

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Dr. Ladányi Andrea

„Tumorinfiltráló immunsejtek prognosztikai és prediktív szerepe”

című MTA doktori értekezéséről

A doktori értekezés témája:

Dr. Ladányi Andrea MTA doktori dolgozatának témája a daganatokban és daganatok körül zajló immunológiai folyamatok szerepe a daganatos betegség kimenetelében, a terápia hatékonyságában. A daganatos megbetegedések népbetegség jellege, azok vezető szerepe a halálozásban, a betegségek jelentette rendkívül magas egyéni és társadalmi terhek mind alátámasztják a téma fontosságát. Az immunonkológiai terápiák térnyerése az elmúlt évtized során pedig a gyakorlatban is igazolta, hogy az immunrendszer működése alapvető jelentőségű a daganatok kialakulásában, illetve az immunműködések modulálása az egyik lehatékonyabb daganatellenes modalitás lehet.

Dr. Ladányi Andrea doktori értekezésében a daganatokban, áttétekben található immunsejteket vizsgálja, veti össze a betegek klinikopatológiai paramétereivel, például a terápiás válasszal vagy a túléléssel, és szolgáltat tudományosan és gyakorlati értelemben is fontos új eredményeket.

Az értekezés részletes bírálata:

Formai és stiláris szempontok:

A doktori értekezés összesen 140 oldalból áll, amiből 7 oldal a tartalomjegyzék és a rövidítések jegyzéke. Ezt követi egy 22 oldalas bevezetés fejezet, mely áttekintést ad a kutatás háttéréről, az immunonkológiai alapfogalmakról, a vizsgált betegségekről és azok kezelési lehetőségeiről. A szerző 1 oldalon ismerteti célkitűzéseit, a módszerek fejezet pedig 15 oldalt tesz ki. Az eredményeket 47 oldalon ismerteti és diszkutálja a szerző, amit 20 oldalas összefoglalás rész követ. A dolgozat végén 23+2 oldalas irodalomjegyzék, illetve a tudományometriai összefoglaló található.

Az értekezés alaki és formai szempontból megfelel az elvárható követelményeknek. A dolgozat egyes részei a kutatási téma jellegének megfelelően arányosak, az értekezés jól áttekinthetően szerkesztett, pontos, helyesírási hibát elvéve találni. A dolgozat 37 ábrát és 22 táblázatot

tartalmaz, melyek jó minőségűek, segítik az írott szöveg megértését. A felhasznált irodalmi hivatkozások relevánsak, jól illeszkednek a témához, naprakész információkat hordoznak.

Az értekezés témájának és célkitűzéseinek értékelése:

A doktori értekezés témája a daganatokat infiltráló tumorsejtek prognosztikai és prediktív értékének tanulmányozása 2 daganattípusban, melanómában és fej-nyaki laphámrákban. A 6 konkrét célkitűzés közül 4 melanóma esetén az immunellenőrző-pont gátló terápia bevezetése előtti és utáni érásban a primer tumorban illetve őrszemnyirokcsomóban vizsgálja meg a különböző immunsejt típusok valamint vaszkuláris komponensek prognosztikai szerepét illetve klinikopatológiai paraméterekkel mutatott összefüggését. A további 2 célkitűzés alapján a szájüregi illetve fej-nyaki laphámrákos betegek tumormintáiban vizsgálja az infiltráló immunsejtek összetételének prediktív szerepét.

Az elmúlt 2 évtizedben a daganatos megbetegedések, így a melanóma és a fej-nyaki laphámrák kezelésében is forradalmi változások történtek, melyek hatására a betegek átlagos túlélése igen jelentős mértékben javult. A betegek egy része azonban az új terápiás eljárásokra sem reagál, melynek okai csak részlegesen feltártak. Ezért a kitűzött célok igen jelentős gyakorlati jelentőséggel bírnak, mivel a vizsgálatok alapot biztosíthatnak a terápia-rezisztencia okainak pontosabb megismeréséhez, illetve azok áttöréséhez. Továbbá, mivel a terápiás sikert nem hozó kezelések jelentős felesleges kiadással terhelik az egészségügyi ellátórendszert, a terápia sikerét előre jelző prediktív markerek azonosítása kiemelt jelentőséggel bír.

Az értekezés során alkalmazott módszerek értékelése

A jelölt a vizsgálatokat túlnyomó részét archivált szövetmintákon végezte. A melanómás minták az ipilimumabkezelés mintáinak kivételével 2 intézetből, eltérő időintervallumból származtak (SE 1980-2000, OOI 1999-2001). Az 1980-2001 közötti időszakban a melanóma sebészi és onkológiai terápiája a két intézetben csaknem azonos elvek alapján történt, és a túlélésre jelentős hatást gyakorló változás lényegében nem történt. Ezt jól tükrözik a két kohorsz csaknem megegyező klinikopatológiai paraméterei is. Az ipilimumabkezelés mintái 4 intézetből (OOI, SE, DE, PTE) és a 2010-2014 közötti időszakból származtak.

A szájüregi vizsgálatok tumormintáit 2 szponzorált klinikai vizsgálatban több hazai centrum szolgáltatta. A kontrollként használt minták ugyanakkor kizárólag az OOI archívumából származtak – az archiválás idejét nem adta meg a jelölt.

Az indukciós kemoterápiában és cetuximab kezelésben részesülő fej-nyaki daganatos betegek vizsgálatai szintén archivált mintákon történtek, melyek az OOI-ben 2007-2010 között végzett fázis II-es vizsgálatból származtak.

A vizsgálati minták száma és minősége a betegségek gyakoriságát és az irodalmi adatokat figyelembe véve elégséges a célkitűzésben megfogalmazottak elvégzéséhez.

A doktori értekezés szinte kizárólag immunhisztokémiai vizsgálatok eredményeire épül. A jelölt az immunhisztokémiai módszerek alapos ismeretéről tesz tanúbizonyságot, a módszert magabiztosan alkalmazza. Ugyanakkor az értekezés egyik legnagyobb hiányosságának érzem a módszertan egysíkúságát. Számos esetben hasznos/szükséges lett volna a kapott eredmények funkcionális validálása, a feltett kérdések más (pl. molekuláris biológiai) metodikával történő megközelítése. A szerző a megbeszélés részben maga is megjegyzi, hogy a Treg-ek szerepének értékelésekor figyelembe kell venni, hogy nem történtek funkcionális vizsgálatok, ami korlátozza az eredmények validitását. Úgy gondolom, ez nem csak a Treg-ek esetén érvényes, hanem az értekezés jelentős részére.

Scientometriai szempontok

Az MTA doktori mű alapjául 17 angol nyelvű és 9 magyar nyelvű *in extenso* közlemény szolgált. Az angol nyelvű közlemények közül 13 esetében állapítható meg jelölt vezető szerepe (első vagy utolsó szerző). A közlemények összegzett impakt faktora 74,796, az ezekre kapott független citációk száma 677. Az angol nyelvű közlemények közül 11 D1, 2 pedig Q1 presztízsfaktorú folyóiratban jelent meg. Mindezen mutatók alapján megállapítható, hogy jelölt tudományos aktivitása jelentősen meghaladja az MTA doktori eljárásban a szakterületen elvárt küszöbértékeket.

Az értekezésben bemutatott tudományos eredményekkel kapcsolatban *kérdéseim és megjegyzéseim a következők:*

1. Primer melanómában a T-sejt aktivációs markereket hordozó limfociták vizsgálatakor a kifeléyesedett tumorterületeken igen magas volt a pozitív sejtek denzitása. Mivel ezt az ulceráció miatt kialakult gyulladással szembe fordított környezet hatásának (azaz másodlagos reakciónak) tulajdonítja, ezeket a területeket nem vette figyelembe az értékelésben. Tekintve, hogy az ulceráció melanómában az egyik legerősebb prognosztikai faktor, az aktivált T-sejtek magas száma az ulcerált területeken korántsem biztos, hogy másodlagos jelenség. A vertikális növekedési fázisban lévő melanómák feletti epidermisben a jelölt is immunológiai változásokat (pl. csökkent Langerhans sejt denzitást) ír le. *Milyen típusú T-sejt (illetve egyéb immunsejt)*

összetétel jellemezte az ulcerált területeket? Van-e irodalmi adat a kifehélyesedés és a gyulladáshoz való reakció összefüggésére melanómában?

2. A vizsgálatok során a CD25 expressziót a T-sejt aktiváció markereként használja. Ugyanakkor a CD25 molekulát magasan expresszáló sejtek regulátoros T sejtek is lehetnek. *Végzett-e vizsgálatokat a CD25 pozitív sejtek alcsoportjainak elkülönítésére (pl. FOXP3 CD25 kettős pozitív sejtek aránya a CD25⁺ populáción belül)?*

3. Primer melanómában a CD1a⁺ dendritikus sejtek, illetve a DC-LAMP⁺ érett dendritikus sejtek magas peritumorális denzitása túlélési előnnyel járt. Mivel a vizsgálat 1980-2001 között eltávolított tumormintákon történt, a betegek feltételezhetően nem részesültek modern (immunonkológiai vagy célzott) kezelésben. *Végzett-e a jelölt vizsgálatokat vagy ismer-e adatokat az anti-CTLA-4, anti-PD-1 vagy BRAF/MEK inhibitor kezelésben részesült melanómás betegek esetén a peritumorális DC-denzitás prognosztikai értékével kapcsolatban?*

4. A szentinel (SLN) és nem szentinel nyirokcsomók (NSLN) immunsejt denzitásának összehasonlítása során az összes vizsgált paraméter esetén magasabb gyulladáshoz való sejt értékeket észlelt a szentinel nyirokcsomók esetén. Ez alapján feltételezi, hogy az őrszemnyirokcsomók funkcionálisan aktívabbak a nem szentinel nyirokcsomóknál. Fontos azonban szem előtt tartani, hogy az SLN eltávolítása nem a primer tumorról egy lépésben, hanem általában néhány héttel annak eltávolítását követően történik. Így az SLN által drenált bőrterületen sebgyógyulási és gyulladáshoz való folyamatok történnek/történhetnek a nyirokcsomó eltávolításának idején. *Végeztek-e vizsgálatot olyan SLN-ek esetén, amikor a primer melanóma műtéte a nyirokcsomó eltávolítással egyidőben történt? A vizsgált paraméterek esetén igen jelentős szórást mutattak az adatok. Bár a szokásos klinikopatológiai paraméterekkel (primer tumor vastagsága, típusa, ulcerációja, stb.) nem mutattak összefüggést az SLN-ben észlelt denzitásértékek, vizsgálták-e az összefüggést a primer tumor immunsejt (pl. aktivált T-sejt, Treg, DC, stb.) denzitás értékeivel? Szintén érdekes lenne bizonyos pro/anti-inflammatorikus citokinek és kemokinek primer tumorban észlelt expresszióját összevetni a nyirokcsomóban látott immunsejt sűrűségekkel. Történtek-e ilyen vizsgálatok?*

5. A melanómás betegek pozitív őrszemnyirokcsomóinak egy részében igen magas (>1900/mm²) Treg értékeket észlelt. Az SLN-ben észlelt magas Treg szám erős negatív korrelációt mutatott mind a progressziómentes túléléssel mind a teljes túléléssel. Úgy gondolom, ez az értékezés egyik legfontosabb új megállapítása – SLN pozitív esetekben ez a viszonylag egyszerű vizsgálat alkalmas lehet alacsony és magas rizikójú csoportok elkülönítésére. Figyelembe véve, hogy SLN pozitívítás esetén az esetek mintegy 50

százalékában következik be relapszus, ugyanakkor a jelenlegi ajánlások szerint csaknem az összes SLN pozitív beteget BRAF/MEK inhibitor vagy PD-1 inhibitor adjuváns kezelésben részesítjük, belátható, hogy nagy szükség lenne megbízható prognosztikai markerre. Ugyanakkor a vizsgált tumorminták és a túlélési adatok még az immunonkológiai és célzott melanóma terápiák bevezetése előtti időszakból származnak. ***Vizsgálták-e a Treg sejtek SLN denzitásának jelentőségét a túlélésre célzott vagy immunonkológiai terápiák esetén? Javasolná-e a SLN pozitív esetekben alacsony Treg sejt denzitásnál az adjuváns kezelés mellőzését?*** Ugyanakkor az SLN pozitív esetekben az intratumorális Treg denzitás egyrésztől jóval alacsonyabb átlag értékeket mutatott, másrésztől a nagyobb Treg sűrűség pozitívan korrelált a túléléssel. ***Mi lehet a magyarázata a teljes nyirokcsomóban és az intratumorálisan mért Treg denzitások túlélésre gyakorolt eltérő hatásának?***

6. Az leukocita interleukinnel kezelt szájüregi laphámrákok vizsgálata esetén a hatékony tumorellenes válaszhoz a CD4⁺ T limfociták száma és a CD4⁺/CD8⁺ arány jelentős emelkedése volt szükséges. Ez némileg váratlan, hiszen a CD8⁺ citotoxikus T sejteknek nagyobb jelentőséget tulajdonítanak a tumorellenes védekezésben. ***Mivel magyarázható ez a megfigyelés?***

7. Több vizsgálati eredmény esetén is szembeötlő, hogy az intratumorális paraméterek prognosztikai és prediktív szerepe kevésbé jelentős, mint a peritumorális immunsejt összetétel. ***Mi lehet ennek a magyarázata? Milyen terápiás stratégiák alapozhatóak erre?***

Új megállapítások

A fenti kérdésekre és észrevételekre adott válaszoktól függetlenül a jelölt új tudományos eredményeinek fogadom el a következőket:

1. Elsőként mutatta ki a primer melanómákat infiltráló, OX40, illetve CD25 aktivációs markert hordozó T-limfociták, DC-LAMP⁺ dendritikus sejtek, továbbá CD20⁺ B-limfociták mennyiségének, illetve ezen paraméterek kombinációjának összefüggését az áttétképzéssel és a túléléssel.
2. Elsőként igazolta primer melanómákban ektópiás limfoid struktúrák jelenlétét, ami nem mutatott összefüggést a betegség kimenetelével.
3. Elsőként igazolta a melanómás betegek őrszemnyirokcsomóiban a FOXP3⁺ T-sejtek magas denzitásának független negatív prognosztikus hatását, mely csak a pozitív SLN-státuszú betegek esetén volt megfigyelhető.

4. Elsőként állapította meg, hogy melanómás betegek ipilimumabkezelés előtti áttéti tumorában a különböző immunsejtek infiltrációjának prediktív szerepe van, illetve a legtöbb immunsejttípusra nézve az infiltráció erőssége és összefüggése a terápiás válasszal különbözik a nyirokcsomó-, illetve a bőr/szubkután áttétek esetén.

5. Elsőként vizsgálta indukciós kemoterápiával és cetuximabbal kezelt laphámrákos betegekben a tumorinfiltráló immunsejtek prediktív szerepét, és igazolta a DC-LAMP⁺ és a PD-1⁺ sejtek mennyiségének összefüggését a terápiás válasszal és a progressziómentes túléléssel.

Összefoglalás, javaslat

Tekintettel arra, hogy a jelölt korábbi tudományos fokozata megszerzése óta végzett önálló kutatói munkássága kellően dokumentált a doktori műben, javaslom az értekezés nyilvános vitára tűzését, és sikeres védelem esetén részére az MTA doktora cím odaítélését.

Pécs, 2022. április 10.

Dr. Gyulai Roland
egyetemi tanár, az MTA doktora

