

# Změny angiogeneze a imunitních regulací ve stromálním mikroprostředí kožních melanomů

Vladimír Židlík<sup>1,2,3</sup>, Magdaléna Uvírová<sup>1</sup>, Robert Ondrušek<sup>1,2</sup>, Jana Dvořáčková<sup>1,2</sup>, Svetlana Brychtová<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> CGB laboratoř, a.s., Ostrava

<sup>2</sup> Ústav patologie FN Ostrava, Ostrava

<sup>3</sup> Ústav klinické a molekulární patologie LF UP Olomouc

<sup>4</sup> Ústav molekulární a translační medicíny LF UP Olomouc

## SOUHRN

Nádorové mikroprostředí výrazně ovlivňuje růst a metastazování nádorových buněk, přičemž k hlavním faktorům patří angiogeneze a inhibice imunitního systému potlačující jeho efektorovou funkci. V naší analýze jsme se zaměřili na stanovení mikrovaskulární density (MVD), kvantifikaci FOXP3<sup>+</sup> T regulačních lymfocytů (Treg) a PD-L1 lymfocytů, které jsou spojovány s mechanismem imunitního úniku nádorových buněk. Vyšetřili jsme 95 kožních melanomů a 25 melanocytárních névů jako kontrolní skupinu. Melanomy byly rozděleny do čtyř skupin dle klasifikace TNM – pT1 (35), pT2 (21), pT3 (21), pT4 (18). Sledované parametry detekovány na parafinových řezech metodou nepřímé imunohistochemie a hodnoceny světelným mikroskopem v centru (C) i na periférii (P) nádoru na ploše 1mm<sup>2</sup>, v místě největšího zastoupení (tzv. „hot spot“). Zaznamenali jsme signifikantní vzestup MVD korelující se stádiem onemocnění, a to zejména na periférii nádorů (p=0,0001). Expres PD-L1 na lymfocytech byla zvýšena u melanomů pT3 a pT4 stádií, rovněž zejména na periférii lézí (p=0,0001). Množství FOXP3 lymfocytů pozitivně korelovalo se stádiem onemocnění, přičemž vyšší hodnoty byly zaznamenány v centru nádorů (p=0,008). Naše práce prokazuje, že stimulace angiogeneze a navození adaptivní imunitní odpovědi korelují se stádiem melanomu. K nejvýraznějším změnám dochází na periférii tumoru, což potvrzuje heterogenitu nádorového stromatu, která je výraznější u pokročilejších nádorů a která může přispívat k vyšší agresivitě těchto stádií.

**Klíčová slova:** Angiogeneze – Nestin – CD90 – FOXP3 – T regulační lymfocyty – PD-L1 – TIL

## The changes of angiogenesis and immune regulations in stromal microenvironment of cutaneous melanomas

### SUMMARY

Tumour microenvironment contributes to growth and metastasis, where angiogenesis and immune alteration suppressing its effector function belong to main factors. Our study is focused on an analysis of microvascular density (MVD), quantification of FOXP3<sup>+</sup> T regulatory lymphocytes (Tregs) and PD-L1 lymphocytes, which are associated with a tumour-cells immune escape mechanism. We examined 95 cutaneous melanomas divided in four groups according to TNM classification - pT1 (35), pT2 (21), pT3 (21), pT4 (18) and 25 melanocytic nevi as a control group. Investigated parameters were detected on paraffin embedded tissues by indirect immunohistochemistry, and evaluated by light microscope in central (C) and at peripheral regions (P) on a 1mm<sup>2</sup> „hot spot“ region (the area of the highest density). We found a significant MVD increase correlating with a stage of disease, mostly at the edge of tumours (p=0,0001). Lymphocytic PD-L1 expression was increased in melanomas of pT3 and pT4 stages, also predominantly at the periphery of lesions (p=0,0001). Numbers of FOXP3 lymphocytes positively correlated with a melanoma stage, where higher values were observed in central areas (p=0,008). Our study documents that stimulation of angiogenesis and induction of an adaptive immune response correlate with a melanoma stage. The most prominent changes are at the tumour periphery confirming heterogeneity of a tumour stroma, which is more prominent in advanced tumours, and which may contribute to higher aggressivity of these stages.

**Keywords:** Angiogenesis – Nestin – CD90 – FOXP3 – Tregs – PD-L1 – TIL

*Cesk Patol 2019; 55(3): 170–175*

Nádorová transformace tkáně je komplexní a vícestupňový proces, ve kterém je podstatně porušen rovnovážný stav organismu a koordinace proliferace buněk (1). Podstatnou a neoddělitelnou součástí každého maligního nádoru tvoří nenádorová hostitelská tkáň označovaná jako stroma, které vytváří optimální podmínky pro růst nádorových buněk (2).

Stroma zahrnuje fibroblasty, endotelie, imunitní buňky, solubilní molekuly a extracelulární matrix. Za fyziologických pod-

mínek je stromální mikroprostředí považováno za hlavní faktor udržující tkáňovou homeostázu. Je zdrojem růstových faktorů, živin, kyslíku, dále prostředím pro difúzi tekutin, iontů, hormonů, plynů i odpadních produktů. U maligních nádorů dochází k jeho významným alteracím fenotypu. Mediátory a růstové faktory produkované nádorovým parenchymem indukují stromální změny, které následně recipročně přispívají k malignímu chování nádorových buněk - proliferaci, invazi, angiogenezi, migraci a metastazování (1-3).

V rámci tumoru jsou jednotlivé komponenty stromatu distribuovány nepravidelně, což vede k výrazné heterogenitě mikroprostředí. Nádorová angiogeneze, neboli tvorba nových cév je považována za jeden z hlavních procesů nezbytných pro růst a výživu rychle rostoucí nádorové tkáně, a důležitá je i pro vytváření metastáz (4). Angiogeneze v tumoru je dynamický proces v čase a její hodnocení není proto jednoduché (5,6).

### ✉ Adresa pro korespondenci:

Doc. MUDr. Svetlana Brychtová, PhD.

Ústav klinické a molekulární patologie FN Olomouc

Hněvotínská 3, Olomouc 77715

tel.: +420 585 632 449

e-mail: svetlana.brychtova@seznam.cz