

ABSTRAKT

Melanom je kožní nádor vznikající z melanocytů – kožních buněk nesoucích pigment melanin. Melanom patří mezi imunogenní nádory, s čímž je také pravděpodobně spojen poměrně hojný výskyt částečné spontánní regrese (SR). Melanoma-bearing Libechov Minipig (MeLiM) představují speciálně vyšlechtěný zvířecí modelový organismus, který je postižen většinou nodulárními melanomy podléhajícími u zhruba 2/3 nemocných zvířat úplné SR. Položili jsme si tedy otázku, jakou úlohu hraje ve SR melanomu linie MeLiM imunitní reakce spojená s destrukcí nádorových buněk a též proteiny asociované s extracelulární matrix (ECM), jejichž změna exprese odráží přestavbu destruované nádorové tkáně.

Realizovali jsme rozsáhlou časosběrnou studii, ve které jsme u kožních melanomů odebraných od jedinců linie MeLiM ve stáří 3, 4, 6, 8, 10, 12, 20 a 32 týdnů (5-10 vzorků v každé věkové kategorii) imunohistochemicky sledovali expresi kolagenu IV, lamininu, fibronektinu, tenascin C i MMP-2 a průtokovou cytometrií jsme monitorovali zastoupení základních subpopulací imunitních buněk v krvi a v nádoru. Vyšší exprese kolagenu IV, lamininu a MMP-2 pozitivně korelovala s přítomností melanomových buněk. Exprese kolagenu IV i lamininu v oblastech s melanomovými buňkami naznačovala možné přežívání nádorových buněk díky interakci se zmíněnými proteiny, přítomnost MMP-2 v těchto oblastech pak pravděpodobně odpovídala kontinuální přestavbě nádorové tkáně. Detekce fibronektinu a tenascin C nepotvrdila roli markerů předpokládanou u lidského melanomu, naopak se oba proteiny u zvířat se SR nacházely ve vysoké intenzitě v oblastech neobsahujících melanomové buňky. Vzhledem ke změně exprese kolagenu IV a tenascin C v rámci sledování kategorií různě starých prasat jsme stanovili stáří 10 týdnů zlomovým obdobím, ve kterém zpočátku rostoucí melanom přechází do stádia SR.

Analýzy průtokové cytometrie odhalily první známky protinádorové imunitní reakce u 6 týdnů starých prasat, a to v podobě vyššího zastoupení buněk CD3-CD8+ (NK) a CD4+CD8+ (efektorové/paměťové T pomocné lymfocyty) v nádoru oproti periferní krvi. CD3-CD8+ buňky pak dosáhly u 8 týdnů starých prasat zhruba trojnásobně vyšší zastoupení v nádoru, zatímco zastoupení nádorové CD4+CD8+ subpopulace dočasně pokleslo. U starších zvířat následně docházelo k postupnému nárůstu proporcí obou subpopulací v melanomu. Ve stáří 10 týdnů se v melanomech prvně objevilo vyšší, zhruba dvojnásobné v porovnání s periferní krví, zastoupení CD4-CD8+ buněk (převážně cytotoxické T lymfocyty). Tyto buňky pak výrazně dominovaly v nádorech starších věkových kategorií zvířat až do konce sledování (stáří 32 týdnů).

Z provedených analýz je zřejmé, že SR melanomu prasat linie MeLiM je vysoce dynamický proces probíhající delší časové období, jehož příčinou je zřejmě reakce imunitního systému namířená proti melanomovým buňkám. V průběhu imunitní reakce dochází nejprve k rozpoznání nádorové tkáně buňkami nespecifické (NK buňky) a následně specifické imunity (cytotoxické T lymfocyty), jejichž aktivita vede k destrukci nádoru. Následně dochází k přestavbě melanomu ve vazivovou tkáň, kterou doprovází změny exprese proteinů ECM.