

MED-3950 5.-årsoppgaven
Profesjonsstudiet i medisin ved Universitetet i Tromsø



Immunsystemets dobbeltrolle i kreftutvikling

Nora Ness

MK-09

97533239, nora.ness4@gmail.com

Veileder: Elin Richardsen

IMB, Det helsevitenskapelige fakultet, UiT.

elin.richardsen@unn.no

Tromsø, 25.05.13

Innholdsfortegnelse

Resymè	S.4
Formålet med oppgaven.....	S.4
Metode.....	S.4
Om oppgaven.....	S.4
Forkortelser	S.5
Nøkkelord	S.5
1. Introduksjon	S.6
Sykdomsgruppen kreft.....	S.6
Kreft er mer enn bare kreftceller.....	S.7
Immunsystemet og kreft.....	S.8
2. Menneskets immunsystem	S.9
2.1. Immunsystemets komponenter	S.9
Immuncellene.....	S.9
Signalsubstansene.....	S.10
2.2. Immunforsvarets inndeling	S.11
Det medfødte immunforsvaret.....	S.11
Det adaptive immunforsvaret.....	S.11
2.3. Immunforsvarets rolle ved infeksjon	S.12
2.3.1. Det medfødte immunforsvaret mekanismer ved infeksjon	S.12
Medfødt immunrespons mot ekstracellulære agens.....	S.12
Medfødt immunrespons mot intracellulære agens.....	S.14
2.3.2. Det adaptive immunforsvarets mekanismer ved infeksjon	S.15
T- og B-lymfocytter er hovedcellene i det adaptive immunsystemet.....	S.15
Antigenpresentasjon.....	S.16
Adaptiv immunrespons – Humoral immunrespons.....	S.17
Adaptiv immunrespons – Cellulær immunrespons.....	S.18
2.4. Immunotoleranse	S.19
Utvikling av immunotoleranse.....	S.19
Regulatoriske T-celler.....	S.20
3. Immunsystemet er med på å forhindre kreftutvikling	S.21
3.1. Teorien om cancer immunosurveillance	S.21
Tidlige sammenhenger mellom kreft og immunrespons.....	S.21

Hypotesen om cancer immunosurveillance formuleres.....	S.22
1970-tallet - hypotesen om cancer immunosurveillance legges død.....	S.23
1990-tallet – hypotesen om cancer immunosurveillance får en renessanse.....	S.24
3.2. Cancer immunosurveillance hos mennesker.....	S.25
Immunosupprimerte individer har høyere forekomst av flere ikke-virale krefttyper sammenlignet med immunokompetente kontroller.....	S.25
Kreftcelle-antigener.....	S.25
Tumorinfiltrerende lymfocytter (TILs) i kan være en positiv prognostisk faktor.....	S.27
3.3. Teorien om cancer immunoedeting.....	S.27
3.3.1. Elimination: immunforsvarets metoder for å eliminere transformerte celler.....	S.29
Kreftceller kan trigge immunsystemet til anti-kreftrespons.....	S.29
Immunsystemet har flere mekanismer for å eliminere kreftceller.....	S.30
3.3.2. Equilibrium: immunsystemet er med på å avle frem kreftceller som kan unngå immunrespons.....	S.32
3.3.3. Immunoescape: kreftcellers metoder for å unngå å bli drept av immunsystemet.....	S.33
Immunopriviligerte mikromiljø i kreftsvulster.....	S.34
Immunosupprimerende immunceller.....	S.35
Kreftceller kan unnsnippe immunsystemets drapsmekanismer.....	S.37
4. Inflammasjon kan fremme kreftutvikling.....	S.39
4.1. Kronisk inflammasjon og økt kreftrisiko.....	S.39
Tidlige sammenhenger mellom irritasjon, inflammasjon og kreft.....	S.39
Indisier for at inflammasjon er et viktig bidrag i kreftutvikling.....	S.40
4.2. Kronisk inflammasjon og mekanismer for kreftutvikling.....	S.42
Forskjellen mellom akutt og kronisk inflammasjon i kreftutvikling.....	S.42
Tumorinfiltrerende immunceller har mekanismer som kan fremme kreftutvikling.....	S.45
Immuncelletyper som er assosiert med pro-karsinogene mekanismer.....	S.46
De immunoregulerende transkripsjonsfaktorene NF- κ B og STAT3 er overaktivert i flere krefttyper.....	S.48
Cytokiner i kreftutvikling.....	S.49
Kjemokiner og kjemokinreseptorer kan bidra til kreftutvikling.....	S.51
5. Klinisk betydning av kreftimmunologi.....	S.52
5.1. Bruk av immuncellemarkører i prognostisk utredning.....	S.52
Immunoscore (IS)	S.52
5.2. Immunologi og kreftterapi.....	S.53
Monoklonale antistoffer.....	S.53

Graft-vs-Host i allogene beinmargstransplantasjoner	S.53
Cancer immunoterapi.....	S.54
Resistansproblematikk.....	S.54
6. Oppsummering.....	S.55
Referanser.....	S.56

Resymè

Formålet med oppgaven

I løpet av medisinstudiet har jeg flere ganger blitt fascinert av immunsystemets påvirkning av utallige normale og patologiske prosesser i kroppen - det kan virke som om immunsystemet «alltid er involvert». Den store sykdomsgruppen kreft har også lenge interessert meg: både på grunn av dens svært interessante og avanserte biologiske mekanismer, og fordi de kontinuerlige fremskrittene i forskningen relativt raskt kan få store betydninger for de mange tusen som rammes av disse sykdommene hvert år. Jeg har valgt å gjøre et litteraturstudium der formålet var å lære meg mer om immunsystemets komplekse og motstridende mekanismer i kreftutvikling. Det har vært et spennende, men også krevende arbeid å forsøke å trekke ut essensen i dette enorme fagfeltet.

Metode

Jeg har gjort en systematisk gjennomgang av litteraturen som omhandler min valgte problemstilling. Litteraturen som jeg har benyttet i denne oppgaven er hovedsakelig funnet ved hjelp av medisinske databaser som PubMed og Cochrane. Jeg har også brukt søketjenesten Google Scholar til å finne aktuelle kilder, som jeg deretter har søkt opp i de nevnte medisinske databasene. Jeg har benyttet meg av anerkjente lærebøker og da spesielt «The Biology of Cancer» av Robert Weinberg, «Robbins Basic Pathology» av Kumar et al., og Peter Parhams «The Immune System».

Om oppgaven

Immunsystemet er viktig i kreftutvikling på to motstridende måter, på den ene siden kan det eliminere kreftceller, mens det på den andre siden kan fremme kreftutvikling. I oppgaven vil jeg så systematisk som mulig beskrive mekanismene for hvordan disse påvirkningene skjer, innledningsvis ved å beskrive det vi vet om immunsystemets komponenter og mekanismer med utgangspunkt i dets forsvar mot infeksjoner. Jeg vil så beskrive den delen av forskningsfeltet hvor immunsystemet har vist å kunne hemme kreftutvikling, og deretter oppsummere aktuelle studier som viser at inflammasjon kan bidra til kreftutvikling. Avslutningsvis vil jeg gi en oversikt over hva den kliniske relevansen av disse kunnskapene er.

Forkortelser

BCG - Bacillus Calmette–Guérin	MDSC - Myeloid-derived suppressor cells
COX - Cyclooxygenase	MHC - major histocompatibility complex class
CTLA-4 - Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4	MICA/B - MHC class I chain-related proteins A and B
DC - Dendritic cell	MMP - matrix metalloproteinase
DNAM-1- DNAX Accessory Molecule-1	MYD88 - Myeloid differentiation primary response gene 88
EBV - Epstein-Barr virus	NF-κB - nuklear faktor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
ECM – Ekstracellulær matrix	NK-celle - Natural Killer cell
FoxP3 - Forkhead box P3	NKT-celle – Natural Killer T-cell
GTP - Guanosine triphosphate	NSAIDs - Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs
HBV - Hepatitis B virus	PD-1 / PD-L1 - Programmed cell death 1 (PD-1) / ligand
HER-2 - Human Epidermal Growth Factor Receptor 2	PDGF - platelet-derived growth fact
HLA - Human leukocyte antigen	PI3k - Phosphatidylinositide 3-kinase
HPV - Human papillomavirus	PPAR - Peroxisome proliferator-activated receptors
HSP - Heat shock protein	pRb - retinoblastoma-tumor suppressorprotein
IDO - Indoleamine 2,3-dioxygenase	RAG - recombination activating gene
Ig - Immunoglobulin	STAT - Signal Transducer and Activator of Transcription
IL - Interleukin	TAM - Tumor associated macrophage
IFN - Interferon	TAN - Tumor associated neutrophile
IFNAR - interferon-α/β receptor	TAP - transporter associated with antigen processing
IRF3 - Interferon regulatory factor 3	TCR - T-cellereseptor
IS - Immuno score	TGF-β - Transforming growth factor beta
JAK - Janus Kinase	TIL - Tumorinfiltrerende lymfocytter
KIR - killer immunoglobulin-like reseptorer	TLR - Toll like receptor
LMP2 / LMP7 Large Multifunctional Peptidase 2 / 7	TRAIL - TNF-related apoptosis-inducing ligand
LPS - Lipopolysaccharide	TRIF - TIR-domain-containing adapter-inducing interferonβ
MCA - Methylcholanthrene	TNF - Tumor necrosis factor
MC - Mastcelle	

Nøkkelord

Kreft
Kreftsykdom
Kreftsvulst
Immunologi
Immunceller
Immunosurveillance
Immunoedeting
Inflamasjon

1. Introduksjon

Sykdomsgruppen kreft

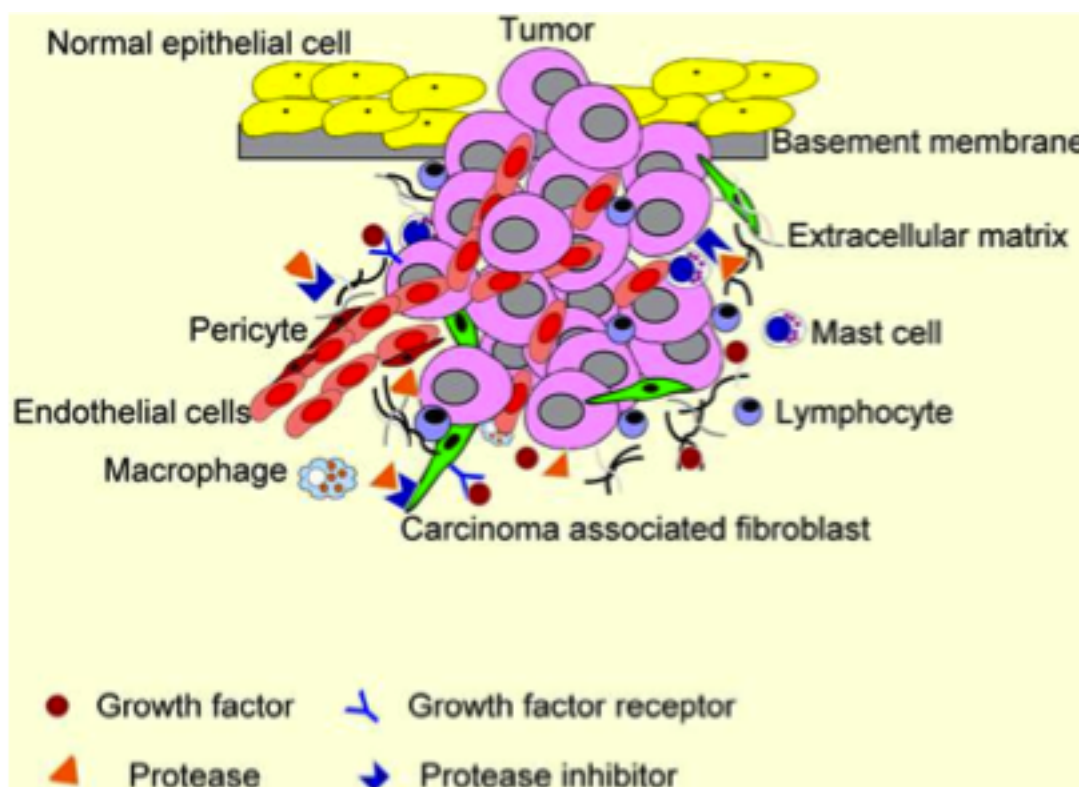
Kreft er et fellesbegrep på en stor gruppe ulike sykdommer som har en del biologiske fellestrekk (hallmarks). Kreftsykdom oppstår på grunn av malign neoplasi. Med neoplasi menes ny-vekst, og dette oppstår ved at en cellepopulasjon vokser autonomt og ukoordinert med det normale vevet den oppstår fra. Et annet ord for neoplasi er svulst. Svulster deles inn i benigne- eller maligne svulster. Ordet «malign» beskriver svulstens evne til å invadere og ødelegge omkringliggende strukturer, og eventuelt også spre seg til andre fjerntliggende strukturer og organer (en prosess som kalles metastasering). Kreftsykdommene kan deles inn i fem underkategorier med utgangspunkt i hvilken celletype de oppstår fra: (I) karsinomer er kreft som oppstår i epitelceller (omtrent 90 % av kreftsykdommene), (II) sarkomer er kreft som oppstår i mesenchymale strukturer (binde- og støttevev), (III) leukemier er kreft som utgår fra blodceller eller deres stamceller, (IV) lymfomer og myelomer er kreft som utgår fra celler i immunsystemet, og (V) kreft i sentralnervesystemet er kreft som oppstår i vevene i hjernen og ryggmargen. Disse undergruppene skiller seg fra hverandre, men har også store forskjeller innad når det kommer til biologiske kjennetegn, prognose og behandling. I dagligtalen benevnes ofte kreft med utgangspunkt i hvor i kroppen den har oppstått, men i de fleste organer kan det oppstå flere ulike typer kreftsykdommer som skiller seg morfologisk og biologiske fra hverandre (1).

I 2010 ble det registrert 28 271 nye krefttilfeller i Norge. Sannsynligheten for å utvikle kreft før 75 år er 35 % for menn og 28 % for kvinner. Økt forskningsaktivitet har gitt økt forståelse av flere av de ulike kreftsykdommene, noe som har medført bedre prognostiske hjelpemidler, og mer effektiv og skreddersydd behandling. For flere av kreftsykdommene rapporteres det stadig økt overlevelse (2).

Kreft er mer enn bare kreftceller

Frem til slutten av 90-tallet gikk kreftforskning hovedsakelig ut på å forstå biologien til de malignt transformerte parenchymcellene i kreftsvulsten, mens man i dagens kreftforskning i mye større grad fokuserer på alle komponentene i en svulst for å forstå dens biologi. Ulike svulsttyper har ulike mikromiljø, som i varierende grad består av forskjellige signalsubstanser, og stromale komponenter

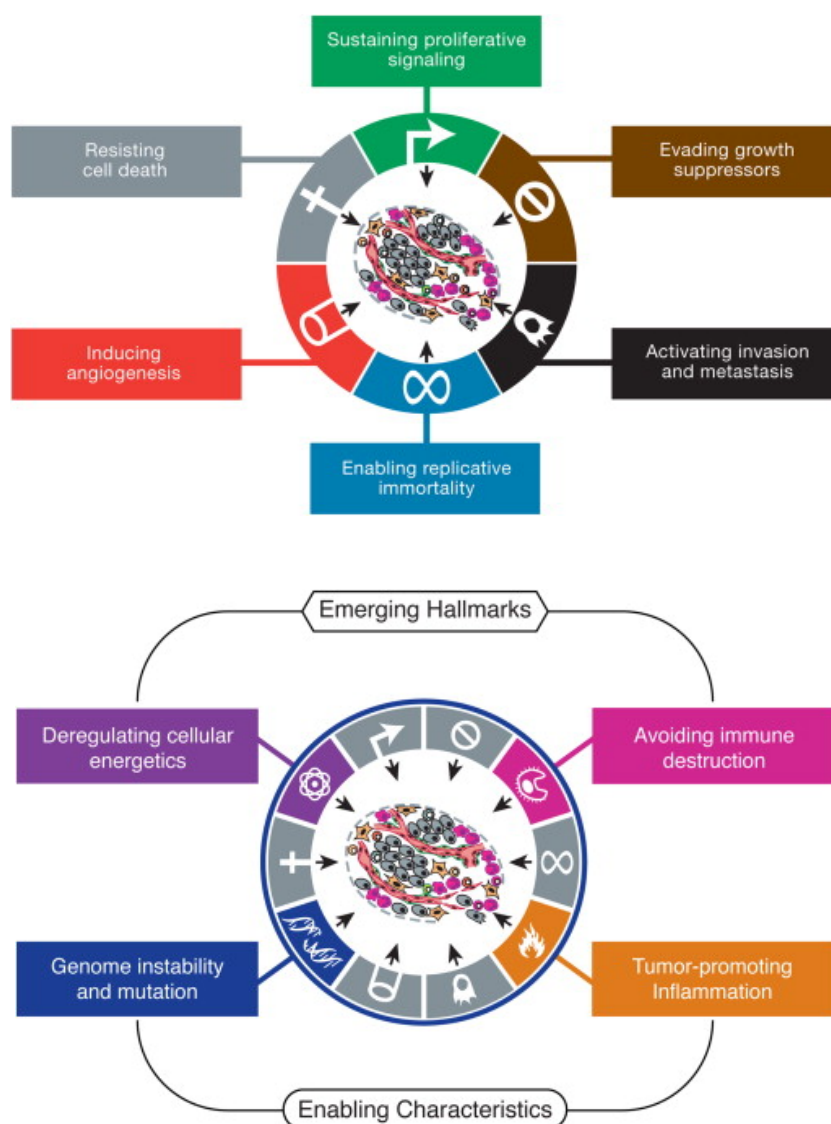
som ekstracellulær matrix, fibroblaster, blodårer, og immunceller (*figur 1*). På mange måter har kreftsvulster strukturer og funksjoner som om de var egne organer. De stromale cellene i kreftsvulster er nå kjent som viktige medhjelpere i kreftutviklingen, ved at de produserer mitogener (kjemiske substanser som stimulerer celleproliferasjon), vekstfaktorer, hormoner og cytokiner (signalmolekyler) som stimulerer kreftcellene til proliferasjon, hemmer apoptose (kontrollert celledød), stimulerer til angiogenese (dannelse av blodårer i kreftsvulsten som tilfører næring og oksygen som er nødvendig for vekst, i tillegg til å være en mulig spredningsrute for kreftcellene), og stimulerer til økt invasivitet og metastasering (3) (*figur 1*). Forståelsen av de kreftfremmende egenskapene til de stromale komponentene i svulster har ført til at det stadig kommer nye legemidler på markedet som angriper disse komponentene istedenfor kreftcellene direkte (4).



Figur 1: Figuren viser en forenklet oversikt over komponentene som vanligvis er tilstede i en kreftsvulst (5). (Sittichai Koontongkaew. Cancer 2013; 4(1):66-83.)

Immunsystemet og kreft

Siden oppdagelsen av immunsystemets forskjellige komponenter har det vært foreslått at det er en sammenheng mellom disse og kreftutvikling. I dag vet vi at immunsystemet er involvert i kreftutvikling på to motstridende måter: det kan både eliminere kreftceller, men også bidra til å fremme malign celledifferensiering. Begge disse forskningsfeltene har møtt stor motstand opp igjennom årene, men godtas nå av de aller fleste. I den reviderte utgaven av den betydningsfulle artikkelen «Hallmarks of cancer» skrevet av Hanahan D og Weinberg RA (2011) gikk langt på vei i å anerkjenne begge feltene ved å beskrive «Avoiding immune destruction» som et fremvoksende kjennetegn (emerging hallmark), og «tumor-promoting inflammation» som et tilretteleggende kjennetegn (enabling hallmark) for kreftutvikling (figur 2) (6).



Figur 2: The Hallmarks of Cancer beskriver de egenskaper en celle må opparbeide seg for å bli en kreftcelle (6) (Hanahan D, Weinberg RA, Cell 2011;144(5):646-74)

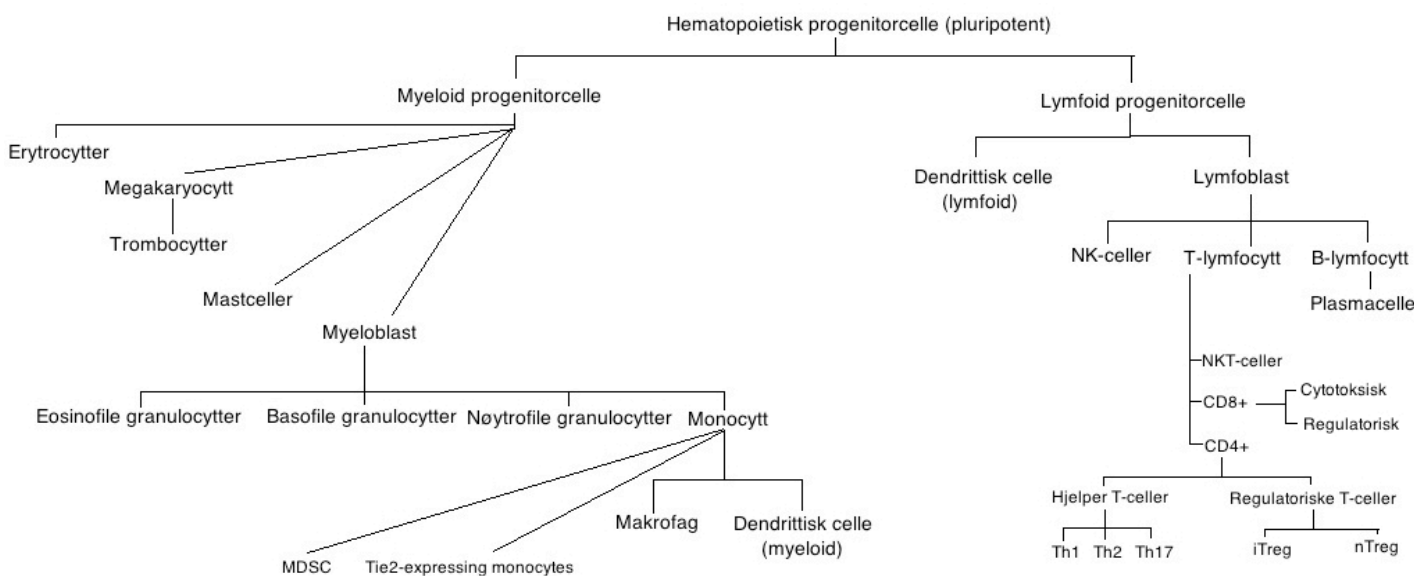
2. Menneskets immunsystem

2.1. Immunsystemets komponenter

Immunsystemets hovedfunksjoner er å beskytte oss mot invaderende patogene mikroorganismer (virus, bakterier og sopp) og å eliminere ikke-fungerende celler (7). De siste 100 årene har det også vært mye forskning på om immunsystemet kan gjenkjenne og eliminere kreftceller, og teorien om cancer immunoedeting er nå akseptert av de fleste. Dagens kunnskap angående det vi vet om immunsystemet er fra forskning på dets rolle i forsvaret mot infeksjose agens.

Immuncellene

Immunceller dannes fra hematopoietiske stamceller og kommer enten fra den myeloide eller lymfoide cellerekken (figur 3) (8).



Figur 3: Oversikt over humane immunceller med utgangspunkt i opphav. (Nora Ness)

Signalsubstansene

Cytokiner

Cytokiner er små signalsubstanser som har immunomodulerende effekt, det vil si at de enten kan stimulere eller hemme immunsystemet. Cytokiner kan produseres av flere typer celler, men produseres hovedsakelig av aktiverte makrofager og lymfocytter i henholdsvis det medfødte og adaptive immunsystemet. De produseres og slippes ut som respons på eksterne stimuli: for eksempel mikrobakterielle molekyler, gjenkjennelse av antigener og/eller andre cytokiner. Cytokiner kan virke enten autokrint (signalstoff som virker på samme celletype som den produseres av) og/eller parakrint (signalstoff som lages av en celletype i et vev og virker på en annen celletype i det samme vevet), og i sjeldne tilfeller også endokrint (signalstoff som virker på celler i et annet vev enn der de ble produsert). Cytokiner kan deles inn i ulike grupper basert på deres biologiske virkning: (I) cytokiner som produseres ved medfødte immunrespons og ved inflammasjon, blant annet tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 (IL-1), IL-12 og $IFN\gamma$, og (II) cytokiner i adaptiv (ervert) immunrespons, for eksempel IL-2, IL-4, $IFN\gamma$, og IL-5, og (III) cytokiner som påvirker hematopoiese blant annet colony-stimulating factors (CSFs) (1).

Kjemokiner

Kjemokiner er en gruppe signalmolekyler som har fått sitt navn fordi de ved å danne en kjemisk gradient kan tiltrekke spesifikke celletyper ved en prosess kalt kjemotakse. Kjemokinene deles inn i fire hovedgrupper etter plasseringen av cystein på N-enden: CC, CXC, CX3C, og C. De binder til G-proteinkoblede reseptorer, og det finnes flere kjemokiner enn det finnes reseptorer, noe som betyr at en reseptor kan binde flere ulike kjemokiner. Aktivering av kjemokinreseptorer hos en celle fører til strukturelle endringer som gir kontrollert bevegelse av cellen: Aktivering av integrin fører til at cellen fester seg til andre celler, og polarisering av aktin-cytoskjelettet endrer cellens form og fører til cellemigrasjon. Aktiverte kjemokinreseptorer kan også kryss-aktivere andre intracellulære signalveier, som for eksempel JAK-STAT-signalveien og andre tyrosinkinase-signalveier (9). Kjemokinene kan deles inn i to hovedgrupper etter deres virkningsmekanismer: (I) homeostatiske kjemokinreseptorer som er vist å være viktige for å regulere cellemigrasjon og differensiering i embryonal utvikling, organogenese og utvikling av sekundært lymfoid vev (10), og (II) inflammatoriske kjemokiner som er viktige for å tiltrekke ulike immunceller til et vev som uttrykker pro-inflammatoriske signalsubstanser. Hovedsakelig tiltrekker CXC-kjemokinene B- og T-lymfocytter, mens CC-kjemokinene tiltrekker basofile granulocytter, nøytrofile granulocytter, mast celler, dendritiske celler (DCs), Natural Killer celler (NK-celler) og myeloide celler (11,12).

2.2. Immunforsvarets inndeling

De ulike komponentene i immunforsvaret samarbeider vanligvis for å fjerne et patogent agens, men tradisjonelt sett deles immunforsvaret inn i to deler: (I) medfødt immunrespons og (II) adaptiv immunrespons.

Det medfødte immunforsvaret

Med det medfødte immunforsvaret menes de nedarvede egenskaper som et individ har fra fødselen av for å beskytte seg mot infeksjose agens. Det medfødte immunforsvaret kan deles inn i et ytre og et indre forsvar. Det *ytre medfødte forsvar* består av mekaniske barrierer som epitel, cilier, luft og væskestrøm over disse, i tillegg til kjemiske barrierer (for eksempel lav pH i ventrikkelen), ulike molekyler i sekreter og serum (for eksempel lysozymer i tårevæske og proteasehemmere i serum). Det *indre medfødte forsvar* består hovedsakelig av fagocyterende celler (celler som kan ta opp partikler og bryte dem ned intracellulært), celler med cytotoksiske egenskaper (celler som utøver potensielt dødelig skade på andre celler), ulike cytokiner, og komplementsystemet som finnes i serum, lymfevæske og ekstracellulærvæske. Det medfødte immunsystemet reagerer umiddelbart på fremmed materiale ved at dets reseptorer og molekyler aktiveres av ikke-spesifikke antigener. Med ikke-spesifikke antigener menes molekyler dannet fra gener som er høyt konserverte gjennom evolusjonen og som flere ulike patogene mikroorganismer har til felles. Det medfødte immunforsvaret har ingen hukommelse, og effekten er den samme uansett hvor mange ganger kroppen eksponeres for det samme antigenet. Inflammasjon er en viktig del av det medfødte immunforsvarets immunrespons (8). Inflammasjon er en respons som oppstår som reaksjon på cellulær skade, og som har som mål å fjerne utgangspunktet for skaden, i tillegg til å fjerne skadet og dødt vev (1).

Det adaptive immunforsvaret

I det adaptive immunforsvaret er det B-cellerreseptoren på B-lymfocytter og T-cellerreseptoren på T-lymfocytter som gjenkjenner patogene strukturer. Fellesnavnet for disse er antigenreseptorer. I motsetning til reseptorene og molekylerne i det medfødte immunforsvaret, så finnes lymfocyttenes reseptorer i et uendelig antall forskjellige varianter og kan derfor binde til uendelig antall forskjellige patogene strukturer (for eksempel ulike virale proteiner). Derfor har det adaptive

immunsystemet potensiale til å danne immunrespons mot hvilket som helst antigen. Ved en infeksjon vil kun de lymfocytene som har reseptorer som passer til det aktuelle patogenet aktiveres og utvikle seg til effektorceller. Det adaptive immunforsvaret skiller seg fra det medfødte på hovedsakelig to måter: (I) det har spesifisitet som betyr at det gir sterk immunrespons som spesifikt rammer et spesielt patogen, og (II) det har immunologisk hukommelse fordi det dannes egne hukommelsesceller etter en primær adaptiv immunrespons som finnes i et mye større antall enn sitt naive opphav. Dette medfører at sekundær adaptiv immunrespons er mye raskere enn primære adaptiv immunrespons (8).

2.3. Immunforsvarets rolle ved infeksjon

2.3.1. Det medfødte immunforsvaret mekanismer ved infeksjon

Medfødt immunrespons mot ekstracellulære agens

Makrofager finnes i de fleste vev, og disse er vanligvis de første til å reagere på fremmede agens. Makrofagene har to hovedoppgaver i immunresponsen som styres av hver sin reseptor-type: (I) fagocytose-reseptorer som ved binding til patogene strukturer fører til endocytose (en cellulær opptaksmekanisme av ekstracellulært materiale) og intracellulær nedbryting av patogenet, og (II) signalerings-reseptorer som fører til cytokinproduksjon. Den mest kjente undergruppen av signalerings-reseptorer er Toll-Like-Reseptorer (TLRs). Mennesket har 10 kjente typer TLRs, hvor noen er intracellulære mens andre er ekstracellulære. TLRs binder til strukturer som er felles for flere typer patogener, noe som endrer av makrofagens genuttrykk og fører til cytokinrespons (13):

- I. Alle TLRs, med unntak av TLR3, fører til aktivering av *Myeloid differentiation primary response gene 88 (MYD88)*. Ved aktivering av MYD88 vil det skje en aktivering av transkripsjonsfaktoren *nuklear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells (NF- κ B)*. Dette er en transkripsjonsfaktor som har en viktig rolle i både medfødt og adaptiv immunrespons, i tillegg til i embryonal utvikling og kreft. Aktivering av NF- κ B hos makrofager fører til transkripsjon av IL-1, IL-6, CXCL8, IL-12 og TNF. IL-6 er blant annet en viktig regulator av akutfaserespons, og øker syntesen av flere akutfaseproteiner i leveren. IL-1 og TNF påvirker endotelcellene i det infiserte området til å uttrykke adhesjonsmolekyler og produsere cytokiner (hovedsakelig kjemokiner), noe som øker antallet immunceller i det aktuelle området. TNF stimulerer endotelceller til å produsere

platelet-activating factor (PAF), noe som medfører aktivering av hemostase, og dermed til trombosedannelse i kapillærene i det infiserte området. Dette er en mekanisme som kan være viktig for å forhindre videre spredning av patogenet. IL-1 aktiverer fibroblaster slik at de prolifererer og øker produksjonen av ekstracellulær matrix (ECM) (1). CXCL8 (også kjent som IL-8) er et kjemokin som tiltrekker seg nøytrofile granulocytter ved å binde til reseptorene CXCR1 eller CXCR2 på disse. Dette fører til at de nøytrofile granulocytene vandrer ut fra sirkulasjonen og over i det skadde vevet (8,13). IL-12 øker NK-cellers cytotoksiske funksjoner og øker produksjonen av IFN γ i disse cellene (14).

- II. Aktivering av TLR3 fører til aktivering av TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β (TRIF), som medfører aktivering av transkripsjonsfaktoren interferon response factor 3 (IRF3), noe som igjen fører til produksjon av type I-interferoner. Aktivert TRIF bidrar også til aktivering av NF- κ B (8).

I tillegg til å produsere cytokiner, kan makrofager også danne og frigi blant annet oksygenradikaler, leukotriener, prostaglandiner, phospholipase, plasminogen aktivator, peroksider og PAF. Dette er molekyler som bidrar til inflammasjon og vevsødeleggelse, og som også kan være viktige bidrag i kreftutvikling (1,8).

I tillegg til makrofager er *nøytrofile granulocytter* de viktigste fagocytterende cellene i den medfødte immunresponsen. I motsetning til makrofagene som finnes ute i vevet, befinner de nøytrofile granulocytene seg i sirkulasjonen og må derfor tilkalles (av blant annet makrofager) til vevet ved infeksjon og inflammasjon. Prosessen hvor de nøytrofile granulocytene rekrutteres til det affiserte vevet er det første trinnet i inflammasjonsprosessen, og skjer ved hjelp av en mekanisme kalt ekstravasjon. CXCL8, komplementsproteindeler, TNF og bakteriedeler stimulerer de nøytrofile granulocytene til å uttrykke adhesjonsmolekyler på overflaten, i tillegg til å få endotelcellene i det inflammerte vevet til å uttrykke ligander for disse adhesjonsmolekylene. Dette medfører at de nøytrofile granulocytene fester seg til endotelcellene slik at de ruller sakte langs innsiden av blodårene. De vil etterhvert stoppe helt opp, hvorpå de går igjennom kapillærene og til vevssiden ved å gå i mellom endotelcellene. De nøytrofile granulocytene skiller ut proteaser (enzymmer som spalter proteiner) som bryter ned basalmembranen og så beveger de seg mot det aktuelle området ved hjelp av kjemotaksi. Hovedoppgaven til de nøytrofile granulocytene er å fagocyttere patogene agens, og de har flere ulike fagocytose-reseptorer som gjenkjenner ulike patogene strukturer og komplementproteiner. De nøytrofile granulocytene dør etter bare noen timer i vevet og fagocytteres så av makrofager (1,8).

Medfødt immunrespons mot intracellulære agens

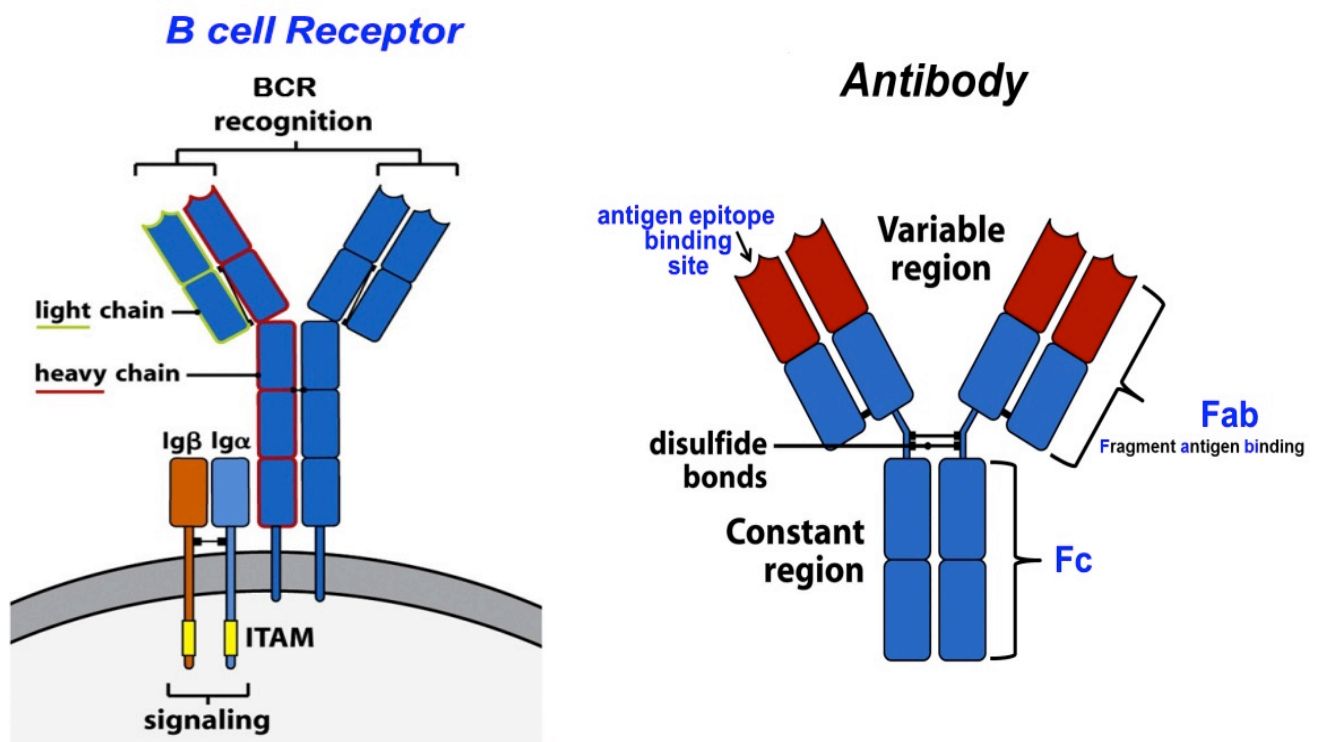
Alle humane celler som infiseres av virus skal normalt respondere ved å danne *type I interferonene* IFN- α og IFN- β . Disse cytokinene virker både autokrint og parakrint ved å binde til interferon- α/β reseptoren (IFNAR) som finnes på celleoverflaten på de fleste celler. Aktivering av IFNAR gir via den intracellulære JAK-STAT-signalveien transkripsjon av flere ulike gener. Resultatet er blant annet hemming av proteinsyntesen i den infiserte cellen slik at dannelsen av nye virus hemmes, i tillegg til at den infiserer cellen mer sårbar for lymfocytmediert drap. Nabocellene stimuleres også gjennom sine IFNAR og forberedes dermed til å beskytte seg mot viral infeksjon. IFN- α og IFN- β binder seg også til IFNAR på *NK-celler* og aktiverer disse cellenes cytotoksiske funksjoner. NK-cellene er de viktigste aktørene i den medfødte cellulære immunresponsen mot intracellulær infeksjoner. NK-cellene har både hemmende og aktiverende reseptorer på overflaten, og deres cytotoksiske aktivitet kontrolleres av balansen mellom disse to ulike stimuli. Det er to hovedklasser av *hemmende reseptorer*: (I) killer immunoglobulin-like reseptorer (KIR) som binder til HLA-I, og (II) CD94-NKG2A/B-reseptorer som binder HLA-E (8). NK-cellene har flere typer *aktiverende reseptorer*, blant annet NKG2D-reseptorer og DNAX accessory molecule 1 (DNAM-1). Disse gjenkjenner ulike stressmolekyler celler uttrykker ved blant annet infeksjon og kreft. Alle NK-celler uttrykker NKG2D, men de øvrige reseptorene er forskjellige fra celle til celle, noe som fører til at ulike NK-celler har ulike egenskaper (15).

IL-12 og TNF som utskilles fra makrofager aktiverer også NK-celler. IL-12 stimulerer NK-cellene til å produsere *type II interferonet* interferon- γ (IFN γ), som virker stimulerende på makrofager. NK-cellene og makrofagene danner slik et positiv-feedback-system hvor de øker aktiveringen av hverandre. De aktiverte makrofagene kan være med på å sette i gang adaptiv immunrespons ved at de skiller ut cytokiner som stimulerer T-lymfocytter. Når adaptiv immunrespons er satt i gang ved at de cytotoksiske CD8⁺ T-lymfocytene kommer ut i vevet, vil disse produsere IL-10 som hemmer NK-cellene, og de tar så over som IFN γ -produsenter og cytotoksiske celler (8).

2.3.2. Det adaptive immunforsvarets mekanismer ved infeksjon

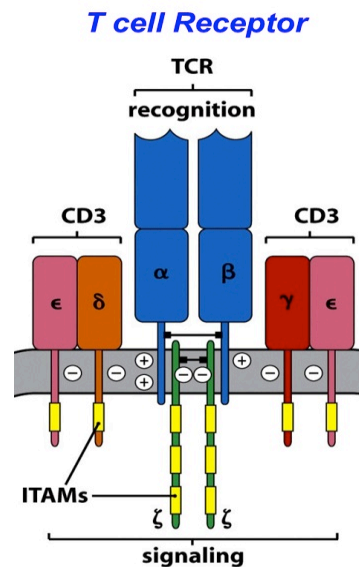
T- og B-lymfocytter er hovedcellene i det adaptive immunsystemet

Det adaptive immunforsvaret består av lymfocytter og deres antigenreseptorer: B-lymfocytter med B-cellereseptorer og T-lymfocytter med T-cellereseptorer (TCR). Et vanligere navn på B-cellereseptorene er immunoglobuliner (Ig). Effektor B-lymfocytter (plasmaceller) skiller ut immunoglobuliner i oppløst form, og de kalles da vanligvis for antistoff. TCR finnes til sammenligning kun som membranbundet form. Molekyler som binder til et immunoglobulin eller en TCR kalles dets tilhørende antigen. Immunoglobuliner og TCR er strukturelt nokså like. Hvert immunoglobulin består av to identiske tunge kjeder og to identiske lette kjeder. Både de tunge og de lette kjedene har en variabel region som sammen utgjør bindestedet for antigenene (*figur 4a*). I antistoff-form utgjør den konstante delen (Fc-segmentet) bindingsstedet for reseptorer hos fagocytter og andre immunceller (*figur 4b*) (8,16,17).



Figur 4a og b: Immunoglobulin i fast (B-cellereseptor) og oppløst (antistoff) form (16). (Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology: New York: Garland Science; 2001)

En TCR består vanligvis av en α -kjede og en β -kjede som begge har en variabel region som sammen danner det antigenbindende setet (*figur 5*). En mindre populasjon T-celler har TCR som består av en γ -kjede og en δ -kjede (8,17,18).



Figur 5: T-cellereseptorens struktur (16). (Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. New York: Garland Science; 2001)

De variable regionene på antigenreseptorene dannes ved hjelp av gen-rearrangering hvor forskjellige gensegmenter (ulike versjoner av V, D og J-gensegmenter) settes sammen i ulike kombinasjoner. I sammenspleisingen av gensegmentene vil det også tilføres nye nukleotider (byggesteinene i nukleinsyre DNA og RNA) som bidrar ytterligere til å øke mangfoldet av antigenreseptorenes variable regioner. Også kombinasjonen av ulike tunge og lette kjeder og ulike α - og β -kjeder er med på å øke mangfoldet. Dette skjer under utviklingen av antigenreseptorene i hver enkelt lymfocyt, noe som medfører at hver av lymfocytene binder til ulike antigener. Hvert individ er dermed utrustet med et nesten uendelig antall forskjellige lymfocytter som tilsammen danner potensiale til å kunne generere adaptive immunresponser mot de fleste infeksiøse agens. Ved adaptiv immunrespons er det kun de T- og B-lymfocytene som har henholdsvis TCR og Ig med antigenbindende seter for det aktuelle antigenet som aktiveres (8,17).

Antigenpresentasjon

Immunoglobuliner har antigenbindende seter som kan gjenkjenne og binde til makromolekylstrukturer som finnes på celleoverflaten av patogenene, mens TCR kun gjenkjenner

spesifikke aminosyre-sekvenser av degraderte peptider. Fordi TCR ikke gjenkjenner naive former av patogene molekyler, kan ikke T-lymfocytter aktiveres av direkte kontakt med mikroorganismen, men er avhengige av en prosess kalt antigenpresentasjon. For at en primær T-cellerespons skal komme i gang er derfor antigenpresenterende DCs essensielle. Sammen med makrofager er DCs de viktigste spesialiserte antigenpresenterende cellene (8). DCs dannes i beinmargen fra myeloide og lymfoide stamceller, og når de forlater beinmargen og går ut i vev er de umodne DCs (iDC). Når iDCs har tatt opp antigen ved fagocytose utvikler de seg til modne DCs som uttrykker de kostimulerende molekylene B7 (også kalt CD80 og CD86) som er nødvendige for effektiv antigenpresentasjon (19). I motsetning til makrofager, vil DCs utvikles til mobile celler etter at de har tatt opp og nedbrutt infeksiosøst materiale. De beveger seg til sekundært lymfoid vev (som hos mennesker utgjøres av milt, lymfeknuter og lymfoid vev i slimhinner), hvor de presenterer det nedbrutte antigenet til T- og B-lymfocytter på spesialiserte molekyler som heter *major histocompatibility complex class (MHC)* – kalt *human leucocyt antigen (HLA)* hos mennesker. Det finnes mange ulike typer HLA-molekylgener i menneskets genom, og flere genetiske varianter av hver av disse typene i den menneskelige populasjonen, noe som medfører at flest mulig antigener med sine ulike aminosyre-sekvenser kan presenteres. Når HLA-molekylet er bundet til et antigen kalles dette for et HLA-kompleks og det er dette komplekset som er liganden som kan aktivere TCR (8,17).

HLA-molekyler kommer i to ulike klasser: HLA-I for intracellulære patogener som brytes ned i cytosol, og HLA-II for ekstracellulære patogener som brytes ned i fagosomer. Nesten alle celletypene i kroppen uttrykker HLA-I, men kun DCs, makrofager og B-celler uttrykker begge klassene. De mest kjente T-lymfocytene er henholdsvis CD4+ og CD8+ T-lymfocytter, hvor CD4+ lymfocytter aktiveres ved binding til HLA-II-komplekser, mens CD8+ lymfocytter aktiveres av HLA-I-komplekser (8).

Adaptiv immunrespons – Humoral immunrespons

Den adaptive humorale immunresponsen er viktig i kroppens forsvar mot ekstracellulære infeksjoner, og utøves hovedsakelig av B-celler (plasmaceller) og deres antistoffer, CD4+ Th2-lymfocytter (T-hjelpercelle type 2) og cytokiner som IL-2, IL-6 og IL-10. Responsen kalles humoral fordi den fører til antistoffproduksjon som kan registreres i vevsvæsker og blod. Ved primær adaptiv immunrespons er de naive T-lymfocytene avhengige av DCs for å aktiveres. DCs i det infiserte vevet fagocyttere ekstracellulære mikroorganismer. Intracellulært festes nedbrutte

peptider fra disse på HLA-II-molekyler, før dette komplekset fraktes til celleoverflaten. I sekundært lymfoid vev presenterer DCs HLA-II komplekset for T-lymfocytter. CD4⁺ Th2-lymfocytter med TCR som passer for det aktuelle HLA-II-komplekset aktiveres, og det skjer en klonal ekspansjon av disse T-cellene (1,8).

I det infiserte vevet vil B-celler kunne ta opp mikroorganismer ved hjelp av reseptormediert endocytose. Intracellulært brytes organismen ned, og de nedbrutte peptidene kan så bindes til HLA-II og fraktes til celleoverflaten. B-celler er avhengig av hjelp fra aktiverte CD4⁺ Th2-celler som har TCR som passer til deres HLA-II-kompleks for at de skal kunne utvikle seg til antistoffproduserende plasmaceller. Aktiverte CD4⁺ Th2-celler finnes i T-cellesonen i sekundære lymfoide vev, og disse «fanger opp» B-celler med HLA-II-komplekser som passer til deres TCR. Th2-cellene skiller ut CD40-ligand og IL-4 som stimulerer B-celler til proliferasjon og klonal ekspansjon. På denne måten vil den aktuelle lymfocytten øke enormt i antall noe som medfører at en mengde celler kan ta seg av spesifikke inntrengere. Th2-cellene utskiller også IL-4 og IL-5 som stimulerer B-celler til å utvikle seg til antistoff-produserende plasmaceller. Antistoffer har to immunologiske hovedmekanismer: (I) nøytralisering, som vil si at når antistoff binder til en mikroorganisme hindrer dette denne fra å formere seg, og (II) opsonisering som betyr at antistoffbindingen fører til at fagocytter kan binde sin Fc γ -receptor (Fc γ R) til Fc-segmentet av antistoffet, og på denne måten optimaliseres fagocytose av mikroorganismen (8,16).

Noen av de aktiverte CD4⁺ Th2-cellene vil forlate det sekundære lymfoide vevet og går til det infeksjose vevet hvor de frigir cytokiner som tiltrekker nøytrofile granulocytter, i tillegg til monocytter som i vevet utvikler seg til makrofager. CD4⁺ Th2-cellene binder seg til makrofager som presenterer samme HLA-II-kompleksene som de ble aktiverte av, og kan da utskille cytokiner som stimulerer makrofagen til mer aktiv fagocytose (8).

Adaptiv immunrespons – Cellulær immunrespons

Den adaptive cellulære immunresponsen er kroppens viktigste forsvar mot intracellulære infeksjoner, og utøves hovedsakelig av CD8⁺ cytotoksiske T-lymfocytter, CD4⁺ Th1-lymfocytter (T-hjelpercelle type 1), makrofager, NK-celler og cytokiner som IFN- γ , IL-2 og TNF. Ved primær adaptiv cellulær immunrespons er de naive CD8⁺ T-lymfocytterne avhengige av å bli aktiverte av DCs. DCs i det infiserte vevet blir selv infiserte med det intracellulære patogenet, noe som medfører at proteiner fra patogenet brytes ned i DCs cytosol, bindes til HLA-I og fraktes til celleoverflaten.

DC går via blodbanen til sekundært lymfoid vev og aktiverer her naive CD8+ T-lymfocytter med passende TCR. Det skjer en klonal ekspansjon av de aktiverte T-cellene og resultatet er en stor populasjon CD8+ cytotoksiske T-celler som er spesifikke for det aktuelle HLA-I-komplekset. De aktiverte cytotoksiske T-cellene forlater det sekundære lymfoide vevet og reagerer på celler i det infiserte vevet som presenterer det samme HLA-I-komplekset som de ble eksponert for. Dette aktiverer de cytotoksiske CD8+ T-cellene til å frigjøre cytolytiske proteiner som perforiner som lager porer i den infiserte cellen, og granzymmer som går inn i cellen og igangsetter apoptose av cellen. Dette forhindrer videre spredning av intracellulære patogener. Ved sekundær, adaptiv cellulær immunrespons (neste gang et individ infiseres av samme patogen) vil CD8+ T-lymfocytterne kunne aktiveres direkte ute i vevet uten hjelp fra antigenpresentasjon (1,8).

Naive CD4+ T-lymfocytter aktiveres av DCs og deres HLA-II-komplekser i sekundære lymfoide vev. Ved humoral respons utvikler CD4+-cellene seg til Th1-celler. Th1-cellene forlater så det lymfoide vevet og går via blodbanen til det infeksiose vevet hvor de øker CD8+ T-cellene cytotoksiske egenskaper. Th1-celler skiller også ut $IFN\gamma$ og CD40-ligand som aktiverer makrofager til mer effektiv fagocytose (8).

2.4. Immunotoleranse

Utvikling av immunotoleranse

Med immunotoleranse, eller selvtoleranse, menes at et individs immunsystem er utviklet på en slik måte at det ikke danner immunrespons mot strukturer som er individets egne. Dette er en forutsetning for å unngå autoimmune reaksjoner. Autoimmune reaksjoner er kroniske immunresponser rettet mot ett eller flere selv-antigener, også kalt autoantigener (8).

Sentral immunotoleranse utvikles ved at naive B- og T-lymfocytter som har autoreaktive antigenreseptorer blir eliminerte under utviklingen i henholdsvis beinmargen og thymus ved en prosess kalt *negativ seleksjon* (20). De autoreaktive lymfocytterne som unnslipper sentral immunotoleranse kan hemmes ved hjelp av perifer immunotoleranse (21), som enten skjer gjennom at de går inn i en hyporesponsiv (anergisk) tilstand (22), eller ved at de supprimeres av regulatoriske T-celler. Noen organer er også såkalte immunopriviligerte områder hvor lymfocytter vanligvis ikke slipper til, og er på denne måten beskyttet mot autoimmunitet. Dette gjelder for eksempel hjernen, testis, øye, placenta og foster (8).

Regulatoriske T-celler

En underklasse av CD4⁺ T-lymfocytter som kalles regulatoriske T-celler (Tregs) er antatt å være essensielle for å unngå autoimmune reaksjoner ved at de supprimerer autoreaktive lymfocytter som har unnsloppet negativ seleksjon. Tregs utgjør ca 5 % av sirkulerende T-lymfocytter, og gjenkjennes ved uttrykk av celleoverflatemarkøren CD25 og transkripsjonsfaktoren forkhead box P3 (Foxp3). Foxp3 gir Tregs sine spesifikke egenskaper ved å fremme uttrykket av Treg-assosierte gener, og samtidig hemme uttrykket av pro-inflammatoriske cytokiner (23,24).

Mekanismene for hvordan Tregs supprimerer andre lymfocytter er ikke helt kartlagte, men to hovedmekanismer er foreslått:

- I. Tregs har TCR slik som andre CD4⁺ T-lymfocytter. Tregs binder denne til sitt passende HLA-kompleks, og vil da hemme aktivering av naive T-hjelperceller som er bundet til likt HLA-kompleks på den samme antigenpresenterende cellen (8).
- II. Tregs binder direkte til autoimmune lymfocytter gjennom uttrykk av membranbundet Transforming growth factor TGF- β (TGF- β) (et protein som blant annet kan hemme proliferasjon og cellulær differensiering), og frigjør i tillegg immunosupprimerende cytokiner som IL-10, TGF- β , IL-35 og IL-12 (8,25).

3. Immunsystemet er med på å forhindre kreftutvikling

3.1. Teorien om cancer immunosurveillance

Tidlige sammenhenger mellom kreft og immunrespons

På 1700-tallet observerte Deidier en sammenheng mellom infeksjon og tilbakegang av kreftsykdom, og var dermed den første til å rapportere en mulighet for at mikrober kunne ha anti-kreftmekanismer (26). På slutten av 1800-tallet utviklet Coley et al., (27) en blanding av bakterielle toksiner som han brukte til behandling av inoperable sarkomer, og rapporterte en helbredningsrate på mer enn 10 %. På midten av 1900-tallet fant Shear et al., ut at lipopolysakkarid (LPS) var det toksinet som førte til denne anti-kreftmekanismen (28). I dag vet vi at LPS stimulerer TLR4, og at den observerte krefthemmende virkningen derfor høyst sannsynlig kan være et resultat av TLR-aktivering. Aktivering av TLR er i flere studier funnet å virke hemmende på kreftutvikling, og en del av forklaringen på dette kan være at aktiveringen av reseptoren fører frigjøring av pro-inflammatoriske cytokiner og kjemokiner som medfører tiltrekning av immunceller til kreftsvulsten. LPS er en av de mest potente TLR-aktivatorene, og har vært testet ut som behandling for lungekreft og tykktarmskreft i legemiddelutprøvinger (13).

På bakgrunn av en rekke obduksjoner rapporterte Pearl (29) i 1929 at individer som hadde tuberkulose også hadde lavere forekomst av kreft. Disse og andre lignende funn førte til en interesse for bruk av Bacillus Calmette–Guérin (BCG)-vaksinen som kreftterapi. Vaksinen ble utviklet på begynnelsen av 1900-tallet, og inneholder attenuert (svekket) Mycobacterium bovis. I 1976 utførte Morales et al., kliniske utprøvinger med BCG-vaksinen i kreftsammenheng. De anvendte vaksinen på pasienter som hadde hatt ufullstendig fjerning av overfladisk blærekreft, og de som hadde fått tilbakefall etter fjerning av slik kreft. Resultatet var redusert forekomst av videre kreftutvikling, og BCG-vaksinen ble etterhvert implementert i standardbehandlingen av denne typen malign celletransformasjon (30,31). Den eksakte mekanismen for hvordan BCG-vaksinen virker ved blærekreft er fortsatt ikke godt nok kartlagt, men en forklaring kan være at peptidoglycan i mycobakterienes cellevegg gjenkjennes av TLR2 og TLR4 hos umodne DCs som da vil modnes og igangsette adaptiv immunrespons. Det tas regelmessige biopsier (vevsprøver) av blæreslimhinnen hos pasientene som får denne type behandling, og biopsiene viser ofte et betennelsesinfiltrat bestående hovedsakelig av makrofager, CD4+- og CD8+-lymfocytter noe som tyder på en adaptiv

immunrespons. Immunosupprimerte pasienter svarer dårlig på behandlingen, noe som ytterligere understøtter at vaksinens krefthemmende mekanisme er av immunologisk karakter (31,32).

Hypotesen om cancer immunosurveillance formuleres

På begynnelsen av 1900-tallet var den tyske legen og forskeren Paul Ehrlich (33) med på å legge grunnsteinene for immunologifaget ved å definere immunforsvaret som individets forsvarer mot det som er «ikke-selv». I dette inkluderte han også kreft som han mente var «contrary to nature», og han mente derfor at kroppens immunforsvar har mulighet til å gjenkjenne kreftceller som fremmede, og har muligheten til å utøve immunologiske mekanismer for å eliminere dem. Erlich var med dette den første som uttalte seg om cancer immunosurveillance (33,34). Tidlig på 50-tallet ble det gjort studier hvor man transplanterte kreftsvulster fra en mus til en annen. Disse svulstene ble frastøtt hos donormusene ved mekanismer som tydet på immunrespons, noe som understøttet at immunsystemet kan fjerne kreftceller (35). Senere på 1950-tallet ble det gjort flere store oppdagelser innen immunologi, og det gav muligheter for validering av Ehrlich sin forskning. I denne perioden rapporterte den britiske forskeren Sir Peter Brian Medawar (36,37) viktige funn fra sitt mangeårige forskningsarbeid hvor han transplanterte hud fra et individ til et annet (allogene transplantasjoner). Han beskrev at mottakerens frastøtning av et allogent transplantat måtte være en immunologisk reaksjon (38). I 1960 fikk han Nobelprisen i medisin (39) sammen med Sir Frank Macfarlane Burnet (40) for funn hvor han bekreftet Burnets hypotese om ervervet immunologisk toleranse. Medawar beviste at det er under embryogenesen at et individs immunsystem utvikles til å kun tolerere "selv-antigener", og at det derfor vil lage immunologiske reaksjoner mot antigener de selv ikke uttrykker (41). Denne kunnskapen førte til forståelsen av at transplanterte kreftsvulster blir frastøtt hos forskningsdyr fordi immunsystemet reagerer på alloantigener, og ikke nødvendigvis fordi det har evne til å reagere på kreft.

For at kreftceller i seg selv skal kunne gjenkjennes som fremmede av immunsystemet, må det eksistere spesifikke antigener på kreftceller som skiller dem fra normalt vev, og flere studier rapporterte etterhvert at det finnes slike (34,42). Disse oppdagelsene var med på å legge grunnlaget for teorien "cancer immunosurveillance" som ble foreslått av Burnet og Lewis Thomas. I 1957 foreslo den amerikanske Lewis Thomas at den primære funksjonen til det adaptive immunforsvaret ikke var allogene reaksjoner, men å beskytte individer mot kreftutvikling (43). Samme år kom Burnet med følgende utsagn: *"It is no means inconceivable that small accumulations of tumor cells may develop and, because of their possession of new antigenic potentialities, provoke an effective*

immunological reaction with regression of the tumor and no clinical hint of its existence.” (44). I 1964 formulerte Burnet teorien cancer immunosurveillance på følgende måte: *“In large, long-lived animals, like most of the warm-blooded vertebrates, inheritable genetic changes must be common in somatic cells and a pro- portion of these changes will represent a step toward malignancy. It is an evolutionary necessity that there should be some mechanism for eliminating or inactivating such potentially dangerous mutant cells and it is postulated that this mechanism is of immunological character.”* (40). Hypotesen var at immunceller aktiv patruljerer kroppen på jakt etter kreftceller, og at de har mekanismer for å fjerne disse.

1970-tallet - hypotesen om cancer immunosurveillance legges død

På 1970-tallet ble T-celler identifiserte som immuncellene som dannet allogene-immunreaksjoner, og disse cellene ble antatt å være effektorcellene bak cancer immunosurveillance (45). Sent på 1960-tallet hadde nude mice kommet inn som en viktig modell for forskning på immunsystemets effekter. Nude mice har en mutasjon i FOXN1 som fører til at de mangler thymus, og de har i teorien ikke T-celler. Hvis hypotesen om cancer immunosurveillance var riktig, skulle individer med nedsatt immunsystem ha høyere forekomst av ulike kreftformer. Til tross for manglende thymus og nedsatt immunforsvar ble det observert at nude mice ikke hadde høyere forekomst av kreft generelt, men kun en økt forekomst av lymfomer og virusindusert kreft. Den økte forekomsten av virusindusert kreft ble forklart med rasens nedsatte evne til å forhindre infeksjoner, og forekomsten av lymfom ble forklart med at de hadde økt lymfocytproliferasjon på grunn av kroniske infeksjoner. Disse observasjonene var med på å svekke hypotesen om immunosurveillance (34). Det var spesielt Stutmans eksperimenter med CBA/H strain nude mice la hypotesen død i løpet av 1970-tallet (46). Han fant at disse immunosupprimerte musene ikke hadde en økt forekomst av kreftutvikling ved bruk av det kjemiske karsinogene stoffet methylcholanthrene (MCA) som blant annet fører til sarkomer hos mus. Musene hadde heller ikke økt forekomst av spontane kreftsvulster sammenlignet med wild-type (wt)-mus (mus med naturlig fenotype). Det viste seg etter hvert at CBA/H strain nude mice har en svært aktiv isoform av enzymet som er nødvendig for å omdanne MCA til karsinogen form (aryl hydrocarbon hydroxylase enzymsystemet). Det er derfor sannsynlig at MCA bidro i så stor grad til malign celletransformasjon hos disse musene at det overgikk eventuelle immunologiske mekanismer (34). I dag er det kjent at nude mice har flere fungerende immunceller, blant annet immuncellene i det medfødte immunforsvaret som dannes i beinmarg. Nude mice har også et lite antall T-celler, for eksempel $\gamma\delta$ -T-celler som dannes utenfor thymus, og også et visst antall $\alpha\beta$ -T-celler (35).

1990-tallet – hypotesen om cancer immunosurveillance får en renessanse

Hypotesen om immunosurveillance ble regnet som lite relevant før den på 90-tallet fikk en renessanse. Da viste en rekke musmodellstudier med ulike former for immunosupprimering økt forekomst av kreftsykdom, og mer aggressiv kreftsykdom sammenlignet med wt-mus: Flere av disse studiene gikk ut på å hemme virkningen av IFN γ som er et viktig cytokin i medfødt immunrespon (34,47). I en av studiene ble det gitt monoklonalt antistoff mot IFN γ til en del av musene med kreftsvultstransplantater. Resultatet ble at musene som manglet IFN γ -virkning utviklet mer aggressiv kreft enn de musene som hadde intakt IFN γ -virkning (35). I liknende studier hvor MCA ble brukt for å indusere malign celletransformasjon ble det gjort tilsvarende funn (48). I en studie ble det brukt mus som manglet både tumorsupressorgenet p53 og funksjonell IFN γ , og hos disse oppsto det hurtigere spontan kreftutvikling, og de utviklet flere ulike typer kreftsvulster sammenlignet med mus som bare manglet p53 (48). Disse studiene var med på å vise at IFN γ er en viktig promotor av immunsystemets forhindring av kreftutvikling hos mus (35,48).

Det viktige cytolytiske proteinet perforin kan produseres av både NK-celler og CD8+ T-celler, og er derfor viktig i både medfødt og adaptiv immunrespon. På bakgrunn av denne kunnskapen ble det gjort studier med mus som manglet genet for perforin, og det ble observert at disse var mer mottagelige for MCA-indusert kreftutvikling enn wt-mus (49,50). Den studien som virkelig satte immunosurveillance-hypotesen på kartet igjen var forsøk gjort av Schreiber et al., med mus som manglet recombination activating gene-2 (RAG-2) (51). Uten dette genet klarer ikke lymfocytter å rearrangere sine antigenreseptorer, og individer med denne mutasjonen har derfor total mangel på B-celler, T-celler og natural killer T-cells (NKT-celler – en T-celletype som har karakteristikk til felles med både T- og NK-celler). Konklusjonen i studien var at RAG-2-/- mus utviklet sarkomer raskere og hyppigere ved bruk av MCA sammenlignet med wt-mus.

Det ble også gjort studier hvor mus fikk tilført IL-12 (52) eller NKT-celleaktivatoren α -galactosylceramide for å styrke immunforsvaret (53). Resultatet var at disse musene i mindre grad utviklet kreftsvulster sammenliknet med wt-mus når de ble eksponert for MCA. Disse studiene økte den generelle forståelsen av og forskningen på immunosurveillance (34,47). Kritikerne påpeker imidlertid at det i flere studier har blitt brukt MCA for å danne kreftsykdom, og at slike kjemisk induserte kreftceller muligens er mer immunogene enn spontant oppståtte kreftsvulster (6).

3.2. Cancer immunosurveillance hos mennesker

Immunosupprimerte individer har høyere forekomst av flere ikke-virale krefttyper sammenlignet med immunokompetente kontroller

På bakgrunn av studiene gjort på musemodeller, antas det at immunsystemet er viktig i eliminering av kreftceller også hos mennesker. Hvis dette stemmer så skal det kunne observeres at immunosupprimerte pasienter har høyere forekomst av kreft. Studier på forekomsten av kreft hos organtransplanterte har vært et viktig bidrag til hypotesen om cancer immunosurveillance. Pasienter med allogen transplantasjon (organ- og benmargstransplanterte) har behov for immunosupprimerende medikamenter resten av livet for å forhindre frastøtning av det nye organet. Immunosupprimerte pasienter har høyere forekomst av krefttyper som er relaterte til virale og bakterielle infeksjoner. I tillegg har studier vist at de har høyere forekomst av krefttyper som ikke har kjent assosiasjon med infeksjoner (54). En nordisk studie med over 5000 nyre-transplanterte pasienter viste at disse pasientene hadde 2 til 5 ganger økt risiko for kreft i kolon, larynks, lunge, blære. De hadde også 10 til 30 ganger økt risiko for kreft i leppe, plateepitelkarsinomer/basalcellekarsinomer i hud, nyre, endokrine kjertler, og non-Hodkins lymfom. Menn hadde 2 til 5 ganger økt risiko for kreft i testikler og prostata, og kvinner hadde 10 til 30 ganger økt risiko for kreft i vulva og cervix (55). Noen av disse krefttypene er som kjent assosiert med virus, slik at den økte forekomsten kan i stor grad forklares av dette. Dette gjelder for eksempel Humant Papilloma virus (HPV) for kreft i cervix, vulva/vagina og larynks, og Epstein-Barr virus (EBV) som er assosierte med visse lymfomtyper. Andre studier har bekreftet denne sammenhengen (56–58).

Kreftcelle-antigener

Noe av kritikken mot hypotesen om immunosurveillance, er at selv om kreftcellene er transformerte, så er de likevel «selv» – kroppens egne. For at immunsystemet skal kunne eliminere kreftcellene må disse gjenkjennes som fremmede ved å uttrykke antigener som er så forskjellige fra de normale, at et individs immunsystem ikke har utviklet immunotoleranse for dem. I 1991 oppdaget van der Buggen et al., det første kreftcelleantigenet, MZ2-E (*genet heter MAGEA1*) (59). I dag har vi kjennskap til flere ulike av kreftcelleantigener.

Tradisjonelt sett inndeles kreftcelle-antigener i to hovedgrupper:

- I. Tumor-spesific antigens (TSAs): antigener som kun finnes i kreftceller og ikke i normale celler, for eksempel fusjonsproteinene BCL-ABL ved kronisk myelogen leukemi (8).
- II. Tumor-associated antigens (TAAs): antigener som er uttrykt i kreftceller, men som også kan uttrykkes i normale celler. Det er for eksempel antigener som kreftcellene uttrykker i større mengder enn normale celler (som uttrykker disse i så liten grad at det ikke er tilstrekkelig til å danne en immunrespons), eller det kan være antigener som normalt sett kun uttrykkes på celler under befruktning eller embryonal utvikling, og som immunsystemet ikke har utviklet toleranse mot (35).

En annen vanlig inndeling som brukes på kreftcelleantigener er:

- I. Differensieringsantigener: for eksempel melanocyttdifferensieringsantigener som Melan-A/MART-1, Tyrosinkinase og gp-100.
- II. Mutasjonsantigener: for eksempel unormale former for p53.
- III. Over-uttrykte antigener: antigener som finnes i større grad på kreftcellene sammenlignet med normale celler, for eksempel HER-2.
- IV. Cancer-testis (CT)-antigener, som er antigener som normalt kun uttrykkes av umodne spermier i testis, i føtale ovarier og i trofoblaster i placenta, men som også kan uttrykkes i kreftceller. Det finnes ca. 90 ulike CT-antigener, og noen kjente er MAGE, BAGE, GAGE og NY-ESO-1. (5) Virale antigener, for eksempel Epstein-Barr virus (EBV) og humant papilloma virus (HPV) (8,60).

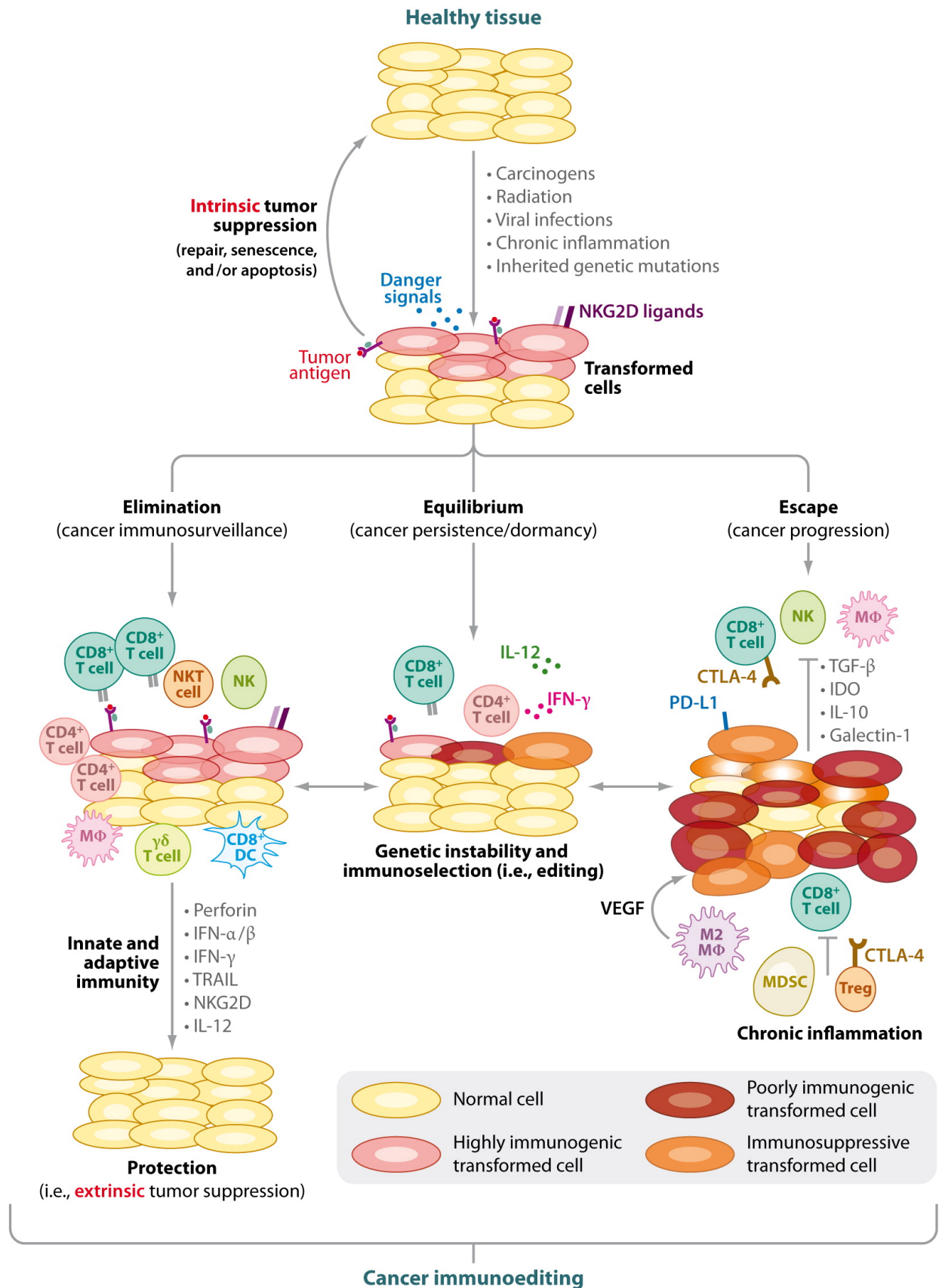
Et synlig eksempel på at immunsystemet har evne til å sette i gang en immunrespons mot kreftcelleantigener kan oppstå hos pasienter med malignt melanom. En del maligne melanomceller uttrykker blant annet differensierings antigenene gp100, Melan-A/MART-1, og gp75. Disse antigenene kan gjenkjennes av både B- og T-cellerreseptorer. Den adaptive immunresponsen mot kreftcelleantigenene fører også til en autoimmun respons mot normale melanocytter som uttrykker de samme antigenene, og dette medfører at pasientene får hypopigmenterte hudområder. Denne tilstanden kalles Vitiligo og kjennetegnes ved flekkvise hvite områder på huden der pigmentet er borte. Vitiligo er assosiert med lengre overlevelse hos pasienter med malignt melanom, noe som kan tyde på at en effektiv immunrespons mot kreftcellene er med på å gi økte overlevelse (61).

Tumorfiltrerende lymfocytter (TILs) i kan være en positiv prognostisk faktor

I 1863 beskrev den tyske patologen Rudolf Virchow at kreftsvulster har et høyt innhold av leukocytter sammenlignet med normalt vev (62). Den generelle oppfatningen i dag er at immunceller har en todelt rolle i kreftutviklingen. Noen av dem utøver kreftfremmende mekanismer, mens andre virker hemmende på kreftcellene. Det er derfor ikke kun tilstedeværelsen av immunceller som betyr noe, men også hvilke typer immunceller som finnes i kreftsvulsten, og hvor i kreftsvulsten de er lokalisert. Ved enkelte krefttyper er det gjort korrelasjonsanalyser der man har funnet at et høyt antall av visse immunceller gir pasienten en bedre prognose, noe som kan tyde på at pasientens immunsystem i disse tilfellene klarer å danne en effektiv immunrespons mot kreftcellene. Dette gjelder spesielt for melanomer, men er også beskrevet i flere ulike karsinomtyper (63–66). Disse studiene er med på å bekrefte hypotesen om cancer immunosurveillance.

3.3. Teorien om cancer immunoedeting

På begynnelsen av 2000-tallet videreutviklet Dunn et al. cancer immunosurveillance teorien til «cancer immunoedeting» teorien som gir en mer fullstendig beskrivelse av forholdet mellom immunsystemet og de transformerte cellene (34). Cancer immunoedeting er beskrevet som en prosess bestående av tre ulike faser: Elimination (eliminering), equilibrium (likevekt), og escape (unnslipping) - ofte kalt «The three E's of cancer immunoedeting» (*figur 6*).



AR Vesely MD, et al. 2011.
Annu. Rev. Immunol. 29:235–71

Figur 6: Illustrasjon som viser de tre fasene i cancer immunoedeting (54).

3.3.1. Elimination: immunforsvarets metoder for å eliminere transformerte celler

Elimineringsfasen er den delen av immunoedeting-teorien som omfatter den gamle teorien om cancer immunosurveillance. I elimineringsfasen virker det medfødte og det adaptive immunsystemet sammen for å eliminere transformerte celler, og hvis de klarer å gjøre denne jobben fullstendig vil immunoedeting-prosessen stoppe her. Det er senere beskrevet flere mulige mekanismer for hvordan immunsystemet kan eliminere kreftceller.

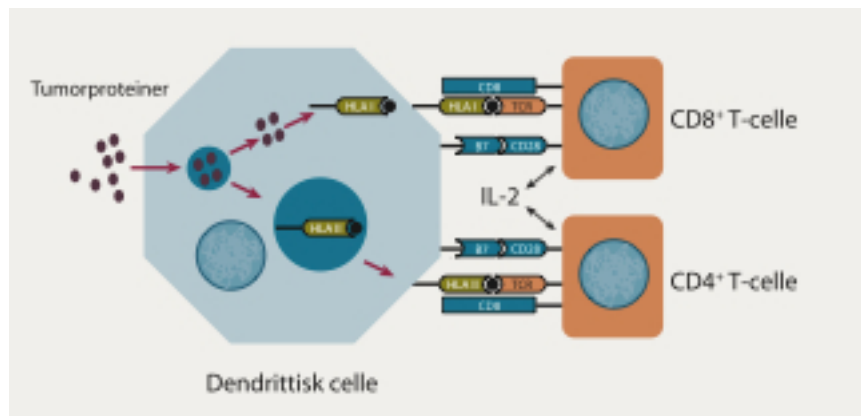
Kreftceller kan trigge immunsystemet til anti-kreftrespons

Kreftsvulster fører til utskillelse av pro-inflammatoriske substanser

For at det skal kunne dannes en tilstrekkelig immunrespons mot transformerte celler, må disse på en eller annen måte sette i gang en inflammasjonsprosess, noe som kan skje på flere måter. Når en kreftsvulst vokser må den samtidig bryte ned ECM i organet den befinner seg i. Dette skjer ved at kreftcellene selv frigir enzymer som kan bryte denne ned, i tillegg til at de påvirker stromale celler i svulstens mikromiljø til å uttrykke slike enzymer. I nedbrytningsprosessen frigjøres flere pro-inflammatoriske molekyler, blant annet hyaluronsyre og heparansulfat som kan aktivere TLR og dermed sette i gang inflammasjonsprosessen. Kreftceller kan også frigi heat shock proteins (HSPs) og urinsyre som også aktiverer TLR (13).

Immuncellene kan gjenkjenne kreftcellene som unormale gjennom to hovedmekanismer

I litteraturen beskrives to hovedmåter som immunsystemet kan bruke for å oppdage kreftceller. Den ene den ene måten er at kreftcellene uttrykker en eller flere kreftcelleantigener, og at disse gjenkjennes av immunsystemets komponenter (*figur 7*) (67).



Figur 7: DCs tar opp kreftcellepeptider og presenterer disse på HLA-II til CD4+ T-celler, og på HLA-I til CD8+ T-celler slik at disse aktiveres. (J A Kyte. Tidsskr Nor Lægeforen 2006; 126:2969-73)

Den andre måten er ved at kreftcellene uttrykker NKG2D-ligander, som kan gjenkjennes av NKG2D-reseptoren som uttrykkes på NK-celler og CD8+ T-celler. Ligandene som aktiverer denne reseptoren er stressinduserte overflatemolekyler som MHC class I chain-related proteins A and B (MICA/B), UL16 binding proteins (ULBP), og lymfocyte effector cell toxicity-activation ligand (Letal). MICA/B uttrykkes normalt kun epitel i tarm og magesekk, men er uttrykt i flere ulike typer karsinom og ved malignt melanom. ULBP er økt i flere krefttyper. Aktivering av NKG2D-reseptorene fører til igangsetting av NK-cellenes og CD8+ T-cellenes cytotoksiske mekanismer mot cellene som uttrykker stress-molekylene (60).

Immunsystemet har flere mekanismer for å eliminere kreftceller

Interferon- γ

IFN γ er funnet å være en svært viktig stimulator av immunsystemets eliminering av kreftceller da den stimulerer CD4+ Th1 T-celler og CD8+ cytotoksiske T-celler med antigenreseptorer for kreftcelleantigener. IFN γ stimulerer også makrofagenes cytotoksiske egenskaper (68). Studier tyder på at blant andre $\gamma\delta$ T-celler er viktige produsenter av INF γ (69).

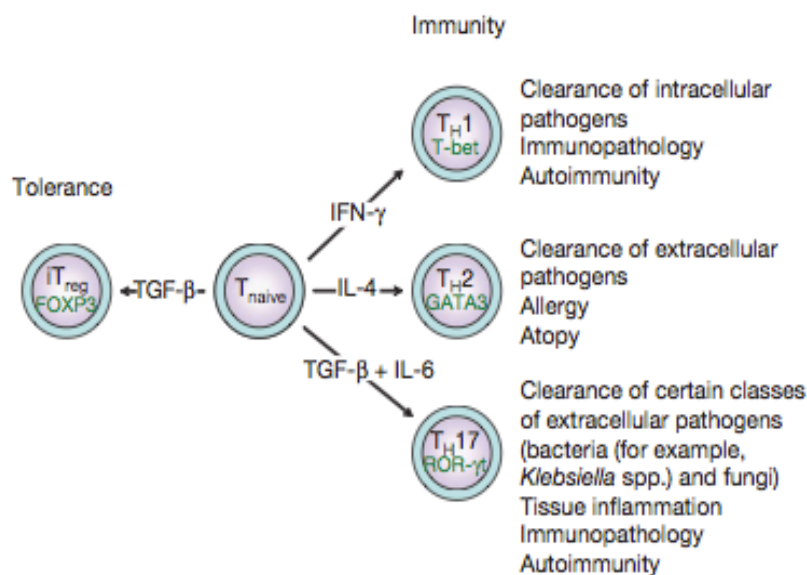
Perforin og TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)

Perforin ble tidlig oppdaget til å være viktig ved immunologisk anti-kreft respons på grunn av sine cytolytiske egenskaper. En annen cytolytisk mekanisme som også ser ut til å være viktig i det medfødte immunsystemets angrep på kreftceller, er TRAIL. TRAIL er et cytokin som kan produseres i NK-celler, DCs og monocytter, og som binder til apoptose aktiverende reseptorer hos

andre celler. Slike reseptorer kan for eksempel uttrykkes av en celle som har økte nivåer av tumorsupressorproteinet p53 (økt ved skadet DNA). I musemodeller er det funnet at mus som mangler TRAIL har økt risiko for utvikling av MCA-indusert fibrosarcom (70).

CD4+ Th17-lymfocytter

Th17-lymfocytter er en egen CD4+ T-hjelpercellepopulasjon (*figur 8*) som kjennetegnes ved at de utskiller IL-17, og uttrykker transkripsjonsfaktoren retinoic acid receptor-related orphan receptor γ T (ROR γ T). Denne celletypen er overtrykt i flere autoimmune sykdommer, noe som kan tyde på at de potenserer adaptiv immunrespons (71). I et studie hvor man har kartlagt tilstedeværelse av Th17-lymfocytter i ovariekreft, ble det observert at disse immuncellene finnes i høyere nivåer i blod og lymfeknuter hos disse kreftpasientene sammenlignet med individer uten kreft. De ble også funnet i kreftsvulstene. Studiet konkluderte med at Th17 og IL-17 var assosiert med god prognose i denne kreftypen, noe som kan tyde på at celletypen styrker cancer immunosurveillance (72,73). Andre studier har vist at høye nivåer av IL-17 er assosiert med dårligere prognose (74,75), men IL-17 er ikke bare uttrykt av Th17-lymfocytter kan produseres av flere andre immunceller (blant annet NK-celler, MC-celler, CD4+- og CD8+ T-lymfocytter (72)).



Figur 8: Figuren viser de ulike kjente typene CD4+ T-celler kan utvikles til (76). (Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Nature 2008;19;453(7198):1051-7)

Humoral respons mot kreft

Det har blitt identifisert spesifikke kreftcelle-antistoffer både i blodet og i kreftsvulster hos pasienter med ulike krefttyper. Det er funnet en sammenheng mellom høyt uttrykk av antigen, og tilsvarende høyt uttrykk av tilsvarende antistoff, noe som kan skyldes at det er benyttet ulike metoder for påvisning av antistoff. I tillegg er de biologiske mekanismene i humoral anti-kreftrespons er ikke godt nok kartlagte (77).

3.3.2. Equilibrium: immunsystemet er med på å avle frem kreftceller som kan unngå immunrespons

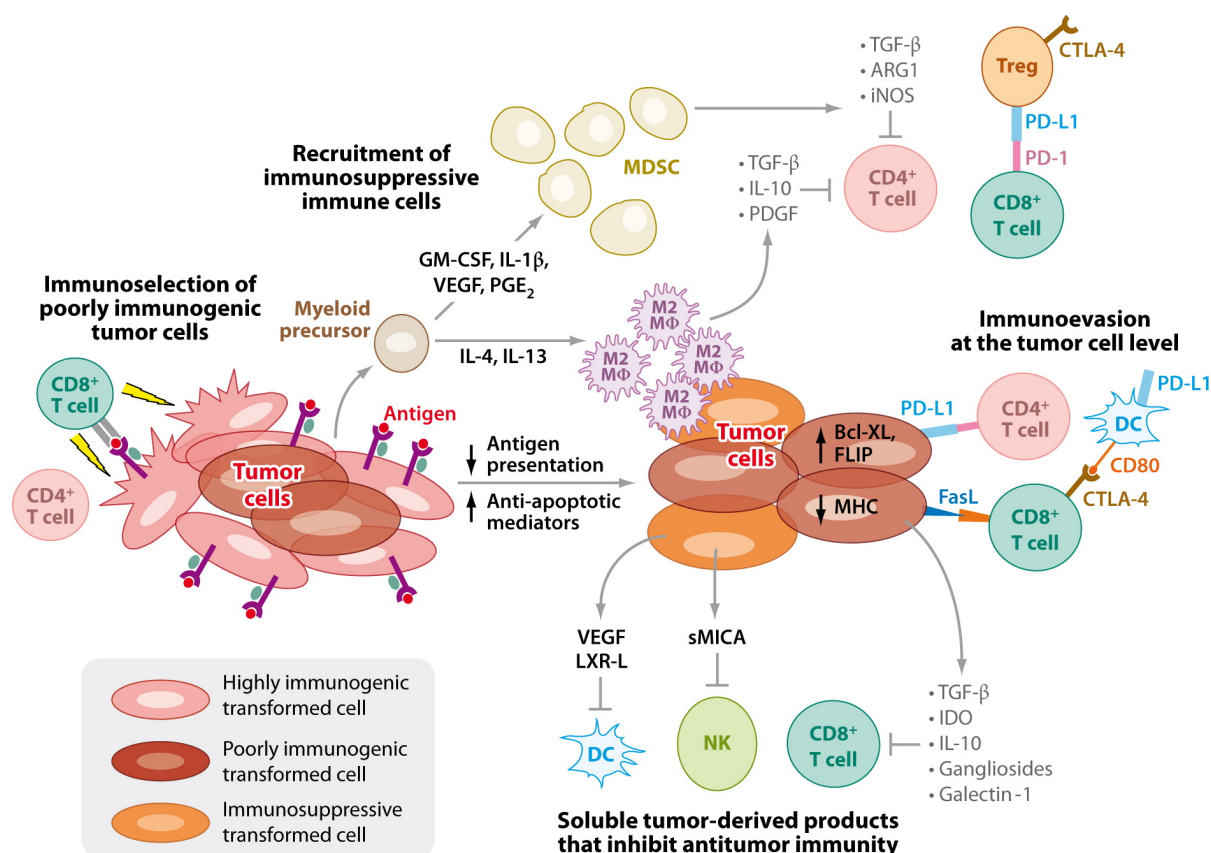
Tumor dormancy er et begrep som brukes om kreftsvulster som er i en latent fase hvor de ikke vokser i størrelse. I følge immunoedeting-teorien kan en av grunnene til en slik fase være at kreftsvulsten og immunsystemet er i en dynamisk balanse, hvor det er like stor immunologisk eliminering av kreftceller som det er kreftcelleproliferasjon (54). Sett i lys av denne teorien vil det oppstå et darwinistisk mikromiljø i kreftsvulsten. Kreftceller er genetisk ustabile, og i en voksende kreftsvulst skjer det hele tiden nye mutasjoner (6) noe som fører til stor genetisk heterogenitet innad i svulsten. Det gir kreftsvulsten evne til å selektere ut de mest overlevelsedyktige av kreftcellene avhengig av det stadig skiftende mikromiljøet i og omkring svulsten. Immunsystemets angrep på kreftcellene vil selektere frem en gruppe kreftceller med redusert evne til å danne immunrespons. Kreftsvulster som oppstår i immunokompetente verter er mindre immunogene enn de som oppstår hos immunosupprimerte verter, noe som støtter opp under immunoedeting hypotesen. Kreftsvulster som vokser i immunosupprimerte verter blir ofte avvist når de transplanteres til en immunokompetent vert (47).


Et argument for at slike likevekstfaser eksisterer er et kjent klinisk eksempel hvor en død kvinne donerte begge nyrene sine til to ulike mottagere. Etter to år hadde begge disse utviklet malignt melanom med metastase. Undersøkelser av kvinnens journal viste at hun var radikalt behandlet for primært melanom 16 år tidligere, og det ble derfor antatt at hun var helbredet. En mulig forklaring på dette utfallet er at kvinnen hadde mikrometastaser fra melanom til nyrene sine, men at disse metastasene var blitt holdt i en «sovende likevekstfase» av immunsystemet hennes. På grunn av immunosupprimerende behandling av mottagerne ble likevekstfasen opphevet, noe som medførte utvikling av malignt melanom hos begge (78). Det finnes andre liknende tilfeller (79). I følge teorien om cancer immunoedeting er det tre ulike utfall av equilibrium: (I) immunsystemet greier å eliminere kreftcellene, (II) en permanent equilibrium-fase, eller (III) immunoescape ved at

kreftcellene tilegner seg egenskaper som gjør at immunsystemet ikke lengre klarer å holde dem i sjakk (60).

3.3.3. Immunoescape: kreftcellers metoder for å unngå å bli drept av immunsystemet

Mennesker har mange cellulære beskyttelsesmekanismer mot kreftutvikling, blant annet tumorsuppressor-proteiner og DNA-reparasjonsproteiner. Mutasjoner som endrer genuttrykket av disse er viktige steg i malign celletransformasjon (6). I følge immuoedeting-teorien har også er immunsystemet en viktig beskytter mot kreftutvikling. Det faktum at immunokompetente individer likevel får kreftsykdom betyr at kreftcellene opparbeider seg egenskaper som gjør at de kan unnslipe denne anti-kreftmekanismen (*figur 9*). Immunoescape-fasen er prosessen hvor immunsystemet ikke klarer å kontrollere den ukontrollerte celleproliferasjonen, og det oppstår kreftsykdom. Det finnes hovedsakelig to typer endringer som kan føre til immunoescape: (I) seleksjon av ikke-immunogene kreftceller, eller (II) kreftcellene opparbeider seg egenskaper gjennom mutasjoner som gjør at de kan hemme immunsystemet (60).



 Vesely MD, et al. 2011. Annu. Rev. Immunol. 29:235–71

Figur 9: Illustrasjon av mekanismer ved cancer immunoescape (54).

Immunopriviligerte mikromiljø i kreftsvulster

Kreftceller kan frigi immunosuppressive cytokiner som IL-10 og TGF- β

TGF- β er vist å spille en svært viktig rolle i kreftcellebiologi. TGF- β kan aktivere flere signalveier gjennom binding til sin tyrosinkinase reseptor, blant annet Phosphatidylinositide 3-kinase (PI3K)-signalveier, og small GTPase-signalveier (hvor Ras er den mest kjente). Hovedvirkningen når TGF- β binder til reseptoren sin er fosforylering og aktivering av intracellulære SMAD-proteiner. Dette medfører dannelse av en SMAD-trimer som går inn i cellekjernen hvor den fungerer som transkripsjonsfaktor. I normale celler og i tidlige stadier av kreft fungerer TGF- β som et tumorsuppressor-protein og som en hemmer av inflammasjon. Den virker ved å hemme uttrykk av vekstfaktorer, pro-inflammatoriske cytokiner og kjemokiner. Den induserer transkripsjon av proteiner som fører til apoptose og hemming av cellyklus (80). I musemodeller hvor genene for TGF- β er slettet, eller hvor man har nedregulert proteinet på andre måter i epiteliale kreftceller, finner man ofte at det fører til mer aggressiv kreftsykdom (81). Tap av TGF- β -signalering ved å fjerne et viktig SMAD-protein i T-celler er assosiert med økt inflammasjon og kreftutvikling i en musemodell for tarmkreft (82).

TGF- β er observert å ha en todelt rolle i kreftutvikling, og i mange krefttyper er økt uttrykk av TGF- β korrelert med en dårlig prognose. De kreftfremmende virkningsmekanismene til TGF- β er varierte: dysregulering av cyklin-avhengige kinasehemmere som medfører redusert cellykluskontroll, endringer i cytoskjelett, redusert eliminering av kreftceller av immunsystemet, økt angiogenese, og økt mengde proteaser som bryter ned ECM og dermed tilrettelegger for kreftsvulstens invasjon i omkringliggende vev. Det er gjort flere ulike observasjoner av hvordan TGF- β kan redusere immunsystemets eliminering av kreftceller: (I) reduksjon i uttrykk av gener som er viktige for lymfocytters cytotoksiske egenskaper, som foreksempel perforin, granzymmer og cytotoksiner, (II) øke uttrykk av Foxp3 i CD4⁺ T-celler som fører til at de differensierer til å bli Tregs, og (III) hemme NK-celledifferensiering og funksjon (80), og (IV) aktivering av NF- κ B (83). Oppsummert, kan *redusert* TGF- β -signalering i normale epitelceller og tidlige kreftstadier være med på å fremme kreftutvikling, mens *høye nivåer* av TGF- β i senere kreftstadier er korrelert med økt aggressivitet (19).

IL-10 er kjent som et viktig immunosupprimerende cytokin. Produksjon av IL-10 er en av Tregs immunosupprimerende mekanismer, og i kreftsammenheng er monocytter og flere typer kreftceller er funnet å kunne produsere cytokinet. IL-10 kan virke immunosupprimerende blant annet ved å hemme Th1-drevet immunrespons og syntese av pro-inflammatoriske cytokiner, nedregulere

MCH/HLA klasse II-molekyler, samt hemme DCs antigenpresentasjon (19). I de senere år er det flere studier som tyder på at IL-10 også er viktig for å danne en god immunrespons mot kreftceller. De ulike resultatene fra disse studiene understreker kreftbiologiens kompleksitet, og dette beviser det faktum at kreftcellers maligne mekanismer er ulike både mellom de ulike krefttypene, og innad i samme type kreft (84,85).

Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)

Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) er et viktig enzym i nedbrytningen av den essensielle aminosyren tryptofan. IDO er vist å kunne ha immunosupprimerende egenskaper, noe som ble observert ved at IDO i placenta beskytter denne mot T-celleangrep (86). Uten tilgang på tryptofan kan ikke T-celler dele seg, og kan derfor ikke aktiveres ved antigenpresentasjon. Flere kreftceller uttrykker IDO, og dette er en mulig mekanisme for hvordan kreftcellene kan unngå å bli eliminerte av cellene i det adaptive immunsystemet (19). I en eksperimentell studie med immunokompetente mus ble det funnet at immunogene kreftsvulster med høyt uttrykk av IDO vokser mer aggressivt enn de med lavt uttrykk. Denne effekten er assosiert med redusert akkumulering av T-celler i kreftsvulstens mikromiljø (87). Det gjenstår mye forskning når det gjelder IDO sin rolle i kreft, men mye tyder på at IDO-uttrykk er viktig for kreftcellenes immunoescape (19).

Immunosupprimerende immunceller

Regulatoriske T-celler

Sammenlignet med normalt vev finnes Tregs i økte nivåer i flere typer kreftsvulster, blant annen ved kreft i ovarier, bryst, bukspyttkjertel, lever og lunge (25,60). I 2004 publiserte Curiel et al., et banebrytende studie som rapporterte at høy tetthet av Tregs i kreftsvulster i ovariene var assosiert med dårlig prognose (88). Høye nivåer av Tregs er også korrelert med redusert overlevelse ved kreft i lever, bryst, lunge, bukspyttkjertel og lever (63,89–94). Det er foreslått ulike mekanismer for hvordan Tregs kan hemme immunrespons mot kreftcellene. En forklaring er at de kan hemme CD4+ T-celler, CD8+ T-celler og NK-celler ved blant annet å skille ut immunosupprimerende cytokiner som IL-10 og TGF- β og ved å uttrykke Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA-4) (95). Tregs betydning i kreft er ikke entydig da andre studier viser ingen assosiasjon mellom disse cellene og overlevelse (63,96,97). Studier på kreft i tykktarm, blære, ovarie, hode- og nakke og Hodgkins lymfom har vist at en høy tetthet av intratumorale Tregs er assosiert med bedre overlevelse (63,98–102).

Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA-4)

CTLA-4 er et immunosupprimerende proteinreseptor protein som kan uttrykkes på overflaten av T-celler, blant annet Tregs. CTLA-4 ligner CD28 i struktur og begge binder til B7 på dendrittiske celler men virker ulikt. CD28 binding fører til immunrespons-aktiverende signaler, mens CTLA-4 fører til immunosupprimerende signaler, blant annet ved at de dendrittiske cellene oppregulererIDO. Det første CTLA-4 antistoffet (Ipilimumab) er nå godkjent til bruk av U.S. Food and Drug Administration (FDA) mot metastatisk malignt melanom, og er tatt i bruk i behandlingen i flere land (103).

Programmed cell death 1 (PD-1) og programmed cell death ligand 1 (PD-L1)

Flere kreftceller er funnet å uttrykke PD-L1 som kan bindes til PD-1 på T-celler. Dette ses blant annet ved kreft i bryst, ovarier og tykktarm. PD-1 er en transmembran reseptor som aktiveres av PD-L1 og PD-L2. Dette fører vis ulike signalveier til at T-celler ikke aktiveres som normalt. Aktivisering av PD-1 på CD8⁺ cytotoksiske T-celler fører til apoptose hos disse ved å øke uttrykket av IL-10 og Fas-ligand (103). Legemiddelet Nivolumab som blokkerer PD-1 gjennomgår nå klinisk legemiddeltesting som mulig behandling for ikke-småcellet lungekreft (NSCLC) (104).

Myeloid-derived supressor cells (MDSC)

Myeloid-derived supressor cells (MDSC), også kalt immature myeloid cells (imC), er en heterogen gruppe av umodne myeloide celler, som gjenkjennes av markørene Gr-1+CD11b⁺ i mus (80). MDSC er overuttrykt i flere typer kreft, og det antas at de spiller en svært viktig rolle i kreftcellenes immunoescape. De kan virke immunosupprimerende på NK-celler, B- og T-celler ved å produsere arginase og reaktive oksygen species (ROS). I tillegg kan de hemme modningen av DCs og fremme utviklingen av makrofager til type 2-makrofager (M2) (105). Andre studier har vist at MDSC kan stimulere naive CD4⁺ T-celler til å utvikles til Tregs (106). MDSC er også funnet å ha andre ikke-immunomodulerende mekanismer, blant annet ved at de er viktige produsenter av TGF- β , og at de kan øke angiogenese i kreftsvulster (80,107).

Regulatoriske B-celler

I de siste årene har det vært betydelig forskning på B-cellers mekanismer utover antistoffproduksjon, og forskere mener å ha funnet en subpopulasjon av B-celler som produserer det immunosupprimerende cytokinet IL-10 (108). Denne subpopulasjonen kalles B10 eller B-regulatoriske celler (Bregs) (109). Studier i musmodeller har funn som tyder på at B-celler kan fremme kreftutvikling (110–112). Det er fortsatt usikkert om Bregs kan hemme immunceller på samme måte som for eksempel Tregs, og Breg-cellenes eksistens og virkningsmekanismer sees

fremdeles på som svært kontroversielt av flere (*se også avsnitt 4.2 om kronisk aktiverte B-lymfocytter*) (109).

Regulatoriske CD8+ T-celler

I tillegg til de mer kjente CD4+ regulatoriske T-cellene, er ulike subgrupper av CD8+ T-lymfocytter funnet å ha immunosupprimerende virkning (CD8+ Tregs). En av disse typene er CD8+CD25+ T-lymfocytter som blant annet uttrykker FoxP3 (113,114). CD8+ Tregs er funnet i kreftsvulster fra pasienter, og er vist å kunne hemme proliferasjon og funksjon av CD4+ og CD8+ T-celler (både naive celler og effektorceller) enten via celle-celle-kontakt eller ved å frigjøre IL-10 (113,115). CD4+ Tregs dannes naturlig i Thymus og finnes i blod hos både friske individer og kreftpasienter. Til sammenligning finner man ikke CD8+ Tregs i blod, noe som kan tyde på at dannelsen av disse induseres i kreftsvulsters mikromiljø (113,114).

Kreftceller kan unnsnippe immunsystemets drapsmekanismer

Fas og Fas-ligand

En av mekanismene CD8+ T-celler bruker for å stimulere apoptose i kreftceller er å uttrykke Fas-ligand (FasL) på celleoverflaten. Denne liganden bindes til reseptoren Fas på kreftcellene, noe som aktiverer apoptose-signalveier hos disse. Det er observert at flere kreftceller har utviklet resistens mot Fas-stimulering (116,117). Kreftceller kan produsere FasL, som ikke virker på dem selv, men som kan drepe omkringliggende immunceller (116,118). I mange krefttyper er det observert apoptotiske lymfocytter i områder hvor kreftceller uttrykker FasL. FasL er funnet uttrykt av kreftceller ved kreft i tykktarm, hode- og hals, spiserør, nyre, ovarier og ved malignt melanom (118).

Forhindring av antigenpresentasjon og hemmet uttrykk av stressproteiner

Kreftcellers nedregulering av antigenpresentasjon er observert i flere forskjellige krefttyper, og sees på som en viktig måte for kreftcellene å unngå å bli eliminert av immunsystemet (35,119). Det finnes flere mekanismer kreftcellene kan nyttiggjøre seg av for å unngå at antigenene deres presenteres for immunsystemet:

- I. Mutasjoner eller nedregulering av HLA-I-molekylene:
 - a. Mutasjoner i en eller flere av genene for komponentene i HLA-I-molekylene (vanligvis mutasjoner i $\beta 2m$ -genet) slik at cellen ikke uttrykker noen av HLA-I-allelene (119,120).

- b. Mutasjoner eller nedregulering av et HLA-I-allel (119,121).
 - c. Mutasjoner eller nedregulering av en HLA-I-haplotype (en haplotype består av HLA-gruppene HLA-A, HLA-B og HLA-DR som i sin helhet arves ned fra foreldre – en haplotype nedarves fra hver av foreldrene) (119,122).
- II. Defekter i andre deler av «maskineriet» som prosesserer antigener, blant annet defekter i proteosomproteinene LMP2 og LMP7, eller i transporteren TAP (transporter associated with antigen processing) som overfører peptider fra cytosol til det endoplasmatiske retikulum (119,123,124).

Nedregulering av HLA-I-uttrykk er en mekanisme mange virus bruker for ikke å oppdages av cytotoksiske CD8+ T-celler. NK-celler er derfor viktige i denne sammenhengen fordi de angriper celler som uttrykker et unormalt lavt antall HLA-I-molekyler. Dette skjer fordi NK-cellene normalt binder sin KIR til HLA-I på celler, noe som fører til undertrykkelse av NK-cellens cytotoksiske egenskaper. Når dette hemmende signalet opphører kan NK-cellens drapsmekanismer aktiveres (125). Aktivering skjer som beskrevet ovenfor gjennom stimulering av cellens aktiverende reseptorer; blant annet NKG2D-reseptorer som gjenkjenner MICA/B (15). For å unngå denne drapsmekanismen, er det flere kreftceller som kan produsere proteaser som kløyver MICA/B fra celleoverflatene sine. Dette produserer en løselig form for MIC-proteiner som kan binde seg til NKG2D-reseptorene. MIC-NKG2D-komplekset tas opp av immuncellen ved endocytose, noe som dermed fjerner NKG2D-reseptoren fra overflaten og fører til økt nedbryting av den. På denne måten reduseres sjansen for at kreftcellene fjernes av NK-cellene (126).

Unormal utvikling og modning av dendrittiske celler

DCs er essensielle for at T-celler skal kunne reagere på kreftcelleantigener, og slik danne immunrespons mot kreftceller. Redusert nivå av sirkulerende dendrittiske celler finnes i flere krefttyper, noe som tyder på at kreftceller har muligheten til å nedregulere modningen av DCs. DCs kan også utvikles til celler med immunosupprimerende egenskaper, blant annet til plasmacytoide dendrittiske celler (pDC) (19).

4. Inflammasjon kan fremme kreftutvikling

4.1. Kronisk inflammasjon og økt kreftrisiko

Tidlige sammenhenger mellom irritasjon, inflammasjon og kreft

Teorien om at det er en sammenheng mellom kronisk irritasjon, inflammasjon og kreft er langt fra en revolusjonerende tanke. Da Rudolf Virchow i 1863 observerte leukocytter i neoplastisk vev mente han at dette kunne bety at kreft oppstår på grunn av kronisk irritasjon (chronic irritation theory of cancer) (62,127). I 1915 klarte den japanske patologen Katsusaburo Yamagiwa som den første i verden å indusere malign transformasjon av normale celler i laboratoriet. Hypotesen var at kronisk irritasjon kunne danne pre-maligne endringer i normalt epitel, og han bekreftet dette ved å gni kulltjære inni kaninører gjentatte ganger over et langt tidsrom. På 1890-tallet arbeidet Yamagiwa sammen med Virchow i Berlin, hvor han blant annet studerte patogenesen av kreft i magesekken, og hypotesen var at kroniske magesår i stor grad bidro til slik kreftutvikling (128). I 1982 konkluderte Marshall og Warren med at gastritt, magesår og sår i duodenum i 80-90 % av tilfellene forårsakes av bakterien *Helicobacter Pylori* et funn de i 2005 fikk Nobelprisen i medisin for (129). Kronisk gastritt forårsaket av *Helicobacter Pylori* er nå allment kjent som en signifikant årsak til kreft i magesekken (130). Denne oppdagelsen førte til en økt forståelse av sammenhengen mellom kronisk infeksjon, inflammasjon og kreft.

I 1986 formulerte Harold Dvorak en hypotese om at kreftsvulster er “wounds that do not heal” (131). Hypotesen forsøkte å forklare den komplekse signaleringen ved kreft ved at kreftceller kunne skru på et komplekst fysiologisk program som normale celler allerede har i sitt genom. Bakgrunnen for hypotesen var de mange likhetene mellom det som skjer i et mikromiljø ved vevstilheling, og det som skjer ved kreftutvikling. Ved begge tilfeller frigir trombocytter PDGF (platelet-derived growth factor) og TGF- β som tiltrekker fibroblaster og stimulerer disse til å frigi matrix metalloproteinaser (MMPs) og mitogener. I ECM er det mange signalmolekyler bundet fast i inaktiv form. MMPs degraderer ECM og fører til frigjøring av disse molekylerne slik at de kan utøve sin virkning. Signalmolekylerne tiltrekker seg immunceller som monocytter, nøytrofile granulocytter, eosinofile granulocytter, mastceller og lymfocytter, som sammen med fibroblastene fungerer som produsenter av vekstfaktorer, mitogener, cytokiner, og kjemokiner. Dette øker celleproliferasjon og angiogenese i kreftsvulsten. «Wounds that do not heal»-teorien er forkastet, men illustrerer viktigheten av stromale celler i kreftutvikling.

Indisier for at inflammasjon er et viktig bidrag i kreftutvikling

Infeksjoner og kreftutvikling

Omtrent 15 % av verdens kreftdiagnoser har virale og/eller bakterielle infeksjoner som bakenforliggende årsak. Store deler av disse krefttilfellene skyldes såkalte onkogene virus, der det ikke er inflammasjonen i seg selv som forårsaker kreft, men virusets genom som inneholder onkogener (35). Et eksempel på et onkogen virus er humant papillomavirus (HPV) 16 og 18 som har nukleotidsekvenser som koder for onkogenet E7 som kan inaktivere retinoblastoma-tumor supressorproteinet (pRb), og onkogenet E6 som inaktiverer tumorsupressorproteinet p53. HPV 16 og 18 kan føre til plateepitelkarsinom i og omkring analkanalen, munnhule og svelg, i vagina og på penis. Det er vist at HPV 16 og 18 er årsak til nesten 99 % tilfeller av livmorhalskreft (132). Andre bakterier og virus som er assosiert med kreftutvikling har ikke like tydelige onkogene egenskaper, og det antas derfor at inflammasjonen de lager har kreftfremmende egenskaper. Et eksempel på dette er Hepatitt B (HBV) som er hovedårsaken til utvikling av leverkreft på verdensbasis. Viruset har et genet HBx som koder for et protein med svak onkogen virkning, men som alene ikke kan forklare HBVs evne til å fremme kreftutvikling. De fleste studier tyder på at en viktig årsak til HBVs kreftfremkallende evner er dets evne til å danne kronisk inflammasjon i leveren. Kronisk inflammasjon fører til nekrose av levercellene, og for å erstatte dette celletapet øker proliferasjonshastigheten, noe som øker sjansen for malign celleutvikling (133,134).

Non-steroid anti-inflammatoriske legemidler (NSAIDs) reduserer forekomsten av ulike karsinomer

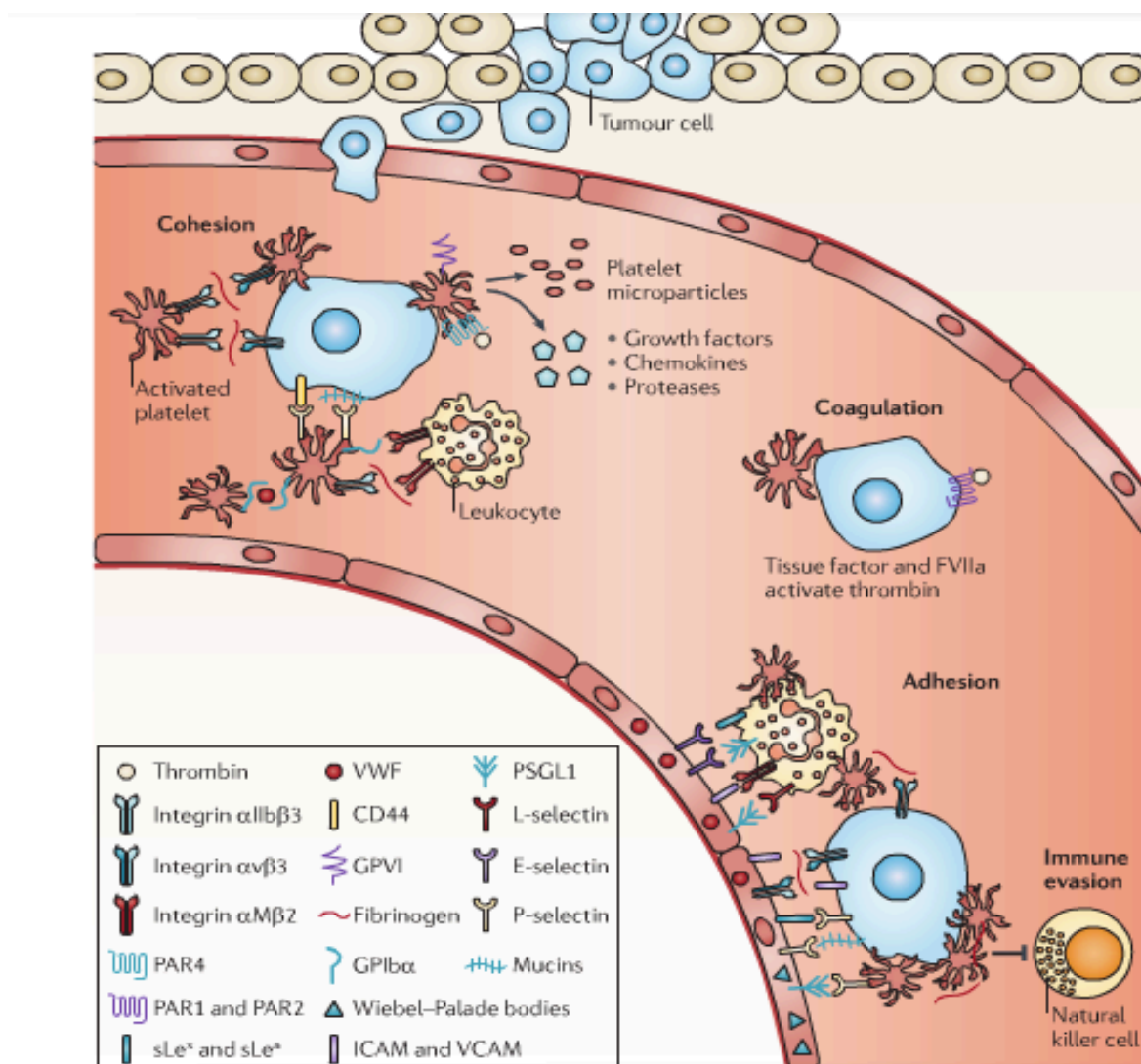
NSAIDs er en legemiddelgruppe som virker anti-inflammatorisk, anti-pyretisk og analgetisk. Den anti-inflammatoriske virkningen er hovedsakelig koblet til legemiddelgruppens hemming av enzymet cyclooxygenase (COX). Dette enzymet omdanner arakidonsyre fra cellemembranen om til prostanoider som inkluderer prostaglandin D2 (PGD2), PGE2, PGF α og prostacyclin (PGI2). I trombocytter er COX også ansvarlig for å danne Thromboxan A (TXA2) som er viktig for at trombocytene skal kunne klumpe seg sammen (aggregere) ved blødning. COX har to identifiserte hovedformer; COX-1 og COX-2. COX-1 er kontinuerlig uttrykt i mange typer vev, mens COX-2 er kontinuerlig uttrykt i endotel, nyre og hjerne, men kan induseres i andre vev ved uttrykk av pro-inflammatoriske substanser. Noen typer NSAID hemmer begge formene av enzymet, mens andre er selektive COX-2-hemmere (135,136). Det er hovedsakelig COX-2 som er viktig ved inflammasjon, og oppregulering av denne er funnet i flere krefttyper (137), inkludert kreft i tykktarm (138,139), bryst (140), magesekk (141,142), bukspyttkjertel (143), blære (144), lunge (145) og prostata (146).

I kreft indueres COX-2 av onkogener (RAS og SCR), cytokiner, hypoksi, epidermal growth factor (EGF), TGF- β og TNF. PGE2 er assosiert med hyppigere metastasering, og stimulerer økning av IL-6 og den anti-apoptotiske faktoren bcl-2. IL-6 er assosiert med kreftutvikling (147).

Meta-analyser av randomiserte kliniske forsøk har vist at langvarig bruk av NSAIDs reduserer forekomsten og dødeligheten av tykktarmskreft (148) og også flere andre krefttyper (149). Det er foreslått flere mekanismer for hvordan NSAIDs kan hemme kreftutvikling. Funn tyder på at hovedmekanismen er hemmingen av COX, spesielt COX-2, og dermed hemming av dannelse av prostaglandiner. Man har funnet økt uttrykk av både prostaglandiner og COX-2-enzymet i flere ulike typer maligne vev (150), og spesielt PGE2 ser ut til å ha en rolle i kreftutvikling. Tap av 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (15-PGDH) som normalt degraderer PGE2 er assosiert med kreftutvikling i lunge (151) og tykktarmskreft (152,153). Binding av PGE2 til EP (Prostaglandin E)-reseptorer fører til aktivering av G-proteiner, men kan også føre til kryssaktivering av flere andre signalveier som er assosierte ved kreftutvikling (137), blant annet:

- I. Wnt-signalering: Wnt-signalering fører til aktivering av β -catenin – en transkripsjonsfaktor som aktiverer transkripsjon av flere gener involvert i kreftutvikling (blant annet c-myc og cyklin D1 som stimulerer celledyklus) (154,155)
- II. Peroxisome proliferator-aktivert reseptorer (PPARs): En gruppe cellegjerne reseptorer som fungerer som transkripsjonsfaktorer og aktiverer gener involvert i angiogenese, celleproliferasjon- og overlevelse (156).

Andre foreslåtte mekanismer for hvordan NSAIDs kan hemme visse former for kreftutvikling er blant annet hemming av transkripsjonsfaktoren NF- κ B (157), og at hemming av primær hemostase (aggregeringen av trombocytene) hemmer disse cellenes rolle ved metastasering. Hypotesen er at trombocytter er essensielle for at kreftcellene suksessfullt skal kunne metastasere, ved at aktiverte trombocytter binder seg til kreftceller som kommer ut i sirkulasjonen og dermed forhindrer at disse oppdages av immunsystemet (immuno-evasjon). Trombocytene gjør det også mulig for kreftcellene å binde til innsiden av karrveggen i andre organer, slik at de kan gå ut av sirkulasjon og over i vev og danne en metastase (*figur 10*) (158).



Figur 10: Figuren viser hvordan trombocytter kan bidra til spredning av kreftceller (158). (Gay, L., Felding-Habermann, B. Nat. Rev. Cancer 2011;11, 123–134)

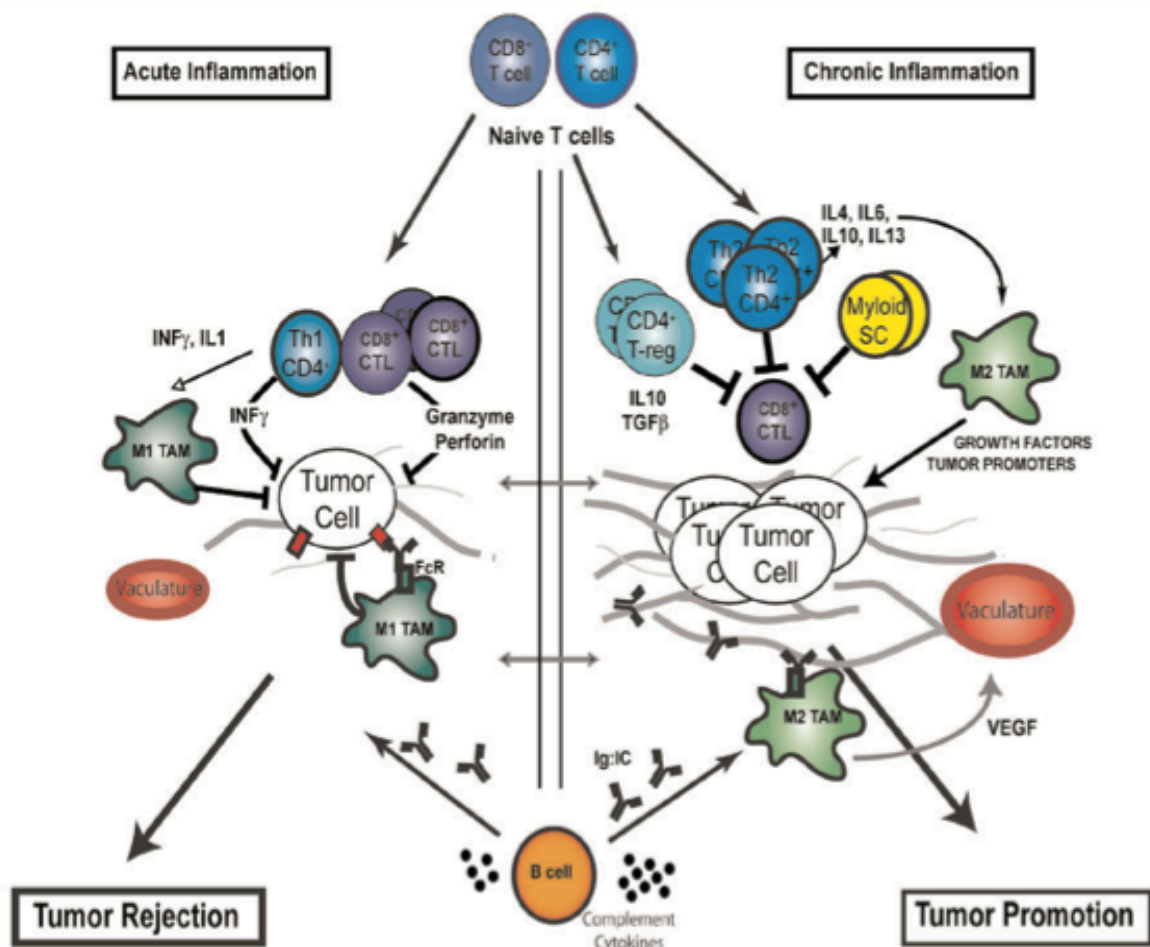
4.2. Kronisk inflammasjon og mekanismer for kreftutvikling

Forskjellen mellom akutt og kronisk inflammasjon i kreftutvikling

Mens kroppens evne til å generere akutt inflammasjon er essensiell, er kronisk inflammasjon medvirkende årsak til flere sykdommer, inkludert kreft. Kronisk inflammasjon fører til nekrose av cellene i den inflammerte vevet. For å erstatte dette celledøpet øker proliferasjonshastigheten. Det er i DNA-replikasjonsfasen i celledelingen at de fleste spontane mutasjoner skjer, og mutasjonshastigheten er derfor høyere i prolifererende celler sammenlignet med quiescence (G0-fase, inaktiv fase hvor celler ikke deler seg). Ved høy proliferasjonshastighet har DNA-

reparasjonssystemet mindre tid til å rette opp i replikasjonsfeil før cellen deles, og mutasjonen nedarves i større grad til dattercellene (159,160). Mutasjoner i visse gener kan føre til kreftutvikling (6).

Kreftcelle-eliminerende inflammasjon, og kreftfremmende inflammasjon skiller seg fra hverandre med tanke på immuncelleinnhold. I en kreftsvulst hvor det foregår immunologisk eliminering av kreftceller ser man ofte immunceller typiske akutt inflammasjon og adaptiv cellulær immunrespons. Dette gjelder celler som makrofager av typen M1, NK-celler, CD4+ Th1-lymfocytter og DC8+ cytotoxiske T-lymfocytter. I et premalignt- eller malignt vev er det ofte tilstedeværelse av immunceller som er typiske for kronisk inflammasjon, og/eller adaptiv humoral immunrespons. Dette gjelder for eksempel Tregs, MDSCs, makrofager av typen M2, B-celler og CD4+ Th2-lymfocytter (*figur 11*) (159). En skjevhet i Th1/Th2-balansen, med en overvekt av Th2-celler er assosiert med dårlig prognose. Th2-celler kan blant annet frigjøre IL-10 som hemmer Th1-celler (161,162).

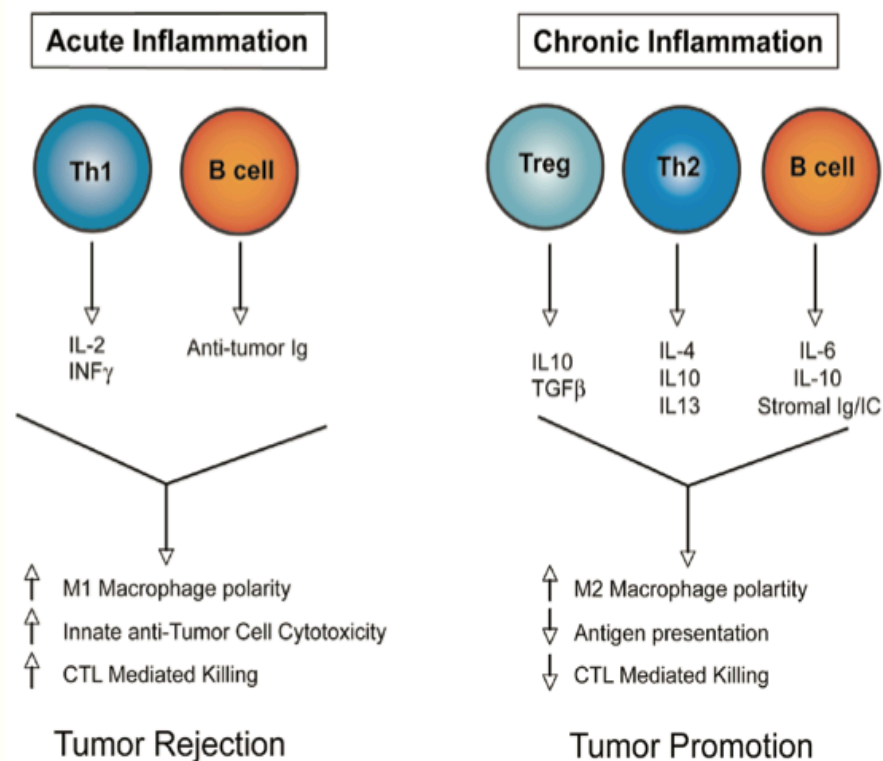


Figur 11: Figuren viser forskjellene mellom akutt inflammasjon som er assosiert med immunosurveillance, og kronisk inflammasjon som er assosiert med kreftutvikling (159).

DeNardo DG, Coussens LM. Breast Cancer Res. 2007;9(4):212.

Akutt aktiverte B-lymfocytter er assosiert med immunosurveillance, men kronisk aktiverte B-lymfocytter kan fremme kreftutvikling. Assosiasjoner mellom immunoglobuliner og kreftutvikling ble rapportert i musemodeller for over 60 år siden (163,164). I brystkreft er økt antall B-lymfocytter i aksillære lymfeknuter assosiert med mer alvorlige kreftstadier (165,166). Årsaken til at humoral immunrespons er funnet å virke fremmende på kreftutvikling, kan være denne immunresponsens evne til å bidra til dannelse av kronisk inflammasjon. Antistoffer bundet til kreftcelle-antigener i svulster kan tiltrekke immunceller fra det medfødte immunforsvaret enten ved å aktivere Fc-reseptorer hos disse, eller ved å aktivere komplementsystemet (167–169). Kronisk aktiverte B-lymfocytter kan skille ut cytokiner som GM-CSF, TNF, IL-6 og IL-10. Th2-lymfocytter kan skille ut IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 og IL-13. Disse cytokinene kan tiltrekke immunceller i det medfødte immunforsvaret, hemme antigenpresentasjon, stimulere til M2-polarisering (makrofagene

utvikles til M2-makrofager som er assosiert med kreftutvikling), og hemme CD8+ T-lymfocytters cytotoxicitet (slik at de ikke kan utøve anti-kreftrespons) (159,170,171) (figur 12).



Figur 12: Figuren viser de ulike adaptive immunresponsene assosiert med akutt og kronisk inflammasjon (159). DeNardo DG, Coussens LM. Breast Cancer Res. 2007;9(4):212.

Tumorinfiltrerende immunceller har mekanismer som kan fremme kreftutvikling

Mitogenproduksjon

Flere av de ulike typene immunceller som finnes i kreftsvulsten er potente produsenter av mitogener som kan virke på kreftcellene og på de stromale cellene i svulsten. Dette gjelder blant annet mitogener som: epidermal growth factor (EGF), $\text{TGF-}\beta$, $\text{TNF-}\alpha$, FGFs (fibroblast growth factors), ulike typer interleukiner (IL), kjemokiner, histamin og heparin (172).

Produksjon av proteolytiske enzymer

Tumorinfiltrerende immunceller kan produsere og frigi flere typer proteolytiske enzymer, inkludert metallo-, serine-, og cysteineproteaser. Disse proteasene bryter ned og remodellerer den extracellulære matrixen i og omkring kreftsvulsten, noe som blant annet er med på å øke svulstens

mulighet for invasiv vekst i omkringliggende vev. I tillegg til dette, vil nedbrytingen føre til frigivelse av ulike mitogener og vekstfaktorer som har vært inaktivert ved binding til matrixstrukturer (173).

Frigivelse av muterende substanser

En del immunceller kan som respons på cytokiner oppregulere produksjonen av nitrogenoksyd (NO) synthase. Dette enzymet syntetiserer den reaktive oksygenforbindelsen nitrogenoksyd, som direkte kan oksidere DNA, og muligens også skade DNA-reparasjonsenzymmer, noe som kan føre til kreftfremmende mutasjoner (127).

Immunceller er viktige drivere av angiogenese i kreftsvulsten

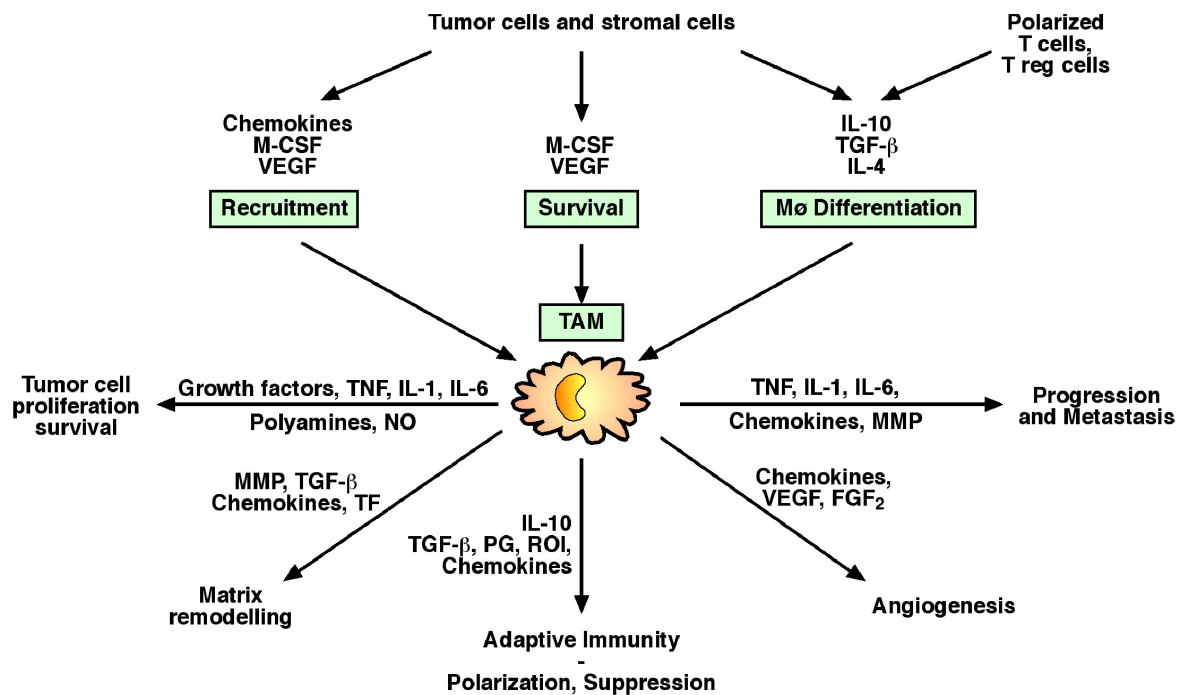
Alt vev, både normale og maligne, er avhengig av blodårer som kan tilføre næring og oksygen, samt fjerne avfallsstoffer. På 1970- og 80-tallet viste forsøksmodeller at en kreftsvulst ikke har muligheten til å vokse seg større enn 0.2 millimeter i diameter uten tilvekst av nye kapillærer, og en voksende kreftsvulst er helt avhengig av å indusere angiogenese (174–176). Evnen til å indusere angiogenese er beskrevet som et av kreftcellenes kjennetegn (6). I tillegg til de funksjonene blodårer har i normale vev, utgjør de i kreftsvulster også viktige spredningsruter for kreftcellene til andre deler av kroppen (177,178). Metastatisk kreftsykdom er som kjent ansvarlig for de fleste kreftspesifikke dødsfall (179). Tumorinfiltrerende immunceller er viktige produsenter av pro-angiogenetiske substanser. Immunceller som TAMs og mastceller er funnet å kunne produsere pro-angiogenetiske faktorer som vascular endothelial growth factor (VEGF-A), TNF- α , og fibroblast growth factor-2 (FGF-2), PDGF, placental growth factor (PIGF), CXCL8, og CXCL12 (180,181).

Immuncelletyper som er assosiert med pro-karsinogene mekanismer

Tumorassosierte makrofager (TAMs)

Makrofager i kreftvev kalles TAMs, og i noen kreftsvulster utgjør de opptil 50% av svulstmassen. Kreftsvulster kan skille ut CC-kjemokiner (blant annet CCL2) som kan tiltrekke umodne monocytter ut fra sirkulasjonen og inn i vevet. Når disse umodne cellene kommer over i vevet kan de påvirkes slik at de utvikles til makrofager. Makrofager er en meget heterogen gruppe, som kan deles inn i to hovedtyper: M1 (klassisk aktiverte) eller M2 (alternativt aktiverte). Monocytter utvikler seg til M1-fenotypen ved stimuli fra IFN γ og mikrobakterielle stimuli som LPS. M1-celler har cytotoksiske og fagocytterende egenskaper, og fungerer som antigenpresenterende celler. TAMs er hovedsakelig av typen M2, og utøver flere mekanismer som kan fremme kreftutvikling. De

fremmer kreftcelleproliferasjon, øker innholdet av stromale celler i svulsten (som øker inflammasjon og skiller ut kreftfremmende molekyler), og hemmer M1-makrofager og celler i det adaptive immunforsvaret (figur 13). I mange kreftsvulster er et høyt innhold av makrofager assosiert med dårlig prognose, blant annet ved å være korrelert med økt risiko for spredning (172,182,183).



Figur 13: Figur som viser hvordan kreftsvulster kan tiltrekke makrofager, og hvordan disse utøver mekanismer som kan fremme kreftutvikling (172). (Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Cancer Cell. 2005;7(3):211-7)

En subtype monocytter som uttrykker angiopoitin-reseptoren Tie2, er funnet både i kreftsvulster og blod hos kreftpasienter. Disse kalles for Tie2 expressing monocytes (TEM). Tie2-reseptoren finnes normalt på endotelceller, og stimuli av den er viktig i angiogenese. Flere museforsøk har vist at TEMs er viktige drivere for angiogenese i kreftsvulster (184).

Tumorassosierte nøytrofile (TANs)

Nøytrofile granulocytter utgjør den største gruppen av sirkulerende leukocytter (50-70 % av leukocytter i blod) (1), og er beskrevet å finnes i kreftsvulster (185). Sammenlignet med TAMs, har det vært lite fokus på TANs, og kunnskapen som finnes i dag er derfor begrenset. De siste årene er det imidlertid kommet studier som tyder på at også nøytrofile granulocytter kan være viktige aktører i kreftutvikling (186,187). TANs har påvirkning på angiogenese, immunosurveillance, og utskilling

av ROS, cytokiner og kjemokiner (186). Basert på museforsøk er det forstått at TANs kan deles inn i to subtyper, hvor N1 har anti-kreftpåvirkning, mens N2 har kreftfremmende egenskaper. Blant annet er N2 funnet å kunne produsere arginase (187) som inaktiverer T-lymfocytter på samme måte som er beskrevet for M2 TAMs (188,189). Det er foreslått at TGF- β er med på å gi en N2-polarisering av TANs i kreftsvulster (187).

Mastceller (MCs)

Kronisk inflammasjon fører både til proliferering av mastceller som allerede er i vevet, og tiltrekking av nye. Mastceller er funnet å kunne bidra til kreftutvikling. Disse myeloide cellene har cytoplasmatiske granula som er fylt med signalsubstanser og vekstfaktorer. Når disse tømmes (degranulerer) i kreftsvulstens mikromiljø kan det fremme kreftutvikling. Granulene inneholder blant annet IL-6, NF- α , iNOX, VEGF, CCL2, og enzymer som kan bryte ned ECM (190).

De immunoregulerende transkripsjonsfaktorene NF- κ B og STAT3 er overaktivert i flere krefttyper

Transkripsjonsfaktoren NF- κ B regnes som en av pillarene i inflammasjonsprosesser, og kan induseres ved stimuli fra pro-inflammatoriske cytokiner som TNF og IL-1 β , i tillegg til blant annet LPS, vekstfaktorer, og lymfokiner. Disse stimuliene fører til aktivering av I κ B kinase enzyme (IKK)-komplekser bestående av IKK β , IKK α og NEMO (også kalt IKK γ), som medfører fosforylering og degradering av I κ B-proteiner (inhibitor of κ B), som vanligvis hemmer NF- κ B. NF- κ B aktiverer gener for adhesjonsmolekyler som er viktige for at epitelceller opprettholder sin barriærefunksjon, den øker uttrykk av anti-apoptotiske proteiner som PAI-2 og Bcl-xL, og er viktig i modning og differensiering av blant annet lymfocytter, brystkjertelceller og schwannske celler rundt perifere nerver. I immunceller aktiverer NF- κ B transkripsjon av gener for cytokiner og kjemokiner som er essensielle i genereringen av immunrespons og inflammasjon (191). På grunn av NF- κ B sine inflammasjonsstimulerende mekanismer, kan en hypotese være at kunstig hemming av den skulle ha anti-inflammatorisk virkning. Studier har derimot vist det motsatte, og disse resultatene tyder på at NF- κ B er viktig både i initieringen av inflammasjonsprosessen, og dens stopp (192,193). Proto-onkogenet c-Rel er et av medlemmene i NF- κ B-familien, men onkogene c-Rel-mutasjoner er sjeldne og hovedsakelig knyttet til lymfomer (194). I flere solide kreftsvulster finner man aktivert NF- κ B, og i de fleste av disse tilfellene finner man ikke loss-of-function I κ B-mutasjoner eller gain-of-function IKK-mutasjoner. NF- κ B-aktivering i kreft mistenkes derfor å være induert av pro-inflammatoriske signaler i kreftsvulstens mikromiljø (191).

STAT3 er et av medlemmene i STAT-familien, en familie av transkripsjonsfaktorer som aktiveres av JAK-familien av tyrosinkinaser. Når JAK aktiveres fører det til en aktiverende fosforylering av STAT3, og denne kan dermed gå inn i cellekjernen hvor den utøver sine funksjoner. STAT3 har vist seg å være svært viktig i både normalbiologi og kreftutvikling, ved at den aktiverer transkripsjon av gener involvert i vekst, overlevelse, differensiering og immunrespons. Det er funnet aktivert STAT3 i kreft i tykktarm, magesekk, bryst, lunge, hode- og hals, hud og prostata (195).

NF- κ B og STAT3 aktiverer transkripsjon av hver sine gener, men samarbeider om aktivering av transkripsjon av noen gener. NF- κ B og STAT3 aktiveres av de fleste pro-inflammatoriske signaler, og aktivert NF- κ B og STAT3 i kreftutvikling er ofte et resultat av kronisk tilstedeværelse av inflammatoriske substanser i svulstens mikromiljø (195). Aktivering av NF- κ B og STAT3 kan være økt i både kreftceller og i stromale celler i svulsten. Flere av genene som transkripsjonsfaktorene aktiverer, enten hver for seg eller sammen, koder for proteiner som har kreftfremmende egenskaper hvis uttrykket av disse økes i kreftceller. Det gjelder blant annet anti-apoptotiske gener som Bcl-xL, Bcl-2, c-IAP2 (196,197), cellesyklus kontroll-proteiner (198,199), og angiogenese- og hypoksiregulatorer (200). Transkripsjonsfaktorene aktiverer i tillegg transkripsjon av viktige kjemokiner som tiltrekker immunceller til kreftsvulsten, og er på denne måten viktige regulatorer av sammensetningen av kreftsvulsters stroma (201). De gir blant annet transkripsjon av CCL2, CXCL2, and IL-1 β som tiltrekker myeloide celler som i svulsten kan utvikle seg til TAMs eller MDSC, og også CCL22, CCL17, CCL19 og CCL21 som kan tiltrekke Tregs. Aktivering av NF- κ B og STAT3 i immunceller i kreftsvulster øker uttrykket av gener som stimulerer til overlevelse, utvikling og cytokinproduksjon. Transkripsjonsfaktorene vil gjennom disse mekanismene være med på å forverre en pågående inflammasjon (195).

Cytokiner i kreftutvikling

TNF

Med bakgrunn i funnene til Coley (27) og Shear (28) som viste at tilførsel av LPS kunne føre til tilbakegang av kreft, rapporterte Carswell et al. (202), i 1975 at mekanismen bak dette ikke var LPS i seg selv, men at LPS førte til dannelsen av et molekyl som kunne føre til blødningsnekrose (på grunn av blokkering av venøs drenering) av kreftsvulster. De fant at dette molekylet hovedsakelig ble produsert av makrofager, og de kalte det Tumor Necrosis Factor (TNF). I dag vet vi at det ikke kun var dannelsen av TNF, men totalt sett stimuleringen av TLRs som gav anti-kreft effekten (13).

TNF ble sett som et potensielt terapeutisk virkemiddel, men i 1987 kom rapporter som viste at TNF kunne stimulere til økt angiogenese i kreftsvulster i dyremodeller (203). Uttrykket av TNF er økt i flere krefttyper (204,205), og økt nivå av TNF i blod hos kreftpasienter assosiert med dårlig prognose (206–209). TNF- α er det mest kjente molekylet i TNF-familien. TNF- α produseres hovedsakelig av makrofager, men kan produseres av CD4+ T-celler, NK-celler og nevroner (210). TNF- α spiller en viktig rolle i endringene som skjer i et vev ved akutt inflammasjon. I kroniske inflammasjonssykdommer, som for eksempel rheumatoid artritt, og Morbus Crohn finner man økte nivå av TNF- α . Pasienter med Mb Crohn har god hjelp av det monoklonale antistoffet infliximab som hemmer cytokinet (211). TNF- α er igjennom aktivering av sin reseptor TNFR1 en av de mest potente aktivatorene av NF- κ B. Et økt nivå av TNF- α i svulstens mikromiljø fører til de samme kreftfremmende egenskaper som de NF- κ B-styrte genene gir, og det er dermed sannsynlig at noen av cytokinets kreftfremmende egenskaper utøves gjennom aktivering av denne transkripsjonsfaktoren (172,212).

IL-1 β

IL-1 β er funnet å ha kreftfremmende mekanismer. I musemodeller med ulike kreftceller er cytokinet vist å bidra til både angiogenese og økt invasiv vekst (213). IL-1 β aktiverer i tillegg NF- κ B, og påvirker kreftutvikling gjennom denne (214).

IL-6

Blodnivåene av IL-6 øker med alderen på grunn av redusert nivå av regulerende kjønnshormoner som dehydroepiandrosteron (DHEA) og østrogen (215). Denne økningen er assosiert med kreft i nyre, prostata, bryst, lunge, tykktarm og ovarier og maligne B-cellesykdommer (172). IL-6s kreftfremmende egenskaper er koblet opp til dens involvering i aktivering av STAT3- og ERK-signalveier (216).

IL-23

IL-23 er assosiert med kreftutvikling (217–219). Produksjonen av IL-23 skjer hovedsakelig i myeloide celler i kreftsvulstens mikromiljø, og kan oppreguleres av aktivert STAT3 og NF- κ B. IL-23 er funnet å kunne kontrollere T-cellers regulatoriske egenskaper ved å øke uttrykk av FoxP3 og IL-10. De er også funnet å stabilisere Th2-celler (195,220).

Kjemokiner og kjemokinreseptorer kan bidra til kreftutvikling

Kjemokiner kan påvirke kreftutvikling på flere måter (12). Studier har vist at kreftfremmende mutasjoner kan være med på å skru på produksjonen av kjemokiner. Et eksempel er mutasjon i Hippel-Lindau (VHL) - et tumorsuppressorgen som ofte er mutert ved nyrekreft. VHL fungerer som et tumorsuppressorprotein ved at det hemmer transkripsjonsfaktoren Hypoxia-inducible factor alpha (HIF-1 α). HIF-1 α oppregulerer uttrykket av gener som respons på at cellen blir utsatt for hypoksi. I kreftceller kan HIF-1 α blant annet øke angiogenese (221). HIF-1 α er i tillegg vist å kunne «samarbeide» med NF- κ B for å kunne indusere transkripsjon av CXCR4 på de maligne renale cellene (222). Det er funnet at oppregulering av kjemokinreseptorer på kreftceller gjør at de kan migrere som svar på frigitte kjemokiner, og at dette er en av mekanismene bak metastasering. Kreftceller i bryst, ovarier, bukspyttkjertel og prostata er funnet å kunne oppregulere CXCR4, og uttrykket er assosiert med metastaser til lunge, lever og beinmarg (10,223,224). Mutasjoner i onkogenet Ras er funnet å føre til økninger i produksjonen av CXCL8 som autokrint kan øke celleproliferasjon, og parakrint kan fremme angiogenese (225).

Kjemokiner kan være med på å avgjøre sammensetningen av stromale celler i en kreftsvulst ved å tiltrekke visse type celler (12). Ved bukspyttkjertelkreft er det vist at kreftceller kan produsere inflammatoriske cytokiner som stimulerer fibroblaster til å danne et molekyl kalt TSLP. TSLP påvirker DCs i kreftsvulsten til å migrere til lymfeknuter hvor de aktiverer CD4⁺ celler til å utvikles til Th2-type. CCL17 og CCL22 fra kreftsvulsten tiltrekker så Th2-celler fra lymfeknutene til svulsten (226).

5. Klinisk betydning av kreftimmunologi

5.1. Bruk av immuncellemarkører i prognostisk utredning

Dagens system for å predikere en pasients prognose ved kreft, består i stor grad av å gi en histopatologisk diagnose på primærsvulsten og eventuelle metastaser som er fjernet ved hjelp av kirurgi. Ulike krefttyper har litt ulike systemer for å bedømme histopatologiske egenskaper, men viktige prognostiske funn er svulststørrelse, grad av atypi, unormalt uttrykk av spesifikke proteiner og genetiske markører, grad av differensiering, antall metastaser, frie eller ufrie reseksjonsrender, innvekst i nerver, og grad av vaskularisering. Nesten alle solide kreftsvulster stratifiseres også ved hjelp av TNM-systemet som sier noe om graden av invasivitet og metastase. Dette er de to vanligste hjelpemidlene i dagens kreftdiagnostikk for å kunne dele pasienter inn i risikogrupper som kan fortelle oss noe om prognosen deres. Systemene gir oss dessverre ikke alltid tilstrekkelig informasjon, da krefttyper innen samme histopatologiske entitet ofte oppfører seg svært ulikt fra person til person. En av grunnene til dette kan være at stratifiseringssystemene hovedsakelig bedømmer kreftcellene, og ikke i tilstrekkelig grad vektlegger de stromale komponentene i svulsten (227).

Immunoscore (IS)

Organiseringen av de tumorinfiltrerende immuncellene er svært forskjellig i ulike kreftsvulster: Noen finnes i mer eller mindre tettpakkede infiltrater i sentrale deler av kreftsvulsten, noen er ved invasiv ytterkant, og andre danner lymfoide tertiærstrukturer (tertiary lymphoid structure = TLS) i nærheten av svulsten. Histopatologiske analyser av immuncelleinnholdet og organiseringen av dette i humane kreftsvulster har vist seg å være svært viktige prognostiske faktorer for kreftspesifikk overlevelse. På bakgrunn av dette er det derfor naturlig at systematisk måling av systemiske og lokale immunologiske biomarkører bør tas i bruk i evalueringen av kreftpasienters prognose (63). I 2006 kom den første artikkelen som foreslo å ta i bruk et scoringssystem basert på tettheten og lokalisasjonen av TILs i bedømmelse av prognose ved tykktarmskreft (228). Systemet går ut på å gi en IS som kan si noe om prognosen. Denne metoden ble ansett å være bedre enn TMN-systemet for denne krefttypen (229). Det er nedsatt en internasjonal arbeidsgruppe som skal utrede om IS kan brukes som klassifiseringssystem på kreft generelt (227).

5.2. Immunologi og kreftterapi

De tradisjonelle kreftterapiene er kirurgi, stråling og kjemoterapi («slash, burn and poison»). Fordi disse metodene er relativt generelle uansett krefttype, gir de også nokså store bivirkninger. På grunn av dette, og fordi kreft oppfører seg så forskjellig fra person til person, har det de senere år vært et stort fokus og forskning på mer spesialiserte og individuelle former for kreftterapi. Flere nye kreftterapiformer benytter kunnskapen om immunologiske mekanismer.

Monoklonale antistoffer

Man har i flere år brukt passiv immunisering i kreftbehandling. Dette går ut på at man gir pasienten antistoffer mot ett eller flere kreftcelleantigener som pasientens kreftceller uttrykker. Dette kalles målrettet kreftbehandling. Et godt eksempel er Trastumab – Et monoklonalt antistoff som binder til human epidermal growth factor 2 (HER2) som er oppregulert på kreftcellene hos 30 % av brystkreftpasienter. Et annet eksempel er Rituximab – Et monoklonalt antistoff som binder til CD20, et B-cellemolekyl som uttrykkes på overflaten hos mer enn 90 % av pasienter med Non-Hodgkins B-cellelymfom. Virkningsmekanismen av passiv immunisering tror man er de samme som ved endogent produserte antistoffer: nøytralisering og opsonisering. Det finnes også antistoff-kreftterapi hvor man angriper svulstens mikromiljø i stedet for kreftcellene selv. Eksempler er legemidlene Bevacizumab (anti-VEGF) som brukes i behandling av flere krefttyper, Ipilimumab (anti-CTLA4) som brukes ved metastataseret malignt melanom, og Imatinib (Glivec) som brukes i behandling av gastrointestinale stromale tumorer (GIST) og kronisk myelogen leukemi hvor kreftcellene er positive ABL-BCR-mutasjon (philadelphiakromosom) (230).

En annen måte å bruke antistoffer på i kreftbehandling er å bruke immunotoksiner. Dette er antistoffer bundet til radioaktive isotoper eller kjemoterapeutiske legemidler, og formålet er at disse behandlingsmidlene primært skal utøve sin virkning på kreftcellene og ikke i friskt vev. Denne type behandling brukes hovedsakelig i hematologiske kreftsykdommer (35).

Graft-vs-Host i allogene beinmargstransplantasjoner

Andre områder der man utnytter immunsystemets mekanismer er blant annet ved allogene beinmargstransplantasjoner, hvor det oppstår ønsket bieffekt kalt «graft-vs-host»-reaksjon (GVH-

reaksjon). GVH-reaksjon skyldes at T-lymfocytter overføres sammen med stamceller ved beinmargstransplantasjoner. Når de tilførte T-lymfocytene gjenkjenner fremmede HLA-molekyler hos mottageren, starter en immunreaksjon mot disse – en GVH-reaksjon. Det er en hårfin balanse mellom det som er nyttig immunreaksjon, og det som er farlig immunreaksjon; dersom GVH-reaksjonen gir symptomer, kalles det en GVH-sykdom, som i verste fall kan føre til død (231).

Cancer immunoterapi

Med cancer immunoterapi menes en behandling der pasientens eget immunsystem blir styrket slik at det danner en mer effektiv immunrespons mot kreftcellene. På denne måten utnyttes immunsystemets spesifisitet og systemiske rekkevidde i kreftbehandling (67). En type immunoterapi går ut på å høste pasientens kreftspesifikke T-celler, la disse proliferere *ex vivo*, for deretter å tilføre et økt antall av disse tilbake til pasienten. En annen type immunoterapi er «anti-kreftvaksiner» som kan lages ved å høste monocytter, eller andre hematopoietiske progenitorceller (CD34+) fra pasienten. Disse modnes (ved tilførsel av vekstfaktorer og mitogener) *ex vivo* til DCs som man laster man med kreftcelleantigen (tilfører kreftcellelysat eller spesifikke kreftcelleantigener). Man tilbakefører så disse DCs til pasienten hvor de kan aktivere immunrespons mot kreftcellene. Målet er å danne og/eller øke den adaptive cellulære immunresponsen mot kreftcellene. Metoden har vist økt overlevelse med få bivirkninger, men behandlingen er svært dyr og tidkrevende fordi den må lages individuelt for hver pasient. Et eksempel er Sipuleucil-T; en kreftvaksine som er godkjent for bruk i USA mot prostatakreft med spredning. Vaksinen består av DCs som *ex vivo* har blitt lastet med prostatic acid phosphatase (PAP) før de tilbakeføres til pasienten (232,233).

Resistansproblematikk

Et problem med de overnevnte terapiene er resistans. På grunn av kreftsvulsters heterogenitet vil det alltid finnes kreftceller som ikke uttrykker de aktuelle antigenene, og som dermed ikke angripes av antistoffene. Etterhvert som de antigenuttrykkende kreftcellene dør, vil disse vil potensielt kunne proliferere og gi en kreftcellepopulasjon som er resistent mot behandlingen (35).

6. Oppsummering

Immunsystemets innvirkning på kreft, og særlig immunsystemets mulighet til å eliminere kreftceller har vært et av de mest omstridte feltene innen kreftforskning. Feltet har en lang og kronglete historie (*figur 14*), men det har vokst seg frem til å bli en stort felt som nå godtas som en viktig brikke i kreftbiologiens puslespill. Kreftimmunologi gir stadig nye fremskritt innen prognose og terapi som kommer pasientene i de ulike kreftsykdommene til gode.

- 1725 Deidier rapporterer at mikrober kan ha anti-kreftvirkning
- 1863 Virchow rapporterer at kreftvev har høyere nivåer av leukocytter sammenlignet med normalt vev
- 1893 Coley bruker bakterielle toksiner i behandling av inoperable sarkomer
- 1909 Paul Ehrlich mener at immunforsvaret kan eliminere kreftceller
- 1915 Yamagiwa induserer malign celletransformasjon i laboratoriet ved hjelp av kronisk irritasjon av kaninører
- 1929 Pearl rapporterer assosiasjonen mellom tuberkulose og lavere forekomst av kreft
- 1944 Shear rapporterer at LPS er bakterietoksinet som gir anti-kreftvirkning
- 1953 Medawar rapporterer at et individ utvikler immunologisk toleranse for "selv" under embryogenesen, og at dette er bakgrunnen for allogene reaksjoner mot "ikke-selv"
- 1957 Lewis og Burnet formulerer hypotesen om cancer immunosurveillance
- 1974 Stutman rapporterer at det ikke er forskjell i kreftutvikling mellom athymiske mus og immunocompetente mus ved bruk av MCA
- 1975 Carswell rapporterer at LPS fører til dannelse av TNF som gir nekrose av kreftsvulster
- 1976 Morales et al. bruker suksessfullt BGC-vaksinen som behandling for overfladisk blærekreft
- 1982 Marshall & Warren rapporterer at bakterien *Helicobacter Pylori* forårsaker gastritt og magesår
- 1986 Dvoraks hypotese om at kreftsvulster er "wounds that do not heal"
- 1991 Van der Buggen et al. finner det første kreftcelleantigenet
- 1996 Mus uten perforin utvikler lettere kreft (ved stimuli fra karsinogener) sammenlignet med immunokompetente mus
- 2001 Mus uten RAG utvikler lettere kreft (spontan, og ved stimuli fra karsinogener) sammenlignet med immunokompetente mus
- 2002 Dunn et al. formulerer hypotesen og cancer immunoediting (utvidelse av cancer immunosurveillance)
- 2006 Galon et al. foreslår å ta i bruk immuno score (IS) som prognostisk hjelpemiddel ved tykktarmskreft

Figur 14: Tidslinje over hendelser som har vært viktige for forskningsfeltet "Immunologi og kreft".
(Nora Ness)

Referanser

1. Kumar V, Abul K. Abbas AK, Nelson Fausto N, Mitchell R. Robbins Basic Pathology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2007.
2. Krefregisteret. Krefststatistikk. <http://www.krefregisteret.no/no/Registrene/Krefststatistikk/>
3. Pietras K, Ostman A. Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. *Experimental cell research*. 2010 May 1;316(8):1324–31.
4. Hofmeister V, Schrama D, Becker JC. Anti-cancer therapies targeting the tumor stroma. *Cancer immunology, immunotherapy* : CII. 2008 Jan;57(1):1–17.
5. Koontongkaew S. The tumor microenvironment contribution to development, growth, invasion and metastasis of head and neck squamous cell carcinomas. *Journal of Cancer*. 2013 Jan;4(1):66–83.
6. Hanahan D, Weinberg R a. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646–74.
7. De Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nature reviews. Cancer*. 2006 Jan;6(1):24–37.
8. Parham P. *The Immune System*. 3rd ed. London and New York: Garland Science; 2009.
9. Raman D, Sobolik-Delmaire T, Richmond A. Chemokines in health and disease. *Experimental cell research*. 2011 Mar 10;317(5):575–89.
10. Zlotnik A, Burkhardt AM, Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nature reviews. Immunology*. 2011 Sep;11(9):597–606.
11. Koelink PJ, Overbeek S a, Braber S, De Kruijf P, Folkerts G, Smit MJ, et al. Targeting chemokine receptors in chronic inflammatory diseases: an extensive review. *Pharmacology & therapeutics*. 2012 Jan;133(1):1–18.
12. Balkwill FR. The chemokine system and cancer. *The Journal of pathology*. 2012 Jan;226(2):148–57.
13. Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nature reviews. Cancer*. 2009 Jan;9(1):57–63.
14. Lehmann C, Zeis M, Uharek L. Activation of natural killer cells with interleukin 2 (IL-2) and IL-12 increases perforin binding and subsequent lysis of tumour cells. *British journal of haematology*. 2001 Sep;114(3):660–5.
15. Zamai L, Ponti C, Mirandola P, Gobbi G, Papa S, Galeotti L, et al. NK cells and cancer. *Journal of immunology*. 2007 Apr 1;178(7):4011–6.
16. Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th ed. New York: Garland Science; 2001.
17. Delves PJ, Roitt I. The immune system: first of two parts. *New England journal of medicine*. 2000 Jul 6;343(1):37-49.
18. Wucherpfennig KW, Gagnon E, Call MJ, Huseby ES, Call ME. Structural biology of the T-cell receptor: insights into receptor assembly, ligand recognition, and initiation of signaling. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010 Apr;2(4):a005140.
19. Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annual review of immunology*. 2007 Jan;25:267–96.

20. Miller JF, Basten A. Mechanisms of tolerance to self. *Current opinion in immunology*. 1996 Dec;8(6):815–21.
21. Miller JF, Morahan G. Peripheral T cell tolerance. *Annual review of immunology*. 1992 Jan;10:51–69.
22. Parijs L V. Homeostasis and Self-Tolerance in the Immune System: Turning Lymphocytes off. *Science*. 1998 Apr 10;280(5361):243–8.
23. Shevach EM. Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity*. 2009 May;30(5):636–45.
24. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell*. 2000 May 26;101(5):455–8.
25. Hou F, Ma D, Cui B. Treg cells in different forms of uterine cancer. *Clinica chimica acta*. 2013 Jan 16;415:337–40.
26. Deidier A. Deux dissertations médicales et chirurgicales, l'une sur la maladie vénérienne, l'autre sur la nature et la curation des tumeurs. Paris: C.M. D'Houry; 1725.
27. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clinical orthopaedics and related research*. 1991 Jan;(262):3–11.
28. Shear MJ, Perrault A. Chemical Treatment of Tumors. IX. Reactions of Mice with Primary Subcutaneous Tumors to Injection of a Hemorrhage-Producing Bacterial Polysaccharide. *J Natl Cancer Inst*. 1944 Apr 1;4(5):461–76.
29. Pearl R. Cancer and tuberculosis. *Am J Hyg*. 1929;9:97–159.
30. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *The Journal of urology*. 1976 Aug;116(2):180–3.
31. Meyer J-P. Use of bacille Calmette-Guerin in superficial bladder cancer. *Postgraduate Medical Journal*. 2002 Aug 1;78(922):449–54.
32. Garay RP, Viens P, Bauer J, Normier G, Bardou M, Jeannin J-F, et al. Cancer relapse under chemotherapy: why TLR2/4 receptor agonists can help. *European journal of pharmacology*. 2007 Jun 1;563(1-3):1–17.
33. Ehrlich P. Ueber den jetzigen stand der Karzinomforschung. *Ned. Tijdschr. Geneeskd*. 1909;5:273–90.
34. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature immunology*. 2002 Nov;3(11):991–8.
35. Weinberg R. *The biology of Cancer*. London and New York: Garland Science; 2007.
36. Medawar P. The Behaviour and Fate of Skin Autografts and Skin Homografts in Rabbits: A Report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *Journal of Anatomy*. 1944;78(5):176–99.
37. Medawar P. A Second Study of the Behaviour and Fate of Skin Homografts in Rabbits: A Report to the War Wounds Committee of the Medical Research Council. *Journal of Anatomy*. 1945;79(4):157–76.
38. Medawar P. Immunity to homologous grafted skin; the relationship between the antigens of blood and skin. *British journal of experimental pathology*. 1946 Feb;27:15–24.
39. Peter Medawar - Biography. Nobelprize.org. 2013. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1960/medawar-bio.html

40. Burnet M. Immunological factors in the process of carcinogenesis. *British medical bulletin*. 1964 May;20:154–8.
41. Billingham RE, Brent L, Medawar P. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature*. 1953 Oct 3;172(4379):603–6.
42. Old LJ, Boyse EA. Immunology of experimental tumors. *Annual review of medicine. Annual Reviews*. 1964 Jan 28;15:167–86.
43. Thomas L. Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States. Lawrence HS, editor. New York: Hoeber-Harper; 1959.
44. Burnet M. Cancer; a biological approach. I. The processes of control. *British medical journal*. 1957 Apr 6;1(5022):779–86.
45. Ichim C V. Revisiting immunosurveillance and immunostimulation: Implications for cancer immunotherapy. *Journal of translational medicine*. 2005 Feb 8;3(1):8.
46. Stutman O. Tumor Development after 3-Methylcholanthrene in Immunologically Deficient Athymic-Nude Mice. *Science*. 1974 Feb 8;183(4124):534–6.
47. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annual review of immunology*. 2004 Jan;22(4):329–60.
48. Kaplan DH, Shankaran V, Dighe a S, Stockert E, Aguet M, Old LJ, et al. Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998 Jun 23;95(13):7556–61.
49. Dighe a S, Richards E, Old LJ, Schreiber RD. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN gamma receptors. *Immunity*. 1994 Sep;1(6):447–56.
50. Van den Broek ME, Kägi D, Ossendorp F, Toes R, Vamvakas S, Lutz WK, et al. Decreased tumor surveillance in perforin-deficient mice. *The Journal of experimental medicine*. 1996 Nov 1;184(5):1781–90.
51. Shankaran V, Ikeda H, Bruce a T, White JM, Swanson PE, Old LJ, et al. IFNgamma and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature*. 2001 Apr 26;410(6832):1107–11.
52. Noguchi Y, Jungbluth A, Richards EC, Old LJ. Effect of interleukin 12 on tumor induction by 3-methylcholanthrene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996 Oct 15;93(21):11798–801.
53. Hayakawa Y, Rovero S, Forni G, Smyth MJ. Alpha-galactosylceramide (KRN7000) suppression of chemical- and oncogene-dependent carcinogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003 Aug 5;100(16):9464–9.
54. Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annual review of immunology*. 2011 Jan;29:235–71.
55. Birkeland SA, Storm HH, Lamm LU, Barlow L, Blohmé I, Forsberg B, et al. Cancer risk after renal transplantation in the Nordic countries, 1964-1986. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 1995 Jan 17;60(2):183–9.
56. Adami J, Gäbel H, Lindelöf B, Ekström K, Rydh B, Glimelius B, et al. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. *British journal of cancer. Cancer Research UK*; 2003 Oct 6;89(7):1221–7.

57. Opelz G, Dohler B. Lymphomas After Solid Organ Transplantation: A Collaborative Transplant Study Report. *American Journal of Transplantation*. 2004 Feb;4(2):222–30.
58. Vajdic CM, Van Leeuwen MT. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *International journal of cancer*. 2009 Oct 15;125(8):1747–54.
59. Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science*. 1991 Dec 13;254(5038):1643–7.
60. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*. 2004 Aug;21(2):137–48.
61. Houghton AN, Gold JS, Blachere NE. Immunity against cancer: lessons learned from melanoma. *Current opinion in immunology*. 2001 Apr;13(2):134–40.
62. Virchow R. *Die Krankhaften Geschwülste*. 1st ed. Berlin: A. Hirschwald; 1863.
63. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nature reviews Cancer*. 2012 Apr;12(4):298–306.
64. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, Regnani G, et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *The New England journal of medicine*. 2003 Jan 16;348(3):203–13.
65. Erdag G, Schaefer JT, Smolkin ME, Deacon DH, Shea SM, Dengel LT, et al. Immunotype and immunohistologic characteristics of tumor-infiltrating immune cells are associated with clinical outcome in metastatic melanoma. *Cancer research*. 2012 Mar 1;72(5):1070–80.
66. Jochems C, Schlom J. Tumor-infiltrating immune cells and prognosis: the potential link between conventional cancer therapy and immunity. *Experimental biology and medicine*. 2011 May 1;236(5):567–79.
67. Kyte JA. Kreftvaksiner. *Tidsskr Nor Lægeforen*. 2006. p. 2969–73.
68. Bach EA, Aguet M, Schreiber RD. The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annual review of immunology*. 1997 Jan 28;15:563–91.
69. Gao Y, Yang W, Pan M, Scully E, Girardi M, Augenlicht LH, et al. Gamma delta T cells provide an early source of interferon gamma in tumor immunity. *The Journal of experimental medicine*. 2003 Aug 4;198(3):433–42.
70. Smyth MJ, Takeda K, Hayakawa Y, Peschon JJ, Van den Brink MRM, Yagita H. Nature's TRAIL--on a path to cancer immunotherapy. *Immunity*. 2003 Jan;18(1):1–6.
71. Martin-Orozco N, Muranski P, Chung Y, Yang XO, Yamazaki T, Lu S, et al. T helper 17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity. *Immunity*. 2009 Nov 20;31(5):787–98.
72. Wilke CM, Kryczek I, Wei S, Zhao E, Wu K, Wang G, et al. Th17 cells in cancer: help or hindrance? *Carcinogenesis*. 2011 May 1;32(5):643–9.
73. Kryczek I, Wei S, Zou L, Altuwajiri S, Szeliga W, Kolls J, et al. Cutting edge: Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. *Journal of immunology*. 2007 Jun 1;178(11):6730–3.
74. Zhang J-P, Yan J, Xu J, Pang X-H, Chen M-S, Li L, et al. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *Journal of hepatology*. 2009 May;50(5):980–9.
75. Chen X, Wan J, Liu J, Xie W, Diao X, Xu J, et al. Increased IL-17-producing cells correlate with poor survival and lymphangiogenesis in NSCLC patients. *Lung cancer*. 2010 Sep;69(3):348–54.

76. Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature*. 2008 Jun 19;453(7198):1051–7.
77. Reuschenbach M, Von Knebel Doeberitz M, Wentzensen N. A systematic review of humoral immune responses against tumor antigens. *Cancer immunology, immunotherapy*. 2009 Oct;58(10):1535–44.
78. MacKie RM, Reid R, Junor B. Fatal melanoma transferred in a donated kidney 16 years after melanoma surgery. *The New England journal of medicine*. 2003 Feb 6;348(6):567–8.
79. Strauss DC, Thomas JM. Transmission of donor melanoma by organ transplantation. *The lancet oncology*. 2010 Aug;11(8):790–6.
80. Yang L, Pang Y, Moses HL. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends in immunology*. 2010 Jun;31(6):220–7.
81. Yang L, Moses HL. Transforming growth factor beta: tumor suppressor or promoter? Are host immune cells the answer? *Cancer research*. 2008 Nov 15;68(22):9107–11.
82. Kim B-G, Li C, Qiao W, Mamura M, Kasprzak B, Kaspercak B, et al. Smad4 signalling in T cells is required for suppression of gastrointestinal cancer. *Nature*. 2006 Jun 22;441(7096):1015–9.
83. Lu T, Burdelya LG, Swiatkowski SM, Boiko AD, Howe PH, Stark GR, et al. Secreted transforming growth factor beta2 activates NF-kappaB, blocks apoptosis, and is essential for the survival of some tumor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004 May 4;101(18):7112–7.
84. Mumm JB, Emmerich J, Zhang X, Chan I, Wu L, Mauze S, et al. IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance. *Cancer cell*. 2011 Dec 13;20(6):781–96.
85. Marincola F. Interleukin-10. Texas: Eureka.com; 2006. p. 93–106.
86. Munn DH, Zhou M, Attwood JT, Bondarev I, Conway SJ, Marshall B, et al. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science*. 1998 Aug 21;281(5380):1191–3.
87. Uyttenhove C, Pilotte L, Théate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nature medicine*. 2003 Oct;9(10):1269–74.
88. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nature medicine*. 2004 Sep;10(9):942–9.
89. Hiraoka N, Onozato K, Kosuge T, Hirohashi S. Prevalence of FOXP3+ regulatory T cells increases during the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma and its premalignant lesions. *Clinical cancer research*. 2006 Sep 15;12(18):5423–34.
90. Bates GJ, Fox SB, Han C, Leek RD, Garcia JF, Harris AL, et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *Journal of clinical oncology*. 2006 Dec 1;24(34):5373–80.
91. Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, Bachelot T, Goddard-Leon S, Arfi V, et al. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome. *Cancer research*. 2009 Mar 1;69(5):2000–9.
92. Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, et al. Increased Regulatory T Cells Correlate With CD8 T-Cell Impairment and Poor Survival in Hepatocellular Carcinoma Patients. *Gastroenterology*. 2007 Jun;132(7):2328–39.

93. Gao Q, Qiu S-J, Fan J, Zhou J, Wang X-Y, Xiao Y-S, et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *Journal of clinical oncology*. 2007 Jun 20;25(18):2586–93.
94. Tao H, Mimura Y, Aoe K, Kobayashi S, Yamamoto H, Matsuda E, et al. Prognostic potential of FOXP3 expression in non-small cell lung cancer cells combined with tumor-infiltrating regulatory T cells. *Lung cancer*. 2012 Jan;75(1):95–101.
95. Liu VC, Wong LY, Jang T, Shah AH, Park I, Yang X, et al. Tumor evasion of the immune system by converting CD4+CD25- T cells into CD4+CD25+ T regulatory cells: role of tumor-derived TGF-beta. *Journal of immunology*. 2007 Mar 1;178(5):2883–92.
96. Ladányi A, Mohos A, Somlai B, Liskay G, Gilde K, Fejos Z, et al. FOXP3+ cell density in primary tumor has no prognostic impact in patients with cutaneous malignant melanoma. *Pathology oncology research*. 2010 Sep;16(3):303–9.
97. Mahmoud SMA, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, Lee AHS, Ellis IO, et al. An evaluation of the clinical significance of FOXP3+ infiltrating cells in human breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2011 May;127(1):99–108.
98. Zhang Y-L, Li J, Mo H-Y, Qiu F, Zheng L-M, Qian C-N, et al. Different subsets of tumor infiltrating lymphocytes correlate with NPC progression in different ways. *Molecular cancer*. 2010 Jan;9:4.
99. Badoual C, Hans S, Rodriguez J, Peyrard S, Klein C, Agueznay NEH, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating CD4+ T-cell subpopulations in head and neck cancers. *Clinical cancer research*. 2006 Jan 15;12(2):465–72.
100. Winerdal ME, Marits P, Winerdal M, Hasan M, Rosenblatt R, Tolf A, et al. FOXP3 and survival in urinary bladder cancer. *BJU international*. 2011 Nov;108(10):1672–8.
101. Salama P, Phillips M, Grieu F, Morris M, Zeps N, Joseph D, et al. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *Journal of clinical oncology*. 2009 Jan 10;27(2):186–92.
102. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, Colomo L, Martinez A, Roncador G, et al. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood*. 2006 Nov 1;108(9):2957–64.
103. Facciabene A, Motz GT, Coukos G. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis. *Cancer research*. 2012 May 1;72(9):2162–71.
104. Zielinski C, Knapp S, Mascaux C, Hirsch F. Rationale for targeting the immune system through checkpoint molecule blockade in the treatment of non-small-cell lung cancer. *Annals of oncology*. 2013 May;24(5):1170–9.
105. Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nature reviews. Immunology*. 2009 Mar;9(3):162–74.
106. Serafini P, Mgebroff S, Noonan K, Borrello I. Myeloid-derived suppressor cells promote cross-tolerance in B-cell lymphoma by expanding regulatory T cells. *Cancer research*. 2008 Jul 1;68(13):5439–49.
107. Yang L, DeBusk LM, Fukuda K, Fingleton B, Green-Jarvis B, Shyr Y, et al. Expansion of myeloid immune suppressor Gr+CD11b+ cells in tumor-bearing host directly promotes tumor angiogenesis. *Cancer cell*. 2004 Oct;6(4):409–21.
108. Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. *Annual review of immunology*. 2012 Jan;30:221–41.

109. Balkwill F, Montfort A, Capasso M. B regulatory cells in cancer. *Trends in immunology*. 2013 Apr 1;34(4):169–73.
110. Shah S, Divekar AA, Hilchey SP, Cho H-M, Newman CL, Shin S-U, et al. Increased rejection of primary tumors in mice lacking B cells: inhibition of anti-tumor CTL and TH1 cytokine responses by B cells. *International journal of cancer*. 2005 Nov 20;117(4):574–86.
111. Inoue S, Leitner WW, Golding B, Scott D. Inhibitory effects of B cells on antitumor immunity. *Cancer research*. AACR; 2006 Aug 1;66(15):7741–7.
112. Ammirante M, Luo J-L, Grivennikov S, Nedospasov S, Karin M. B-cell-derived lymphotoxin promotes castration-resistant prostate cancer. *Nature*. 2010 Mar 11;464(7286):302–5.
113. Kiniwa Y, Miyahara Y, Wang HY, Peng W, Peng G, Wheeler TM, et al. CD8+ Foxp3+ regulatory T cells mediate immunosuppression in prostate cancer. *Clinical cancer research*. 2007 Dec 1;13(23):6947–58.
114. Wang R-F. CD8+ regulatory T cells, their suppressive mechanisms, and regulation in cancer. *Human immunology*. 2008 Nov;69(11):811–4.
115. Endharti AT, Rifa’i M, Shi Z, Fukuoka Y, Nakahara Y, Kawamoto Y, et al. Cutting edge: CD8+CD122+ regulatory T cells produce IL-10 to suppress IFN-gamma production and proliferation of CD8+ T cells. *Journal of immunology*. 2005 Dec 1;175(11):7093–7.
116. Lu B, Finn OJ. T-cell death and cancer immune tolerance. *Cell death and differentiation*. Nature Publishing Group; 2008 Jan 16;15(1):70–9.
117. O’Connell J, Bennett MW, O’Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: cancer as a site of immune privilege. *Immunology today*. 1999 Jan;20(1):46–52.
118. Whiteside TL. Tumor-induced death of immune cells: its mechanisms and consequences. *Seminars in cancer biology*. 2002 Feb;12(1):43–50.
119. Hicklin DJ, Marincola FM, Ferrone S. HLA class I antigen downregulation in human cancers: T-cell immunotherapy revives an old story. *Molecular medicine today*. 1999 Apr;5(4):178–86.
120. Hicklin DJ, Dellaratta D V, Kishore R, Liang B, Kageshita T, Ferrone S. Beta2-microglobulin gene mutations in human melanoma cells: molecular characterization and implications for immune surveillance. *Melanoma research*. 1997 Aug;7 Suppl 2:S67–74.
121. Garrido F, Ruiz-Cabello F, Cabrera T, Pérez-Villar JJ, López-Botet M, Duggan-Keen M, et al. Implications for immunosurveillance of altered HLA class I phenotypes in human tumours. *Immunology today*. 1997 Feb;18(2):89–95.
122. Torres MJ, Ruiz-Cabello F, Skoudy A, Berrozpe G, Jimenez P, Serrano A, et al. Loss of an HLA haplotype in pancreas cancer tissue and its corresponding tumor derived cell line. *Tissue antigens*. 1996 May;47(5):372–81.
123. Kaklamanis L, Leek R, Koukourakis M, Gatter KC, Harris AL. Loss of transporter in antigen processing 1 transport protein and major histocompatibility complex class I molecules in metastatic versus primary breast cancer. *Cancer research*. 1995 Nov 15;55(22):5191–4.
124. Chen HL, Gabilovich D, Tampé R, Girgis KR, Nadaf S, Carbone DP. A functionally defective allele of TAP1 results in loss of MHC class I antigen presentation in a human lung cancer. *Nature genetics*. 1996 Jun;13(2):210–3.
125. Purdy AK, Campbell KS. Natural killer cells and cancer: regulation by the killer cell Ig-like receptors (KIR). *Cancer biology & therapy*. 2009 Dec;8(23):2211–20.

126. Groh V, Wu J, Yee C, Spies T. Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nature*. 2002 Oct 17;419(6908):734–8.
127. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001 Feb 17;357(9255):539–45.
128. Katsusaburo Yamagiwa (1863-1930). *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 1977 May 1;27(3):172–3.
129. Press Release: The 2005 Nobel Prize in Physiology or Medicine. Nobelprize.org. 2013. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2005/press.html
130. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *The New England journal of medicine*. 2001 Sep 13;345(11):784–9.
131. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *The New England journal of medicine*. 1986 Dec 25;315(26):1650–9.
132. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature reviews. Cancer*. 2010 Aug;10(8):550–60.
133. Arbuthnot P, Kew M. Hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *International Journal of Experimental Pathology*. 2008 Jul 7;82(2):77–100.
134. Chang M-H, You S-L, Chen C-J, Liu C-J, Lee C-M, Lin S-M, et al. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccinees: a 20-year follow-up study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009 Oct 7;101(19):1348–55.
135. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB journal*. 1998 Sep;12(12):1063–73.
136. Thun MJ, Jacobs EJ, Patrono C. The role of aspirin in cancer prevention. *Nature reviews. Clinical oncology*. 2012 May;9(5):259–67.
137. Cha YI, DuBois RN. NSAIDs and cancer prevention: targets downstream of COX-2. *Annual review of medicine*. 2007 Jan;58:239–52.
138. Charalambous MP, Maihöfner C, Bhambra U, Lightfoot T, Gooderham NJ. Upregulation of cyclooxygenase-2 is accompanied by increased expression of nuclear factor-kappa B and I kappa B kinase-alpha in human colorectal cancer epithelial cells. *British journal of cancer*. 2003 May 19;88(10):1598–604.
139. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology*. 1994 Oct;107(4):1183–8.
140. Hwang D, Byrne J, Scollard D, Levine E. Expression of Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2 in Human Breast Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 1998 Mar 18;90(6):455–60.
141. Tsuji S, Kawano S, Sawaoka H, Takei Y, Kobayashi I, Nagano K, et al. Evidences for involvement of cyclooxygenase-2 in proliferation of two gastrointestinal cancer cell lines. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. 1996 Sep;55(3):179–83.
142. Lim HY, Joo HJ, Choi JH, Yi JW, Yang MS, Cho DY, et al. Increased Expression of Cyclooxygenase-2 Protein in Human Gastric Carcinoma. *Clin. Cancer Res*. 2000 Feb 1;6(2):519–25.
143. Juuti A, Louhimo J, Nordling S, Ristimäki A, Haglund C. Cyclooxygenase-2 expression correlates with poor prognosis in pancreatic cancer. *Journal of clinical pathology*. 2006 Apr;59(4):382–6.

144. Ristimäki A, Nieminen O, Saukkonen K, Hotakainen K, Nordling S, Haglund C. Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *The American journal of pathology*. 2001 Mar;158(3):849–53.
145. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, Muramatsu H, Kozaki K, Nakamura S, et al. Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer research*. 1998 Sep 1;58(17):3761–4.
146. Richardsen E, Uglehus RD, Due J, Busch C, Busund L-T. COX-2 is overexpressed in primary prostate cancer with metastatic potential and may predict survival. A comparison study between COX-2, TGF-beta, IL-10 and Ki67. *Cancer epidemiology*. 2010 Jun;34(3):316–22.
147. Fosslie E. Molecular pathology of cyclooxygenase-2 in neoplasia. *Annals of clinical and laboratory science*. 2000 Jan;30(1):3–21.
148. Rothwell PM, Wilson M, Elwin C-E, Norrving B, Algra A, Warlow CP, et al. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet*. 2010 Nov 20;376(9754):1741–50.
149. Rothwell PM, Fowkes FGR, Belch JFF, Ogawa H, Warlow CP, Meade TW. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet*. 2011 Jan 1;377(9759):31–41.
150. Ulrich CM, Bigler J, Potter JD. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: promise, perils and pharmacogenetics. *Nature reviews. Cancer*. 2006 Feb 1;6(2):130–40.
151. Ding Y, Tong M, Liu S, Moscow JA, Tai H-H. NAD⁺-linked 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (15-PGDH) behaves as a tumor suppressor in lung cancer. *Carcinogenesis*. 2005 Jan;26(1):65–72.
152. Backlund MG, Mann JR, Holla VR, Buchanan FG, Tai H-H, Musiek ES, et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase is down-regulated in colorectal cancer. *The Journal of biological chemistry*. 2005 Feb 4;280(5):3217–23.
153. Yan M, Rerko RM, Platzer P, Dawson D, Willis J, Tong M, et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase, a COX-2 oncogene antagonist, is a TGF-beta-induced suppressor of human gastrointestinal cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004 Dec 14;101(50):17468–73.
154. Gregorieff A, Clevers H. Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer. *Genes & development*. 2005 Apr 15;19(8):877–90.
155. Bienz M, Clevers H. Linking colorectal cancer to Wnt signaling. *Cell*. 2000 Oct 13;103(2):311–20.
156. Peters JM, Shah YM, Gonzalez FJ. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in carcinogenesis and chemoprevention. *Nature reviews. Cancer*. All Rights Reserved.; 2012 Mar;12(3):181–95.
157. Garber K. Aspirin for cancer chemoprevention: still a headache? *Journal of the National Cancer Institute*. 2004 Feb 18;96(4):252–3.
158. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nature reviews. Cancer*. 2011 Feb;11(2):123–34.
159. DeNardo DG, Coussens LM. Inflammation and breast cancer. Balancing immune response: crosstalk between adaptive and innate immune cells during breast cancer progression. *Breast cancer research*. 2007 Jan;9(4):212.
160. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002 Dec 19-26;420(6917):860–7.

161. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology today*. 1996 Mar;17(3):138–46.
162. Delves PJ, Roitt I. The immune system: second of two parts. *New England journal of medicine*. 2000 Jul 13;343(2):108-17.
163. Kaliss N. Immunological enhancement of tumor homografts in mice: a review. *Cancer research*. 1958;18(9):992–1003.
164. Ran M, Witz IP. Tumor-associated immunoglobulins. enhancement of syngeneic tumors by igg2-containing tumor eluates. *International Journal of Cancer*. 1972 Jan 15;9(1):242–7.
165. Morton BA, Ramey WG, Paderon H, Miller RE. Monoclonal antibody-defined phenotypes of regional lymph node and peripheral blood lymphocyte subpopulations in early breast cancer. *Cancer research*. 1986 Apr;46(4 Pt 2):2121–6.
166. Wernicke M. Quantitative morphologic assessment of immunoreactivity in regional lymph nodes of patients with carcinoma of the breast. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 1975 Jun;140(6):919–24.
167. De Visser KE, Korets L V, Coussens LM. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent. *Cancer cell*. 2005 May;7(5):411–23.
168. Andreu P, Johansson M, Affara NI, Pucci F, Tan T, Junankar S, et al. FcRgamma activation regulates inflammation-associated squamous carcinogenesis. *Cancer cell*. 2010 Feb 17;17(2):121–34.
169. Siegel CT, Schreiber K, Meredith SC, Beck-Engeser GB, Lancki DW, Lazarski CA, et al. Enhanced growth of primary tumors in cancer-prone mice after immunization against the mutant region of an inherited oncoprotein. *The Journal of experimental medicine*. 2000 Jun 5;191(11):1945–56.
170. Pistoia V, Corcione A. Relationships between B cell cytokine production in secondary lymphoid follicles and apoptosis of germinal center B lymphocytes. *Stem cells*. 1995 Sep;13(5):487–500.
171. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends in immunology*. 2002 Nov;23(11):549–55.
172. Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer cell*. 2005 Mar;7(3):211–7.
173. Lu P, Takai K, Weaver VM, Werb Z. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2011 Dec 1;3(12).
174. Gimbrone MA, Leapman SB, Cotran RS, Folkman J. Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *The Journal of experimental medicine*. 1972 Aug 1;136(2):261–76.
175. Hanahan D. Heritable formation of pancreatic β -cell tumours in transgenic mice expressing recombinant insulin/simian virus 40 oncogenes. *Nature*. 1985 May 9;315(6015):115–22.
176. Baeriswyl V, Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Seminars in cancer biology*. 2009 Oct;19(5):329–37.
177. Zetter BR. Angiogenesis and tumor metastasis. *Annual review of medicine*. 1998 Jan;49:407–24.
178. Rouhi P, Lee SLC, Cao Z, Hedlund E-M, Jensen LD, Cao Y. Pathological angiogenesis facilitates tumor cell dissemination and metastasis. *Cell Cycle* []. *Landes Bioscience*; 2010 Mar 1 [cited 2013 May 25];9(5):913–7.
179. Cancer, Fact sheet N°297. WHO. 2013. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>

180. Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer cell*. 2012 Mar 20;21(3):309–22.
181. Zumsteg A, Christofori G. Corrupt policemen: inflammatory cells promote tumor angiogenesis. *Current opinion in oncology*. 2009 Jan;21(1):60–70.
182. Mantovani A, Allavena P, Sica A. Tumour-associated macrophages as a prototypic type II polarised phagocyte population: role in tumour progression. *European journal of cancer*. 2004 Jul;40(11):1660–7.
183. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *Journal of leukocyte biology*. 2009 Nov;86(5):1065–73.
184. Lewis CE, De Palma M, Naldini L. Tie2-expressing monocytes and tumor angiogenesis: regulation by hypoxia and angiopoietin-2. *Cancer research*. 2007 Sep 15;67(18):8429–32.
185. Fridlender ZG, Albelda SM. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? *Carcinogenesis*. 2012 May 16;33(5):949–55.
186. Gregory AD, Houghton AM. Tumor-associated neutrophils: new targets for cancer therapy. *Cancer research*. 2011 Apr 1;71(7):2411–6.
187. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: “N1” versus “N2” TAN. *Cancer cell*. 2009 Sep 8;16(3):183–94.
188. Rodriguez PC, Quiceno DG, Zabaleta J, Ortiz B, Zea AH, Piazuelo MB, et al. Arginase I production in the tumor microenvironment by mature myeloid cells inhibits T-cell receptor expression and antigen-specific T-cell responses. *Cancer research*. 2004 Aug 15;64(16):5839–49.
189. Movahedi K, Guillemins M, Van den Bossche J, Van den Bergh R, Gysemans C, Beschin A, et al. Identification of discrete tumor-induced myeloid-derived suppressor cell subpopulations with distinct T cell-suppressive activity. *Blood*. 2008 Apr 15;111(8):4233–44.
190. Ribatti D, Crivellato E. Mast cells, angiogenesis and cancer. *Advances in experimental medicine and biology*. 2011 Jan;716:270–88.
191. Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF-κB as the matchmaker. *Nature immunology*. 2011 Aug;12(8):715–23.
192. Chen L-W, Egan L, Li Z-W, Greten FR, Kagnoff MF, Karin M. The two faces of IKK and NF-kappaB inhibition: prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemia-reperfusion. *Nature medicine*. 2003 May;9(5):575–81.
193. Eckmann L, Nebelsiek T, Fingerle AA, Dann SM, Mages J, Lang R, et al. Opposing functions of IKKbeta during acute and chronic intestinal inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008 Sep 30;105(39):15058–63.
194. Gilmore TD. The Rel/NF-kappa B/I kappa B signal transduction pathway and cancer. *Cancer treatment and research* []. 2003 Jan [cited 2013 May 25];115:241–65.
195. Grivennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine & growth factor reviews*. 2010 Feb;21(1):11–9.
196. Karin M. NF-kappaB and cancer: mechanisms and targets. *Molecular carcinogenesis*. 2006 Jun;45(6):355–61.

197. Al Zaid Siddiquee K, Turkson J. STAT3 as a target for inducing apoptosis in solid and hematological tumors. *Cell research*. 2008 Feb;18(2):254–67.
198. Bollrath J, Phesse TJ, Von Burstin VA, Putoczki T, Bennecke M, Bateman T, et al. gp130-mediated Stat3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis. *Cancer cell*. 2009 Feb 3;15(2):91–102.
199. Naugler WE, Karin M. NF-kappaB and cancer-identifying targets and mechanisms. *Current opinion in genetics & development*. 2008 Feb;18(1):19–26.
200. Kujawski M, Kortylewski M, Lee H, Herrmann A, Kay H, Yu H. Stat3 mediates myeloid cell-dependent tumor angiogenesis in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2008 Oct 1;118(10):3367–77.
201. Bonecchi R, Galliera E, Borroni EM, Corsi MM, Locati M, Mantovani A. Chemokines and chemokine receptors: an overview. *Frontiers in bioscience*. 2009 Jan;14:540–51.
202. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1975 Sep;72(9):3666–70.
203. Leibovich SJ, Polverini PJ, Shepard HM, Wiseman DM, Shively V, Nuseir N. Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumour necrosis factor-alpha. *Nature*. 1987 Oct 15-21;329(6140):630-2.
204. Beissert S, Bergholz M, Waase I, Lepsien G, Schauer A, Pfizenmaier K, et al. Regulation of tumor necrosis factor gene expression in colorectal adenocarcinoma: in vivo analysis by in situ hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989 Jul;86(13):5064–8.
205. Naylor MS, Malik ST, Stamp GW, Jobling T, Balkwill FR. In situ detection of tumour necrosis factor in human ovarian cancer specimens. *European journal of cancer*. 1990 Jan;26(10):1027–30.
206. Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Polychronidis A, Pitiakoudis M, Bounovas A, Simopoulos K. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha and nutritional status in pancreatic cancer patients. *Anticancer research*. 2001 Mar-Apr;21(2B):1355-8.
207. Yoshida N, Ikemoto S, Narita K, Sugimura K, Wada S, Yasumoto R, et al. Interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and interleukin-1beta in patients with renal cell carcinoma. *British journal of cancer*. 2002 May 6;86(9):1396–400.
208. Ferrajoli A, Keating MJ, Manshouri T, Giles FJ, Dey A, Estrov Z, et al. The clinical significance of tumor necrosis factor-alpha plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002 Aug 15;100(4):1215–9.
209. Bozcuk H, Uslu G, Samur M, Yildiz M, Ozben T, Ozdoğan M, et al. Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-6, and fasting serum insulin correlate with clinical outcome in metastatic breast cancer patients treated with chemotherapy. *Cytokine*. 2004 Jul 21-Aug 7;27(2-3):58-65.
210. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001 Feb 23;104(4):487–501.
211. Schnitzler F, Fidler H, Ferrante M, Noman M, Arijs I, Van Assche G, et al. Long-term outcome of treatment with infliximab in 614 patients with Crohn's disease: results from a single-centre cohort. *Gut*. 2009 Apr 1;58(4):492–500.
212. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer. *Nature reviews. Cancer*. 2009 May;9(5):361–71.

213. Voronov E, Shouval DS, Krelin Y, Cagnano E, Benharroch D, Iwakura Y, et al. IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003 Mar 4;100(5):2645–50.
214. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008 Jul 24;454(7203):436–44.
215. Maggio M, Guralnik JM, Longo DL, Ferrucci L. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2006 Jun;61(6):575–84.
216. Grivennikov S, Karin M. Autocrine IL-6 signaling: a key event in tumorigenesis? *Cancer cell*. 2008 Jan 8;13(1):7–9.
217. Li J, Zhang L, Zhang J, Wei Y, Li K, Huang L, et al. Interleukin 23 regulates proliferation of lung cancer cells in a concentration-dependent way in association with the interleukin-23 receptor. *Carcinogenesis*. 2013 Mar;34(3):658–66.
218. Fukuda M, Ehara M, Suzuki S, Ohmori Y, Sakashita H. IL-23 promotes growth and proliferation in human squamous cell carcinoma of the oral cavity. *International Journal of Oncology*. 2010 Jun 1;36(6):1355–65.
219. Baird A-M, Leonard J, Naicker KM, Kilmartin L, O’Byrne KJ, Gray SG. IL-23 is pro-proliferative, epigenetically regulated and modulated by chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 2013 Jan;79(1):83–90.
220. Kortylewski M, Xin H, Kujawski M, Lee H, Liu Y, Harris T, et al. Regulation of the IL-23 and IL-12 balance by Stat3 signaling in the tumor microenvironment. *Cancer cell*. 2009 Feb 3;15(2):114–23.
221. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nature medicine*. 2003 Jun;9(6):677–84.
222. Staller P, Sulitkova J, Lisztwan J, Moch H, Oakeley EJ, Krek W. Chemokine receptor CXCR4 downregulated by von Hippel-Lindau tumour suppressor pVHL. *Nature*. 2003 Sep 18;425(6955):307–11.
223. Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clinical cancer research*. 2010 Jun 1;16(11):2927–31.
224. Balkwill F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. *Seminars in cancer biology*. 2004 Jun;14(3):171–9.
225. Sparmann A, Bar-Sagi D. Ras-induced interleukin-8 expression plays a critical role in tumor growth and angiogenesis. *Cancer cell*. 2004 Nov;6(5):447–58.
226. De Monte L, Reni M, Tassi E, Clavenna D, Papa I, Recalde H, et al. Intratumor T helper type 2 cell infiltrate correlates with cancer-associated fibroblast thymic stromal lymphopoietin production and reduced survival in pancreatic cancer. *The Journal of experimental medicine*. 2011 Mar 14;208(3):469–78.
227. Galon J, Pagès F, Marincola FM, Thurin M, Trinchieri G, Fox BA, et al. The immune score as a new possible approach for the classification of cancer. *Journal of translational medicine*. 2012 Jan;10(1):1.
228. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006 Sep 29;313(5795):1960–4.

229. Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Berger A, Bindea G, Meatchi T, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction. *Journal of clinical oncology*. 2011 Feb 20;29(6):610–8.
230. Weiner LM, Surana R, Wang S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nature reviews. Immunology*. 2010 May 26;10(5):317–27.
231. Kotsiou E, Davies JK. New ways to separate graft-versus-host disease and graft-versus-tumour effects after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *British journal of haematology*. 2013 Jan;160(2):133–45.
232. Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nature reviews. Cancer*. 2012 Apr;12(4):265–77.
233. Boudreau JE, Bonehill A, Thielemans K, Wan Y. Engineering dendritic cells to enhance cancer immunotherapy. *Molecular therapy*. 2011 May;19(5):841–53.