S, Whiteside TL, Carrel S, von Flidner V. Functional properties of tumor-infiltrating and blood lymphocytes in patients with solid tumors: effects of tumor cells and their supernatants on proliferative responses of lymphocytes. *J Immunol* 136: 1899-1907, 1986
45. Mori M, Ohtani H, Naito Y. Infiltration of CD8⁺ T cells in non-small cell lung cancer is associated with dedifferentiation of cancer cells, but not with prognosis. *Tohoku J Exp Med* 191: 113-118, 2000
46. Naito Y, Saito K, Shiiba K, et al. CD8⁺ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res* 58: 3491-3494, 1998
47. Nakagomi H, Petersson M, Magnusson I, et al. Decreased expression of the signal-transducing ζ chains in tumor-infiltrating T-cells and NK cells of patients with colorectal carcinoma. *Cancer Res* 53: 5610-5612, 1993
48. Nakano O, Sato M, Naito Y, et al. Proliferative activity of intratumoral CD8⁺ T-lymphocytes as prognostic factor in human renal cell carcinoma: clinicopathologic demonstration of antitumor immunity. *Cancer Res* 61: 5132-5136, 2001
49. Nielsen HJ, Hansen U, Christensen IJ, et al. Independent prognostic value of eosinophil and mast cell infiltration in colorectal cancer tissue. *J Pathol* 189: 487-495, 1999
50. Nzula S, Going JJ, Stott DI. Antigen-driven proliferation, somatic hypermutation, and selection of B lymphocytes infiltrating human ductal breast carcinoma. *Cancer Res* 63: 3275-3280, 2003

51. Petty JK, He K, Corless CL, et al. Survival in human colorectal cancer correlates with expression of the T-cell costimulatory molecule OX-40 (CD134). *Am J Surg* 183: 512-518, 2002
52. Pissarra P, Mortarini R, Salvi S, et al. High frequency of T cell clonal expansions in primary human melanoma. Involvement of a dominant clonotype in autologous tumor recognition. *Cancer Immunol Immunother* 48: 39-46, 1999
53. Ralfkiaer E, Hou-Jensen K, Gatter KC, et al. Immunohistological analysis of the lymphoid infiltrate in cutaneous malignant melanomas. *Virchows Arch* 410: 355-361, 1987
54. Ramstad T, Lawnicki L, Vetto J, Weinberg A. Immunohistochemical analysis of primary breast tumors and tumor-draining lymph nodes by means of the T-cell costimulatory molecule OX-40. *Am J Surg* 179: 400-406, 2000
55. Reichert TE, Day R, Wagner EM, Whiteside TL. Absent or low expression of the ζ chain in T cells at the tumor site correlates with poor survival in patients with oral carcinoma. *Cancer Res* 58: 5344-5347, 1998
56. Reichert TE, Scheuer C, Day R, et al. The number of intratumoral dendritic cells and ζ -chain expression in T cells as prognostic and survival biomarkers in patients with oral carcinoma. *Cancer* 91: 2136-2147, 2001
57. Ridolfi RL, Rosen PP, Port A, et al. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with 10 year follow-up. *Cancer* 40: 1365-1385, 1977
58. Ropponen KM, Eskelinen MJ, Lipponen PK, et al. Prognostic value of tumour-infiltrating lymphocytes (TILs) in colorectal cancer. *J Pathol* 182: 318-324, 1997
59. Saito H, Tsujitani S, Ikeguchi M, et al. Relationship between the expression of vascular endothelial growth factor and the density of dendritic cells in gastric adenocarcinoma tissue. *Br J Cancer* 78: 1573-1577, 1998
60. Shibakita M, Tachibana M, Dhar DK, et al. Prognostic significance of Fas and Fas ligand expressions in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 5: 2464-2469, 1999
61. Shimura S, Yang G, Ebara S, et al. Reduced infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression. *Cancer Res* 60: 5857-5861, 2000
62. Si Z, Hersey P, Coates AS. Clinical responses and lymphoid infiltrates in metastatic melanoma following treatment with intralesional GM-CSF. *Melanoma Res* 6: 247-255, 1996
63. Smyth MJ, Hayakawa Y, Takeda K, Yagita H. New aspects of natural-killer-cell surveillance and therapy of cancer. *Nat Rev Cancer* 2: 850-861, 2002
64. Soiffer R, Lynch T, Mihm M, et al. Vaccination with irradiated autologous melanoma cells engineered to secrete human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor generates potent antitumor immunity in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13141-13146, 1998
65. Sondergaard K, Schou G. Survival with primary cutaneous malignant melanoma, evaluated from 2012 cases. A multivariate regression analysis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 406: 179-195, 1985
66. Sunderkötter C, Steinbrink K, Goebeler M, et al. Macrophages and angiogenesis. *J Leukoc Biol* 55: 410-422, 1994
67. Takanami I, Takeuchi K, Giga M. The prognostic value of natural killer cell infiltration in resected pulmonary adenocarcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121: 1058-1063, 2001
68. Takanami I, Takeuchi K, Kodaira S. Tumor-associated macrophage infiltration in pulmonary adenocarcinoma: association with angiogenesis and poor prognosis. *Oncology* 57: 138-142, 1999
69. Thörn M, Pontén F, Bergström R, et al. Clinical and histopathologic predictors of survival in patients with malignant melanoma: a population-based study in Sweden. *J Natl Cancer Inst* 86: 761-769, 1994
70. Usubutun A, Ayhan A, Uygur MC, et al. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 17: 77-81, 1998
71. Vesalainen S, Lipponen P, Talja M, Syrjänen K. Histological grade, perineural infiltration, tumour-infiltrating lymphocytes and apoptosis as determinants of long-term prognosis in prostatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer* 30A: 1797-1803, 1994
72. Vetto JT, Lum S, Morris A, et al. Presence of the T-cell activation marker OX-40 on tumor infiltrating lymphocytes and draining lymph node cells from patients with melanoma and head and neck cancers. *Am J Surg* 174: 258-265, 1997
73. Whiteside TL. Signaling defects in T lymphocytes of patients with malignancy. *Cancer Immunol Immunother* 48: 346-352, 1999
74. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 348: 203-213, 2003