Prostat Adenokarsinomlarının HLA-DR Ekspresyonu ve İnterstisyel Mononükleer Hücre İçeriği Yönünden Değerlendirilmesi

Dr. Serap Işıksoy[1], Dr. Emine Kasapoğlu[1], Dr. Ülkü Öner[1], Dr. Özgül Paşaoğlu[1], Dr. Nilüfer Tel[1], Canan Demirüstü[2]

ÖZET

Bu çalışmada, 20 prostat adenokarsinom vakasında neoplastik epitel hücrelerinde HLA-DR ve S-100 protein ekspresyonu, interstisyel mononükleeer hücre (IMH) infiltrasyonun içeriği ve bunların tümör grade'i ile ilişkisi araştırıldı. Neoplastik epitel hücrelerinde HLA-DR ve S-100 protein ekspresyonu yönünden düşük, orta ve yüksek grade'li vakalar arasında istatistiksel önemli bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). İnterstisyumda HLA-DR ve/veya S-100 protein pozitif dendritik Langerhans hücreleri ve makrofajlar mevcuttu. Çalışmamızda neoplastik epitel HLA-DR ekspresyonu ve HLA-DR pozitif IMH sayılarının artan histopatolojik grade ile tersine ilişki göstermesi ve aralarında pozitif bir korelasyon bulunması ($p<0.05$) nedeniyle, tümöral immünite ve prognozda önemli olabilecekleri düşünüldü.

Anahtar kelimeler : Prostat adenokarsinomu, HLA-DR, interstisyel mononükleer hücreler.

SUMMARY

We investigated the expression of HLA-DR by neoplastic glandular cells and the numbers of HLA-DR and S-100 protein positive interstitial mononuclear cells (IMCs) in 20 prostatic adenocarcinomas in relation to histopathological grades. There was no statistically significant difference among grades in regards of HL-DR and S-100 protein expression by tumor cells ($p>0.05$). There were HLA-DR and/or S-100 protein positive cells corresponding to dendritic Langerhangs cells and macrophages in the interstitium. The expression of HL-DR by tumor cells and the presence of HLA-DR positive IMCs were inversely correlated to the histopathological grade and there was a positive correlation between these two parameters ($p<0.05$). The evaluation of these parameters may provide a means of estimating prognosis and they might be important in eliciting of the immune response.

Key Words : Prostatic adenorcarcinoma, HLA-DR, interstitial mononuclear cells.

GİRİŞ

Malign tümörler, tümöral immünitede hedef oluşturan ve immün cevabı uyarıcı etkiye sahip çeşitli antijenleri eksprese ederler. Bu antijenler, tümöral hücre yüzeylerinde eksprese edilen class I ya da Class II major histokompatibilite kompleks (MHC) molekülleri ile oluşturdukları kopleksler aracılığı ile T hücrelerine sunulurlar. T hücreleri, antijen sunma özelliğinde olan aksesuar (accessory) hücrelerin de katılımı ile aktive olur. Antijen sunan mononükleer fagositler, B lenfositler, dendritik hücreler ve endotelyal hücreler, endositoz ile aldıkları antijenleri Class II gen ürünleri aracılığı ile eksprese ederler. Dendritik hücreler ve B lenfositler yapısal olarak Class II MHC molekülleri taşılar. Epitelyal, glial, mezenkimal hücreler, T lenfosit kaynaklı interferon gamma aracılığı ile sonradan bu molekülü eksprese etmek üzere in vitro olarak uyarılabilmektedir. In vivo koşullarda bu hücrelerin immun yanıttaki fizyolojik roller iyi bilinmemektedir. Ancak, yapısal olarak ve sonradan antijen sunma özelliği kazanan daha çok hücre populasyonunun bulunduğu bir ortamda, daha fazla antijen sunumu ve bunun sonucu da artan bir hücre aktivasyonunun geliştiği öne sürülmektedir[1].

Bu çalışmada prostat adenokarsinom vak'alarında neoplastik epitel ve interstisyel mononükleer hücre (IMH)'lerde Class II MHC molekülü HLA-DR ekspresyonu, bunların birbirleri üzerine etkileri yanısıra tümör grade'i ile ilişkilerini ve IMH'lerin içeriğini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 1990 - 1992 yılları arasında 8'ine TUR, 12'sine açık prostatektomi yapılan 20 prostat adenokarsinom vak'ası Gleason'un mikroskopik grade'leme sistemine göre değerlendirilerek Grade I ve II olan 3 vaka düşük grade, II-III, III, III-IV olan 11 vaka orta grade, IV ve V olan 6 vaka yüksek grade'li olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Her bir vakanın belirlenen grade özel-

1 Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
2 Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı

Vaka No.	Grade	HLA-DR		S-100	
		Neoplastik epitel	İnterstisyel mononükleer hücre (IMH)	Neoplastik epitel	İnterstisyel mononükleer hücre (IMH
1	I	-	2+	-	-
2	II	3+	3+	3+	1+
3	II	-	1+	-	1+
4	II-III	-	1+	1+	-
5	II-III	3+	3+	1+	1+
6	II-III	2+	3+	2+	1+
7	III	1+	2+	3+	-
8	III	1+	-	1+	-
9	III-IV	-	-	1+	-
10	III-IV	-	3+	-	-
11	III-IV	-	2+	-	1+
12	II-IV	-	-	1+	2+
13	III-IV	1+	3+	2+	2+
14	III-IV	-	1+	-	-
15	IV	1+	-	1+	1+
16	IV	-	-	-	2+
17	V	-	-	-	-
18	V	-	-	1+	1+
19	V	-	-	-	-
20	V	-	-	2+	-

Tablo 1 : Prostat adenokarsinom vakalarında neoplastik epitel ve interstisyel mononükleer hücrelerin HLA-DR ve S-100 protein immünreaksiyonları

liklerin taşıyan kesitler anti-HLA-DR (Ia) (Biogenex) ve anti-S-100 protein (∝ ve ß alt tipler) (Immunon) monoklonal antikorları kullanılarak streptavidin-biotin peroksidaz metodu ile boyandı. Neoplastik epitel HLA-DR ve S-100 protein pozitifliği boyanma şiddetine göre negatif (-), zayıf (1+), orta (2+), kuvvetli (3+) olarak, IMH sayıları ise 20'lik büyütme altında sayılan 5 alanın ortalaması alınarak boyanan hücre yok ise negatif (-), ortalama değerler <5 ise 1+, 5-10 ise 2+, >10 ise 3+ olacak şekilde semikantitatif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak HLA-DR için lenf nodu (folliküler dendritik hücreler), S-100 protein için cilt dokusu (Langerhans hücreleri) boyandı. İncelenen kesitlerde bulunan normal prostat doku alanları, ilgili parametreleri değerlendirirken internal kontrol olarak kullanıldı. Bulgular istatistiksel olarak Fisher exact ki-kare testi ve Spearman'ın korelasyon analizi ile değerlendirildi.

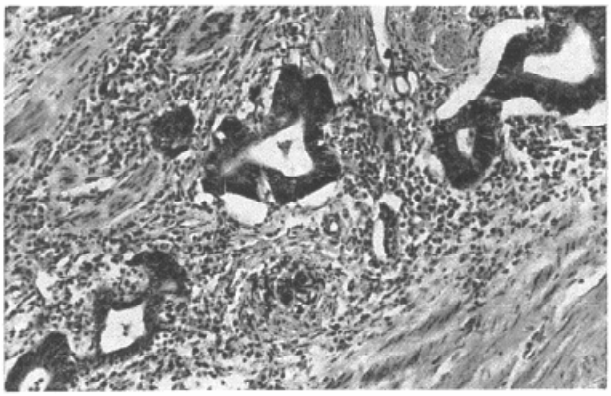
BULGULAR

Bu çalışmada incelenen 20 prostat adenorkarsinomunda neoplastik epitel hücrelerinin ve IMH'lerin HLA-DR ve S-100 protein antijen immunreaksiyonlarının semikantitatif değerlendirmeleri Tablo 1'de verilmektedir. Vak'aların 7/20'sinde (%35) neoplastik epitel hücrelerinde, 11/20' inde (%55) IMH'lerinde HLA-DR ekspresyonu saptanmıştır. Neoplastik epitel hücrelerinde 12/20 (%60) vakada S-100 protein pozitifliği mevcut iken, 10/20 (%50) vakada IMH'ler içerisinde S-100 pozitifliği gösteren hücrelerin varolduğu görülmüştür

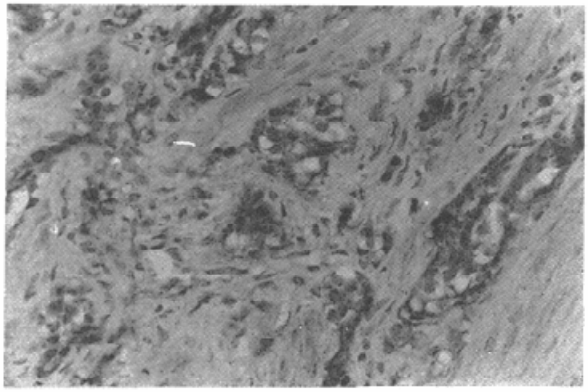
Düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç grade altında toplanan vakalarda incelenen parametrelerin semikantitatif değerlendirmelerinin vaka sayılarına göre dağılımı Tablo II'de görülmektedir. Düşük grade'li vakaların 1/3'ünde (%33), orta grade'li vakaların 5/11'inde (%45), yüksek grade'li vakaların ise 1/6'sında (%17) neoplastik epitel hücrelerinde HLA-DR ekspresyonu saptandı (Resim 1-2). Üç grade arasında neoplastik epitelyal HLA-DR ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak önemli bir farklılık görüllmedi ($p>0.05$).

HLA-DR pozitif IMH sayıları değerlendirildiğinde; düşük grade'li vakaların 3/3'ünde (%100), orta grade'li vak'aların 8/11'inde (%73) HLA-DR pozitif IMH'ler görülürken, yüksek grade'li vak'alarda HLA-DR pozitif IMH'ye rastlanmadı (Resim 3-4). İstatistiksel olarak düşük ve yüksek grade'li vakalar arasında ($p<0.05$) ve orta ile yüksek grade'li vakalar arasındaki ($p<0.001$) farklılıklar önemli düzeyde idi. Düşük ve orta grade'li vakalar arasında ise önemli bir farklılık görülmedi ($p>0.05$).

Çalışmamızda neoplastik epitelyal HLA-DR ekspresyonu ile HLA-DR pozitif IMH'lerin sayıları arasında pozitif bir korelasyon saptandı ($p<0.05$). Neoplastik epitel hücrelerinde HLA-DR eksp-



Resim 1 : Grade II büyük duktus kökenli adenokarsinom (Vaka no2). Neoplastik glandlarda kuvvetli sitoplazmik HLA-DR ekspresyonu ve bir gland çevresinde yoğunlaşmış HLA-DR pozitif IMH'ler (İmmunoperoksidazx100).



Resim 2 : Grade IV adenokarsinom (Vaka no 5). Neoplastik gland epitelinde zayıf HLA-DR ekspresyonu (Immunoperoksidazx200)

resyonu olan 5/20 (%25) vakada interstisyumda HLA-DR pozitif mononükleer hücreler de mevcuttu. Neoplastik glandüler epitel hücrelerinde HLA-DR pozitifliği bulunmayan 7/20 (%35) vakada interstisyel HLA-DR pozitif mononükleer hücreye de rastlanmadı. Neoplastik epitel hücrelerinde HLA-DR pozitifliği bulunan 2/20 (%10) vakada HLA-DR pozitif IMH mevcut değildi. HLA-DR pozitif IMH'lerin bulunduğu 6/20 (%30) vakada ise neoplastik hücrelerde HLA-DR ekspresyonu görülmedi.

Neoplastik epitelyal S-100 protein ekspresyonu değerlendirildiğinde; düşük grade'li vakaların 1/3'ünde (%33), orta grade'li vakaların 8/11'inde (%73), yüksek grade'li vakaların 3/6'sında (%50) pozitiflik görüldü. Üç grade arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsizdi (p>0.05).

S-100 pozitif IMH sayıları grade'lere göre değerlendirildi. Düşük grade'li vak'aların 2/3'ü (%66), orta grade'li vakaların 5/11'inde (%45), yüksek grade'li vak'aların 3/6'sında (%50) S-100 pozitif IMH'ler bulunduğu görüldü (Resim 5). Grade'ler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmadı (p>0.05).

Neoplastik epitelyal S-100 protein pozitifliği ile S-100 protein pozitif IMH sayıları arasında bir korelasyon saptanmadı (p>0.05).

İnterstisyumda HLA-DR pozitifliği gösteren hücre sayısı S-100 pozitif hücre sayısına göre daha fazla idi. Vakaların 15'inde (%75) interstisyumda dağınık ya da topluluk halinde lenfoid hücre infiltrasyonu mevcuttu. HLA-DR ve S-100 protein monoklonal antikorlar ile bu lenfoid hücre infiltrasyonunda pozitif boyanma görülmedi.

Vakalarda neoplastik epitelyal HLA-DR pozitifliği sitoplazmik ve membranöz, S-100 protein pozitfliği ise sitoplazmik olup, HLA-DR ekspresyonu büyük duktus menşeyli iki vakada daha kuvvetli idi. IMH'lerdeki HLA-DR ekspresyonu sitoplazmik ve membranöz, S-100 protein pozitifliği ise sitoplazmik ve nükleer idi.

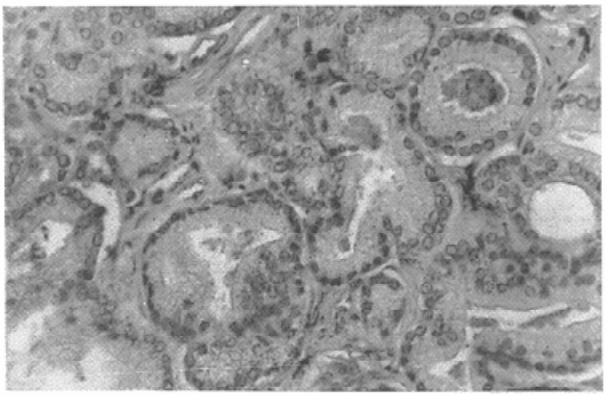
Normal prostatik gland epitel hücrelerinde HLA-DR ve S-100 protein ekspresyonu görülmedi. Bu alanlar çevresindeki interstisyel alanlarda birkaç vakada HLA-DR ve S-100 protein pozitif tek tük mononükleer hücre bulunduğu gözlendi.

TARTIŞMA

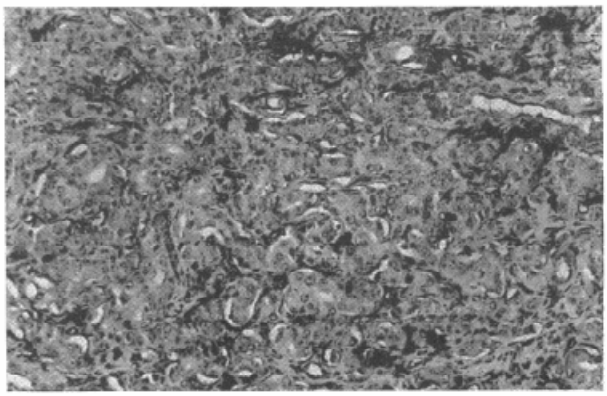
MHC ekspresyonun in vivo koşullarda tümör büyümesindeki rolü üzerine yapılan analizlerin henüz kabul edilebilir sonuçları olmamasına rağmen, bazı viral nedenler ile oluşan tümörlere karşı gelişen immün cevapta MHC'nin önemli olduğu ortaya konmuştur[1].

Tümörlerde mononükleer hücre infiltrasyonun rolü de henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir. Bazı tümörlerde (tiroid ve beyin tümörleri gibi) in vivo ve in vitro şartlarda HLA-DR antijenleri gösterilmiş, bu antijenlerin immün yanıtta önemli olabileceği öne sürülmüş, ancak tümör hücrelerinde HLA-DR antijen sentezi ile mononükleer hücre infiltrasyonu arasında korelasyon saptanmamıştır [2,3].

Normalde prostatik glandlar HLA-Class II MHC molekülü ekspresyonu göstermemektedir [4,5]. Bu çalışmada vakaların 7/20'sinde (%35) neoplastik epitelyal hücrelerde HLA-DR ekspresyonu görülmüştür. HLA-DR ekspresyonu vakaların 5'inde hafif ve orta derecelerde, 2'sinde ise kuvvetli izlenmiştir. Düşük, orta ve yüksek grade'li vakalar arasında HLA-DR ekspresyonu açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık saptanmamıştır (p>0.05). Ancak HL-DR pozitifliği düşük grade'li (%33) ve orta grade'li vakalarda (%45), yüksek grade'li vakalara göre (%17)



Resim 3 : Grade II adenokarsinom (Vaka no 3). İnterstisyumda az sayıda HLA-DR pozitif mononükleer hücreler (İmmunoperoksidazx400).



Resim 4 : Grade III-IV adenokarsinom (Vak'a no 10). Neoplastik epitelde HLA-DR ekspresyonu görülmeyen vakada interstisyumda çok sayıda HLA-DR pozitif mononükleer hücreler (İmmunoperoksidazx100).

daha fazla oranda görülmüştür (Tablo II).

Prostat dokusunda, interstisyumda normalde Class II MHC molekül pozitifliği gösteren dendritik morfolojide hücreler bulunur[5].

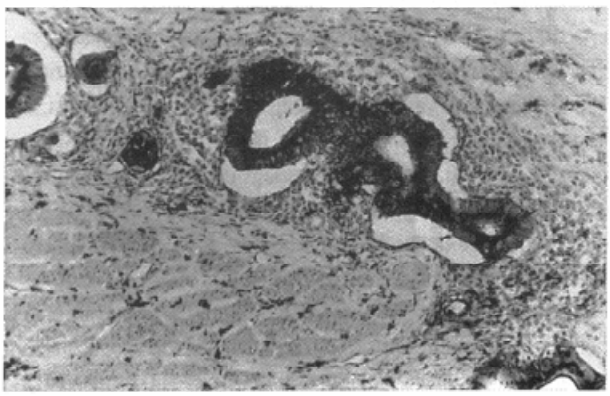
Çalışmamızda HLA-DR ve S-100 protein pozitifliği gösteren hücreler dendritik morfolojide veya oval, yuvarlak formda idi.

Dendritik hücreler ve makrofajlar immün yanıt ile ilişkili mononükleer hücrelerdir. Dendritik hücrelerin makrofajlara göre immünfenotipik ve morfolojik özellikleri farklı olup, antijen sunma işlevleri daha güçlüdür. Bu hücreler HLA-DR ve S-100 protein eksprese ederler. Lenfoid ve lenfoid olmayan pek çok dokuda bulunabilen dendritik hücre sisteminin bir elemanı olan Langerhans hücreleri S-100 protein pozitiftir, ancak HLA-DR negatif olabilir. Fagositik doku makrofajları ise HLA-DR pozitif olup S-100 protein negatiftir [5-7]. Bu literatür bilgilerine dayanarak vakalarımızda interstisyel hücrelerin arasında dendritik Langerhans hücreleri ve doku makrofajlarının bulunduğu sonucuna varıldı.

Bu çalışmada HLA-DR pozitif IMH'lerin düşük grade'li (%100) ve orta grade'li vakaların çoğunda (%73) değişen derecelerde var olduğu halde, yüksek grade'li vakalarda bulunmadığı görülmüştür (Tablo II). Buna göre, artan histopatolojik grade ile HLA-DR pozitif IMH'lerin bulunması ters ilişkili görünmektedir. Vakalar, S-100 protein pozitif IMH sayıları açısından karşılaştırıldığında, grade'ler arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

Literatürde bildirilen bir çalışmada, düşük grade'li (grade I ve II) prostat adenokarsinomlarında, interstisyumda, çoğu makrofaj olan, artmış sayıda HLA-DR pozitif mononükleer hücrelerin bulunduğu ve neoplastik epitelde de HLA-DR ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada interstisyel S-100 protein pozitif Langerhans hücre sayıları ile tümörün histopatolojik grade'i arasında tersine bir ilişki görülürken, Langerhans hücrelerinin sayısı ile tümör hücrelerindeki HLA-DR molekül ekspresyonu arasında direk bir korelasyon olmamakla birlikte, bu iki parametre arasında bir paralellik olduğu belirlenmiştir [2].

Biz çalışmamızdaki vakalarda, neoplastik epitel hücrelerindeki HLA-DR ekspresyonu ile HLA-DR pozitif IMH sayısı arasında pozitif bir korelasyon saptadık ($p<0.05$). Bu bulgumuz HLA-DR molekülleri aracılığı ile eksprese edildiği varsayılan tümöral antijenlerin, bu müleküller ile ekspresyonunun, HLA-DR pozitif IMH'lerin sayıca artmasına neden olduğunu ve bunların tümöral immünitede önemli olabileceğini düşündürmektedir.



Resim 5 : Grade II büyük duktus kökenli adenokarsinom (Vaka no 2). Neoplastik glandlarda kuvvetli sitoplazmik S-100 protein ekspresyonu ve interstisyumda S-100 protein pozitif IMH'ler (İmmunoperoksidazx100).

		Vaka Sayısı	Seminakantitatif derecelendirme				Pozitif vaka oranı (%)
			Yok (-)	1+	2+	3+	
Düşük Grade		3					
HLA-DR	Neoplastik Epitel		2	0	0	1	33
	IMH		0	1	1	1	100
S-100	Neoplastik Epitel		2	0	0	1	33
	IMH		1	2	0	0	66
Orta Grade		11					
HLA-DR	Neoplastik Epitel		6	3	1	1	45
	IMH		3	2	2	4	73
S-100	Neoplastik Epitel		3	5	2	1	73
	IMH		6	3	2	0	45
Yüksek Grade		6					
HLA-DR	Neoplastik Epitel		5	1	0	0	17
	IMH		6	0	0	0	0
S-100	Neoplastik Epitel		3	2	1	0	50
	IMH		3	2	1	0	50

Tablo 1 : Prostat adenokarsinom vak'alarında neoplastik epitelyal ve interstisyel mononükleer hücre (IMH)'lerde HLA-DR ve S-100 protein immünreaksiyonlarının semikantitatif derecelendirilmelerinin vak'a sayılarına göre dağılımı.

Prostat karsinomunda tümör grade'inin iyi bir prognostik gösterge olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda neoplastik epitelyal HLA-DR pozitifliğinin ve HLA-DR pozitif IMH'lerin düşük ve orta grade'li vakaların çoğunda saptanmış olması, yüksek grade'li vakalarda biri dışında neoplastik epitelde HLA-DR pozitifliğinin bulunmayışı ve HLA-DR pozitif IMH'lerin görülmemesi, bu iki parametrenin tümör grade'i ile ilişkili olduklarını desteklemektedir. Bu parametrelerin pozitfliği daha iyi bir prognozun göstergesi olabilir. Biyolojik davranışı belirgin olmayan orta grade'li tümörlerde de bu özelliklerin değerlendirilmesi klinik seyirin belirlenmesi açısından yararlı olabilir.

Bu çalışmada, vakaların 12'sinde (%60) neoplastik epitel hücrelerinde çoğunlukla zayıf ve orta derecelerde sitoplazmik S-100 protein pozitifliği saptadık (Tablo I-II). S-100 protein ekspresyonu açısından grade'ler arasında önemli bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Literatürde bir çalışmada daha çok grade I-III prostat adenorkarsinom vakalarında S-100 protein ekspresyonu saptanırken, yüksek grade'li vakalarda az oranda ya da hiç görülmediği bildirilmektedir [4]. Bu protein normal dokular yanısıra sarkomlar, meme ve akciğer karsinomları gibi patolojik dokularda da gösterilmiştir [8-9]. S-100 protein, CA^{+2} bağlayan asidik bir protein olup, hücrelerdeki rolü tam olarak bilinmemektedir [10]. Ekspresyon düzeyinin hücrelerin fonksiyonel davranışı ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [9].

Çalışmamız bir ön çalışma niteliğinde olup, geniş vakalı serilerde, klinik korelasyonlar da sağlanarak ilave çalışmaların yapılmasının bu parametrelerin önemini ve prognostik değerini ortaya koyacağı inancındayız. Bizim bulgularımız için klinik korelasyon kurmak üzere yeterli bilgi edinilememiştir.

1. Abbas AK., Lichtamn AH., Pober JS. Cellular and Molecular Immunology, 1 st ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1991; 112-124.
2. Goldsmith NK., Dikkman S., Bermas D., Davies TF., Roman SH. HLA Class II antigen expression and the autoimmune thyroid response in patients with benign and malignant thyroid tumors. Clin Immunol Immunopathol 1988; 48, 161-173.
3. Rossi ML., Jones NR., Esiri MM., Haves L. Mononuclear cell infiltrate and HLA-DR expression in intra -and extradural secondary carcinomas. Path Res Pract. 1991; 187: 55-61.
4. Bigotti G., Coli A., Castagnola D. Distribution of Langerhans cells and HLA Class II Molecules in prostatic carcinomas of different histopathological grade. The Prostate 1991; 19: 73-87.
5. Daar AS., Fuggle SV., Fabre JW., Ting A., Morris PJ. The detailed distribution of MHC Class II antigens in normal human organs. Transplant 1984; 38: 293-298.
6. Hammar S., Bockus D., Remington F., Bartha M. The widespread distribution of Langerhans cells in pathological tissue. An ultrastructural and immunohistochemical study. Hum Pathol 1986; 17: 894-905.
7. Wood GS., Turner RR., Shiurma RA., Eng L., Warnke RA. Human dendritic cellls and macrophages. In situ immunophenotypic definition of subsets that exhibit specific morphologic and microenvironmental characteristics. Am J Pathol 1985; 119: 73-82.
8. Cote RJ., Taylor CR. Immunohistochemistry and related marking techniques. In: Damjanow I., Linder James, editors. Anderson's Pathology. 10th. ed. (Vol 1) St Louis: Mosby, 1996; 147.
9. Vanstapel MJ., Gatter KC., Wolf-Peeters C., Mason DY., Desmet VD. New sites of human S-100 immunoreactivity detected with monoclonal antibodies. Am J Clin Pathol 1986; 85: 160-168.
10. Takahassih K., Isobe T., Ohtsuki Y., Akagi T., Sonobe H., Okuyama T. Immunohistochemical study on the distribution of ∝ and ß subunits of S-100 protein in human neoplasms and normal tissues. Virchows Arch (Cell Pathol) 1984; 45: 385-396.