

Apoptosis and proliferation in basal cell carcinoma

Citation for published version (APA):

Tilli, C. (2003). *Apoptosis and proliferation in basal cell carcinoma*. Universiteit Maastricht.

Document status and date:

Published: 01/01/2003

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Basal Cell Carcinoma (BCC) is a non-melanoma type of skin cancer that accounts for almost 80% of all skin malignancies and is the most common malignancy among Caucasians. Since apoptosis and proliferation are two important processes to be considered when studying growth characteristics of tumor, this thesis mainly concentrates on the (dis)balance between these two phenomena in BCC.

In the **first chapter** the molecular cell biology of BCC is being reviewed. Clinical features and the risk factors are discussed. Next to the obvious environmental risk factors such as exposure to sunlight and toxic agents, there are a number of genetically determined factors. Several syndromes exist, like Xeroderma Pigmentosum and Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome, that may lead to a higher susceptibility for the development of BCC. Also immuno-suppression seems to play a major part in predisposing for the development of skin cancer. A subject of major interest is the origin of the tumor. There are several arguments for an inter-follicular epidermal origin, but most evidence points towards an origin from the hair follicle, and more specifically, the stem cells of the follicle, located in the bulge area.

Therefore, in the **second chapter** the human hair follicle is studied immunohistochemically, using the stem cell marker cytokeratin 19 and the apoptosis-suppressing protein Bcl-2, to detect the localization of the stem cells. It seems that indeed two areas exist that may provide these cells. When the BCCs are studied for the expression pattern of Bcl-2 (**chapter 3.1**), we see that the tumors express this apoptosis-regulating protein homogeneously. Remarkably however, the apparently normal epidermis overlying BCC also shows an enhanced expression of Bcl-2, in contrast with a strict basal cell localization in the healthy epidermis. This suggests that superficial tumors may arise from the basal cells, whereas the nodular and morphea type may originate from the hair follicles, and may explain why both epidermis and hair follicle show comparable patterns of expression for some proteins such as cytokeratins and cell adhesion molecules. This is also found in the study using other Bcl-2 like proteins (**chapter 3.2**), where BCCs show a basal cell-like phenotype and the overlying epidermis again shows an intermediate expression pattern between normal epidermis and BCC. Whether this phenomenon is induced by factors originating from BCC or can be regarded as a first step in skin carcinogenesis remains to be established.

In **chapter 4** the differential expression patterns of nuclear lamins, which are related to differentiation and proliferation, are shown in different stages of skin cancer. Significant changes occur in the expression patterns of A-type lamins in both pre-malignant and malignant lesions of the skin. The profound overlap of staining patterns of lamin A and the proliferation marker Ki-67 indicates that the proliferating tumor cells may obtain a certain degree of differentiation. Also, lamin A expression in the basal cell layer of the apparently normal epidermis

overlying BCC again suggests its involvement in the primary process. Furthermore, a sequence of four stages in the development of BCC is revealed by different patterns of A-type lamin expression. Stage 1 is represented by a high incidence of lamin A negative, Ki-67 positive tumors. As the tumor progresses to stage 2, lamin A expression is upregulated. During these two first stages the tumor shows a high degree of proliferation. When growth slows down in stage 3, lamin C expression is first relocated to the nucleoli and subsequently its expression is largely diminished during stage 4, the stage at which the cells obtain their final BCC phenotype.

In **chapter 5** a possible new treatment for BCC is introduced by applying ajoene, an organosulfur compound of garlic, directly to the tumors. The *in vivo* studies showed a clear diminishing effect on tumor size in most cases and suggested selective induction of apoptosis by down-regulating the expression of the anti-apoptotic Bcl-2 protein. These findings were furthermore supported by *in vitro* studies, showing that ajoene can induce apoptosis in both a BCC cell line and a short-term primary culture of BCC. A major advantage of this treatment is that ajoene showed no side effects in normal skin. This study provides a good basis to further investigate apoptosis-inducing agents for their future application in BCC treatment.

Samenvatting

Het basaalcelcarcinoom (BCC) is een niet-melanoma type huidkanker dat ongeveer 80% van alle maligne huidandoeningen uitmaakt. Het is de meest voorkomende maligniteit in mensen van het Caucasische ras. Aangezien apoptose en proliferatie twee belangrijke processen zijn die in acht genomen moeten worden wanneer men groeikarakteristieken van een tumor onderzoekt, concentreert deze thesis zich met name op de (verstoorde) balans tussen deze twee fenomenen in BCC.

In **Hoofdstuk 1** werd de moleculaire celbiologie van BCC besproken. Klinische kenmerken en risico-factoren worden besproken. Naast de overduidelijke omgevingsfactoren zoals blootstelling aan zonlicht en gifstoffen, zijn er ook een aantal genetische factoren. Er bestaan verschillende syndromen, zoals bijvoorbeeld Xeroderma Pigmentosum en Nevoid Basaal Cel Carcinoma Syndroom, die aanleiding geven tot een hogere gevoeligheid voor de ontwikkeling van BCC. Daarnaast speelt immuunsuppressie ook een grote rol. Een onderwerp van grote belangstelling is het ontstaan van een BCC. Er zijn verschillende argumenten die duiden op een oorsprong in de interfolliculaire epidermis, echter de meeste bewijzen duiden op een oorsprong in de haarfollikels, en meer specifiek, de stamcellen van de follikel, gelocaliseerd in het zogenaamde 'bulge' gebied.

Daarom werd in **Hoofdstuk 2** de menselijke haarfollikel onderworpen aan een immunohistochemische analyse, gebruik makend van de stamcel merker cytokeratine 19 en het apoptose-onderdrukkende Bcl-2 eiwit, om de localisatie van de stamcellen te determineren. Er blijken inderdaad twee gebieden aanwezig te zijn die mogelijk stamcellen leveren. Wanneer BCCs immunohistochemisch bestudeerd worden voor de expressie van het Bcl-2 eiwit (**Hoofdstuk 3.1**), zien we dat de tumoren dit apoptose-regulerend eiwit homogeen tot expressie brengen. Opmerkelijk is echter, dat de schijnbaar normale epidermis boven de tumor ook een verhoogde expressie van het Bcl-2 eiwit vertoont, in tegenstelling tot wat we zien een gezonde huid, waar het Bcl-2 eiwit enkel in de basale laag tot expressie komt. Deze bevindingen suggereren dat de superfaciele tumoren ontstaan van de interfolliculaire epidermis, en dat de nodulaire en sprieterige types ontstaan uit de haarfollikels, en verklaren tevens waarom zowel epidermis als haarfollikels vergelijkbare expressie patronen van eiwitten zoals de cytokeratines en cel-adhesie moleculen vertonen. Dit werd ook geconstateerd in een studie naar Bcl-2-gerelateerde eiwitten in BCC (**Hoofdstuk 3.2**), waar BCCs een fenotype vertonen gelijkaardig aan de basale cellen, en de overliggende epidermis opnieuw een expressie patroon vertoont dat tussen dat van gezonde huid en BCC ligt. De vraag of dit fenomeen wordt geïnduceerd door factoren die afkomstig zijn van het BCC of dat dit gezien kan worden als een eerste stap in het ontstaan van huidkanker blijft voorlopig nog onbeantwoord.

In **Hoofdstuk 4** werden de differentiele expressie patronen van de nucleaire lamines, eiwitten gerelateerd aan proliferatie en differentiatie, besproken in de verschillende stadia van huidkanker. Significante veranderingen treden op in de expressie patronen van de A-type lamines in zowel pre-maligne als maligne huidandoeningen. De overduidelijke simultane expressie van lamine A en de proliferatie merker Ki-67 duidt op het feit dat de prolifererende tumor cellen beschikken over een zekere graad van differentiatie. Verder duidt de aanwezigheid van lamine A in de basale laag van de schijnbaar normale overliggende epidermis op een betrokkenheid van deze cellaag in het primaire proces. Op basis van de differentiele expressie patronen van lamin A kunnen er vier stadia onderscheiden worden in de ontwikkeling van een BCC. Het eerste stadium wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van lamine A negatieve, Ki-67 positieve tumoren. Progressie naar stadium 2 gaat gepaard met op-regulatie van de expressie van lamine A. Gedurende deze twee eerste stadia vertonen de tumoren een hoge proliferatie index. Wanneer de proliferatie afneemt in het derde stadium, wordt lamine C herlocaliseerd naar de nucleoli alvorens gedurende stadium 4 te verdwijnen; dit is het stadium waar de cellen hun uitendelijke BCC fenotype aannemen.

In **Hoofdstuk 5** werd een mogelijke nieuwe behandeling voor BCC geïntroduceert, door een directe applicatie van ajoene, een bestanddeel van knoflook. De in vivo studies vertonen een duidelijke reductie in tumor afmeting in het merendeel van de bestudeerde patiënten en suggereren een selectieve inductie van apoptose door vermindering van de expressie van het apoptose-onderdrukkende eiwit Bcl-2. De resultaten werden bevestigd door in vitro studies waaruit is gebleken dat ajoene apoptose kan induceren in zowel een korte-termijn kweek van BCC als een commercieel verkrijgbare BCC cellijn. Een groot voordeel van deze behandeling is dat ajoene geen bijwerkingen vertoont in de normale huid. De studie levert een goede basis voor de verder studie naar apoptose-inducerende reagentie en hun toekomstige toepassing in behandeling van BCC.