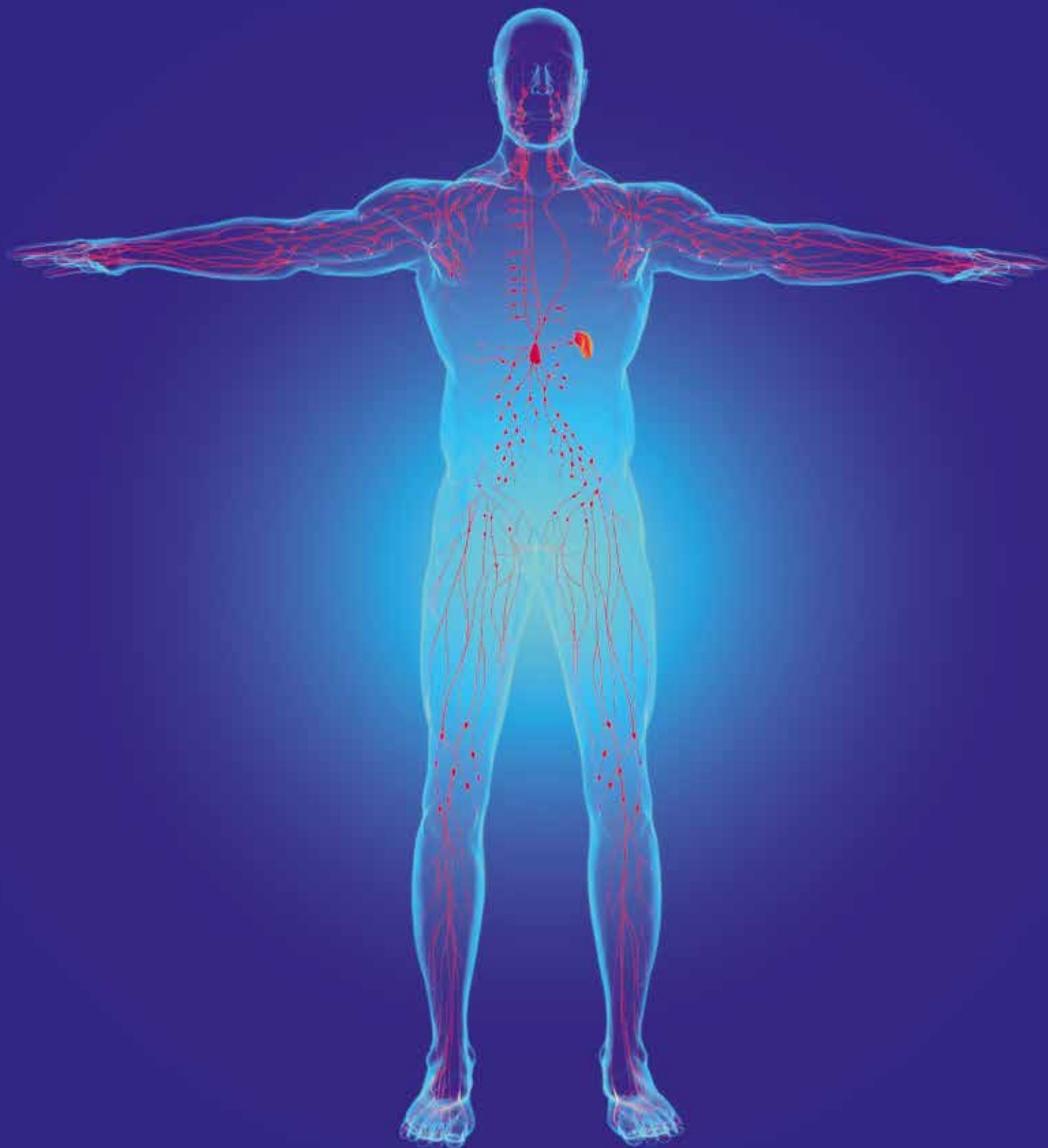


••• metastaseringsprocessen



Förändringar av lymfkörtlar vid cancer

– nytt forskningsfält med löfte om möjligheter att hitta nya biomarkörer och framtida terapi

För flera typer av cancer finns ett starkt kliniskt samband mellan att tumörceller har spridit sig till lymfkörtlarna, så kallad lymfkörtelmetastas, och en sämre prognos för patienten. Detta gäller cancertyper såsom bröstcancer, malignt melanom, prostatacancer och cancer i pankreas. Effekten av att tumörer sprider sig till lymfkörtlar kan vara stark. Den genomsnittliga tioåriga överlevnaden hos bröstcancerpatienter med lymfkörtelmetastas låg i äldre studier på runt 40–50 procent medan patienter utan lymfkörtelmetastas visade siffror runt 85 procents överlevnad. Här beskriver forskarna **Tove Bekkhus** och **Maria H. Ulvmar** vid Uppsala universitet den senaste kunskapen på området.

Nya behandlingsstrategier tillsammans med tidigare diagnostisering av bröstcancer har förändrat siffrorna för överlevnad till det bättre, men den grundläggande observationen kvarstår: lymfkörtelmetastas kan kopplas till en sämre prognos med högre risk för vidare metastasering till andra organ (så kallade fjärrmetastaser).

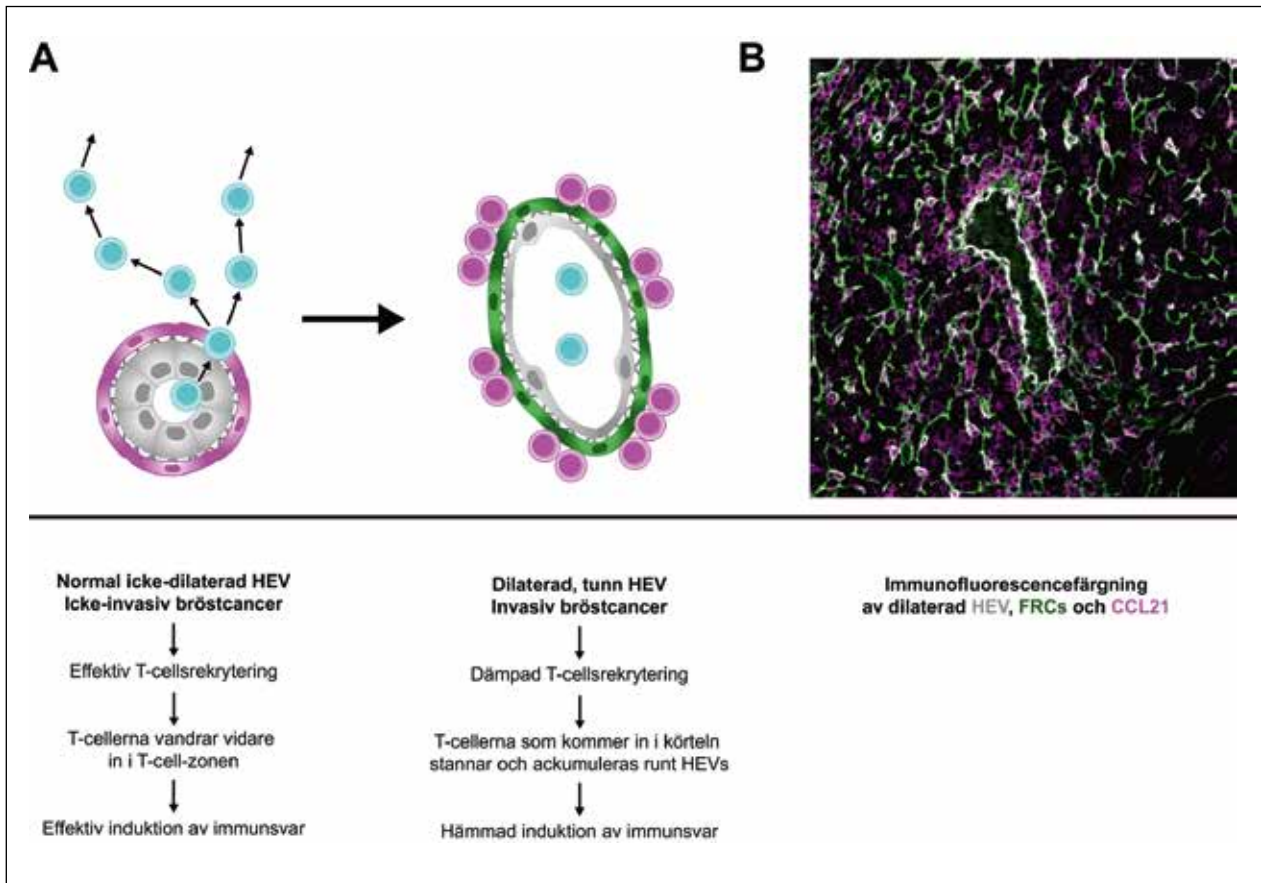
Idag analyseras lymfkörtlar inte för några andra biomarkörer än närvaro av metastaser i körteln. I gruppen med patienter utan metastaser finns dock även en del patienter som kommer att ha en sämre prognos. Dessa kan idag inte urskiljas med biomarkörer. Den både snabba och framgångsrika utveckling som skett då det gäller analys av så kallade stromala (stödjevävnad) och immunologiska biomarkörer i cancers mikromiljö har fokuserats på analys av den primära tumören, inte av den tumördränerande lymfkörteln.

Det saknas också full insikt i varför lymfkörtelmetastaser har ett så starkt kliniskt prognostiskt värde. Historiskt har sambandet mellan lymfkörtelmetastas och vidare metastasering tolkats som att spridningen via lymfkärl och lymfkörtlar är ett mellansteg för vidare spridning i kroppen. Genetisk analys av primära tumörer, lymfkörtelmetastaser och fjärrmetastaser stödjer dock inte att lymfkörteln och lymfkärlen är den huvudsakliga vägen för avlägsna metastaser. Med viss variation beroende på typ kommer cirka 25–35 procent av fjärrmetastaserna från lymfkörteln.

SÅ INDUCERAS IMMUNSVAR

Om lymfkörtelmetastas inte endast är en del av tumörens vidare spridning, vilka andra roller spelar då lymfkörteln i cancerutvecklingen? En hypotes är att canceren påverkar förmå-

••• metastaseringsprocessen



Figur 1. Förändringar av högändotelsvenoler i invasiv bröstcancer. A. I normala lymfkörtlar finns de så kallade högändotelsvenolerna (HEVs, grå) som har den viktiga funktionen att guida T-celler (turkos) från blodet in i körteln. En normal HEV byggs upp av kubiska endotelceller och uttrycker klistriga adhesionsmolekyler som får T-cellerna att fastna i lumen av kärlen. Kärlen är även omgivna av stödjevävnadsceller, så kallade fibroblastiska retikulära celler (FRCs, rosa), som uttrycker kemokiner (rosa) på ytan av cellerna. Kemokinerna fungerar som vägskyltar för att guida T-cellerna att ta sig in i körteln och vandra längs kemokinerna på cellytan. Vid invasiv cancer dilaterar kärlet, de kubiska cellerna blir tunna och kärlet förlorar de klistriga adhesionsmolekyler. De omgivande FRCs förlorar förmågan att binda kemokinerna till sin yta vilket resulterar i att de flödar fritt och binder T-cellerna när de kommer in i körteln. Istället för att T-cellerna ska vilja vandra vidare mot andra kemokiner blir de då "mättade" och stannar vid kärlet (rosa T-celler). B. Immunofluorescencenfärgning av en tumördränerande körtel där en HEV (grå) har dilaterat. FRCs (grön) som omger kärlet har slutat binda sina kemokiner (rosa) till cellytan och kemokinerna har därför istället bundit och mättat de inkommande T-cellerna (rosa) som ackumuleras runt kärlet. Figur adapterad från Bekkhus et al. *Cancers* 2020.

gan att inducera ett immunsvär mot tumören. Det är väl känt att det är i lymfkörtlarna som immunförsvaret mot tumören initieras. För att förklara hur ett immunsvär induceras mot cancer pratar man ofta om cancers så kallade immuncykel. Denna cykel är beroende av transport av immunceller och antigen från den primära tumören till de närmaste dränerande körtlarna (portvaktskörtlar), aktivering av vita blodkroppar (T-celler) inne i körteln som sedan lämnar körteln för att ta sig tillbaka till tumören via lymfkärl och blodkärl. Vi vet baserat på forskning att lymfkörtlarna är essentiella för aktiveringen av specifika T-cellssvar mot tumörceller. Aktiveringen av T-cellssvaret i lymfkörtlarna leder dessutom till produktion av minnes-T-celler som är en förutsättning för långvarig systemisk immunitet och som kan ge kroppen ett större motstånd mot recidiv sjukdom (återfall), vidare metastasering samt en bättre förmåga att svara på immunterapi. I vilken grad tumören inducerar ett immunsvär i lymfkörtlarna kommer också direkt att påverka ackumulering av tumörinfiltrerande lymfocyter (TILs) i den primära tumören.

”Frågor vi har velat svara på i vår forskning är om det går att påvisa cancerinducerade förändringar i körteln, om det finns en skillnad mellan hur icke-invasiv och invasiv cancer påverkar lymfkörtlarna, och om det finns förändringar redan innan metastaseringen sker.

Om tumören försämrar immunförsvarens funktion kan det dels förutsägas att det blir lättare för tumörcellerna att sprida sig till och växa i lymfkörtlarna. Det kan också göra att tumören lättare kan bilda fjärrmetastaser då dämpad funktion i lymfkörteln även dämpar det systemiska immunförsvaret, i hela kroppen. Speciellt blir detta av vikt i samband med immunterapi där syftet är att återställa och förstärka kroppens egen immunfunktion.

FOKUS PÅ OMGIVANDE STÖDJECELLER

Frågor vi har velat svara på i vår forskning är om det går att påvisa cancerinducerade förändringar i körteln, om det finns en skillnad mellan hur icke-invasiv och invasiv cancer påverkar lymfkörtlarna, och om det finns förändringar redan innan metastaseringen sker. I det här sammanhanget är vi speciellt intresserade av körtelns kärl och omgivande stödjeceller, det så kallade stromat. Orsaken är bland annat att kärlen är de första strukturerna som interagerar med faktorer och celler som transporteras med lymfan via lymfkärl och med blodet via blodkärl till lymfkörtlarna. Dessutom är kärlen centrala transportvägar för immunceller och för de metastaserande cancercellerna.

För att kunna svara på dessa frågor har vi använt insamlade lymfkörtlar från Uppsalas biobank och har jämfört patienter med en lokal, icke-invasiv bröstcancer, så kallad duktal cancer in situ, och en invasiv bröstcancer, som kallas invasiv duktal

cancer. Vi har även jämfört körtlar med och utan metastas, men med samma typ och primärtumör; östrogenreceptorpositiv (ER+) cancer och patienter som ej överuttrycker receptorn HER2.

I en första studie som publicerades i tidskriften *Cancers* 2020, kunde vi visa att lymfkörtelns specialiserade blodkärl som kallas högendotelvenoler (HEVs) förändras vid invasiv cancer. Förändringar kunde också observeras hos de stödjeceller, så kallade fibroblastiska retikulära celler (FRCs) som omger kärlet. För att kroppen ska kunna försvara sig mot cancer behöver T-cellerna ta sig in i lymfkörteln från blodomloppet. Det gör de med hjälp av HEVs och FRCs. Förenklat kan man säga att HEVs bildar vägarna och FRCs håller i vägskyltarna. FRCs uttrycker kemokiner vilket är molekyler som hjälper immuncellerna att hitta rätt när de väl har tagit sig in i körteln. FRCs uttrycker bland annat en kemokin som kallas CCL21 som T-cellerna attraheras av och följer i deras vandring in i körteln.

I vår analys fann vi att den mest dramatiska förändringen hos patienter med invasiv cancer, jämfört med icke-invasiv cancer, var att HEVs dilaterade (utvidgades), att deras celler var tunna istället för deras normala kubiska utseende, samt att de tappade sina viktiga adhesionsmolekyler som normalt får immuncellerna att fastna i kärlet (Figur 1). De omgivande FRCs hade också ett kraftigt lägre uttryck av kemokinen CCL21.

NT-rådet rekommenderar¹

JEMPERLI

dostarlimab

En immunterapi för patienter med recidiverande eller avancerad endometrie cancer med dMMR/MSI-H²

Testa dMMR/MSI-H för att identifiera patienter som är lämpliga för behandling med JEMPERLI

▼ Detta läkemedel är föremål för utökad övervakning.

JEMPERLI (dostarlimab), 10 ml koncentrat till infusionsvätska, lösning, innehåller 500mg. Rx, EF. ATC-kod: L01FF07, Monoklonala antikroppar och antikropps-läkemedelskonjugat. **Indikationer:** JEMPERLI är indicerat som monoterapi för behandling av vuxna patienter med recidiverande eller avancerad endometrie cancer med dMMR (deficient mismatch repair) eller hög mikrosatellitinstabilitet (MSI-H) som har progredierat under eller efter tidigare platinainnehållande behandling. **Dosering:** Rekommenderad dos som monoterapi är 500 mg dostarlimab var 3:e vecka i 4 cykler följt av 1 000 mg var 6:e vecka i alla efterföljande cykler. Behandlingen bör fortsätta tills sjukdomsprogression eller oacceptabel toxicitet uppstår. Behandling med JEMPERLI ska initieras och övervakas av läkare med erfarenhet av cancerbehandling. **Varningar och försiktighet:** Immunrelaterade biverkningar Immunrelaterade biverkningar, som kan vara allvarliga eller dödliga, kan förekomma hos patienter som behandlas

med antikroppar som blockerar programmerat celledödsprotein-1/programmerad dödligand 1 (PD-1/PD-L1), inklusive dostarlimab. **Immunrelaterade biverkningar** kan förekomma i alla organ eller vävnader och uppträder vanligen under behandling med PD-1/PD-L1-blockerande antikroppar, men symtomen kan också visa sig efter avslutad behandling. **Infusionsrelaterade reaktioner** Dostarlimab kan orsaka infusionsrelaterade reaktioner som kan vara allvarliga (se avsnitt Biverkningar). Vid allvarliga (grad 3) eller livshotande (grad 4) infusionsrelaterade reaktioner ska infusionen avbrytas och behandlingen sättas ut permanent. För fullständig forskrivningsinformation och pris, se www.fass.se. Datum för översyn av produktresumén 2022-06-08. GSK AB, Box 516, 169 29 Solna, telefon: 08-638 93 00, se.gsk.com. Om du vill rapportera en biverkning på något av våra läkemedel eller vacciner så kan du kontakta oss på följande sätt: Webformulär: se.gsk.com/biverkning. Telefon: 08-638 93 00 (be om att bli kopplad till Biverkningsenheten).

dMMR=deficient mismatch repair; MSI-H=hög mikrosatellitinstabilitet.

Referenser: 1. NT-rådets rekommendation för PD-(L)1-hämmare. Janusinfo. 2. JEMPERLI (dostarlimab). Produktresumé.



Varumärken ägs av eller licensieras till GSK-koncernen.
©2022 GSK eller dess licensgivare.
PM-SE-DST-ADVT-220001, 202208

GSK, Box 516, 169 29 Solna. 08-638 93 00, se.gsk.com

Jemperli
(dostarlimab) Injection 500 mg

••• metastaseringsprocessen

Närvaron av dilaterade HEVs var även kopplat till förändringar av T-cellerna runt kärlen (Figur 1). Detta tyder på att deras förmåga att rekryteras och navigera försämras vid invasiv bröstcancer vilket även kommer att försämma förmågan att skapa ett immunsvaret mot tumören. Våra studier visar att det finns ny kunskap att hämta genom att analysera lymfkörtlarna mer ingående. Vi behöver lära oss mer om de immunologiska och funktionella konsekvenserna av tumörinducerade förändringar i lymfkörtlarna. Våra studier ger dessutom nya förhoppningar om att dilatation av HEVs och andra förändringar i körteln kan fungera som framtida biomarkörer prognostiskt och/eller behandlingsprediktivt vid till exempel immunterapi samt för att hitta patienter som trots avsaknad av lymfkörtelmetastaser kan ha hög risk för recidiv sjukdom och metastasering.

” **Vi behöver lära oss mer om de immunologiska och funktionella konsekvenserna av tumörinducerade förändringar i lymfkörtlarna.**

Effekterna vi ser kan inte studeras i djurmodeller för cancer, utan förändringarna är fenomen vi ännu bara sett i mänskliga. Detta poängterar vikten av att kunna analysera vävnad från patienter. Att analysera kärl manuellt är ett tidskrävande arbete. Kommersiellt tillgängliga bildanalysprogram är inte heller designade för att analysera morfologiska förändringar. För att kunna möjliggöra både att kunna studera dessa förändringar i andra tumörtyper – och i större antal patienter – har vi därför nyligen gjort ett digitalt verktyg för bildanalys med hjälp av så kallad deep-learning, en typ av artificiell intelligens (AI). Vi kallar vårt digitala verktyg HEV-finder. Vårt arbete och valideringen av metoden publicerades nyligen i tidskriften *The Journal of Pathology*, i september 2022. Med hjälp av HEV-finder har vi kunnat visa att dessa förändringar i lymfkörtlarna även ses hos patienter med trippelnegativ bröstcancer.

FORSKNINGEN UTVIDGAS

Vår metod lägger grunden för framtida utforskning av HEV-dilatation i andra typer av cancer, och att utvärdera dess möjliga värde som en biomarkör ensam eller tillsammans med

andra markörer. Vi hoppas även vårt arbete ska inspirera andra forskare för att hitta lösningar för att kunna genomföra high-throughput bildbaserad kvantitativ bedömning av vaskulära förändringar vid human cancer.

Det pågående arbetet i vår grupp involverar just nu både att utöka våra studier till andra tumörtyperns effekt på lymfkörtlarna och de immunologiska konsekvenserna av förändringarna. Vi har just initierat ett samarbete för att analysera prover från patienter med cancer i pankreas, en av de svåraste formerna av cancer och där tillgänglig immunterapi ännu inte har haft framgång. Genom att studera hur cancer påverkar körtlarna i dessa patienter, kommer vi få ny insikt om hur cancer hämmar immunförsvarets funktion. Vi vill även förstå de underliggande mekanismerna bakom de förändringar vi ser och planerar att genomföra in situ-sekvensering där vi kan titta på genuttryck direkt i vävnader och jämföra patienter med och utan dessa förändringar. En annan viktig del är hur lymfkärlerna också förändras och interagerar med de inkommande tumörcellerna. Vi har nyligen visat att även lymfkärlerna har viktiga och tidigare inte kända immunreglerande funktioner i lymfkörtlar (Xiang et al, 2020). Vi har också data som visar på effekter av åldrande på körtelns funktion, vilket också kan spela in för vår förmåga att skydda oss mot cancer.

Ett övergripande mål och motivation för vårt arbete är att bättre förstå hur invasiv cancer påverkar vårt immunförsvaret på flera olika nivåer. Att cancerceller kan sprida sig till lymfkörtlarna visar att de har förmåga att hämma immunförsvaret där. Nu har vi nya möjligheter att förstå hur och varför detta sker.

REFERENSER

Bekkhuis T, Martikainen T, Olofsson A, Franzén Boger M, Vasiliu Bacovia D, Wärnberg F, Ulvmar MH. Remodeling of the Lymph Node High Endothelial Venules Reflects Tumor Invasiveness in Breast Cancer and is Associated with Dysregulation of Perivascular Stromal Cells. *Cancers (Basel)*. 2021 Jan 8;13(2):211. IF: 6.575

Bekkhuis T, Avenel C, Hanna S, Franzén Boger M, Klemm A, Bacovia DV, Wärnberg F, Wählby C, Ulvmar MH. Automated detection of vascular remodeling in tumor-draining lymph nodes by the deep-learning tool HEV-finder. *The Journal of Pathology*. 2022 Sep;258(1):4-11.

Xiang M, Grosso RA, Takeda A, Pan J, Bekkhuis T, Brulois K, Dermadi D, Nordling S, Vanlandewijck M, Jalkanen S, Ulvmar MH, Butcher EC. A Single-Cell Transcriptional Roadmap of the Mouse and Human Lymph Node Lymphatic Vasculature. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2020 Apr 30;7:52.

TOVE BEKKHUIS, INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSK BIOKEMI OCH MIKROBIOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET, TOVE.BEKKHUIS@IGP.UU.SE



MARIA H. ULVMAR, INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSK BIOKEMI OCH MIKROBIOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET, MARIA.ULVMAR@IGP.UU.SE

