



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Canine Transmissible Venereal Tumour

Hur en tumör kan vara smittsam

Oskar Eriksson

*Uppsala
2017*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2017:17

Canine Transmissible Venereal Tumour

Hur en tumör kan vara smittsam

Oskar Eriksson

Handledare: *Eva Hellmén, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi*

Examinator: *Eva Tydén, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Omfattning: *15 hp*

Nivå och fördjupning: *grund nivå, G2E*

Kurstitel: *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

Kurskod: *EX0700*

Program: *Veterinärprogrammet*

Utgivningsort: *Uppsala*

Utgivningsår: *2017*

Serienamn: *Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen*

Delnummer i serie: *2017:17*

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *CTVT, smittsam könstumör, hund, tumör*

Key words: *CTVT, transmissible venereal tumour, dog, canine, tumour*

INNEHÅLL

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	4
Tumörens etiologi	4
Tillväxtfas, P-fas	4
Regressionsfas, R-fas	4
Individens immunförsvar	5
Undvikandet av immunförsvaret	5
Major Histocompatibility Complex, MHC klass I & II	5
Immunsuppressiva cytokiner	6
Karakteristiska mutationer	6
DISKUSSION	7
LITTERATURFÖRTECKNING	9

SAMMANFATTNING

Canine Transmissible Venereal Tumour (CTVT) är en unik smittsam tumörsjukdom. Likt en parasit är den naturligt överförbar mellan individer inom familjen *Canidae* via transplantation av levande tumörceller, framför allt genom parning. Ursprunget anses vara en och samma neoplastiska klon som uppstod flera tusen år tillbaka och som än idag kontinuerligt förökar sig genom att överföras till nya värdar. Denna enastående överlevnadsstrategi beror på många olika mekanismer. Några av dessa finns beskrivna i flertalet studier, och andra förblir ofullständigt kartlagda.

Den största bedriften är hur immunförsvaret kan nedregleras och undgås till den nivå att tumörcellerna inte avstöts, vilket sker vid normal transplantation av kroppsfrämmande vävnad. Tidigare antogs att ett oncogent virus skulle vara orsaken bakom sjukdomen. Denna teori har på grund av bristande evidens dock övergivits eftersom viruspartiklar inte har kunnat påvisas i samband med tumören.

Denna litteraturstudie syftar till att försöka fastställa de mekanismer som gör det möjligt för en tumör att vara smittsam, med CTVT som utgångspunkt. CTVT är den mest studerade av de naturligt förekommande smittsamma tumörerna och beskrevs så tidigt som år 1876.

Genom att studera tumörens etiologi, kända mutationer och egenskaper drogs slutsatsen att de egenskaper som främst möjliggör för smittsamheten hos CTVT är regleringen av Major histocompatibility complex I och II (MHC-I & II) på cellytan samt produktionen och utsöndringen av den immunosuppressiva cytokinen Transforming growth factor beta (TGF- β). TGF- β produceras lokalt i höga koncentrationer och stimulerar tillväxt, angiogenes och skyddar mot infiltration av cytotoxiska T-celler och Natural killer-celler (NK-celler) genom att nedreglera deras aktivitet och minska tumörcellernas MHC-uttryck. I tillväxtfasen är avsaknaden av MHC typ I och II nästintill fullständig bland tumörcellerna. Avsaknaden av MHC-I leder till att cytotoxiska T-celler misslyckas att identifiera och infiltrera tumörcellerna som då undviker inducerad apoptos. Under regressionsfasen ökar dock tumörcellernas uttryck av MHC-I och II-molekyler på ytan från ca 3 % till över 30 %. När främmande MHC-II-molekyler presenteras triggas kroppens specifika immunförsvaret och antikroppar mot tumörcellerna börjar produceras.

Genomet i CTVT är lika varandra oavsett ursprung men skiljer sig markant från värdens eget genom. Dessutom finns en rad karaktäristiska mutationer som framförallt berör tumörens generella kondition och konkurrenskraft. Det rör sig om en LINE-1-insertion vid proto-oncogenen *c-myc*, som används som en diagnostisk markör för att fastslå CTVT, mutationer i kända tumörsuppressorgener som p53 och CDKN2A m.fl., samt horisontellt upptag av mitokondrie-DNA (mtDNA) från friska värdceller.

SUMMARY

Canine Transmissible Venereal Tumour (CTVT) is a unique contagious tumour disease. Like a parasite, it is naturally transmissible between individuals within the family *Canidae* through transplantation of living tumour cells, particularly through *coitus*. The lineage is considered to be a single neoplastic clone that occurred thousands of years ago, which still multiply continuously through transfer to new hosts today. This outstanding survival strategy depends on numerous different mechanisms, many of which are described, and others which are yet to be fully understood.

The main achievement is the ability to avoid and down regulate the immune system at such a level that the tumour cells are not rejected, which occurs in normal transplantation of foreign tissue. Previously it was assumed that an oncogenic virus could be the cause behind the disease. This theory, however, was abandoned due to lack of evidence, since no virus particles have been associated with the tumour.

The aim of this study was to determine the mechanisms that make it possible for a tumour to be contagious, with CTVT as a base. CTVT is the most studied of the naturally occurring infectious tumours, and was described as early as year 1876.

By studying the tumour etiology, known mutations and characteristics it was concluded that the most important characteristics that enables the infectiousness of CTVT are regulation of Major histocompatibility complex I and II (MHC-I & II) expression on the cell surface and the production and secretion of the immunosuppressive cytokine Transforming growth factor beta (TGF- β). TGF- β is produced locally in high concentrations and stimulates growth, angiogenesis and protects against infiltration by cytotoxic T cells and Natural killer cells (NK-cells) by down-regulating their activity and reduce tumour cell MHC expression. In the growth phase, the lack of MHC type I and II is almost complete among tumour cells. The absence of MHC-I leads to failure in identifying and infiltrating the tumour cells by cytotoxic T cells, resulting in avoided apoptosis. During the regressive phase, there is an increase in tumour cell expression of MHC-I and II molecules on the surface from about 3% to over 30%. When the foreign MHC-II molecules are presented it triggers the body's specific immune system and antibodies against tumour cells are produced.

The genome in CTVT is similar regardless of origin though different from the host's own. In addition, there are several characteristic mutations present that primarily affect the tumour's general fitness. The case of a LINE-1 insertion at the proto-oncogene *c-myc*, which is used as a diagnostic marker to determine CTVT, and mutations in known tumour suppressor genes such as p53 and CDKN2A etc., and horizontal transfer of mitochondrial DNA (mtDNA) from healthy host cells.

INLEDNING

”Smittad av cancer” är nog inte den vanligaste termen associerad med insjuknande i olika tumörsjukdomar. Generellt sett uppstår, och dör, en tumör inom en och samma individ. Det finns dock ett fåtal uppmärksammade undantag som lyckats kringgå de barriärer som normalt förhindrar överföring av celler mellan individer och på så sätt kunnat smitta från en tumörsjuk individ till en frisk individ: smittsam könstumör hos hund (CTVT), ansiktstumör hos tasmansk djävul (DFTD), smittsam leukemi hos musslor, samt en smittsam tumör hos syrianska hamstrar (Ostrander *et al.*, 2016; Ujvari *et al.*, 2016). Syftet med denna litteraturstudie är att med CTVT som utgångspunkt försöka reda ut och framföra de olika mekanismer som gör det möjligt för en tumör att vara smittsam.

CTVT är den mest studerade av dessa smittsamma tumörsjukdomar och benämns som den ”äldsta cellhärstamningen som kontinuerligt förökas”, och tros vara mellan några få hundra år till 11 000 år gammal (Ostrander *et al.*, 2016; Strakova *et al.*, 2016; Murgia *et al.*, 2006). Sjukdomen har observerats i över 200 år och beskrevs initialt av Novinski år 1876 som bevisade tumörcellernas smittsamma överföring genom att gnida en exponerad tumör från en sjuk hund mot den genitala mucosan på en frisk hund (Ostrander *et al.*, 2016). Tumörcellerna smittar oftast från genitalia till genitalia mellan individer vid parning, men också till nosen och munnen via sniffande och slickande. Tumören metastaserar sällan, är sällan fatal och oftast sker en spontan regression hos en immunokompetent individ efter 3 – 9 månader (Siddle & Kaufman, 2015) och kemoterapi har visat sig vara ett mycket effektivt behandlingssätt (Gonzalez *et al.*, 2000).

Genetiskt avviker CTVT-cellerna med sina 57-59 kromosomer i jämförelse mot den normala karyotypen hos hund som består av 38 par plus könskromosomerna X och Y, dvs totalt 78 stycken (Thomas *et al.*, 2009). Utöver detta finns en anmärkningsvärt slående genetisk likhet mellan icke-relaterade tumörceller från olika individer, och att de genetiskt skiljer sig från sin värd (Murgia *et al.*, 2006).

Analyser av mikrosatelliter, mitokondrie-DNA och MHC-loci från 40 hundar från fem kontinenter visade att CTVT har ett gemensamt ursprung – nämligen en och samma neoplastiska klon, och att tumören efter så lång tid av selektion genomgår få förändringar för att överleva idag (Ostrander *et al.*, 2016).

MATERIAL OCH METODER

Söktermer: *Canine transmissible venereal tumour* OR *tumour*, *Canine transmissible venereal sarcoma*, *CTVT*, *CTVS*, *transmissible cancer* AND *canine* OR *dog* AND *transmission*
Översiktsartiklar har använts som källa då artikeln dessa refererat till inte varit tillgänglig, eller förekommit på andra språk än engelska.

Databas: PubMed

LITTERATURÖVERSIKT

Tumörens etiologi

Canine Transmissible Venereal Tumour (CTVT) beskrevs initialt ha ett histiocytiskt ursprung (mononukleär fagocyt) av Novinski redan 1876. Idag anses det bekräftat att tumörcellen har utvecklats från en monocyt/makrofag där det starkaste beviset är uttrycket av MHC-II-molekyler och en makrofagmarkör (Albanese *et al.*, 2002). Att tumörceller är naturligt överförbara som ett allograft (transplantation av celler inom en art) baseras på tre observationer. För det första kan bara CTVT experimentellt induceras genom att transplantera levande tumörceller, inte frysta- döda celler eller cellfiltrat. För det andra är karyotypen aneuploid och har karaktäristiska markörkromosomer i tumörer tagna från olika geografiska regioner. För det tredje har en LINE-1-insertion nära proto-oncogenen *c-myc* påträffats i alla studerade tumörer vilket kan användas som en diagnostisk markör av CTVT (Murgia *et al.*, 2006).

Tidigare studier från 60- och 70-talet har rapporterat om virusliknande partiklar i CTVT och att ett onkogen virus skulle spela en stor roll i tumörbildandet. Här saknas dock evidens i form av data som styrker påståendet (Murgia *et al.*, 2006; Cockrill & Beasley, 1975) då inga viruspartiklar har påträffats. Genom mikrosatellit- och DLA-typning (Dog Leukocyte Antigen) på tumörer insamlade över en period på 28 år drogs slutsatsen att ursprunget tros vara en gråvarg eller möjligen en hund av äldre ostasiatisk ras (Murgia *et al.*, 2006). Försök att datera ursprunget har gjorts och hypotesen att tumörcellen skulle vara mellan 200 – 2500 år (Murgia *et al.*, 2006) har dementerats av andra författare på grund av avsaknaden av molekyllär bevisning. Uppskattningen om att åldern istället skulle vara mellan 6000 – 11000 år, baserat på mikrosatellitanalyser, verkar istället vara den allmänt rådande uppfattningen (Ostrander *et al.*, 2016; Strakova *et al.*, 2016).

CTVT innehåller en rad kända mutationer i gener som har kopplats till utvecklingen av cancer där SETD2, CDKN2A och *c-myc* listas som gener där mutationer driver tumörutvecklingen. Dessutom antas att exponering av ultraviolett ljus kan ha bidragit till uppkomsten av tumörsjukdomen. Hypotesen stärks av nukleotidsubstitutioner i CTVT likt de som observerats i baspar i hudcancerfall som är associerade med UV-ljus (Murchison *et al.*, 2014).

CTVT genomgår en förutsägbar livscykel, där en initial tillväxtfas (P-fas), en stabil fas, och en regressionsfas (R-fas) går att urskilja (Ganguly *et al.*, 2016).

Tillväxtfas, P-fas

Den första fasen, P-fasen, karaktäriseras av aggressiv tillväxt under fyra till sex månader. Kring utkanten av den progressiva tumören finns ett högt antal mastceller och nybildning av blodkärl (Mukaratirwa *et al.*, 2006). Immunförsvaret misslyckas att kontrollera tillväxten genom tumörcellernas olika immunundvikande strategier. Under tillväxtfasen saknar CTVT-cellerna till största delen Major histocompatibility complex-uttryck av både klass I och II (MHC-I, II) och lymfocyter misslyckas att infiltrera tumörvävnaden (Siddle & Kaufman, 2013).

Regressionsfas, R-fas

När tillväxten börjar avta når tumören en stabil fas som varierar i längd, och en regressionsfas. Det är dock inte alla tumörer som spontant tillbakabildas. I regressionsfasen innehåller tumören

ett högre antal lymfocyter, varav de flesta är T-celler (Ganguly *et al.*, 2016). Under denna fas ökar även tumörcellernas uttryck av MHC-I & II-molekyler på ytan från ca 3 % i P-fasen till över 30 % i R-fasen. Det är vanligt att tumören når ett jämviktstillstånd då varken tillväxt eller regression sker. Denna stabila fas kan vara i månader, till och med år och resulterar i att tumören har möjlighet att spridas mellan individer under en lång tidsperiod (Siddle & Kaufman, 2013). Den stabila fasen kan övergå i en ny progressiv fas med ytterligare tillväxt och risk för metastasering (ovanligt), eller en regressionsfas och börja tillbakabildas (Murchison, 2008; Albanese *et al.*, 2002).

Individens immunförsvar

Vid infektion av CTVT aktiveras både det primära och sekundära immunförsvaret (Belov, 2011). Mastcellernas närvaro förmodas bidra till tumörens progression under P-fasen genom cellens inflammatoriska egenskaper och främjandet av angiogenes i området (Mukaratirwa *et al.*, 2006). Tumören infiltreras av T-celler, B-celler, plasmaceller och makrofager och mängden immunoreaktiva celler är signifikant högre i den stabila fasen och regressionsfasen än i den progressiva fasen (Pérez *et al.*, 1998). Neutrofila granulocyter och lymfocyter är de dominerande celltyperna i både P- och R-fasen. T-hjälparceller (CD4⁺) och cytotoxiska T-celler (CD8⁺) finns ofta närvarande kring, och i nära kontakt med tumörceller och blodkärl. Numerärt sett så är cytotoxiska T-celler (CTL) överrepresenterade i såväl den progressiva som i den regressiva fasen (Gonzalez *et al.*, 2000). Natural killer-cellernas (NK-celler) roll är inte helt utredd men det finns evidens som tyder på att deras aktivering är viktig i tumörbekämpningen (Fassati & Mitchison, 2010).

Undvikandet av immunförsvaret

Major Histocompatibility Complex, MHC klass I & II

MHC-molekyler spelar en central roll i försvaret vid infektiösa sjukdomar för att skilja kroppseget från främmande och generera ett immunförsvar. De två klasserna MHC-I och II är involverade i antigenpresentation där MHC-I finns uttryckt hos alla kärnförsedda celler och trombocyter, och MHC-II på antigenpresenterande celler som B-lymfocyter, vissa makrofager och monocyter, Langerhanska celler och dendritiska celler (Belov, 2011).

Vid transplantation av celler mellan genetiskt icke-identiska individer induceras normalt det primära immunförsvaret på grund av att MHC från donatorceller ses som kroppsfrämmande och avdödas (Belov, 2011). Den vanligaste immunundvikande mekanismen som uppkommer i tumörceller är just förlust av MHC-I-uttryck på cellytan (Algarra *et al.*, 2004).

CTVT har genom positiv och negativ selektion under tusentals år utvecklat en avancerad balansgång där uttrycket av MHC-I varierar i de olika livsstadierna för att på så sätt kunna undvika T-celler, som reagerar på uppvisandet av kroppsfrämmande MHC-I, och NK-celler som attackerar om MHC-I-uttryck saknas helt (Fassati & Mitchison, 2010). Tumörceller uttrycker en mycket högre mängd MHC-I under R-fasen (>30 % kontra <5 % i P-fasen). Även MHC-II-uttryck nedregleras under P-fasen (<5 %) för att senare under R-fasen återupptas (40 %) (Hsiao *et al.*, 2008). När främmande MHC-II-molekyler presenteras triggas kroppens specifika immunförsvar och antikroppar mot tumörcellerna börjar produceras.

Regressionsfasen går hand i hand med kroppens antikroppssvar som vidare associeras med utvecklandet av värdjurets immunitet mot att återigen bli smittad (Belov, 2011).

Immunsuppressiva cytokiner

Det finns bevis för att CTVT-celler själva producerar och utsöndrar en substantiell mängd av cytokinen Transforming growth factor beta (TGF- β) (Fassati & Mitchison, 2010; Marchal *et al.*, 1997). TGF- β i lokalt höga koncentrationer stimulerar tillväxt, angiogenes och har visats skydda tumörceller från CTLs och NK-celler, möjligen genom att nedreglera deras aktivitet och uttrycket av MHC-I och II (Hsiao *et al.*, 2004). Dessutom verkar tumörcellerna inte svara på Interferon gamma (IFN- γ) som utsöndras av CTLs som har som funktion att uppreglera genuttrycket för MHC klass I och II (Belov, 2011).

I R-fasen verkar produktionen av Interleukin 6 (IL-6) från infiltrerande T-celler och IFN- γ kontra effekterna av den immunsupprimerande TGF- β vilket leder till den ökning av MHC-uttryck som ses vid tillbakabildandet av tumörmassan (Hsiao *et al.*, 2008; Hsiao *et al.*, 2004). De proinflammatoriska cytokinerna IL-6 och IFN- γ kan också ha en positiv inverkan på den generella inflammationen som bidrar till regressionen (Siddle & Kaufman, 2015; Pai *et al.*, 2011).

Karaktäristiska mutationer

Genom genomsekvensering upptäcktes att CTVT har förvärvat 1,9 miljoner somatiska mutationer i form av substitutioner och tappat 646 gener. Detta kan jämföras med observerade humana fall där det totala antalet mutationer i majoriteten av cancerfallen ligger mellan 1000 – 5000 substitutioner (Murchison *et al.*, 2014). I genomet finns många kända proto-oncogener uttryckta, samt förluster av viktiga tumörsuppressorgener (Thomas *et al.*, 2009).

Bland de mest framstående genomiska förändringarna är förekomsten av en LINE1-insertion vid proto-oncogenen *c-myc* som kodar för en transkriptionsfaktor och har en kontrollerande roll i DNA-replikationen. Mutationen är en påvisat bevarad egenskap till den nivå att den används som en diagnostisk markör specifikt för CTVT (Thomas *et al.*, 2009). Segmentet är identiskt i storlek och nukleotidplats på *c-myc* bland analyserade tumörer vilket förespråkar överföring av just en muterad cell snarare än en mutation som sker på plats i värden (Amariglio *et al.*, 1991).

Horisontell överföring av mitokondrie-DNA (mtDNA) från normala celler till tumörceller har bevisats förekomma i CTVT. Det föreslås att anledningen till detta skulle vara mutationer i tumörcellernas egna mtDNA som lett till begränsad funktionalitet, och att det tillsammans med en hög metabolism skapat en flaskhals och därmed ett behov av fullständigt fungerande mitokondrier. Genom att tillgodose sig med mtDNA från normalt fungerande celler har tumörcellerna kunnat reparera brister och optimera det metaboliska maskineriet (Strakova *et al.*, 2016; Rebbeck *et al.*, 2011).

P53 är en viktig tumörsuppressorgen associerad med tumörutveckling hos djur och människor (Sánchez-Servín *et al.*, 2009). Mutationer i p53-genen är vanligt förekommande och CTVT är inget undantag. Proteinet p53 spelar en central roll i upprätthållandet och underhållandet av genomets integritet och påverkar funktioner som apoptos och reglering av cellcykeln (Choi & Kim, 2002). Mutationer i genomet har resulterat i förluster av flera viktiga

tumörsuppressorproteiner. Bland dessa finns en homozygot deletion av CDKN2A, en gen som kodar för proteinerna p16 och p14arf som påverkar cellcykeln, en mutation i genen SETD2 vars protein också visats agera tumörsupprimerande (Murchison *et al.*, 2014) och en deletion som lett till förlust av suppressor genererna RB1 och PTEN (Thomas *et al.*, 2009).

DISKUSSION

Tusentals år av evolution har gjort att Canine Transmissible Venereal Tumour (CTVT) kan nedreglera och undgå immunförsvaret till den nivå att tumörcellerna initialt inte avstöts, vilket normalt sker vid transplantation av kroppsfrämmande vävnad (Ujvari *et al.*, 2016; Murgia *et al.*, 2006). Hur kan en tumör då vara smittsam?

MHC typ I och II spelar en avgörande roll i hur immunförsvaret skiljer kroppsegna celler från främmande (Belov, 2011). CTVT kan aktivt reglera uttrycket av dessa cellyteproteiner, och det varierar i de olika faserna (Fassati & Mitchison, 2010). CTVT genomgår en förutsägbar livscykel, där en initial tillväxtfas (P-fas), en stabil fas, och en regressionsfas (R-fas) går att urskilja (Ganguly *et al.*, 2016). I tillväxtfasen är avsaknaden av MHC typ I och II nästintill fullständig bland tumörcellerna. Avsaknaden av MHC-I leder till att cytotoxiska T-celler misslyckas att identifiera och infiltrera tumörcellerna som då undviker inducerad apoptos (Fassati & Mitchison, 2010; Algarra *et al.*, 2004). I detta fall borde NK-celler, som istället inaktiveras vid MHC-I-presentation, reagera och trigga apoptos hos tumörcellerna. NK-cellernas delaktighet är dock till dags dato inte helt utredd men tros nedregleras av tumörutsöndrade cytokiner (se nedan).

MHC-II interagerar med immunceller så som T-hjälparceller, vilka i sin tur utsöndrar proinflammatoriska cytokiner och aktiverar T-cellproliferation och antikroppsproducerande B-celler (Belov, 2011; Hsiao *et al.*, 2008). CTVT lyckas alltså under P-fasen rendera minimalt med uppmärksamhet genom att till största del undanhålla uttrycket av MHC typ I och II – därav den nästintill ohämmade aggressiva tillväxten.

Situationen är dock annorlunda i den regressiva fasen. Här återupptas uttrycket markant av både MHC-I och II på cellytan hos tumörcellerna (Hsiao *et al.*, 2008). Detta resulterar i en ökning av lymfocyter som infiltrerar tumörvävnaden, och aktivering av B-celler som differentierar till antikroppsproducerande plasmaceller (Gonzalez *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 1998). Varför detta sker beror troligtvis på att immunförsvaret med tiden lyckas tvinga fram MHC-uttrycket hos tumörcellerna genom den adderade cytokineffekt som uppstår av den ökade mängden immunceller i området. Det är dock inte alla tumörer som spontant tillbakabildas, och ett slags jämviktstillstånd, en stabil fas, uppstår och kan vara från månader till år. Denna variation beror troligtvis på individens immunkompetens.

CTVT producerar även den immunsuppressiva cytokinen TGF- β lokalt i höga koncentrationer (Fassati & Mitchison, 2010; Marchal *et al.*, 1997) som stimulerar tillväxt, angiogenes och skyddar mot infiltration av cytotoxiska T-celler och NK-celler genom att nedreglera deras aktivitet och minska tumörcellernas MHC-uttryck (Hsiao *et al.*, 2004). Produktionen av IFN- γ från närliggande och infiltrerande lymfocyter har som funktion att uppreglera uttrycket av MHC-I och II, men detta har dåligt gensvar hos tumörcellerna i tillväxtfasen (Belov, 2011). I

den regressiva fasen verkar de förhöjda nivåerna av de proinflammatoriska cytokinerna IL-6 och IFN- γ däremot kontra nivåerna av TGF- β vilket leder till den ökning som ses i uttrycket av MHC-I och II (Hsiao *et al.*, 2008; Hsiao *et al.*, 2004). Detta är troligen avgörande i tillbakabildandet av tumören och dess mer benigna karaktär då den sällan metastaserar.

Mastcellernas närvaro kring den progressiva tumören är betydligt högre än i den regressiva tumören. I både P- och R-fasen är angiogenesen positivt korrelerad med antalet mastceller vid tumörområdet (Mukaratirwa *et al.*, 2006). Mastceller utsöndrar en mängd olika tillväxtfaktorer som Fibroblast growth factor 2 (FGF-2), Vascular endothelial growth factor (VEGF), Transforming growth factor beta (TGF- β), Tumour necrosis factor alfa (TNF- α) och cytokinen Interleukin 8 (IL-8) (Ribatti *et al.*, 2004). Det är därför tänkbart att mastcellerna spelar en nyckelroll i tumörens progressiva fas där den aggressiva tillväxten är ett resultat av angiogenesen inducerad av de talrika mastcellerna och tumörcellernas egen produktion av TGF- β . Mastcellernas roll i tumörutvecklingen bör därför studeras vidare.

De mutationer som tagits upp under avsnittet *Karaktäristiska mutationer* verkar vara mer relaterade till tumörens uppkomst och tillväxt och inte nödvändigtvis till själva smittsamheten hos CTVT. Det handlar om mutationer i proto-oncogenen *c-myc* (Thomas *et al.*, 2009) och tumörsuppressorgenerna p53 (Sánchez-Servín *et al.*, 2009; Choi & Kim, 2002), SETD2 och CDKN2A (Murchison *et al.*, 2014) vars proteiner upprätthåller genomets integritet och som är inblandade i många andra kända tumör- och cancersjukdomar som i sin tur inte är överförbara. Horisontell överföring av mtDNA har påvisats mellan normala celler, och från normala celler till tumörceller. Dock är vikten av överföringen som ett nytt patofysiologiskt fenomen i tumörutveckling inte utredd (Berridge *et al.*, 2015). En studie kom till insikten att de mest skadande mutationerna inte förekom i mitokondriellt DNA i CTVT. Dessutom sågs en typ av rekombination mellan mtDNA från friska celler och tumörceller som inte tidigare har detekterats i cancer (Strakova *et al.*, 2016). Detta antyder att full funktionalitet är en betydande faktor i tumörutvecklingen. Betydelsen av den horisontella överföringen verkar enligt de studier som finns tillgängliga främst ha att göra med tumörcellernas generella kondition och konkurrenskraft, och har inte kopplats till själva smittsamheten.

Slutsatsen av denna litteraturstudie blir således att de egenskaper som främst möjliggör för smittsamheten hos CTVT är regleringen av MHC-I och II-uttryck på cellytan, produktionen och utsöndringen av den immunsuppressiva cytokinen TGF- β samt tumörens benigna karaktär. Vidare krävs fler studier på området. Det skulle bland annat vara intressant att utveckla mastcellernas roll vid tumörutvecklingen, betydelsen av mtDNA-överföring samt klargöra NK-cellernas funktion och betydelse ytterligare.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Albanese, F., Poli, A., Millanta, F. & Abramo, F. (2002). Primary cutaneous extragenital canine transmissible venereal tumour with Leishmania-laden neoplastic cells: a further suggestion of histiocytic origin? *Vet Dermatol* 13(5), 243-6.
- Algarra, I., García-Lora, A., Cabrera, T., Ruiz-Cabello, F. & Garrido, F. (2004). The selection of tumor variants with altered expression of classical and nonclassical MHC class I molecules: implications for tumor immune escape. *Cancer Immunol Immunother* 53(10), 904-10.
- Amariglio, E.N., Hakim, I., Brok-Simoni, F., Grossman, Z., Katzir, N., Harmelin, A., Ramot, B. & Rechavi, G. (1991). Identity of rearranged LINE/c-MYC junction sequences specific for the canine transmissible venereal tumor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88(18), 8136-9.
- Belov, K. (2011). The role of the Major Histocompatibility Complex in the spread of contagious cancers. *Mamm Genome* 22(1-2), 83-90.
- Berridge, M.V., Dong, L. & Neuzil, J. (2015). Mitochondrial DNA in Tumor Initiation, Progression, and Metastasis: Role of Horizontal mtDNA Transfer. *Cancer Res* 75(16), 3203-8.
- Choi, Y.K. & Kim, C.J. (2002). Sequence analysis of canine LINE-1 elements and p53 gene in canine transmissible venereal tumor. *J Vet Sci* 3(4), 285-92.
- Cockrill, J.M. & Beasley, J.N. (1975). Ultrastructural characteristics of canine transmissible venereal tumor at various stages of growth and regression. *Am J Vet Res* 36(5), 677-81.
- Fassati, A. & Mitchison, N.A. (2010). Testing the theory of immune selection in cancers that break the rules of transplantation. *Cancer Immunol Immunother* 59(5), 643-51.
- Ganguly, B., Das, U. & Das, A.K. (2016). Canine transmissible venereal tumour: a review. *Vet Comp Oncol* 14(1), 1-12.
- Gonzalez, C.M., Griffey, S.M., Naydan, D.K., Flores, E., Cepeda, R., Cattaneo, G. & Madewell, B.R. (2000). Canine transmissible venereal tumour: a morphological and immunohistochemical study of 11 tumours in growth phase and during regression after chemotherapy. *J Comp Pathol* 122(4), 241-8.
- Hsiao, Y.W., Liao, K.W., Chung, T.F., Liu, C.H., Hsu, C.D. & Chu, R.M. (2008). Interactions of host IL-6 and IFN-gamma and cancer-derived TGF-beta1 on MHC molecule expression during tumor spontaneous regression. *Cancer Immunol Immunother* 57(7), 1091-104.
- Hsiao, Y.W., Liao, K.W., Hung, S.W. & Chu, R.M. (2004). Tumor-infiltrating lymphocyte secretion of IL-6 antagonizes tumor-derived TGF-beta 1 and restores the lymphokine-activated killing activity. *J Immunol* 172(3), 1508-14.
- Marchal, T., Chabanne, L., Kaplanski, C., Rigal, D. & Magnol, J.P. (1997). Immunophenotype of the canine transmissible venereal tumour. *Vet Immunol Immunopathol* 57(1-2), 1-11.
- Mukaratirwa, S., Chiwome, T., Chitanga, S. & Bhebhe, E. (2006). Canine transmissible venereal tumour: assessment of mast cell numbers as indicators of the growth phase. *Vet Res Commun* 30(6), 613-21.
- Murchison, E.P. (2008). Clonally transmissible cancers in dogs and Tasmanian devils. *Oncogene* 27 Suppl 2, S19-30.
- Murchison, E.P., Wedge, D.C., Alexandrov, L.B., Fu, B., Martincorena, I., Ning, Z., Tubio, J.M., Werner, E.I., Allen, J., De Nardi, A.B., Donelan, E.M., Marino, G., Fassati, A., Campbell, P.J., Yang, F., Burt, A., Weiss, R.A. & Stratton, M.R. (2014). Transmissible [corrected] dog cancer genome reveals the origin and history of an ancient cell lineage. *Science* 343(6169), 437-40.

- Murgia, C., Pritchard, J.K., Kim, S.Y., Fassati, A. & Weiss, R.A. (2006). Clonal origin and evolution of a transmissible cancer. *Cell* 126(3), 477-87.
- Ostrander, E.A., Davis, B.W. & Ostrander, G.K. (2016). Transmissible Tumors: Breaking the Cancer Paradigm. *Trends Genet* 32(1), 1-15.
- Pai, C.C., Kuo, T.F., Mao, S.J., Chuang, T.F., Lin, C.S. & Chu, R.M. (2011). Immunopathogenic behaviors of canine transmissible venereal tumor in dogs following an immunotherapy using dendritic/tumor cell hybrid. *Vet Immunol Immunopathol* 139(2-4), 187-99.
- Pérez, J., Day, M.J. & Mozos, E. (1998). Immunohistochemical study of the local inflammatory infiltrate in spontaneous canine transmissible venereal tumour at different stages of growth. *Vet Immunol Immunopathol* 64(2), 133-47.
- Rebeck, C.A., Leroi, A.M. & Burt, A. (2011). Mitochondrial capture by a transmissible cancer. *Science* 331(6015), 303.
- Ribatti, D., Crivellato, E., Roccaro, A.M., Ria, R. & Vacca, A. (2004). Mast cell contribution to angiogenesis related to tumour progression. *Clin Exp Allergy* 34(11), 1660-4.
- Siddle, H.V. & Kaufman, J. (2013). A tale of two tumours: comparison of the immune escape strategies of contagious cancers. *Mol Immunol* 55(2), 190-3.
- Siddle, H.V. & Kaufman, J. (2015). Immunology of naturally transmissible tumours. *Immunology* 144(1), 11-20.
- Strakova, A., Ní Leathlobhair, M., Wang, G.D., Yin, T.T., Airikkala-Otter, I., Allen, J.L., Allum, K.M., Banske-Issa, L., Bisson, J.L., Castillo Domracheva, A., de Castro, K.F., Corrigan, A.M., Cran, H.R., Crawford, J.T., Cutter, S.M., Delgadillo Keenan, L., Donelan, E.M., Faramade, I.A., Flores Reynoso, E., Fotopoulou, E., Fruean, S.N., Gallardo-Arrieta, F., Glebova, O., Häfelin Manrique, R.F., Henriques, J.J., Ignatenko, N., Koenig, D., Lanza-Perea, M., Lobetti, R., Lopez Quintana, A.M., Losfelt, T., Marino, G., Martincorena, I., Martínez Castañeda, S., Martínez-López, M.F., Meyer, M., Nakanwagi, B., De Nardi, A.B., Neunzig, W., Nixon, S.J., Onsare, M.M., Ortega-Pacheco, A., Peleteiro, M.C., Pye, R.J., Reece, J.F., Rojas Gutierrez, J., Sadia, H., Schmeling, S.K., Shamanova, O., Ssuna, R.K., Steenland-Smit, A.E., Svitich, A., Thoya Ngoka, I., Vițălaru, B.A., de Vos, A.P., de Vos, J.P., Walkinton, O., Wedge, D.C., Wehrle-Martinez, A.S., van der Wel, M.G., Widdowson, S.A. & Murchison, E.P. (2016). Mitochondrial genetic diversity, selection and recombination in a canine transmissible cancer. *Elife* 5. 2016; 5: e14552.
- Sánchez-Servín, A., Martínez, S., Córdova-Alarcon, E. & Fajardo, R. (2009). TP53 Polymorphisms allow for genetic sub-grouping of the canine transmissible venereal tumor. *J Vet Sci* 10(4), 353-5.
- Thomas, R., Rebeck, C., Leroi, A.M., Burt, A. & Breen, M. (2009). Extensive conservation of genomic imbalances in canine transmissible venereal tumors (CTVT) detected by microarray-based CGH analysis. *Chromosome Res* 17(7), 927-34.
- Ujvari, B., Papenfuss, A.T. & Belov, K. (2016). Transmissible cancers in an evolutionary context. *Bioessays* 38 Suppl 1, S14-23.