

# **IDO-EKSPRESSIO KIELIKARSINOOMISSA**

LK Lauri Tiilikainen  
Syventävien opintojen kirjallinen työ  
Tampereen yliopisto  
Lääketieteen laitos  
Patologian yksikkö  
10/2010

Tampereen yliopisto  
Lääketieteen laitos  
Patologian yksikkö

TIILIKAINEN LAURI: IDO-EKSPRESSIO KIELIKARSINOOMISSA

Kirjallinen työ, 11 s.

Ohjaajat: professori Timo Paavonen, LT Sanna Salmi

Lokakuu 2010

Avainsanat: syöpä, metastasointi, immuunipuolustus, immunomodulaatio, tulehdus, immunohistokemiallinen värjäys

### **IDO-ekspressio kielikarsinoomissa**

Kielikarsinooma on suusyövistä tavallisimpia. Kielen alueen syöpä voi lähettää jo aikaisessa vaiheessa etäpesäkkeitä, joten taudin diagnosointi on tehtävä huolellisesti. Indoleamiini-2,3-dioksygenaasi (IDO) on tryptofaanin aineenvaihduntaan osallistuva entsyymi, jolla on tutkimuksissa havaittu olevan immuunijärjestelmää muokkaava vaikutus. On lisäksi havaittu, että syövässä IDO:lla on mahdollisesti tuumorin kasvamista potentioiva vaikutus immunosuppressiivisen ominaisuutensa vuoksi. Tutkimme IDO:n esiintymistä kielihyperplasiassa, kielikarsinoomassa ja kielikarsinooman imusolmukemetastaaseissa sekä IDO:n esiintymisen voimakkuuden yhteyttä metastasointiin. Lisäksi tutkimme tulehduksen voimakkuutta IDO:a syntetisoivassa kudoksessa. IDO:n roolia kielikarsinoomassa on tutkittu aiemmin hyvin niukasti. Tutkimusaineistomme koostui kudoksenäytteistä, joita oli otettu kielestä ja kaulan imusolmukkeista. Näytteet värjättiin immunohistokemiallisesti IDO-vasta-aineella ja analysoitiin valomikroskoopilla semikvantitatiivisesti. Analysoitavia parametreja olivat IDO-värjäytyvyyden positiivisuus ja intensiteetti sekä tarkasteltavan kudosalueen tulehduksen voimakkuus. Tulostemme perusteella kohonnut IDO-eritys ei näyttänyt liittyvän metastasointiin, eikä eri solumuutostyyppien ja -asteiden välillä näyttänyt olevan eroa IDO:n esiintymisessä. Kielikarsinoomanäytteiden tulehdusaste oli voimakkaampaa kuin kielihyperplasianäytteiden. IDO:n merkitystä syövän patogeenisissa on syytä tutkia lisää.

# SISÄLLYS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 JOHDANTO</b> .....                           | <b>1</b>  |
| 1.1 Kielikarsinoma .....                          | 1         |
| 1.2 Indoleamiini-2,3-dioksygenaasi.....           | 1         |
| 1.3 Tutkimuksen tavoitteet .....                  | 3         |
| <b>2 AINEISTO JA MENETELMÄT</b> .....             | <b>3</b>  |
| 2.1 Aineisto.....                                 | 3         |
| 2.2 Menetelmät .....                              | 4         |
| <b>3 TULOKSET</b> .....                           | <b>5</b>  |
| 3.1 Positiivisten solujen määrä .....             | 5         |
| 3.2 Positiivisen värjäytymisen intensiteetti..... | 6         |
| 3.3 Tulehdus.....                                 | 7         |
| <b>4 POHDINTA</b> .....                           | <b>8</b>  |
| <b>5 LÄHTEET</b> .....                            | <b>10</b> |

# 1 JOHDANTO

## 1.1 Kielikarsinooma

Kielen levyepiteelikarsinooma on suun alueen yleisimpiä syöpiä. Kielisyöpien esiintyvyys vaihtelee maittain, Suomessa todetaan noin 110 tapausta vuodessa (1). Kielisyövän, kuten muidenkin syöpien, varhainen tunnistaminen on olennaista ennusteen kannalta. Usein suusyöpä on alkuvaiheessaan vähäoireinen ja voi lähettää etäpesäkkeitä jo varhain. Kielisyövän riskitekijöitä ovat alkoholinkäyttö, tupakointi, eräät limakalvomuutokset, kuten Lichen planus ja leukoplakia sekä HPV-infektio. Kielisyövän hoito on kirurginen. Tarpeen vaatiessa hoitoon voidaan liittää myös sädehoito. (2)

Kliinisesti kielikarsinooman ennusteeseen heikentävästi vaikuttavina tekijöinä on pidetty kaulan imusolmukemetastaasien esiintymistä, karsinooman relapsia sekä samanaikaista toisen primäärikasvaimen kehittymistä. Sociodemografisten tekijöiden (ikä, sukupuoli, rotu, elämäntavat) ennusteellisesta merkityksestä on käyty keskustelua, mutta selkeää konsensusta ei toistaiseksi ole saavutettu. Myöskään kansainvälisen TNM-levinneisyysluokituksen ennustearvo ei ole kielikarsinoomassa yksiselitteinen; esimerkiksi primäärireesion koko ei välttämättä aina korreloi taudin vaikeusasteeseen, sillä metastaaseja voi ilmaantua jo primäärituumorin ollessa pienikokoinen ja ne saattavat jäädä huomaamatta kliinisessä tutkimuksessa. Histopatologisista ennustetekijöistä ei myöskään ole kielikarsinooman kohdalla olemassa selkeitä linjauksia. Silti on tutkittu useita yksittäisiä osa-alueita, kuten tuumorin angiogeneesia, apoptoosien määrää, histologista luokittelua sekä molekylaarisia markkereita. (3, 4)

## 1.2 Indoleamiini-2,3-dioksygenaasi

Indoleamiini-2,3-dioksygenaasi (IDO) on tryptofaaniaineenvaihduntaan osallistuva entsyymi, joka indusoi elimistössä tryptofaanin muuttumista kynureniiniksi. IDO on tässä metaboliareitissä nopeutta säätelevä entsyymi. IDO:a erittävät monet elimistön solut eri elinjärjestelmissä, ja paikallista IDO-entsyymiaktiivisuutta voidaan arvioida esimerkiksi kynureniini-tryptofaani-suhteen avulla. Kynureniinin syntymisen kautta IDO osallistuu epäsuorasti monien proteiinien ja entsyymien, kuten nikotiinihappoamidadieniidinukleotidin, (NADH) synteesiin. (5–7)

IDO-aktiivisuuden on havaittu vaikuttavan elimistössä tulehduksen ja immunotoleranssin väliseen tasapainoon. On todettu, että erilaiset tulehdusvälittäjäaineet, kuten interferoni  $\alpha$ ,  $\beta$  ja  $\gamma$ , lisäävät IDO-geenien transkriptiota (8). Dendriittisolusta peräisin olevalla IDO:lla on todettu tryptofaaniaineenvaihdunnan muutosten kautta olevan suppressiivinen vaikutus T-soluvälitteiseen immunitettiin (7, 9). Myös kudosten kohonnut kynureniinipitoisuus vaikuttaa suoraan immuunijärjestelmän soluihin muun muassa kiihdyttämällä puolustussolujen apoptoosia (10). Tryptofaanin kiihtynyt katabolia heikentää tutkimusten perusteella esimerkiksi T-solujen kasvua, erilaistumista ja toimintakykyä (7, 9). Paikallisesti IDO:n eritystä stimuloivat esimerkiksi erilaiset tulehdustilat. Tällä hetkellä oletetaan, että tämän tarkoituksena on normaalissa fysiologisessa tilanteessa estää elimistön immuunijärjestelmää tekemästä ylimäärin vahinkoa omiin kudoksiin (9).

Myös syöpäsolujen on todettu syntetisoivan IDO:a (11). Lisääntyneen IDO-ekspression on ajateltu olevan syöpäsolujen suojaumiskeino immuunijärjestelmää vastaan puolustussolujen tarvitseman tryptofaanin vähentymisen kautta (7). Tämän lisäksi tuumori- ja dendriittisolut kuluttavat jo itsessään tryptofaania, jolloin tryptofaanin määrä tuumorisolujen ympäristössä vähenee ja sitä jää T-solujen käytettäväksi yhä vähemmän (12). Myös tuumorialueen muiden solujen, kuten lymfosyyttien, dendriittisolujen, monosyyttien ja eosinofiilien, on todettu erittävän IDO:a (13, 14). Kohonnutta IDO-aktiivisuutta syöpäsolujen läheisyydessä on havaittu monien eri syöpien yhteydessä, kuten esimerkiksi keuhko-, kolon-, munasarja- ja rintasyövässä (13, 15–17). Nasaalialueella IDO-aktiivisuuden on havaittu olevan yhteydessä ainakin yleisesti immunotoleranssiin antigeeneja kohtaan esimerkiksi imusolmukkeissa (10). Kuitenkaan IDO:n merkitystä KNK-alueen syövissä ei juuri ole tutkittu.

Tuumorisolujen sekä antigeenia esittelevien solujen tuottama IDO hillitsee immuunipuolustusta niin, että sen reaktiokyky tuumoriantigeeneja kohtaan heikkenee. Tuumoriperäistä IDO:a voi kulkeutua metastasoituneiden syöpäsolujen mukana myös imusolmukkeisiin, joissa antigeeneja juuri esitellään. Näistä syistä on perusteltua ajatella, että tuumorisolujen kannalta on hyödyllistä erittää korkeita määriä IDO:a, koska tällöin mahdollisuudet immuunipuolustuksen väistämiseen kasvavat. Kasvaneen IDO-erityksen on todettu olevan huonon ennusteen merkki esimerkiksi munasarja- ja paksusuolisyövässä (15, 16).

Aihepiiriin liittyviä uusimpia farmakologisia tutkimuskohteita ovat IDO-inhibiittorit (esimerkiksi 1-metyylitryptofaani), joiden mahdollinen teho perustuisi juuri tuumorisolujen immunosuppressiivisen ominaisuuden estoon (11). Myös tämän vuoksi syövän ja IDO-ekspression yhteyttä olisi hyödyllistä tutkia lisää.

### **1.3 Tutkimuksen tavoitteet**

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää, millä tavoin ja kuinka paljon kielihyperplasioiden, kielikarsinoomien sekä kielikarsinoomien kaulan imusolmukemetastaasien solukoissa esiintyy indoleamiini-2,3-dioksygenaasia. Tavoitteena oli myös tutkia, liittyykö primäärinäytteen kohonnut IDO:n esiintyminen kielikarsinooman metastasoitumiseen eli onko IDO:n esiintymisen asteella metastasointia lisäävää vaikutusta kielikarsinoomassa. Tarkoituksena oli lisäksi selvittää, millaisia eroja eri solumuutostyypeillä on IDO-erityksen aktiivisuudessa, ja kuinka voimakasta tulehdusta esiintyy IDO:a syntetisoivassa kudoksessa.

## **2 AINEISTO JA MENETELMÄT**

### **2.1 Aineisto**

Tutkimusaineisto koostui Tampereen yliopistollisessa sairaalassa vuosina 1994–2007 resekoituista suun ja kaulan alueen kudoksenäytteistä (PSHP Laboratoriokeskus, patologian osasto). Näytteitä oli otettu kielestä, tonsilloista, nielusta, suun limakalvoilta sekä kaulan alueen imusolmukkeista, potilaan taudista riippuen. Kunkin näytteen lopullisena diagnoosina oli joko hyperplasia, dysplasia tai karsinooma. Imusolmukenäytteet liittyivät aina kullakin potilaalla johonkin edellä mainituista diagnooseista, ja kustakin imusolmukenäytteestä joko löytyi metastaasi tai ei.

Alkuperäisen aineiston koko oli 183 suun alueen näytettä. Aineistosta jätettiin pois 26 näytettä, koska näytteitä vastaavia parafiiniblokkeja ei ollut mahdollista saada arkistosta. Lisäksi kolme näytettä poistettiin aineistosta huonon laadun vuoksi. Kielen dysplasianäytteitä (3 kpl) ei otettu lopulliseen tilastointiin niiden lukumäärän vähyyden vuoksi. Tonsilla-, nielu- ja suun limakalvon näytteet sekä niihin liittyneet imusolmukenäytteet (18 kpl) jätettiin myös pois lopullisesta aineistosta.

Karsimisen jälkeen aineiston lopullinen koko oli 133 näytettä. Näistä 96 oli kielinäytteitä, joista 66 oli diagnosoitu karsinoomaksi ja 30 hyperplasiaksi. Kielikarsinoomanäytteisiin liittyviä imusolmukenäytteitä oli yhteensä 37, joista 23:ssa oli metastaasi ja 14:ssä ei ollut metastaasia. 29 kielikarsinoomanäytteeseen ei liittynyt lainkaan imusolmukenäytettä. Potilaita aineistossamme oli 96, joista 43 (45 %) oli miehiä ja 53 (55 %) naisia. Potilaiden keski-ikä oli 60 vuotta (18–92 vuotta).

## 2.2 Menetelmät

Potilaista otetut näytteet oli resekoinnin jälkeen fiksoitu aluksi 10 %:lla formaliinilla, minkä jälkeen ne oli käsitelty tavalliseen tapaan kudosprossessorissa ja valettu parafiiniblokeiksi.

Tutkimuksessa IDO-aktiivisuuden määrittämiseksi kudokset värjättiin immunohistokemiallisesti monoklonaalisen IDO-vasta-aineen (Chemicon) avulla. Kunkin kudoksenäytteen parafiiniblokista leikattiin mikrotomilla 4–5 µm:n paksuisia leikkeitä, jotka poimittiin näytelasille ja deparafinoitiin sekä esikäsiteltiin immunovärjäysautomaatissa. Tämän jälkeen immunovärjystä varten pipetoitiin kuhunkin näytteeseen 100 µl 1:200-suhteessa laimennettua hiiren monoklonaalista IDO-vasta-ainetta, minkä jälkeen näytteet lopullisesti värjättiin värjäysautomaatissa. Lopuksi näytteet vietiin nousevan alkoholisarjan läpi (aqua 2 min., etanoli 70 % 2 min., etanoli 94 % kahdesti 2 min., absoluuttinen etanoli kolmesti 2 min., ksyleeni kolmesti 5 min.) ja peitettiin peitinlasilla.

Näytteiden IDO-aktiivisuutta arvioitiin valomikroskooppisesti määrittämällä semikvantitatiivisesti IDO-spesifisen värjäytyvyyden taso parametreilla positiivisuus ja intensiteetti. Lisäksi kaikista näytteistä lukuun ottamatta imusolmukenäytteitä määritettiin myös tulehduksen voimakkuus semikvantitatiivisesti arvioimalla tulehdussoluinfiltraation tasoa solumuutosalueilla. Kaikissa edellä mainituissa arvioinneissa käytettiin asteikkoa 0–3. Lisäksi kaikista karsinoomanäytteistä määritettiin syövän gradus-luokka asteikolla 1–3.

Immunohistokemiallista IDO-värjäytyvyyttä arvioitaessa positiivisuus määräytyi näytteestä sen mukaan, kuinka suuri osuus tarkasteluun soveltuvista soluista oli IDO-positiivisia. Yksittäinen solu katsottiin IDO-positiiviseksi, mikäli siinä esiintyi IDO:n immunohistokemialliselle värjäytymiselle tyypillistä väriaineen jyvämuodostusta. Asteikko: 0 = ei yhtään, 1 = > 5 % soluista, 2 = > 25 % soluista, 3 = > 50 % soluista.

IDO-värjäytyvyyttä arvioitaessa intensiteetti määräytyi näytteen värjäytyvyyden voimakkuuden mukaan semikvantitatiivisesti siten, että käytännössä värjäytymätön näyte edusti arvoa 0 ja voimakkaimmin värjäytynyt näyte arvoa 3.

Tulehdusta arvioitiin näytteestä määrittelemällä varsinaisen muutoksen ympärillä sijainneen tulehdussolukon määrä. Tulehduksen voimakkuuden arviointi tehtiin kaikille muille näytteille paitsi imusolmukenäytteille. Asteikossa arvo 0 vastasi näytettä, jonka kohdesolukon ympäriltä ei löytynyt tai löytyi vain hyvin vähän tulehdussoluja (lymfosyyttejä ja polymorfonukleaarisia leukosyyttejä), arvo 3 vastasi voimakkainta kohdesolukkoa ympäröivää tulehdussoluinfiltraatiota.

Mikroskooppievaluuaatiosta saadut tulokset käsiteltiin taulukkomuodossa SPSS-tilasto-ohjelmalla.

### **3 TULOKSET**

Tutkimustulosten analysointivaiheessa aineisto jaettiin tilastollista vertailua varten ryhmiin, joita olivat kielikarsinomanäytteet, joista oli olemassa myös metastaasi-imusolmukenäyte (met+), kielikarsinomanäytteet, joista oli olemassa puhdas, metastaasivapaa imusolmukenäyte (met-), kielikarsinomanäytteet, joista ei ollut olemassa imusolmukenäytettä (met?), kielihyperplasianäytteet (hyp) sekä metastaasi-imusolmukenäytteet (metas). Lisäksi kielikarsinomanäytteet yhdistettiin (met+, met- ja met? -ryhmät yhdistettyinä keskenään) ja jaettiin ryhmiin gradus-luokituksen mukaan asteikolla 1–3.

#### **3.1 Positiivisten solujen määrä**

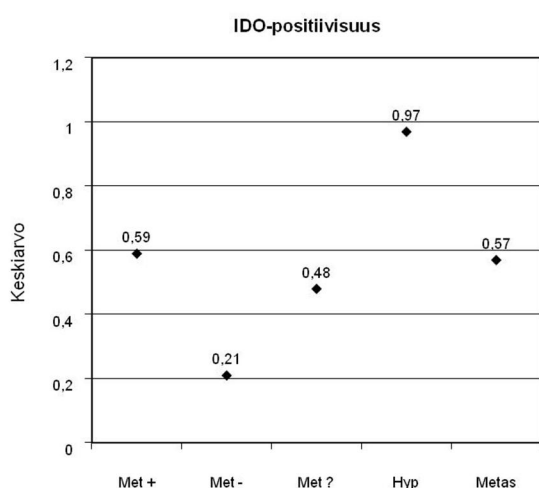
IDO-positiivisuuden keskiarvot eri ryhmissä on esitetty kaaviomuodossa kuvassa 1. Kuvassa 2 on esitetty IDO-positiivisuuden keskiarvo kielikarsinoomaryhmän eri gradus-luokissa. Eri ryhmien välillä tehtiin tilastollinen vertailu IDO-positiivisuuden voimakkuuden suhteen. Kielikarsinomanäytteillä, joihin liittyi metastaasi-imusolmukenäyte (met+), ei ollut eroa IDO-positiivisuudessa verrattuna niihin kielikarsinomanäytteisiin, joista oli olemassa puhdas, metastaasivapaa imusolmukenäyte (met-) ( $p = 0,697$ ). Eroa ei myöskään syntynyt, kun edellistä ryhmää (met+) verrattiin metastaasivapaisiin kielikarsinomanäytteisiin (met-) yhdistettynä niihin kielikarsinomanäytteisiin, joista imusolmukenäytteitä ei ollut lainkaan olemassa (met?) ( $p = 0,442$ ). Kun kaikki kielikarsinomanäytteet yhdistettiin keskenään (met+, met- ja met? yhdessä) ja



verrattiin niitä kielihyperplasianäytteisiin (hyp), ei todettu tilastollisesti merkitsevää eroa IDO-positiivisuuden suhteen ( $p = 0,126$ ). Myöskään kielikarsinoomanäytteiden eri gradus-luokkien välillä ei todettu merkitsevää eroa ( $p = 0,801$ ), kuten ei kielikarsinoomanäytteiden ja niihin liittyvien imusolmukemetastaasienkaan (metas) välillä ( $p = 0,645$ ).

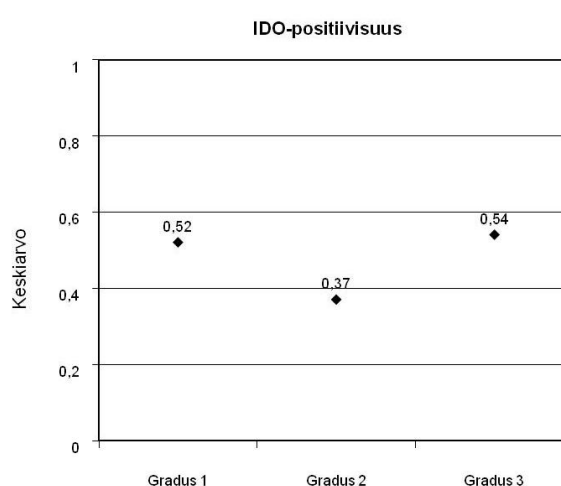
### 3.2 Positiivisen värjäytymisen intensiteetti

Eri ryhmien IDO-intensiteetin keskiarvot on esitetty kuvassa 3. Kuvassa 4 on esitetty kielikarsinoomanäytteiden IDO-intensiteetin keskiarvot gradus-luokituksen mukaan. Intensiteetin astetta vertailtiin tutkimuksessa eri ryhmien välillä. Kielikarsinoomanäytteillä, joihin liittyi metastaasi-imusolmukenäyte (met+), ei ollut eroa IDO-intensiteetissä verrattuna niihin kielikarsinoomanäytteisiin, joista oli olemassa puhdas, metastaasivapaa imusolmukenäyte (met-) ( $p = 0,697$ ). Intensiteetin suhteen eroa ei myöskään havaittu verrattaessa toisiinsa metastaasi-imusolmukkeisiin liittyviä kielikarsinoomanäytteitä (met+) ja ryhmää, jossa oli yhdistettynä metastaasivapaat kielikarsinoomanäytteet (met-) sekä imusolmukkeettomat kielikarsinoomanäytteet (met?) ( $p = 0,570$ ). Hyperplasianäytteiden ryhmässä (hyp) IDO-intensiteetti oli lähes tilastollisesti merkitsevästi korkeampi verrattuna ryhmään, jossa kaikki kielikarsinoomanäytteet oli yhdistetty (met+, met- ja met?) ( $p = 0,054$ ). Eri gradus-luokkien välillä ei ollut kielikarsinoomaryhmässä tilastollisesti merkitsevästi eroa intensiteetissä ( $p = 0,750$ ).



Kuva 1. IDO-positiivisuuden keskiarvo eri ryhmissä.

Met + = Metastasoineet kielikarsinoomat  
 Met - = Metastasoimattomat kielikarsinoomat  
 Met ? = Kielikarsinoomat, joista ei otettu imusolmukenäytettä  
 Hyp = Kielihyperplasiat  
 Metas = Met + -ryhmän kielikarsinoomien metastaasi-imusolmukenäytteet

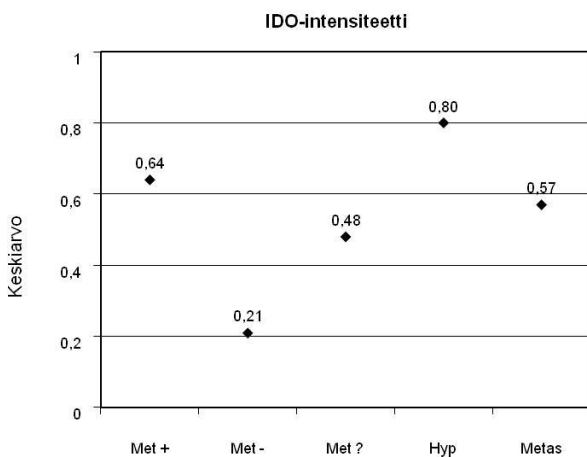


Kuva 2. IDO-positiivisuuden keskiarvo kielikarsinoomaryhmässä (met+, met- ja met? yhdistettynä) graduksen mukaan.

Myöskään metastasoituneiden kielikarsinoomien primäärinäytteiden (met+) ja näihin liittyvien metastaasi-imusolmukkeista otettujen näytteiden (metas) välillä ei ollut eroa IDO-intensiteetissä ( $p = 0,645$ ).

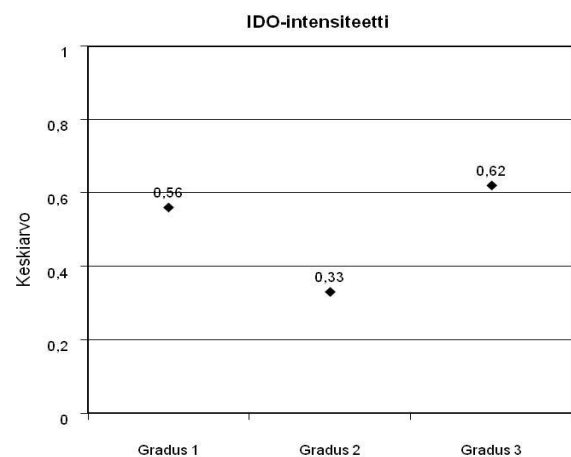
### 3.3 Tulehdus

Eri näyteryhmien tulehdusastetta kuvaavat keskiarvot on esitetty kuvassa 5. Kuvaan 6 on laskettu tulehduksen voimakkuuden keskiarvo kielikarsinoomanäytteiden eri gradus-luokissa. Metastasoituneiden kielikarsinoomien (met+) ja metastasoimattomien kielikarsinoomien (met-) näytteiden välillä ei ollut tilastollista eroa tulehdusasteen suhteen ( $p = 0,807$ ). Eroa ei syntynyt metastasoituneiden kielikarsinoomien suhteen (met+), vaikka metastasoitumattomien kielikarsinoomien (met-) ryhmään yhdistettiin ne kielikarsinoomanäytteet, joihin ei liittynyt imusolmukenäytettä (met?) ( $p = 0,367$ ). Kun kaikki kielikarsinoomanäytteet yhdistettiin yhdeksi ryhmäksi (met+, met- ja met?) ja verrattiin tätä hyperplasianäytteisiin (hyp) tulehdusasteen suhteen, oli havaittavissa tilastollisesti merkitsevä ero siten, että tulehdus oli voimakkaampaa yhdistetyssä karsinoomaryhmässä ( $p < 0,001$ ). Kielikarsinoomaryhmässä ei havaittu tulehdusasteen suhteen tilastollista eroa eri gradus-asteiden välillä ( $p = 0,087$ ).



Kuva 3. IDO-intensiteetin keskiarvo eri ryhmissä.

Met + = Metastasoineet kielikarsinoomat  
 Met - = Metastasoimattomat kielikarsinoomat  
 Met ? = Kielikarsinoomat, joista ei otettu imusolmukenäytettä  
 Hyp = Kielihyperplasiat  
 Metas = Met + -ryhmän kielikarsinoomien metastaasi-imusolmukenäytteet



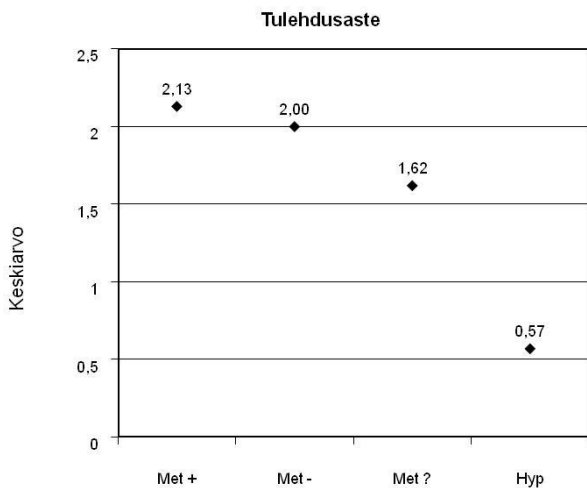
Kuva 4. IDO-intensiteetin keskiarvo kielikarsinoomaryhmässä (met+, met- ja met? yhdistettyinä) graduksen mukaan.

## 4 POHDINTA

Kielikarsinoomassa etäpesäkkeiden kehittymisen ja taudin etenemisen tutkiminen on perusteltua, sillä levinnyt syöpä voi kehittyä salakavalasti jo varhain. Kaikkien metastasoitumisherkkyteen vaikuttavien, myös solutasolla toimivien, tekijöiden selvittäminen on tärkeää. Siksi IDO:n toiminta kielikarsinoomassa on tutkimuskohteena mielekäs.

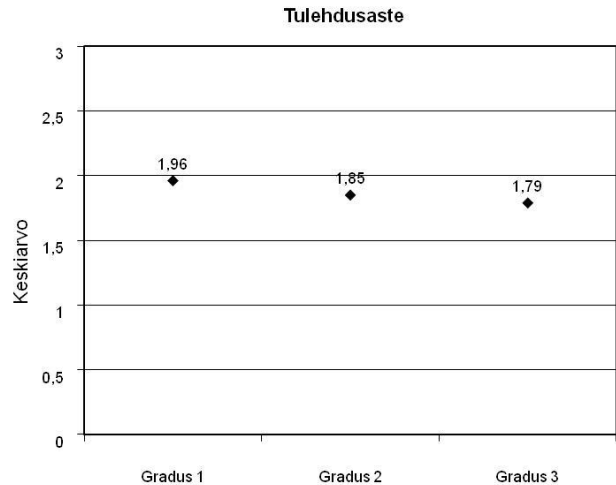
Useissa aiemmissa IDO:n suhdetta maligniteetteihin käsitelleissä tutkimuksissa on todettu, että eri syövissä IDO:n erityis malignissa kudoksessa on kohonnut verrattuna terveeseen kudokseen (11). On lisäksi havaittu, että IDO-eritys lisääntyy tällöin myös maligniteettia ympäröivässä kudoksessa. On jopa esitetty, että IDO:n välittämä syöpäsolujen ”immune escape” olisi jossain määrin riippuvainen tästä ympäröivän tulehdussolukon IDO-tuotannosta. (13)

Tutkimuksessamme kudoksen IDO-erityksen voimakkuutta arvioitiin immunohistokemiallisen värjäytymisen perusteella ja arviointi tehtiin mikroskoopitarkastelussa. Immunohistokemiallista värjäystä on käytetty muissakin IDO-ekspressioon liittyvissä tutkimuksissa, esimerkiksi tutkittaessa IDO:n esiintymistä ruokatorven syövässä, munasarjasyövässä sekä paksusuolen syövässä (15, 16, 18).



Kuva 5. Tulehduksen voimakkuuden keskiarvo eri ryhmissä.

Met + = Metastasoineet kielikarsinoomat  
 Met - = Metastasoimattomat kielikarsinoomat  
 Met ? = Kielikarsinoomat, joista ei otettu imusolmukenäytettä  
 Hyp = Kielihyperplasiat



Kuva 6. Tulehduksen voimakkuuden keskiarvo kielikarsinoomaryhmässä (met+, met- ja met? yhdistettyinä) graduksen mukaan.

Tutkimustulostemme perusteella kielikarsinoomien metastasoitumisaste ei näyttäisi liittyvän kohonneeseen IDO-synteesiin primäärissä kielikarsinoomamuutoksessa. IDO-värjäytyvyyden positiivisuudessa ja intensiteetissä ei havaittu tilastollista eroa metastasoituneiden ja metastasoimattomien kielikarsinoomien välillä. Myöskään kielikarsinooma- ja kielihyperplasianäytteiden välillä ei todettu tilastollisesti merkitsevää eroa IDO:n esiintymisen voimakkuudessa. Kielikarsinoomien gradus-asteilla ei näyttänyt olevan yhteyttä IDO-syntetisaation voimakkuuteen, eikä IDO-värjäytyvydessä todettu tilastollista eroa kielikarsinoomien ja näiden metastaasien välillä.

Syöpäkuudoksen IDO-erityksen voimakkuuden ja metastasoinnin suhdetta sekä IDO:n esiintymisen merkitystä syöpäpotilaan ennusteen kannalta on aiemmin tutkittu. Tutkimustulosten perusteella on havaittu, että kohonnut IDO-eritys primäärikasvaimessa on malignissa taudissa yhteydessä lisääntyneeseen kuolleisuuteen ja metastasointiin (15, 16, 19). Kuitenkin yksittäisissä tutkimuksissa on eräissä syöpätyypeissä havaittu myös päinvastaista: eräässä tutkimuksessa IDO:n esiintyminen primäärikasvaimen ympäristössä liittyi parempaan ennusteeseen (20). Tämän vuoksi on ajateltu IDO:n todellisen luonteen olevan toistaiseksi tuntematon. Katz ym. (2008) pitivät katsausartikkelissaan olennaisena, että IDO:n toimintaa ja roolia maligniteettien syntymisessä tulisi tutkia yhä kliinisemmästä lähtökohdasta (11).

Nykyisen tutkimustiedon perusteella ennakko-oletuksemme tutkimusasetelmassa oli, että IDO-eritys olisi kielikarsinoomassa pääsääntöisesti tervettä kudosta voimakkaampaa ja liittyisi erityisesti korkeampaan gradus-asteeseen ja metastasointiin. Aineistossamme ei ollut kuitenkaan IDO-värjäytyvyyden suhteen tilastollisesti merkitseviä eroavaisuuksia eri analysoitavien ryhmien välillä. Tulokseen on luultavasti monia syitä. Eräs niistä voi olla se, että tutkimuksessamme immunohistokemiallista värjäytyvyyttä IDO:n suhteen arvioitiin ainoastaan malignien solujen suhteen, jolloin esimerkiksi tuumorialuetta ympäröivät tulehdussolut jäivät tarkastelun ulkopuolelle. Pan ym. (2008) ottivat immunohistokemialliseen värjäytymiseen perustuvassa mikroskooppisessa IDO-evaluaatiossa tarkasteluun positiivisten tuumorisolujen lisäksi myös välittömässä läheisyydessä sijainneet terveet positiiviset parenkyymisolut ja tulehdussolut (19).

Tutkimuksessamme havaittiin lisäksi, että kielikarsinoomanäytteissä näytti olevan enemmän tulehdusta kuin benigneissä näytteissä. Tämä kertoo siitä, että elimistön immuunipuolustuksen aktivoituminen liittyy kiinteästi maligniteettien synty- ja kehittymismekanismiin. Tutkimuksemme ei kuitenkaan pyrkinyt osoittamaan kohdesolukkoa ympäröivien tulehdussolujen IDO-erityksen

tasoa. Tuumori- ja immuunipuolustusjärjestelmän solujen välinen vuorovaikutus vaikuttaa kuitenkin mitä ilmeisimmin maligniteetin kehittymiseen ja leviämiseen, joissa IDO on myös mitä todennäköisimmin vaikuttamassa (13).

Tutkimuksemme perusteella kielikarsinoomassa primäärikasvaimen IDO-erityksen voimakkuus ei vaikuttaisi liittyvän metastaasien kehittymisen todennäköisyyteen. Kielikarsinoomassa primäärituumorin ja kielihyperplasian välillä ei ollut tutkimuksessamme eroavaisuutta IDO-erityksen voimakkuudessa. Tutkimustuloksemme perusteella IDO:n roolia tuumorin ja tulehduksen vuorovaikutuksessa tulisi selvittää lisää. Kielen sekä yleisemmin pään ja kaulan alueen syöpiin liittyvä ja IDO:n esiintymisen selvittämiseen keskittynyt tutkimus on perusteltua jatkossakin, koska nykyisen tutkimustiedon perusteella IDO:n todellinen merkitys syövän ja sen leviämisen patogeneesissa on epäselvä.

## 5 LÄHTEET

1. Grenman R. Tietoa potilaalle: Suusyöpä (kielisyöpä, huulisyöpä ja suuontelon syöpä). Lääkärikirja Duodecim 13.10.2009.
2. Suusyövän Käypä hoito -suositus. 8.12.2006.
3. Bello IO, Soini Y, Salo T. Prognostic evaluation of oral tongue cancer: Means, markers and perspectives (I). *Oral Oncol.* 2010 Jul 14.
4. Bello IO, Soini Y, Salo T. Prognostic evaluation of oral tongue cancer: Means, markers and perspectives (II). *Oral Oncol.* 2010 Jul 14.
5. Kaper T, Looger LL, Takanaga H, Platten M, Steinman L, Frommer WB. Nanosensor detection of an immunoregulatory tryptophan influx/kynurenine efflux cycle. *PLoS Biol.* 2007 Oct;5(10):e257.
6. Ball HJ, Sanchez-Perez A, Weiser S, Austin CJ, Astelbauer F, Miu J, et al. Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice. *Gene.* 2007 Jul 1;396(1):203-13.
7. Prendergast GC. Immune escape as a fundamental trait of cancer: Focus on IDO. *Oncogene.* 2008 Jun 26;27(28):3889-900.
8. Puccetti P. On watching the watchers: IDO and type I/II IFN. *Eur J Immunol.* 2007 Apr;37(4):876-9.
9. Mellor A. Indoleamine 2,3 dioxygenase and regulation of T cell immunity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005 Dec 9;338(1):20-4.
10. van der Marel AP, Samsom JN, Greuter M, van Berkel LA, O'Toole T, Kraal G, et al. Blockade of IDO inhibits nasal tolerance induction. *J Immunol.* 2007 Jul 15;179(2):894-900.

11. Katz JB, Muller AJ, Prendergast GC. Indoleamine 2,3-dioxygenase in T-cell tolerance and tumoral immune escape. *Immunol Rev.* 2008 Apr;222:206-21.
12. Zamanakou M, Germenis AE, Karanikas V. Tumor immune escape mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunol Lett.* 2007 Aug 15;111(2):69-75.
13. Karanikas V, Zamanakou M, Kerenidi T, Dahabreh J, Hevas A, Nakou M, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) expression in lung cancer. *Cancer Biol Ther.* 2007 Aug;6(8):1258-62.
14. Astigiano S, Morandi B, Costa R, Mastracci L, D'Agostino A, Ratto GB, et al. Eosinophil granulocytes account for indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated immune escape in human non-small cell lung cancer. *Neoplasia.* 2005 Apr;7(4):390-6.
15. Brandacher G, Perathoner A, Ladurner R, Schneeberger S, Obrist P, Winkler C, et al. Prognostic value of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in colorectal cancer: Effect on tumor-infiltrating T cells. *Clin Cancer Res.* 2006 Feb 15;12(4):1144-51.
16. Okamoto A, Nikaido T, Ochiai K, Takakura S, Saito M, Aoki Y, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase serves as a marker of poor prognosis in gene expression profiles of serous ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res.* 2005 Aug 15;11(16):6030-9.
17. Travers MT, Gow IF, Barber MC, Thomson J, Shennan DB. Indoleamine 2,3-dioxygenase activity and L-tryptophan transport in human breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2004 Feb 10;1661(1):106-12.
18. Liu J, Lu G, Tang F, Liu Y, Cui G. Localization of indoleamine 2,3-dioxygenase in human esophageal squamous cell carcinomas. *Virchows Arch.* 2009 Oct 21.
19. Pan K, Wang H, Chen MS, Zhang HK, Weng DS, Zhou J, et al. Expression and prognosis role of indoleamine 2,3-dioxygenase in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2008 Nov;134(11):1247-53.
20. Ishio T, Goto S, Tahara K, Tone S, Kawano K, Kitano S. Immunoactivative role of indoleamine 2,3-dioxygenase in human hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004 Mar;19(3):319-26.