> **AKADEMISKE AFHANDLINGER**

Læge Annette Haagerup:

The inheritance of type I allergy

The ITA Project

Emnet for denne doktordisputats er lokalisation af sygdomsgener for allergiske sygdomme som for eksempel astma, høfeber og børneeksem. Det kliniske arbejde foregik på børneafdelingerne i Herning, Viborg, Ålborg og Århus, på Lungemedicinsk Afdeling, Århus Kommunehospital, og Institut for Human Genetik, Aarhus Universitet, i perioden 1996-1997. Den eksperimentelle del blev udført på Institut for Human Genetik, Aarhus Universitet, fra 1997 til 2002. Disputatsen omfatter fem originale publikationer og en sammenfattende oversigt.

Projektets formål var at bidrage til den eksisterende viden om de arvelige faktorer, som betinger udvikling af allergiske sygdomme. Det samlede arbejde kan summeres i fire dele: 1) Opsporing, indsamling, fænotypning og beskrivelse af 100 danske familier, 424 individer, med type I-allergi. 2) Udvikling og optimering af et forskningsværktøj bestående af 446 højinformative mikrosatellitmarkører til primær genomscanning. 3) Genomscanning, efterfulgt af en finmætning af de udpegede kandidatområder, og evaluering af fem fænotyper i 2.630 loci. 4) Undersøgelse af fire allergikandidatgener, Il4Rα, TNF-β, FcER1β og Il2, ved hjælp af kobling og/eller association.

Disputatsen sammenfatter resultaterne, som identificerer områder i arvemassen, der med sandsynlighed rummer risikogener for allergisk astma, allergisk rinitis, atopisk dermatitis, total og specifik IgE. Nogle af kandidatområderne er nye og andre bekræftende for resultater fra andre studier. Resultaterne vil kunne danne grundlag for dansk forskning i allergigenetik i årene fremover. Perspektivet vil være bestemmelse af individuelle genetiske varianter til forfinet diagnostik, kendskab til individuel medicinrespons på en given dosis og udvikling af nye typer medicin med helbredende virkning.

Forf.s adresse: Lindholmvej 9, Emborg, DK-8680 Ry.
E-mail: ah@humgen.au.dk
Forsvaret finder sted den 25. februar 2005, kl. 14.00, Auditorium 424, Anatomisk Institut, Aarhus Universitet.
Opponenter: *Arne Svejgaard, Flemming Pociot* og professor *Mogens Kilian*.

Læge Kirsten Grønbæk:

Molecular mechanisms of lymphomagenesis

From single genes to molecular pathways with implications for phenotype and prognosis

Doktordisputatsen består af otte originalarbejder og en sammenfattende oversigt. Disputatsen udgår fra Cancergenetisk Laboratorium, Kræftens Bekæmpelse, og de Patologiske Institutter på H:S Rigshospitalet og Amtssygehuset i Herlev.

De seneste årtier har der været en markant stigning i forekomsten af non-Hodgkin lymfom (NHL), og da mere end halvdelen af patienterne fortsat ikke helbredes, er der behov for udvikling af nye behandlingsmetoder. En forudsætning herfor er en indgående forståelse af de biologiske mekanismer, der ligger til grund for udviklingen af NHL. Hovedformålet med dette studie var at identificere molekylære defekter ved NHL og deres mulige betydning for sygdommens patogenese og prognose.

Ved at undersøge en række gener involveret i programmeret celledød (apoptose) fandt vi, at molekyler, som var placeret ved initieringen af den apoptotiske kaskade (fx Fas), ofte var forandrede i NHL, mens komponenter længere nede i signalvejen sjældent var. En stor del af de Fas-muterede lymfomer var associeret med ekstranodale lymfom-manifestationer og autoimmun sygdom. Da Fas er involveret i fjernelsen af autoreaktive lymfocytter, foreslår vi, at Fas-muterede lymfocytter kan give anledning til en præmalign autoimmun læsion, som ved successiv ophobning af genetiske defekter kan transformeres til et malignt lymfom.

Et nøglepunkt i reguleringen af cellevækst er overgangen fra G1- til S-fase i cellecyklus, idet passage af dette punkt irreversibelt fører til celledeling. Vi fandt, at samtidig ødelæggelse af to tumorsuppressor-signalveje, som begge regulerer overgangen fra G1- til S-fase, *p16*^{INK4A} og *ARF-TP53*, er forbundet med en særdeles dårlig prognose, mens ødelæggelse af de enkelte signalveje hver for sig ikke er.

For at bevare genomet intakt har cellen en række overvågningsmekanismer, som kontrollerer, om der opstår mutationer i generne. ATM-molekylet har sådan en overvågningsfunktion, idet det registrerer brud på dobbeltstrenget DNA og beskytter cellen mod at replikere det defekte DNA. Vi fandt, at somatiske ATM-mutationer i NHL ofte var associeret med defekter i *ARF-TP53*-signalvejen. Vi fandt det ligeledes sandsynligt, at visse nedarvede varianter af ATM kan prædisponere til NHL.

Vore studier tyder på, at undersøgelse af relativt få essentielle molekylære signalveje kan forbedre klassifikation og prognosticering af maligne lymfomer. I de fleste tilfælde findes der ingen simple molekylære markører, som kan skelne mellem klinisk forskellige lymfomundertyper. En sådan differentiering kræver typisk en integreret vurdering af flere forskellige molekylære signalveje. Der er håb om, at den større

forståelse af de molekylære mekanismer ved NHL kan føre til udvikling af nye effektive farmaka, som retter sig mod de molekylære læsioner, der er specifikke for lymfomcellerne.

Forf.s adresse: Cancergenetisk Laboratorium, Institut for Biologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse, Strandboulevarden 49, DK-2100 København Ø.
E-mail: kig@cancer.dk
Forsvaret finder sted den 4. marts 2005 kl. 14.00, Auditorium A, Teilum-bygningen, Frederik V's vej 11, København.
Opponenter: *Arne Svejgaard* og *Stephen Hamilton Dutoit*.

Reservelæge Lars U. Fokdal:

Radical radiotherapy in bladder cancer prognostic variables for survival, morbidity, and target volume definitions

Ph.d.-afhandlingen består af fire publicerede artikler, der fokuserer på kurativ strålebehandling for blærecancer.

Det første arbejde er en retrospektiv gennemgang af 292 patienter, der har modtaget kurativ strålebehandling i Onkologisk Afdeling, Århus Kommunehospital, i perioden 1994 til 2002. Der blev fundet komplet respons hos 52% af patienterne og en 3- og 5-års-overlevelse på henholdsvis 31% og 21%. Analyse af prognostiske variable viste, at *performance status* ($p < 0{,}01$), TURB ($p < 0{,}01$), hydronefrose ($p = 0{,}01$), T-stadie ($p = 0{,}02$), samt serum-kreatinin ($p = 0{,}03$) var uafhængige prognostiske variable for overlevelsen.

I det andet arbejde blev sen morbiditet efter strålebehandlingen belyst. 14% af patienterne rapporterede moderate eller svære ændringer i blærefunktionen. 29% rapporterede moderate til svære gener fra mave-tarm-kanalen. Blandt de udspurgte mænd i undersøgelsen angav 25% moderate til svære ændringer i deres seksuelle funktion.

I det tredje arbejde undersøgte vi forekomsten af sen morbiditet i relation til stråledosis til kritiske normalvæv. For rectum og analkanal blev der fundet en signifikant sammenhæng mellem stråledosis og sen morbiditet, hvilket indikerer, at disse organer så vidt muligt bør skånes under strålebehandlingen.

I det fjerde arbejde undersøgte vi bevægelse af *target* i form af tumor og blære ved varierende fyldningsgrad af blære og rektum. Target bevæger sig især i anterior og kraniel retning. For at reducere risikoen for at underdosere en del af target på grund af organbevægelse, er de marginer, der anvendes ved strålebehandling i Onkologisk Afdeling, Århus Sygehus, blevet modificeret.

Forf.s adresse: Strandparken 22, st. tv, DK-8000 Århus C.
E-mail: Larsf@as.aaa.dk
Forsvaret finder sted den 24.februar 2005, kl. 14.00, Auditorium M, Bygning 3, 2., Århus Sygehus, Nørrebrogade 44, Århus.
Bedømmere: *Cai Grau, Lisa Sengeløv* og *Svend Aage Engelholm*.
Vejledere: *Hans von der Maase, Morten Høyer* og *Peter Meldgaard*.

Læge Christine Dahl:

Cultured human mast cells

Ph.d.-afhandlingen er udarbejdet under min ansættelse som klinisk assistent ved Børneafdelingen på Skejby Sygehus i perioden 1998 til 2002.

Afhandlingen består af en oversigt og to artikler, som omhandler den humane mastcelle.

Den humane mastcelle er en knoglemarvsderiveret celle. Denne celle findes overalt i kroppen, i bindevæv og på slimhinder, hvor de ofte er placeret tæt på blodkar og perifere nerver.

Den allergiske reaktion initieres af en degranulering af mastcellen efter krydsbinding af IgE-receptoren Fc∈RI, via et allergen. Samtidig er mastcellen central i det medfødte og erhvervede immunforsvar, i angiogenese og menes også at være involveret i sårheling og remodellering af væv.

Da mastcellen ikke findes i blodet og den er vanskelig at isolere fra væv, har undersøgelse af denne centrale celle været vanskelig.

I cellekulturer suppleret med serum fra begyndelsen af dyrkningsperioden var udbyttet af mastceller meget lille. I modsætning til dette var celleudbyttet i serumfri kulturer stort, men disse celler udviklede ikke karakteristika som modne mastceller. Der var således ingen histaminfrigivelse efter anti-IgE-stimulation og cellerne udtrykte ikke Fc∈RI.

Vi har udviklet et dyrkningssystem, hvor vi ved at kombinere serumfrie og serumholdige betingelser har været i stand til at dyrke et stort antal modne og funktionelle mastceller fra $CD34^+$-celler fra navlesnorsblod.

Cellerne er vist at udtrykke Fc∈RI (35%), frigive 35% af deres histamin efter anti-IgE-stimulation, de udtrykker tryptase (96,7%) og chymase (35,7%) og er mononukleære.

Vi har yderligere karakteriseret disse celler gennem deres udvikling, og fundet, at humane mastceller kan dyrkes fra $CD34^+/CD117^+/CD13^+/CD33^+$-stamceller som er tryptase, chymase og Fc∈RI-negative.

Forf.s adresse: Ormslevvej 293, DK-8260 Viby J.
E-mail: christine.dahl@ki.au.dk
Forsvaret finder sted den 25. februar 2005, kl. 14.00, auditorium B, Skejby Sygehus.
Bedømmere: *Peter Ebbesen*, *Anders Milner* og *Else Tønnesen*.
Vejledere: *Peter Oluf Schiøtz, Henrik Vendelbo Nielsen* og *Thomas Ledet*.