

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Dr. Ladányi Andrea: "Tumorinfiltráló immunsejtek prognosztikai és prediktív szerepe"

című MTA doktori értekezésről

A tumor-mikrokörnyezet kölcsönhatása a daganatsejtekkel alapvetően meghatározza a tumorsejtek szaporodását, migrációját és ezzel az áttétképzést. A természetes és szerzett immunrendszer elemein kívül a kötőszövet, az érképződés sejtjei és a zsírszövet is hatással van a tumor növekedésére. Mindez kétirányú folyamat, hisz a tumorsejtek különféle növekedési faktorok termelésével elősegítik a stróma és immunsejtképződést, míg ezek növekedési faktorok, citokinek, inhibitoros molekulák révén befolyásolják a daganatsejtek szaporodását. Ladányi Andrea két szolid tumor, a melanoma és a fejnyaki laphámrák retrospektív immunhisztológiai elemzésével keresi a tumorban található immunsejtek és a vaszkularizáció kapcsolatát a kezelésekre adott válaszreakcióval és a betegség kimenetével.

Az értekezésben szereplő eredményeit a PhD fokozatszerzés után írt 17 nemzetközi (ebből 9 első, 2 utolsó szerzős) és 9 magyar nyelvű folyóiratban megjelent közleményben publikálta. Ezen felül 29 nemzetközi és 6 magyar publikációja született. Összes publikációnak száma 79, független hivatkozása 1421, Hirsch indexe 23 (2021 májusi adat) g indexe 39. A jelölt publikációs aktivitása és citációs eredménye megfelel az MTA Doktori Tanácsa által támogatott követelményeknek és eleget tesz ezeknek az első/utolsó szerzős cikkek vonatkozásában is.

A dolgozat a klasszikus tudományos dolgozatok felépítését követi, melyet 254 irodalmi idézet követ. Sajnálatos, hogy viszonylag kevés a friss, elmúlt évekből származó idézet (2 db 2020-as) ami elhelyezné a saját munkát a jelenleg a témában megjelenő publikációk közé. Egy rövid bevezetés után 23 oldalon részletezi a daganat elleni immunválasz sejtes és molekuláris elemeit, majd az immunterápiás eljárások és az immunsejtek és vaszkularizáció prognosztikai szerepéről mutat be elemzést.

A célkitűzéseket 6 pontban részletezi. A módszerek fejezet jelentős hányadát az egyes vizsgálatokba bevont betegcsoportok leírása adja, amelyet 7 táblázatba foglal össze. A módszertani leírások zöme az immunhisztológiai jelöléseket és azok értékelését és retrospektív statisztikai elemzését teszik ki. A nagyon szépen demonstrált immunhisztológiai elemzéseket célszerű lett volna más, pl. molekuláris módszerekkel is alátámasztani. Hiányolom az automata képelemzés módszer bevezetését is.

Az eredményeket 13 alfejezetben mutatja be, amit 37 ábra és 15 táblázat segítségével magyaráz meg és tesz látványosabbá. A színes immunhisztológiai képek mérete sajnos kicsi, így azok nehezen értékelhetők. A mikroszkópos képekből kapott pozitív immunhisztokémiai jelölődés értékelése 5-10 azonos látótérben 2 független vizsgáló eredményeiből származik. Ezen adatok statisztikai elemzésére, korreláció számítás a betegadatokkal és kezeléssel összefüggések keresése jellemzik a munkát. A 18 oldalas megbeszélést 7 pontban összefoglalt "új megállapítások" fejezet követ.

A dolgozat jó stílusban, az orvosi szaknyelv szabályai szerint íródott, nagyon precíz, hibátlan kivitelben. A sok rövidítés használata kissé nehezítette az olvasását, de mindezt segítette a nagyon jól megszerkesztett rövidítések jegyzéke. Az eredmények megértését segítette volna, ha a fejezeteket egy rövid leírással kezdi, amiben világossá teszi a kevésbé jártas olvasó számára is, hogy melyik markert milyen céllal alkalmazott az adott vizsgálatban?

Kérdéseim, megjegyzéseim:

1. A 4.1 fejezetben a CD25+ sejteket aktivált sejtekként értékeli. Ismert, hogy melanóma környezetében gyakran jelennek meg a CD25^{high}+ regulatórikus T sejtek is. Hogy tudja kizárni, hogy az észlelt CD25 pozitívitas aktivált vagy Treg sejt akkumulációból adódik? Célszerű lett volna CD25 és Foxp3 kettős jelölést végezni. Ezt támasztja alá a 4.3.5 fejezetben leírt túlélési görbék eredménye is, ahol a DC-LAMP/OX40 kombináció jó prognosztikai tényezőnek bizonyult, míg a DC-LAMP/CD25 nem. Ugyanakkor mindkét marker kombináció az aktivált T és DC-et jelölte.
2. A 8. táblázatban összefoglalja a CD25 és OX40 pozitív eseteket. Hol vonta meg a határt az alacsony és jelentős mennyiségű aktivált T sejtet tartalmazó tumorok között? A táblázat alapján nem világos, hogy mit mihez hasonlít? Milyen paraméterek összehasonlítása eredményezi a p-értéket? Célszerű lett volna vastagabb vonalakkal elválasztani az összehasonlításra kerülő sorokat.
3. A Foxp3 jelölődést külön fejezetben elemzi a klinikopatológiai paraméterekkel keresve az összefüggést. Egyetlen eltérés a peritumorális nagymennyiségű Foxp3+ sejt volt tumor mérettől és metasztatizáló képességtől függetlenül. Mivel magyarázza ezt a jelenséget? Végeztek-e hasonló jelölést az áttétek szövetében?
4. A magas intra-és peritumorális B sejt-denzitású betegeknél egyértelműen jobb 5 éves túlélési arányokat talált. Mivel magyarázza a B sejtek ilyen jelentős prognosztikai szerepét a melanoma elleni immunválasz során? Mi lehet a funkciója és fenotípusa ezeknek a B sejteknek? Ehhez kapcsolódóan feltehető az a kérdés, hogy vajon a terciar nyirokszövet kialakulása (melyet nagyon körültekintően jellemez CD20, CD45RO, CD21 és HEV jelöléssel) a tumor környezetében miért nem jelent előnyt a túlélésben?
5. A melanoma mikroérsűrűség vizsgálata során az erek immunhisztokémiai jelöléséhez használt markerek ismertetése hasznos lett volna a fejezetek elején. A kevésbé jártas olvasónak a MECA-79 (HEV) még ismert, de a CD34+ és VAP-1+ erek szerepe a tumor progresszióban nem annyira evidens. Mi a jelentősége annak, hogy a VAP-1+ erek dominánsan a peritumorális területen fordulnak elő és az intratumorális alacsonyabb expresszió rosszabb túlélési aránnyal függ össze?
6. A dolgozatban bemutatott immunhisztokémiai vizsgálatok a tumorok állapotának egy adott pillanatát mutatják, de nem ad információt a tumor progresszió során történő változásokról. Volt-e lehetőség néhány esetben a kezelés előtti és utáni szövettani anyagok vagy őrszem nyirokcsomók összehasonlító immunfenotípus vizsgálatára? Milyen elképzelései vannak a tumor progresszió nyomon követésének lehetőségeiről? Mely biomarkerek meghatározását javasolná a primer tumor analízisnél, mint prognosztikailag fontos adatot?

Új eredményként fogadhatók el az alábbi megállapítások:

1. Összefüggést talált primer melanómában a peritumorális aktivált T sejtek (OX40+ és CD25+), dendritikus sejtek (DC-LAMP+) és a tumor infiltráló CD20+ B limfociták mennyisége és a túlélés és áttétképzés között. Többváltozós analízissel ezen markerek kombinációja szignifikáns prognosztikai tényezőnek bizonyult.
2. Elsőként igazolta melanómában terciar nyirokszövet kialakulását és MECA-79+ HEV struktúrák mennyiségének korrelációját valamint a CD34+ mikroérsűrűség összefüggését a peritumorális aktivált T-sejt és DC-denzitással.

3. Melanomás betegek őrszem nyirokcsomóiban elsőként mutatták a FOXP+ Treg sejtek denzitásának negatív prognosztikai szerepét.
4. Ipilimumab kezelés előtti melanóma áttéti tumorszövetben elsőként mutatták ki az immunsejtek sűrűségének összefüggését a terápiás válasszal és a betegség kimenetelével. A nyirokcsomó áttétekben a B és Th és Tc és Treg sejtek is mutattak korrelációt, míg a bőr áttétekben csak a CD16+ és CD68+ sejtek.
5. Fej-nyaki laphámrákokban összefüggést találtak a kezelés és a tumor infiltráló immunsejttípusok között, különösen a dendritikus sejtek mennyisége korrelált a progressziómentes túléléssel.

A doktori értekezés számos új összefüggést tárt fel a tumor és mikrokörnyezet szerepéről, azok összefüggéseiről és a kezelésre adott válasz valamint azok prognosztikai szerepéről. Eredményeit a szakma rangos nemzetközi folyóiratokban publikálta. Ezek alapján a mű hiteles adatokat tartalmaz, hozzájárul a tudomány és a gyakorlati orvoslás továbbfejlődéséhez. Ezért a nyilvános vita kitűzését javaslom és sikeres védelem esetén a doktori munka tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez.

Pécs, 2022. április 06.

dr. Berki Timea
egyetemi tanár, az MTA doktora