

## A TAM receptorok szerepe és esetleges kapcsolata *Candida* fajokkal<sup>1</sup>

PAPP HENRIETTA

A humán flóra részeként jelenlévő *Candida* fajok jelentős része opportunistá patogén. Egészséges szervezetben nem okoznak betegséget, de extrém nagy inokulum esetében, illetve legyengült immunrendszerű embereknél különböző kórfolyamatokat indíthatnak el. Az általuk okozott candidiasis világszerte komoly problémát jelent évek óta.<sup>2</sup>

Megfigyelték, hogy szájüregi tumorok felszínén szignifikánsan megnövekszik a *Candida* kolóniák száma. Ennek hátterében állhat az, hogy a tumorok felszíne nagyon kedvező ezen mikroorganizmusok számára. Viszont feltételezik azt is, hogy magában a tumor kialakulásában és rosszindulatúvá válásában is szerepet játszanak ezen élőlények.<sup>3</sup>

Európán belül, Magyarországon diagnosztizálták a legtöbb szájüregi tumoros megbetegedést 2008-ban,<sup>4</sup> ezért fontos, hogy figyelmet fordítsunk az orális mikroflóra és a megbetegedett szervezet közötti esetleges összefüggésekre.

Legújabb kutatások kimutatták, hogy a tumorok kialakulását és fennmaradását a gerinces állatok sejtjein kifejeződő TAM receptorok is elősegítik.<sup>5</sup> Több kutatócsoport megfigyelte többek között azt is, hogy tumoros sejtekben ezen receptorok overexpresszálódnak, illetve,<sup>6</sup> hogy a TLR receptorok közvetítette immunválaszt legátolják.<sup>7</sup> A TLR receptorok révén képes a gazdaszervezet felismerni a kórokozó ágenseket, ilyenek például a

---

<sup>1</sup> Köszönetnyilvánítás:

Ezen munka kísérletes részét nem egyedül készítettem. Ezúton is szeretném megköszönni Szenzenstein Judit PhD hallgatónak mindennemű segítségét.

Továbbá hálással köszönöm témavezetőmnek, Dr. Gácsér Attilának, hogy bekapcsolódhattam ebbe a kutatásba, illetve hogy szerves része lehetek a csoportjának.

Köszönöm Prof. Dr. Vágvölgyi Csaba tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette számomra, hogy a Szegedi Tudományegyetem Mikrobiológiai Tanszékén szakdolgozhassak.

Továbbá köszönöm dr. habil. Nagy Katalinnak, a Szegedi Tudományegyetem Fogorvostudományi Kar dékánasszonyának és két munkatársának, dr. Berkovits Csabának és dr. Novák Péternek a kapott mintákat és számos egyéb támogatásukat a munkám elvégzésében.

Köszönettel tartozok dr. Nagy Istvánnak és kutatócsoportjának, a TAM receptor mRNS expressziójának mérését illetően.

Végül, de nem utolsó sorban, köszönöm a Mikrobiológiai Tanszék és a 302-es labor további munkatársainak segítségüket.

<sup>2</sup> MICELI – DÍAZ – LEE 2011.

<sup>3</sup> BAKRI ET AL. 2010.

<sup>4</sup> <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/oral/incidence/uk-oral-cancer-incidence-statistics#geog> (2014.04.11. 22:53).

<sup>5</sup> LINGER ET AL. 2008.

<sup>6</sup> LINGER ET AL. 2008; VERMA – WARNER – VANKAYALAPATI 2011; AVILLA ET AL. 2011.

<sup>7</sup> ROTHLIN – LEMKE 2010.

*Candida* gombák. Ebből kifolyólag érdemes megvizsgálni, hogy a *Candida* gombákra adott válaszreakcióban ezen receptorok részt vesznek-e.

Munkánk során vizsgáltuk a szájüregben található *Candida* gombák jelenlétét és faji diverzitását, tumoros és ép felszínről származó kenetmintákból. Másrészt a TAM receptorok expresszióját orál pikkely sejt karcinóma sejtvonalak segítségével. Emellett az előbb említett sejtvonalakat és primer, ínyből származó sejtvonalat különböző ideig stimuláltuk *Candida albicans*-szal, *Candida metapsilosis*-szal és *Candida parapsilosis*-szal, hogy fényt derítsünk arra, hogy van-e valamilyen kölcsönhatás a gombák és a receptorok működése között.

## A TAM receptorok

A receptorok olyan fehérje molekulák, melyek különböző sejten kívüli, vagy sejten belüli jelekre érzékenyek, azokkal való kölcsönhatásuk során pedig valamilyen válaszreakciót indítanak el a sejtekben. Tulajdonképpen a sejtek közötti kommunikációt teszik lehetővé. Szervezetünkben a sejtek felszínén, illetve a sejtek belsejében számos receptor található meg folyamatosan. Az egyik nagy receptor csoportot a protein kinázok alkotják, melyeknek két típusát különböztetjük meg, a szerinen/treoninon foszforilálók, a másik csoportba tartozók pedig a célfehérjék tirozin aminosaván foszforilálnak. Az utóbbiak közé körülbelül 20 receptor család tartozik, az egyik ezek közül a TAM receptorok családja.<sup>8</sup>

A TAM receptoroknak nagyon fontos szerepük van a természetes immunválasz regulálásában. Részt vesznek többek között a dendritikus sejtek és makrofágok által előidézett gyulladásos folyamatok gátlásában, stimulálják a természetes ölüsejtek érését,<sup>9</sup> szabályozzák a T és B sejtek számát, aktivitását (knock-out egerekben hiperproliferáció<sup>10</sup> és folytonos aktivitás figyelhető meg).<sup>11</sup> Támogatják az apoptotikus sejtek és különböző membránnal határolt sejtalkotók bekebelezését.<sup>12</sup> Megfigyelték, hogy segítik a sejtek adhézióját, migrációját, ezzel részben hozzájárulnak a tumorok kialakulásához és túlélésükhöz.<sup>13</sup> Ezen kívül jelentős még a véralvadás folyamatában játszott szerepük, konkrétan a vérlemezkék helyes aggregációjának elősegítése.<sup>14</sup>

A TAM maga egy mozaikszó, amely az ebbe a családba tartozó 3 receptor nevének a kezdőbetűiből adódik: TYRO3, AXL, MER.<sup>15</sup> Mind a három fehérje, sejt felszíni transzmembrán receptor. De az AXL-nek és a MER-nek van

---

<sup>8</sup> LU – LI – LU 2010.

<sup>9</sup> LEMKE – ROTHLIN 2008.

<sup>10</sup> SEN ET AL. 2007.

<sup>11</sup> LU – LEMKE 2001.

<sup>12</sup> LU – LI – LU 2010.

<sup>13</sup> VERMA – WARNER – VANKAYALAPATI 2011; LINGER ET AL. 2008.

<sup>14</sup> LINGER ET AL. 2008.

<sup>15</sup> <https://www.youtube.com/watch?v=au1BhM9DP2c> (2014.04.13. 10:35).

vérplazmában oldott formája is, mely a receptor proteolitikus hasítása révén keletkezik, illetve a sMER alternatív splicing révén is létrejöhet. Ezen molekulák nem rendelkeznek a tirozin kináz doménnel és tulajdonképpen a membránkötött receptorokat gátolják olyan tekintetben, hogy megkötik a ligandokat.<sup>16</sup> A transzmembrán receptoroknak három doménjét különböztetjük meg; az extracelluláris, a transzmembrán és az intracelluláris/citoplazmatikus domént. Az extracelluláris domén köti a specifikus ligandokat, a Gas6-ot (growth-arrest-specific 6) és a Protein S-t. Ezt követi egy darab transzmembrán domén. Végül a sejtmembrán citoplazmatikus oldala felé nézve található az intracelluláris rész, mely tirozin kináz aktivitással bír, a receptor dimerizációját követően. A ligand és a receptor dimerizált állapotban képesek összekapcsolódni. A Gas6 mind a három receptorhoz kötődik, de eltérő affinitással (AXL  $\geq$  TYRO3  $\gg$  MER), a Protein S pedig csak a TYRO3-mal és a MER-rel lép kölcsönhatásba.<sup>17</sup>

A ligand-receptor kölcsönhatás eredménye nagyon változatos, attól függ, hogy milyen sejt expresszálta a receptort, milyen a mikrokörnyezet. Az idegrendszer, a reprodukív szervrendszer (petefészkek, herék), a vese sejtjei, monociták/makrofágok, dendritikus sejtek, természetes ölüsejtek és a vérlemezkék mind a három típust expresszálják. Jelen vizsgálatok szerint, egyedül TYRO3-at az emlő sejtek és az oszteoklasztok fejeznek ki. TYRO3-at és MER-t is expresszáló sejtek a tüdőben és a retinában találhatóak meg. MER-t és AXL-t expresszálók a szív- és vázizom sejtek. Endotél sejtek és a májsejtek csak az AXL-t fejezik ki a három típus közül, a prosztata sejtjei pedig csak MER-t expresszálnak. Ezen kívül ezen sejtek nagy része szekretál Gas6-ot és/vagy Protein S-t is. A makrofágok például folyton expresszálnak Gas6-ot és Protein S-t.<sup>18</sup> A hímivarszervekben a Sertoli-sejtek a receptorokat expresszálják, a Leydig-sejtek pedig a ligandjaikat. Ha a köztük létrejövő kommunikáció sérül, az az egyed sterilitását okozza. Tripla TAM knock-out egerekben megfigyelték, hogy a mutáns hím egyedekben, a születést követő 3. hét környékén, a hímivarsejtek őssejtjei elhaltak, sterilitást okozva ezzel. Ennek hátterében az áll, hogy a Sertoli sejtek, melyek mindhárom receptor típust expresszálják, nagyon fontosak abban, hogy megkössék és bekebelezzék a spermatogenezis során keletkező elhalt csírarsejteket, illetve az egyéb sejtselejteket, törmelékeket, melyek a csírasejt spermiummá való érése során keletkeznek, és ez a funkció sérül a TAM receptorokkal nem rendelkező egerekben. Mindemellett az apoptotikus sejteknek, a makrofágok és a dendritikus sejtek általi, bekebelezésében és eltüntetésében is nagyon fontos szerepet töltenek be a TAM receptorok. A MER például a sejthalálra ítélt sejtek körbevételében játszik fontos szerepet, a citoskeletális elemekre gyakorolt

---

<sup>16</sup> LINGER ET AL. 2008.

<sup>17</sup> LEMKE – ROTHLIN 2008.

<sup>18</sup> LINGER ET AL. 2008.

hatása révén. A legtöbb esetben maguk az APC sejtek bocsájtanak ki Gas6-ot vagy Protein S-t, melyek az apoptózisra jelölt sejtek membránján kifejeződő foszfatidil-szerinhez kapcsolódnak. A fagocita aktivitás megszűnésével különböző mérgező anyagok halmozódnak fel. Nagy mennyiségű apoptotikus sejt felhalmozódás különböző autoimmun betegségek megjelenését is előidézi. Például reumatoid arthritisz, pemfigus vulgarisz, szisztémás lupus eritematosus. Az ilyen betegségek kialakulásához még az is hozzájárul, hogy a makrofágok és dendritikus sejtek által a patogénekre adott természetes immunválasz is sérül, például túlzott citokin termelés révén, a TAM receptorok működésének hiányában.<sup>19</sup>

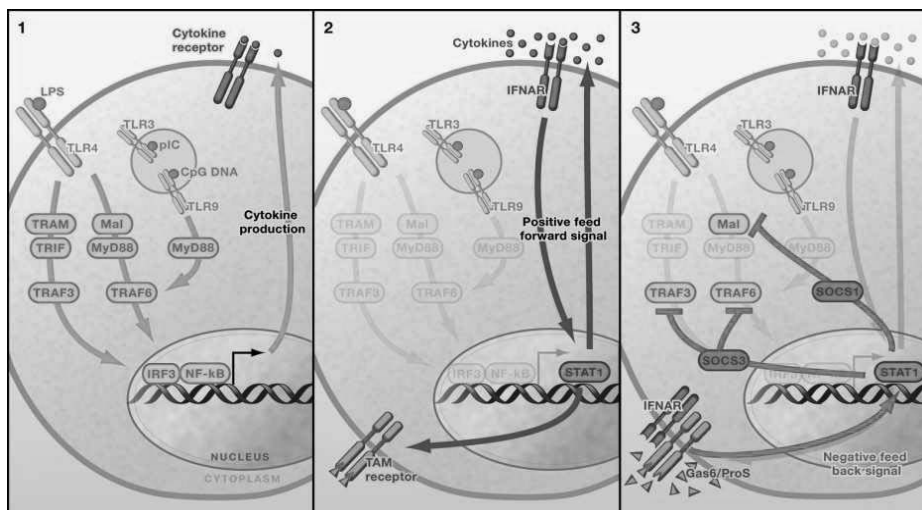
Az immunrendszerünk működése nagyon dinamikus. Az immunválaszt elindító folyamatok szorosan kapcsolatosak azokkal a folyamatokkal, melyek le tudják azokat állítani. A TAM receptorok, többek között a TLR-ek (toll-like receptor) és bizonyos citokin receptorok által indukált immunválasz gátlásában is szerepet játszanak. A Toll-like receptorok, olyan membránkötött receptorok, melyek a különböző, szervezetbe érkező kórokozók felismerésében és ellenük irányuló immunválasz iniciálásában játszanak szerepet. Specifikusan, csak a patogénekre jellemző molekulákat ismerik fel, mint például a lipopoliszacharidot (LPS), mely a Gram negatív baktériumok sejtfalának jellemző molekulája (TLR4); a vírusokra jellemző dupla-szálú RNS-t pedig a TLR3 ismeri fel. Hatásukra olyan gének aktiválódhatnak, melyek antivirális anyagok termeléséért felelősek (pl.: IFN- $\beta$ ), vagy különböző gyulladásozó citokineket kódolnak (pl.: TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1). Mindezek jelzésül szolgálnak a különböző immunsejteknek.<sup>20</sup> A dendritikus sejtekben az (1. ábrán) bemutatott folyamat megy végbe. Valamilyen patogén hatására TLR-ek aktiválódnak és különböző intracelluláris molekulákat hoznak működésbe (például MyD88, TRAF 6). Majd ezen molekulák beindítják például az IRF3 (interferon regulatory transcription factor / interferon szabályozó transzkripció faktor) vagy az NF- $\kappa$ B transzkripció faktor. Ennek eredményeképpen különböző citokinek expresszálódnak. Az IFN $\alpha$ R, az IFN $\alpha$ -val történő kölcsönhatása révén olyan szignalizációt indít be, melynek következtében aktiválódik a STAT1 transzkripció faktor, mely hatására TAM receptorok expresszálódnak a plazmamembránban. A TAM receptorok visszahatnak a STAT1-re, ami által pedig a SOCS1 és 3 (suppressor of cytokine signalling / citokin szignalizáció gátlója) aktiválódik és gátolja a TLR jelátviteli útvonalakat.<sup>21</sup>

---

<sup>19</sup> ROTHLIN – LEMKE 2010.

<sup>20</sup> DENG ET AL. 2011.

<sup>21</sup> [http://www.sciencedirect.com/cache/MiamiImageURL/1-s2.0-S0092867407015358-gr1\\_lrg.jpg/0?wchp=dGLbVIB-zSkWA](http://www.sciencedirect.com/cache/MiamiImageURL/1-s2.0-S0092867407015358-gr1_lrg.jpg/0?wchp=dGLbVIB-zSkWA) (2014.04.13. 11:45).



1. ábra: Egy példa a TAM receptorok szignalizációjára

Forrás: [http://www.sciencedirect.com/cache/MiamiImageURL/1-s2.0-S0092867407015358-gr1\\_lrg.jpg/0?wchp=dGLbVIB-zSkWA](http://www.sciencedirect.com/cache/MiamiImageURL/1-s2.0-S0092867407015358-gr1_lrg.jpg/0?wchp=dGLbVIB-zSkWA)

### A TAM Receptorok szerepe a tumoros elváltozásokban

Tumoros elváltozásoknál a TAM receptorok abnormalis működése is megfigyelhető. Túlélési utakat aktiválnak, mind normál, mind rákos sejtekben. Overexpresszió mutatható ki. Sőt, a normál esetben TAM receptorokat nem expresszáló sejtek plazmamembránjában is megjelennek a receptorok. Hanahan és Weinberg 2000-ben hat elsődleges sejtfuncióbeli változást nevezett meg, melyen a sejtek végigmennek a tumorosodás közben.<sup>22</sup> A TAM receptorok ezen mechanizmusok közül, minimum háromnál már bizonyítottan szerepet játszanak. A migrációban és invázióban, vérképzésben (angiogenezis), sejt túlélésben és a tumor növekedésben. A sejtek vándorlását az aktin mikrofilamentumokra gyakorolt hatásuk révén teszik lehetővé, ezen belül a fillopodia képzésnél bizonyított a receptorok hatása. A migrációban mind az extracelluláris doménnek, mind a kináz doménnek szerepe van. Az extracelluláris domén például a receptorok között létrejött homofil kötést segíti elő, melynek a sejt-sejt egyesülésben van szerepe. Humán glioblasztoma sejtekbe vad típusú AXL-t juttatva jelentős tumornövekedés és invázió volt megfigyelhető, mint olyan sejteknél, melyekbe kináz domén nélküli AXL-t juttattak be. Új véredények képződése elengedhetetlen a tumor növekedéséhez, hisz az ott lévő sejteket táplálni kell, ezen kívül a rosszindulatúvá válásban is szerepet játszik az angiogenezis folyamata. Ezen folyamat kulcsfontosságú része a véredények simaizom-sejtjeinek szaporodása és vándorlása, amely során Gas6 szekréciót és AXL overexpressziót is kimutattak. AXL gén kiütése során

<sup>22</sup> LINGER ET AL. 2008.

pedig az endotél sejtek csővé záródása nem történt meg. Eddigi kutatások során TYRO3 expressziót figyeltek meg akut mieloid leukémiánál, AXL (over) expressziót mutattak ki tüdőrákban, méhnyakrákban, emlőrákban, petefészekrákban, gyomorrákban, vastagbélrákban, prosztatarákban, pajzsmirigyrákban, májrákban, veserákban, melanómában, glioblastómában vagy különböző leukémiában szenvedő pácienseknél. Abnormális MER expressziót diagnosztizáltak már B- és T sejt akut limfoblasztikus leukémiás, melanomás, gyomorrákos és prosztata rákos eseteknél.<sup>23</sup>

## Candida gombák jellemzői

A *Candida* fajok az élesztő gombák közé tartoznak, legáltalánosabb jellemzőjük, hogy egysejtűek és vegetatívan bimbózással szaporodnak. Maga az elnevezés, a latin *candid* szóból ered, amelynek jelentése „fehér”. Ez a kinövő telepek színére utal.<sup>24</sup> Majdnem 200 fajuk ismert, de ezek közül kevéssel találkozunk életünk során, mert kétharmaduk nem képes 37°C-on növekedni.<sup>25</sup> Legtöbb fajuk opportunistá patogén, ami azt jelenti, hogy bizonyos körülmények között betegségeket okoznak azon gazdaszervezetekben, melyekben addig kommenzalista fajként viselkedtek. Egészséges emberi szervezetben az immunrendszer és egyéb tényezők (például a humán flóra többi mikroorganizmusa, defenzinek, gyomor- és bélmozgás, emésztőenzimek) kordában tudják tartani a *Candida* gombák számát. A gazdaszervezetet legyengítő hatások közé soroljuk az AIDS betegséget, a kemoterápiát, illetve különböző immunoszuppresszánsokat, melyeket például szervátültetés során kapnak a páciensek. A *Candida*-k okozta mikózisok vezető helyen állnak az intenzív osztályok nozokómiális fertőzései között. Károsító hatásuk két szinten nyilvánul meg:

1. Felszíni fertőzések a bőrön, nyálkahártyával borított felszíneken – candidiasis.
2. Invazív behatolás mélyebb szöveti rétegekbe, illetve a véráramba – candidémia.<sup>26</sup>

Különböző virulencia faktorok révén képesek kórfolyamatok előidézésére. A gazdasejteken való megtapadás érdekében különböző adhezineket bocsájtanak ki. A szoros kapcsolat a környező sejtekkel nem csak a gazdával való erősebb kapcsolat tekintetében fontos, hanem biofilm képződést is elősegít. A biofilm, olyan háromdimenziós struktúra, melyet élő- vagy élettelen felszínen megtapadt mikrobacsoport (több különböző fajból is állhat) hoz létre, mely maga köré polimer mátrixot választ ki. Ezáltal a mikroorganizmusok nagyobb

---

<sup>23</sup> LINGER ET AL. 2008.

<sup>24</sup> RAJU – RAJAPPA 2011.

<sup>25</sup> SCHULZE – SONNENBORN 2009.

<sup>26</sup> NETEA ET AL. 2008; [http://en.wikipedia.org/wiki/Candida\\_\(fungus\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Candida_(fungus)) (2014.04.13. 12:44).

védelemben vannak környezetük káros hatásaival szemben. Ezen felül a metabolizmusuk is megváltozik, ami által erősödik az antimikotikum rezisztenciájuk. Ilyen változás lehet a plazmamembránban lévő különböző efflux pumpák aktiválódása, vagy a membránjukat alkotó ergoszterol szintézis csökkenése. Másik virulencia faktoruk a többféle aszpartát proteináz (SAP) szekréciójuk. Ez teszi lehetővé a szövetekbe történő inváziójukat, inaktíválja az immunoglobulinokat, komplement fehérjéket, így gátolja az immunrendszer védekező mechanizmusait. Ezen felül szekretálnak még foszfolipázokat, melyek feltételezhetően a gazda sejtmembránjait károsítják. A harmadik, fontos virulencia faktorként megemlítendő enzimeik a lipázok. Többek között általuk bontja le a mikroba a lipideket, hogy tápanyagokhoz jusson, szerepük van az adhézióban, gyulladásos folyamatokat indítanak el a gazdaszervezetben. Ezen felül, megfigyelhető az úgynevezett fenotípus váltás jelensége is, amely során a gomba a saját sejtfelszínét változtatja meg, például gátolja a  $\beta$ -glukán sejt felszíni megjelenését, ezzel nehezítve a gazdaszervezet védekező rendszere általi felismerést. Az extrém genetikai flexibilitásuk által pedig nagyon könnyen adaptálódnak a változó környezethez.<sup>27</sup>

Szervezetünk természetes immunrendszere a gombák sejt falában található foszfolipomannánt a TLR2 által, az O-kapcsolt mannánt a TLR4 révén, a zimoszánt a TLR6 és a gomba DNS-t (kevésbé metilált, mint az emlősök örökítőanyaga) a TLR9 receptor révén ismeri fel. Fontosak ezek mellett a C-típusú lektin receptorok (CLRs), melyek szintén poliszacharidokat ismernek fel, ilyen a dectin 1, ami a  $\beta$ -glukánra specifikus. A makrofágokon található mannóz receptorok és DC-SIGN, az N-kapcsolt mannánt ismerik fel. Konkrétan a monociták / makrofágok, a dendritikus sejtek és a neutrofil granulociták a fő patogénfelismerő-immunsejtek. A humán epitel sejtek TLR4 receptoruk révén fontosak a szájüreg nyálkahártyájának polimorfonukleáris sejtektől függő védelmében. Viszont a *Candida albicans* képes elrejtőzni az immunrendszer elől úgy, hogy az egysejtű formából hifát képez. Ekkor a mannán elfedi a  $\beta$ -glukánt, így a dectin-1 által indított immunválasz nem következik be.<sup>28</sup> A legáltalánosabb kommenzalista élesztő faj a bőrünkön és különböző nyálkahártyával borított felszíneken a *C. albicans*. Például a szájüregből izolálható élesztő fajok 80%-át alkotják, viszont legyengült immunrendszerű embereknél nagyon komoly betegségeket okoznak. Néhány ezek közül a fáradékonyság, rosszkedv, memóriazavar, fejfájás, gyomorégés, haspuffadás, vaginális panaszok, hólyaghurut, bőrkiütés, viszkető bőrfelületek, vörösödés.<sup>29</sup> Viszont az utóbbi évtizedben más *Candida* fajok is komoly egészségügyi problémákat okoznak. A *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* és a *C.*

---

<sup>27</sup> YANG 2003.

<sup>28</sup> NETEA ET AL. 2008.

<sup>29</sup> <http://en.wikipedia.org/wiki/Candidiasis> (2014. 04.13. 13:15).

*lusitaniae* csak néhány példa a gondot okozó fajok közül. Ezen fajoknak a gyakorisága nagyon eltérő, függ a gazdaszervezet immunrendszerének állapotától, korától is.<sup>30</sup> A klinikai gyakorlatban *Candida*-k okozta megbetegedéseket, különböző antifungális gyógyszerekkel gyógyítják. Az amfotericin B, Flukonazol, Ekinokandinok hatásosnak bizonyulnak.<sup>31</sup>

## **Szájüregi pikkelysejtes karcinómák / Oral squamous-cell carcinomas (OSCC)**

Bőrünk több rétegből áll. A bazális sejtek felett található a stratum spinosum réteg, azaz a tüskés sejtek rétege (squamous cell layer). Ez a legvastagabb része az epidermisznek. Az itt található sejtekben kialakulnak a dezmoszómák, melyeknek a sejtek összetartásában van szerepe. Ezek a sejtek között tüskeszerű struktúrákat hoznak létre, innen ered az elnevezés. Az ebben a rétegben lévő sejtek keratint termelnek. Ezen kívül Langerhans-sejtek is találhatóak itt, amelyek az immunrendszert aktivizálják, ha valamilyen veszélyes, idegen anyag került be a bőrbe.<sup>32</sup> A száj tumoros elváltozásai körülbelül 90%-ban itt jönnek létre. Statisztikai adatokat megvizsgálva az tapasztalható, hogy mind a fejlődő, mind a fejlett országokban nagyon gyakran alakul ki tumoros elváltozás a szájüregben és az újonnan diagnosztizált betegek száma folyamatosan növekszik.<sup>33</sup> Az Európai Unió országai közül 2008-ban, mind a férfiak és mind a nők között Magyarországon jelentették be a legtöbb OSCC-s esetet. Rizikófaktorai között a dohányzást és az alkoholfogyasztást lehet említeni.<sup>34</sup> Ezen felül biológiai faktorokat is szóba hoznak a tumorok kifejlődéséhez, ilyenek a vírusok és a gombák. Gombákkal kapcsolatban azt figyelték meg, hogy azon területek a szájüregben, melyek *Candida*-val fertőzöttek, sokkal nagyobb gyakorisággal mennek át tumorosodáson a száj és nyelőcső területén. Sok olyan eset van, melynél legyengült immunrendszerű, candidiasis-ban szenvedő pácienseknél orális vagy nyelőcső karcinóma alakul ki. Ugyanakkor érdekes az is, hogy a gombák száma sokkal magasabb azon személyeknél, melyek valamilyen kóros elváltozást mutatnak, például leukoplakia vagy OSCC. Bizonyos *Candida* törzsek karcinogén anyagokat is kiválasztanak, mint például az N-nitrobenzilmetilamin (NBMA), mely a DNS-hez kötődik és a replikációban okoz komoly meghibásodásokat. Ilyen anyagokat termelő törzseket előrehaladott tumorok felszínéről izoláltak, míg egészséges felszínről és kezdeti léziókról nem.<sup>35</sup>

---

<sup>30</sup> MICELI – DÍAZ – LEE 2011.

<sup>31</sup> <http://www.antimicrobe.org/new/f14.asp> (2014. 04 13. 13:12).

<sup>32</sup> <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003139-pdf.pdf> (2014.04.13. 13:19).

<sup>33</sup> <http://www.upf.br/seer/index.php/rfo/article/viewFile/1023/578> (2014.04.13. 13:27).

<sup>34</sup> <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/oral/incidence/uk-oral-cancer-incidence-statistics#geog> (2014.04.13. 13:30).

<sup>35</sup> BAKRI ET AL. 2010.



## Eredményeink

Legfőbb kérdésünk az volt, hogy hatással van-e egymásra a szájnyálkahártyán kolonizálódó *Candida* gomba és a humán sejteken kifejeződő TAM receptor? A tumorok kialakulása során a TAM receptorok szerepe már bizonyított, ezért feltettük a kérdést, hogy a *Candida* fajok előidézik-e a kóros sejtburjánzást, vagy ezen léziókban csak azért vannak jelen, mert a TAM receptorok legátolják az előbb említett, a mikroba felismerésben fontos szerepet játszó TLR-ek jelátvitelét?

Munkánk során vizsgáltuk többek között a szájüregi tumoros és ép felszínekről izolálható *Candida* flórát, illetve mértük és összehasonlítottuk különböző sejtvonalak TAM receptor kifejezését. Továbbá a sejtvonalatokat három *Candida* faj sejtjeivel stimuláltuk, majd mértük a TAM receptorok mRNSeinek mennyiségét.

*Szájkenet mintákból izolált Candida fajok: a különböző fajokat fajspecifikus primerekkel azonosítottuk*

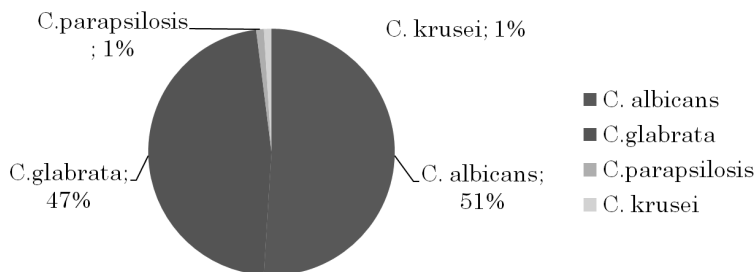
Az (1. diagram) alapján látható, hogy a tumoros felszínről származó minták túlnyomó többségében *C. albicans* és *C. glabrata* volt megtalálható. *C. krusei* és *C. parapsilosis* pedig csak elenyésző mértékben mutatott kolonizációt a tumoros léziók felszínén.

A (2. diagram) szemlélteti, hogy szájüregi tumoros beteg szájnyálkahártyájának ép felszínéről túlnyomó többségben *C. albicans*-t izoláltunk. Elenyésző mértékben voltak jelen más *Candida* fajok is, mint például a *C. glabrata* és a *C. parapsilosis*.

Vizsgáltunk olyan szájkenet mintákat is, amelyek egészséges önkéntesektől származtak. A (3. diagram) az ebből származó eredményeket mutatja. Ezen mintáinkból csak *C. albicans*-t és *C. parapsilosis*-t mutattunk ki.

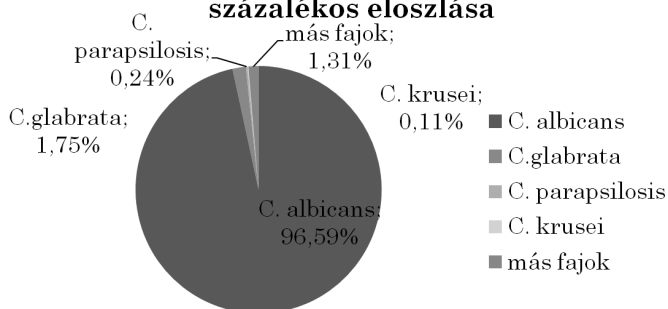
Ezen felül a kolonizaképző egység vizsgálatok rámutattak arra, hogy a tumoros felszínen magasabb a *Candida* kolonizáció mértéke.

### Tumoros felszínről származó minták telepeinek százalékos eloszlása



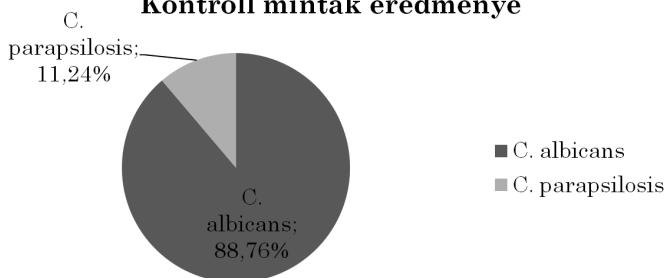
1. diagram: A tumoros felszínről izolált *Candida* fajok egymáshoz viszonyított százalékos aránya

### Ép felszínről származó minták telepeinek százalékos eloszlása



2. diagram: Tumoros szájüreg ép felszínről izolálható *Candida* fajok egymáshoz viszonyított százalékos eloszlása

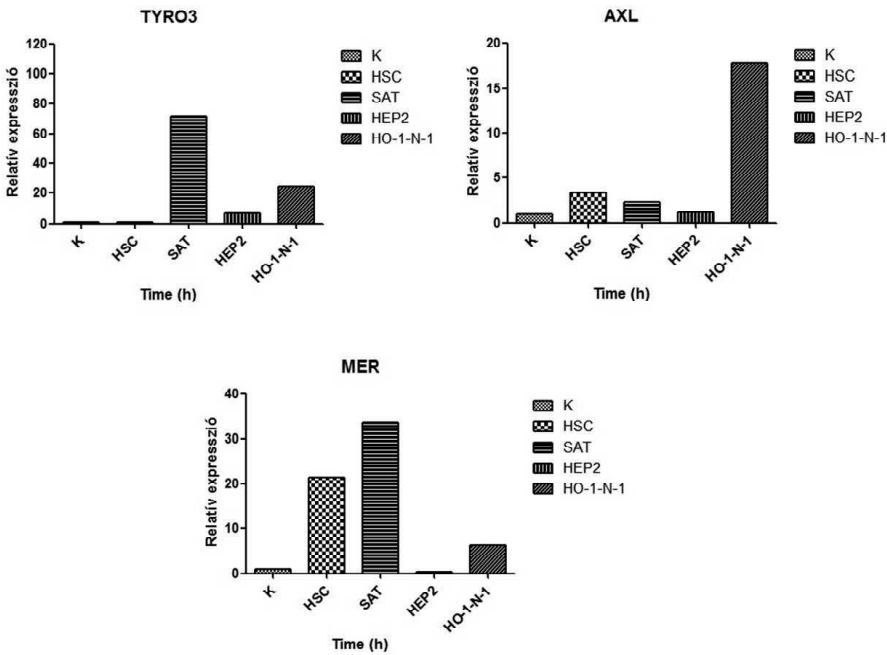
### Kontroll minták eredménye



3. diagram: Egészséges önkéntesektől származó szájkenet mintákból izolált *Candida* fajok

*TAM receptor expresszió: az expresszáldó TAM receptorok mennyiségét kvantitatív real-time PCR technika segítségével határoztuk meg.*

A kontroll az ínyből származó primer sejt volt. Eredményünket a (4. diagram) mutatja. Az egészséges sejtekhez képest a tumoros sejtek jóval több receptort fejeztek ki, ezen kívül azt is megfigyelhetjük, hogy a különböző helyről izolált sejtek más-más receptort fejeznek ki a három típusból. A HSC és SAT sejtek Mer-t expresszáltak a legnagyobb mértékben, a HO-1-N-1 AXL-t fejezett ki leginkább, viszont a HEP-2 egyik receptortípusból sem fejezett ki többet, mint a kontroll.



**4. diagram: A különböző OSCC sejtvonalak és primer sejt TAM receptor kifejezése**

*TAM receptor expresszió Candida törzsekkel történő stimulációt követően*

A különböző sejtvonalakat, 4, 12, 18 órás időtartamokon keresztül stimuláltuk a *Candida albicans*-szal, *Candida metapsilosis*-szal és a *Candida parapsilosis*-szal. Ezután RNS kivonást végeztünk és kvantitatív real-time PCR-rel meghatároztuk a TAM receptor expresszió mértékét. Az első mintahely volt a kontroll, amelybe nem tettünk gombát. Ezen eredményeinkből megfigyeltük, hogy mind a TYRO3 és az AXL receptor kifejeződése megemelkedik a *Candidá*-k jelenlétében.

## Összefoglalás

Eddigi munkánk összefoglalásaként elmondható, hogy szájjüregi nyálkahártyáról *Candida albicans*-t izoláltunk a legnagyobb mennyiségben és a tumoros szájjüregben magasabb *Candida* kolonizációt figyeltünk meg. Kimutattuk a TAM receptorok nagyobb mértékű kifejeződését szájjüregi tumoros sejtekben, egészséges sejtvonalakhoz képest. Megfigyeltük, hogy *Candida* gombák hatására még nagyobb mértékű volt a receptorok kifejeződése a sejteken, ennek mértéke viszont függ a receptor és a sejt típusától is.

## Irodalom

- AVILLA ET AL. 2011 = Avilla, Elvira – Guarino, Valentina – Visciano, Carla – Liotti, Federica – Svelto, Maria – Krishnamoorthy, GnanaPrakasam – Franco, Renato – Melillo, Rosa Marina: Activation of TYRO3/AXL Tyrosine Kinase Receptors in Thyroid Cancer. *Cancer Research* 71 (2011) 1792–1804.
- BAKRI ET AL. 2010 = Bakri, Marina Mohd –Hussaini, Haizal Mohd – Holmes, Ann Rachel – Cannon, Richard David – Rich, Alison Mary : Revisiting the association between candidal infection and carcinoma, particularly oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral Microbiology* 2 (2010) 5780.
- DENG ET AL. 2011 = Tingting Deng, Tingting – Zhang, Yue – Chen, Qiaoyuan – Yan, Keqin – Han, Daishu: Toll-like receptor-mediated inhibition of Gas6 and ProS expression facilitates inflammatory cytokine production in mouse macrophages. *Immunology* 135 (2011) 40–50.
- LEMKE – ROTHLIN 2008 = Lemke, Greg – Rothlin, Carla V.: Immunobiology of the TAM receptors. *Nature Reviews Immunology* 8 (2008) 327–336.
- LINGER ET AL. 2008 = Linger, Rachel M. A. – Keating, Amy K. – Earp, H. Shelton – Graham, Douglas K.: TAM Receptor Tyrosine Kinases: Biologic Functions, Signaling, and Potential Therapeutic Targeting in Human Cancer. *Advances in Cancer Research* 100 (2008) 35–83.
- LU – LEMKE 2001 = Lu, Qingxian – Lemke, Greg: Homeostatic Regulation of the Immune System by Receptor Tyrosine Kinases of the Tyro 3. Family *Science* 293 (2001) 306–311.
- LU – LI – LU 2010 = Lu, Qingxian – Li, Qitang –Lu, Qingjun: Regulation of phagocytosis by TAM receptors and their ligands. *Frontiers in Biology* 5 (2010) 227–237.

- MICELI – DÍAZ – LEE 2011 = Miceli, Marisa H. – Díaz, José A. – Lee, Samuel A.: Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infectious Diseases* 11 (2011) 142–151.
- NETEA ET AL. 2008 = Netea, Mihai G. – Brown, Gordon D. – Kullberg, Bart Jan – Neil A. R. Gow, Neil A. R.: An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nature Reviews Microbiology* 6 (2008) 67–78.
- RAJU – RAJAPPA 2011 = Raju, Smitha Byadarahally – Rajappa, Shashanka: Isolation and Identification of *Candida* from the Oral Cavity. *ISRN Dentistry* (2011)
- ROTHLIN – LEMKE 2010 = Rothlin, Carla V. – Lemke, Greg: TAM receptor signaling and autoimmune disease. *Current Opinion in Immunology* 26 (2010) 740–746.
- SCHULZE – SONNENBORN 2009 = Schulze, Jürgen – Sonnenborn, Ulrich: Yeasts in the Gut: From Commensals to Infectious Agents. *Deutsches Ärzteblatt International* 106 (2009) 837–842.
- SEN ET AL. 2007 = Sen, Pradip – Wallet, Mark A. – Yi, Zuoan – Huang, Yingsu – Henderson, Michael – Mathews, Clayton E. – Earp, H. Shelton – Matsushima, Glenn – Baldwin Jr., Albert S. – Tisch, Roland M.: Apoptotic cells induce Mer tyrosine kinase-dependent blockade of NF- $\kappa$ B activation in dendritic cells. *Blood* 109 (2007) 653–660.
- VERMA – WARNER – VANKAYALAPATI 2011 = Verma, Anupam – Warner, Steven L. – Vankayalapati, Hariprasad: Targeting Axl and Mer Kinases in Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics* 10 (2011) 1763–1773.
- YANG 2003 = Yang, Yun-liang: Virulence factors of *Candida* species. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 36 (2003) 223–228.

### **Internetes források**

- <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/oral/incidence/uk-oral-cancer-incidence-statistics#geog> (2014.04.11. 22:53)
- <https://www.youtube.com/watch?v=au1BhM9DP2c> (2014.04.13. 10:35)
- [http://en.wikipedia.org/wiki/Candida\\_\(fungus\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Candida_(fungus)) (2014.04.13. 12:44)
- <http://www.antimicrobe.org/new/f14.asp> (2014.04.13. 13:12)
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Candidiasis> (2014.04.13. 13:15)

<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003139-pdf.pdf>  
(2014.04.13. 13:19)

<http://www.upf.br/seer/index.php/rfo/article/viewFile/1023/578>  
(2014.04.13. 13:27)

## The role of TAM receptors and the occurrent relationship between the receptors and *Candida* species

HENRIETTA PAPP

In the oral cavity, candidiasis is the most frequent opportunistic fungal infection. Interestingly, there is growing evidence for *Candida* species being implicated in various epithelial cancers, which leads to our hypothesis that alteration in immune regulatory receptors may contribute to increased interactions of oral carcinomas and *Candida*. Hence, we investigated the relationship between Tyro3/Axl/Mer (TAM) expression in oral squamous cell carcinoma (OSCC) and fungal colonization. Mammalian TAM receptors are a family of receptor tyrosine kinases that have been shown to down-regulate TLR signaling. In addition to their roles in limiting TLR and cytokine signaling, TAM receptors play critical role in mediating cancer cell proliferation, invasiveness, and survival. To define the association of *Candida* with OSCC, samples from patients with newly diagnosed disease were obtained from the central surface of the lesions and from contiguous healthy mucosa and processed to define the fungal tissue burdens. The median number of colony forming units (CFU)/mL at carcinoma sites was significantly higher than that of the healthy mucosa in the same patient. Similar results were obtained when we compared the CFU in patients with OSCC to the CFUs on samples of healthy volunteers. *C. albicans* was the predominant species in the oral cavity, followed by *C. glabrata* and *C. parapsilosis*. Afterwards, we examined the TAM receptor expression in in vitro samples. First we compared the TAM receptor activation in the OSCC cell lines (SAT, HO-1-N-1, HEP2, HSC2) with that of healthy primer human gingival epithelium cells, with or without *Candida* co-culture. We show that OSCC cells significantly overexpress TAM receptors, especially TYRO 3 and MER, compared to healthy control cells. Additionally, co-cultures with different *Candida* strains induced higher TAM expression in both cancer and normal cell lines. These findings further support a link between OSCC and *Candida* as well as suggest that this association may be specifically linked to expression of TAM receptors along with other unexplored co-factors.