

Mast Hücre ve Kanser: Tümör Dokusunda Mast Hücre Yoğunluğu, Etkileyen Faktörler ve Mast Hücre-Tümör Etkileşimleri

*Mast Cell and Cancer: Mast Cell Density in Tumor Tissue, Predisposing
Factors and Mast Cell-Tumor Interactions*

Öner ÖZDEMİR

*(Çocuk Sağlığı-Hastalıkları ve İmmuno-Hematoloji Araştırma Uzmanı) Children's Hospital of Michigan,
Division of Hematology/Oncology, Wayne State University, Detroit, Michigan, USA.*

ÖZET: Tümör tedavisinde her gün yenilik aranan zamanımızda mast hücre ve tümör dokusu arasındaki etkileşim kanımca çok önemlidir. Aşağıda detaylı anlatılacağı gibi mast hücresinin yeni damar oluşumu üzerine olan ve muhtemel sitotoksik etkisi burada ana rolü oynamaktadır. Bu etkilerinin araştırılıp daha iyi anlaşılması bize tedavide yenilikler sunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Mast hücresi, kanser, yeni damar oluşumu, sitotoksiste

ABSTRACT: In my view, mast cell and its interactions with tumor tissue are very important while lots of investigations are going on about new treatment modalities in cancer nowadays. The effect of mast cell on angiogenesis and its possible cytotoxicity against tumor cells are the key contributors in these interactions. Comprehensive study and understanding of these effects hopefully give us new treatment options.

Key Words: Mast cell, cancer, angiogenesis, cytotoxicity

GİRİŞ

Özellikle agar kültür ortamında çoğaltılmasının ve idamesinin zorluğuyla tanınan mast hücresi (MH), son yıllarda rekombinant sitokinler [interlökin (IL)-3, IL-6 vb.] ve büyüme faktörlerinin [kök hücre faktörü-stem cell factor (SCF) vb.] geliştirilmesiyle metilsellülozlu ortamlarda kolayca üretilmiş ve bu konudaki çalışmalar hız kazanmış; MH'nin fizyoloji ve patolojideki önemi daha iyi anlaşılmağa başlanmıştır. 1878'de Ehrlich tarafından yoğun granüllü sitoplazması nedeniyle "mastzellen" (şişman hücreler) olarak tanımlanan MH'nin biyolojik rolü konusundaki çalışmalar bu nedenle sınırlı kalmıştır. Eskiden MH yüksek afiniteli IgE reseptörleri taşıyan bazofil ile yapı, içerik ve aktivasyon mekanizmalarının yakınlığı nedeniyle birlikte düşünülmüş ve birbirilerine benzetilmişlerdir. Fakat son yıllarda tamamen ayrı bir hücre olarak ele alınmakta ve kendisine her geçen gün yeni işlevler atfedilmektedir. MH'leri diğer lökositler gibi pluripotent hematopoietik kök hücrelerinden kaynaklanır ve hedef dokuya ulaşmadan olgunlaşmazlar, yani dolaşımında adanmış öncül hücreler olarak bulunurlar. İn-

sanda periferik kan dolaşımında bulunan MH öncülleri CD13⁺/CD34⁺/c-kit⁺/FcεRI⁺ fenotipik özelliklerine sahiptir. Bu öncül hücreler bir diziyi (mukozal, bağ dokusu vs.) temsil ederler ve yerleştikleri doku tipi ve ortam şartlarından etkilenerek özgün bir fenotipe ulaşır olgunlaşmalarını tamamlarlar. Diğer lökositlere kıyasla MH'leri çok uzun ömürlü olabilir ve yıllarca aynı hücreler vücutta bulunabilir. Olgun insan MH, öncüllerinden ve/veya diğer hücrelerden yüksek oranda c-kit⁺/FcεRI⁺ eksprese etmesi ve granüllerinde özellikle heparin ve triptaz içermesi ve dokularda metakromatik boyanmalarıyla ile ayırt edilir. İnsanlarda histokimyasal boyama farklılığı pek belirgin olmadığından, serin proteaz içeriklerine göre iki büyük gruba ayrılırlar: MH_T (triptaz içerip kimaz içermeyen) ve MH_{TC} (hem triptaz hem kimaz içeren) (1). Yalnız kimaz içeren MH_C tipi de tanımlanmış fakat yaygın kabul görmemiştir. Periferik dokudaki varlıklarını devam ettirebilmeleri yüzeylerinde bir tirozin kinaz olan c-kit ile beraber, ortamda c-kit ligandının (SCF) bulunmasına bağlıdır.

TÜMÖR DOKUSUNDA MAST HÜCRE YOĞUNLUĞU, ÖNEMİ VE ETKİLEYEN FAKTÖRLER

MH'nin yakın zamanlarda doku homeostaz, onarım ve yeniden yapılanmasında önemli olduğu ortaya konmuştur. Örneğin kronik barsak inflamasyonu olanlarda yapılan çalışmalarda MH ve

MH_T'nin yoğunluğu villoz yapı ile ilişkili bulunmuş ve normal villoz yapıya göre bozuk villoz yapıları olanlarda MH ve MH_T'nin yoğunluğu azalmış olarak saptanmıştır. Yine mast hücre yoğunluğu (MHY) o dokudaki anjiogenez veya neovaskularizasyon (yeni damar oluşumu) ile de yakından ilişkilidir. Anjiogenez fizyolojik olarak yara iyileşmesi, ovülasyon, doku onarım bölgeleri vb. patolojik olarak da tümör büyümesi, arterioskleroz, astma, psoriyaz, romatoid artrit vb. durumlarda oluşup bu alanlarda MHY'nun arttığı da iyi bilinmektedir (2).

MH'nin solid tümör etrafında, onun fibrovasküler trabekulasında toplandığı ve invaziv tümöre doğru migrasyonu yıllardır bilinmektedir (3). Bu bazı çalışmalarda karsinomada metakromazi diye adlandırılmış; özellikle meme kanseri ile yapılan çalışmalarda kötü prognoza, metastaz eğilimine işaret ettiği, hatta tümörün histolojik grade ve lemf nodu statusundan daha önemli olduğu iddia edilmiştir (4). Bu stromal metakromazinin tümöre spesifik olmadığı da bilinmektedir. Mide-özafagus-kolorektal, larinks, akciğer (AC) kanserleri ve melanomada MHY ile histopatolojik faktörler arasında korelasyon bulunmuş ve prognostik bir değer taşıdığı kabul edilmiştir (5,6). Bazıları MHY'nu belirlemek üzere MH/tümör oranını kullanırken, bazıları da örneğin 10'luk büyütmede ≥ 20 (7), ya da büyük büyütme ile her 30 immersiye sahasında saptanan >3 MH'ni yüksek MH sayısı olarak kabul etmişlerdir (8). Yumuşak doku sarkomalarında ≥ 20 MH saptanan hastalarda 5 yıllık yaşam süresi daha iyi bulunmuştur (7). Tümör dokusunda MH sayısını değerlendiren en geniş çaplı araştırmalardan biri rektal kanserli 300 biopside gerçekleştirilen NSABP (US National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project) olup; <3 MH olanlar, >3 MH'ya göre daha iyi prognoza sahip bulunmuş ve >3 MH sayısı yoğun tümör invazyonuna işaret eder denmiştir (8).

Bu hücreler sıkça degranüle bulunmakla beraber genelde sitopatik ve önemli fenotipik bir değişiklik göstermezler. Fakat mide mukozası MH'lerinde pretümör ve tümör gelişimi esnasındaki morfometrik değişimler incelendiğinde bu kriterlerin pretümör lezyonlarının belirlenmesinde yardımcı olabileceği iddia edilmiştir (9). Bu hücrelerin her iki tipi de [MH_{TC} / T] tümör etrafında olabildiği gibi tümör veya çevreyle etkileşimi sonucu kolayca proteaz içeriğinin de değişebileceği bilinmektedir. Bir çalışmada bunların MH_{TC} tipinde olduğu ve immatür proteoglikanları içerdiği bildirilmiştir (3). Lokalize bronkioloalveolar kanserlerde MH_T ve MH_{TC} tiplerinin önemli oranda arttığı ve MH_{TC} tipinin iyi bir prognostik işaret olabileceği bildirilmiştir. Hiperpigmente mikozis fungoideslerde yapılan çalışmalarda benign lezyonlarda MH_T kadar MH_C sap-

tanmasına rağmen, malign lezyonlarda MH_T MH_C'den daha fazla oranda ve invazyon zonlarında bulunmuştur. Yine mide mukoza, serviks, karaciğer adenoid tümörlerinde, tiroid tümörlerin stromasında ve Hodgkin'de MH_T tipinde rastlanılmışlardır (10). MH_T'nin erken B-hücre kronik lenfositik lösemide klinik sonucu belirlediği iddia edilmiştir (11).

Tümör dokusunda MHY'nun artışıyla rol alan bazı unsurlar aşağıda açıklanmıştır:

a- Tümörün saldırdığı maddeler (IL-3, SCF, VEGF, RANTES, CCL5 vb.):

Bazal hücre kanserinin saldırdığı SCF'nin stromada MH'nin artmasına yol açtığı ve tümörü çevreleyen stromadaki fibroplaziden sorumlu olduğu bildirilmiştir (12). Bir çalışmada RANTES MH'leri için kemotaktik bulunmuş ve serum konsantrasyonu ile tümör etrafındaki MHY arasında anlamlı korrelasyon saptanmıştır (13). Melanoma hücrelerinin saldırdığı IL-3, AC kanserlerinin saldırdığı VEGF ile MHY ilişkili bulunmuştur (14). Hodgkin lenfomada MHY, Reed-Sternberg hücrelerinin saldırdığı CCL5'e bağlanmış ve bunun MH kemotaksisine yol açtığı öne sürülmüştür (13).

b- Carcinoma-associated antigen, fibroblast büyüme faktörü (bFGF), TGF- β , epidermal büyüme faktörü ve platelet kaynaklı büyüme faktörü:

Carcinoma-associated antigen gibi antijenler bazal hücreli kanserde görüldüğü gibi lenfositleri aktive edip MH prekürsörlerinin proliferasyonu ve diferansiyasyonu sağlamanı sağlayan bazı lenfokinleri salgılatırabilirler (15). Çevreden de salınabilen diğer büyüme faktörleri MH'nin neovaskularizasyon alanlarına kemotaksisini indükler.

c- CD30L-CD30 etkileşimi:

CD30 TNF reseptör ailesinden olup, Hodgkin'li hastaların Reed-Sternberg hücrelerinde yüksek oranda ekspresyon olmakta ve tümörün gelişme-büyümesinde önemli olduğu düşünülmektedir. Bu hastalıkta MH_T tipinin arttığı ve bu hücrelerin %50'sinin CD30L ekspresyonu olduğu bildirilmiştir (16).

d- Östrojen ve progesteron reseptörleri:

İnsan meme kanserinde MHY ile ilişkisi iddia edilmiştir (17).

MAST HÜCRE-TÜMÖR ETKİLEŞİMLERİ

MHY'daki artış hep tartışma konusu olmuş, tümörün büyümesine mi yoksa inhibe olmasına veya bunun tümör tipi, çevreye göre basit bir savunma reaksiyonundan mı kaynaklandığı halen kesin belirlenmemiştir. Bu interaksiyonda MH'nin degranülasyonu ile saldırdığı bazı maddelerle (anjiogenik, kollajenolitik enzimler vb.) tümörün büyümesine, yayılmasına yol açtığı iddia edildiği

gibi yine saldığı bazı maddelerle (özellikle kimaz, granzimler, TNF- α , IL-4 vb.) tümör büyümesini inhibe ettiği, tümör hücrelerinin apoptozuna yol açtığı da bildirilmiştir. MH'lerin inisyel tümör ortamına eklenmesi ve degranülasyonunun inhibisyonuyla tümörün proliferere olduğu bildirilmiştir (3). Benzer şekilde adenokanserli farelerde MH degranülasyonu ile tümör büyümesi arasında ters ilişki dikkati çekmiştir (8). Fare peritonu MH ve meme adenokanseri ile yapılan çalışmalarda MH'lerinin belki de tümör gelişiminin başlangıcında inhibisyonu fakat ileri aşamalarda etkisiz olduğu iddia edilmiştir (18).

Son zamanlarda tabii bağışıklıktaki rolü açıkca ortaya konan MH'nin normal olarak vücudun savunmasına katkıda bulunmak için (tümör infiltrate eden lenfositler-TIL, NK vb.) ortamda olup olmadığı da tartışılmaktadır. İntramukozal erken dönem mide kanserlerinde yapılan bir çalışmada adenokanserli glandlarda interepitelyal olarak bulunan MH_T'lerinin bazı hastalık durumlarındaki MH'lerinden farkı olmadığı ve bunun konağın bir reaksiyonu olabileceği iddia edilmiştir (10). MH'nin bu bölgeye önceden varıp lenfoid hücrelerin migrasyonuna IL-8, RANTES vb. maddeleri salarak (12) yol açtığı da düşünülmüştür (tümör lenfoid hücre reaksiyonu). Meme kanserinde yapılan bir çalışmada yüksek MH sayısı tümör lenfoid hücre reaksiyonu ile anlamlı şekilde korrele bulunmuştur (19).

MH-tümör etkileşimi üç şekilde gerçekleşebilir:

1- MH'nin tümörü inhibe ettiğini savunanlar, MH'nin bazı tümör hücrelerine karşı sitotoksik olduğuna (özellikle TNF- α 'ya duyarlı tümörlerde) dayanırlar. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda MH'nin sitotoksitesi bir çok faktörle açıklanmaya çalışılmıştır. Aşağıda detaylı irdeleneceği gibi NO, peroksitler, yanısıra tabii sitotoksitesine vb. de öne sürülmüştür. Yine son zamanlarda MH kimaz'ının da tümör veya çevre doku hücrelerinde apoptoza yol açarak sitotoksik olabileceği gösterilmiştir. MH olmayan W/W^v farelerinde diğerlerine göre tümör insidansının artmış olduğu yine karsinogenez çalışmaları ile iddia edilmiştir (20). Mide kanseri, lokalize bronkioloalveolar karsinoma, 197 meme kanseri ve yumuşak doku sarkomalarında yapılan çalışmalarda MHY'nun tümörün proliferasyon ve yayılımını inhibe edebileceği savunulmuştur. (7,8)

Yukarıda örnekleri verilen tümör tiplerindeki inhibisyona rağmen, bir çok invivo ve invitro çalışmada gösterildiği gibi MHY'nun arttığı bazı tümör tiplerinin büyümesi hatta daha invaziv hale gelmesini açıklamak kolay olmaz.

2- MH'nin tümörün büyümesine yol açtığına inananlar ise; heparin veya bFGF ve TGF- β gibi heparin bağlayan faktörlerin yeni damar oluşumunu artırarak tümörün yayılmasına, ve bazı MH

proteazlarının (kimaz, triptaz vb.) çevre doku ve stromada değişikliklere yol açarak invazyonu kolaylaştırmasını örnek göstermektedirler. Öyleki bu yeni damar oluşumunun serviks tümörünün displaziden invaziv kansere doğru geçimi ile daha da artmış olduğu gösterilmiş ve triptaz suçlanmıştır (21). Ayrıca insan MH β -triptazının bir jelatinaz olduğu ve ekstrasellüler matriksin yıkımına yol açabildiği gösterilmiştir. Yine insan melanomasında tümör tarafından salınan fibroblast büyüme faktörü-2 ve triptazın anjiogeneze yol açarak tümör büyümesini arttırdığı gösterilmiştir (22). Önceleri bazal hücre karsinomunda artmış MHY'nun immunsupresyon yaparak tümör gelişimine zemin teşkil ettiği bile iddia edilmiştir (20,23).

Özellikle prekanseröz aşamada MHY'da artış olduğu bildirilmiştir. BALBc farelerinde sarcoma implante edilerek yapılan çalışmalarda MH'nin 20 gün sonra peritümoral dokuda 3 kat arttığı ve MH'nin degranülasyonu ile beraber tümörün büyümesinin arttığı görülmüştür (24). Farelerde kimyasal karsinogenezle MHY'nun preinvaziv dönemde zirveye ulaştığı, tümöre doğru ilerleme ile korele olduğu ve tam olarak gelişmiş karsinoma ile MHY'nun azalmaya başladığı görülmüştür. Meme kanserlerinde yapılan çalışmada ise büyük tümörlerin stromasında az miktarda MH saptanmıştır. İnsan serviks kanserinde de preinvaziv dönemde MHY'nun zirveye ulaştığı bildirilmiştir (25). Yine invaziv melanomalı vakalarda MHY insitu ve benign nevüslere göre artmış bulunmuştur (26). Artmış MHY prostat kanserinin diferansiyasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Kolon ve serviks kanserinde MHY premalign dönemden malign döneme geçişle korrele bulunmuştur (21).

Özafagusun skuamöz hücre kanseri, periferik sinir kılıfı tümörleri ve non-nörojenik yumuşak doku sarkomalarında MHY güvenilir bir prognostik gösterge olarak tümörün agresivitesinden sorumlu tutulmuştur. MHY Hodgkin'de kötü prognoz ve nodular skleroz ile alakalı bulunmuştur. Non-Hodgkin'de Hodgkin'e göre daha az MH hiperplazisi diffuz histiyositik lenfoma tipiyle beraber görülmüştür (27).

3- Fakat bazı kanserlerde, insan skuamöz hücre kanserleri gibi, MH artışı olmadığı (28); bazen de hepatosellüler kanserde olduğu gibi MHY ile tümörün agresifliği/grade'i arasında da ilişki bulunmamıştır (29). İnsan skuamöz hücre kanserlerinin stromasındaki MH sayısı normale göre anlamlı olarak 2-30 kat az oranda bulunmuş, bu azalma tümör büyümesine engel olan heparin içeren granüllerin aşırı tüketilmesine bağlanmıştır. Ayrıca skuamöz hücre vb. tümörlerin anti-proteazlar (SCCA₂ gibi) saldığı ve böylece MH'nin tümörün büyümesine etkisiz

kaldığı bildirilmektedir. Melanoma, lemfoplasmasitik lenfoma, kronik lenfoid lösemi ve 424 meme kanserli hastada MHY'na rastlanması- na rağmen bu bulgu prognozla ilgili bulunmamıştır (19).

MAST HÜCRE-TÜMÖR ETKİLEŞİMİNİ BELİRLEYEN FAKTÖRLER

A- MAST HÜCRESİ VE ANJİOGENEZ (YENİ DAMAR OLUŞUMU)

Yukarıda belirtildiği gibi MHY o dokudaki anjiogenez ile yakından ilişkili ve tümör büyümesi de bu sırada oluşan patolojik anjiogeneze bağlıdır. Anjiogenezin tümörün ilerlemesine ve metastazına yol açtığı bildirilmiştir. MH'nin anjiogeneze rol oynayan bazı anjiogenik mediatörleri salgıladıkları ve tümör anjiogenezinin MH olmayan farelerde inhibe olduğu da bilinmektedir. Anjiogenez ayrıca kompleks bir olay olup, AC kanserlerinde plasminogen aktivatörleri, matriks metalloproteazları, anjiopietinler, vasküler endotelial cadherin, integrin gibi adhesyon molekülleri, osteopontin vb. ile ilişkisi bile tartışılmıştır. Son zamanlarda anjiogenez, antikanser ve anti-inflamatuvar tedavinin (romatoid artrit vb.) hedefi olarak da görülmektedir (30).

Anjiogeneze MH'nin rolü kadar iyi veya kötü mü prognostik olduğu, tümör üzerine rolü de tartışmalıdır. MH'nin anjiogeneze evvel orada bulunduğu belki de malign transformasyona geçişte önem taşıdığı iddia edilmektedir (25). Genelde küçük hücreli olmayan AC kanseri dahil tüm solid tümörlerde kötü prognostik göstergedir. Bir çalışmada AC kanserlerinde MHY, MH_T ve MH_{TC} tipleri ile tümör anjiogenezi arasında da direkt korrelasyon saptanmıştır (31). Serviks kanseri, B-Non-Hodgkin lenfomada, anjiogenez MH_T artışı ile ilişkili bulunmuş ayrıca tümörün büyümesi ile de MHY'da artış bildirilmiştir. Oral kavite ve ösofagus skuamöz hücre kanserlerinde anjiogeneze MH'leri sorumlu tutulmuş ve oral kavite kanserlerinde iyi prognostik faktör iken, ösofagusta ise tümör agresifliğine yol açabileceği bildirilmiştir (6). Melanomadaki etkisi de çelişkilidir (5).

Tümör anjiogenezinin sorumlu tutulan başlıca etkenler:

a- SCF, VEGF, TNF- α ve IL-8: MH dizisi MHC-1'in stimulyasyonla bu maddeleri salılabildiği gösterilmiştir (25). SCF oto/parakrin yollarla MH stimulyasyonu ile tümör büyüme ve anjiogenezinin module eder. Bazal hücreli kanserin anjiogenezinin MH'nin saldıdığı VEGF ve IL-8'in katkısı bildirilmiştir (12). Non-Hodgkin ve anjioimmunoblastik T-

hücre lenfomada MH'leri VEGF ekspresyonu ile rol oynarlar (32).

b- Adenozin reseptörlerinin (A₂B ve A₃) kooperatif interaksyonu: İnsan MH ve HMC-1 hücrelerinde bu reseptörlerin varlığı gösterilmiştir (25). A₂B reseptörlerinin aktivasyonu VEGF ve IL-8'in, A₃ reseptörlerinin aktivasyonu ise angiopietin-2 salınımını artırdığı gösterilmiştir. Ekstrasellüler adenozinin yükseldiği diğer patolojik ve fizyolojik durumlarda da anjiogenezin meydana gelebileceği düşünülmüştür.

c- Kimaz / triptaz: MH'nin saldıdığı kimaz da triptaz da anjiogeneze sorumlu tutulmuş (33) ve triptazın ayrıca konnektif doku matriksini yıkarak yeni damar oluşumu için yer açtığı bildirilmiştir. Oral skuamöz hücre kanseri ve servikal tümörün invazyonundan triptazın anjiogeneze özelliği sorumlu tutulmuştur (2).

d- Diğer proteinazlar, histamin, heparin ve bazı lipid kaynaklı mediatörler: MH'nin saldıdığı maddeler permeabilityyi artırarak orada monosit/makrofaj ve lenfositlerin toplanmasını sağlar ve pro-anjiogenik etkiye yol açar. Yine bunlar hücre yüzeyinde ve ekstrasellüler matriksde bulunan heparin bağlayan pro-anjiogenik faktörleri salarlar. Ayrıca heparinin endotel hücreleri için mitojen olduğu da bilinmektedir (34).

e- Potent pro-anjiogenik faktörler: VEGF, bFGF ve TGF- β aynı zamanda MH'nin o alanda toplanmasını sağlarlar. Ayrıca epidermal büyüme faktörü ve platelet kaynaklı büyüme faktörünün de MH'nin yenidoğan oluşan alanlara kemotaksisini indüklediği bilinmektedir (2).

g- Mast hücrelerinin trombosit ve komşu hücreleri aktivasyonu: Bu komşu hücrelerin saldıdığı monosit/makrofaj ve lenfositlerin üzerine kemotaktik olan ve anjiogenezi module eden moleküllerin katkısından bahsedilmektedir.

B- MAST HÜCRE SİTOTOKSİSİTESİ (APOPTOZU VE/VEYA NEKROZU)

Fare MH'lerinin diğer sitotoksik hücreler gibi (NK ya da sitotoksik T lenfositleri vb.) tümöre karşı efektör hücreler olduğu ve hücreler arasındaki temas sonucu sitotoksitenin (tabii sitotoksitenin) geliştiği uzun süredir bilinmektedir. Yine MH granül içeriğinin sitotoksik T hücrelerine benzer şekilde granzim niteliğinde kimaz, katepsin G gibi moleküller ve TNF- α dahil preforme/yeni sentez edilmiş olan pro-apoptotik mediatörlerle yüklü olduğu ve degranülasyon ile bunları saldırdığı da bilinmektedir (35). Hayvanlarda konnektif doku MH'lerinin TNF- α 'ya bağımlı veya bağımsız mekanizmalarla sitotoksitenin yol açarak anti-tümör etki gösterdiği de bildirilmiştir (36). Fare kemik iliğinden IL-3'e

bağımlı olarak üretilen MH'nin tabii sitotoksositeye sahip olduğu, fakat MH'si doğuştan olmayan W/Wv farelerde ise tümöre karşı oluşan cevabın tabii sitotoksitedeki azalmadan dolayı yeterince iyi olmadığı gösterilmiştir (37). Fakat MH'nin sitotoksitesi NK ve diğer öldürücü hücrelerden biraz farklıdır fakat ayrıcalıkları halen belirgin bir şekilde ortaya konamamıştır. Mesela NK-duyarlı olan K562 ve YAC-1 gibi hücreleri en azından kısa inkübasyonlarla öldürmediği bilinir (38). Uzun inkübasyonlarla (≥ 18 saat gibi) bazı çalışmalarda YAC-1 hücrelerini öldürdüğünü gösterenler de vardır. MH sitotoksitesinde aşağıda detaylı irdeleneceği gibi hücresel temas dışında özellikle kimaz ve preforme/membranöz TNF- α mediatör olarak çok önemli bir yer tutmaktadır.

Biz de kendi laboratuvarımızda gönüllü kişilerden aldığımız kemik iliğinden geliştirdiğimiz MH ile değişik lösemi hücrelerinin ölümünü hasta örnekleri ve hücre dizilerinde gösterdik (39). Metilsellülozlu kültür ortamında IL-3, IL-6 ve SCF takviyesiyle 6 haftada geliştirdiğimiz insan MH'lerini sıvı kültür ortamında 13 haftaya kadar idame ettikten sonra, flow sitometriye dayalı hedef hücrede apoptoz ve nekrozun değerlendirildiği tekniklerle MH'lerinin sitotoksitesini gösterdik. Hedef tümör hücreleri DiOC₁₈ gibi bir boya ya da anti-CD33 gibi bir monoklonal antikorla boyanıp belirli hale getirilerek, annexin V/PI yardımı ile hedef tümör hücresinde meydana gelen apoptoz ve nekroz değerlendirildi. Aynı anda 7 değişik akut lösemik hücre dizisi (CMK, U 937, Dami, HL-60, K 562, Meg-01, Jurkat) ve 6 değişik akut myeloid lösemili hasta örneği değerlendirildi. 18 saatlik MH-tümör hücre ko-inkübasyonu sonunda özellikle HL-60 ve Meg-01 hücrelerinde %20'nin üzerinde ölüm saptandı. İlginç olarak K562 hücrelerinde 18 saat sonunda görülmeyen ölüm, 48 saat sonra gibi hücresel temasın önemini gösteren bir zamanda %18 oranında saptandı. AML hasta örneklerinde de benzer şekilde %20'ye varan oranlarda ölüm gerçekleşti. Hatta Wright/Giemsa tekniği ile yaptığımız boyamalarda mast ve tümör hücre arasındaki konjugat oluşumunu da gördük.

B1- Tabii sitotoksosite-hücresel temas

MH'lerinin hücresel temas ile meydana gelen tabii sitotoksitesinin olduğu uzun süredir bilinmekte olup bunun nedenleri araştırılmış ve en çok membranöz TNF- α 'ya bağlanmaya çalışılmış fakat başka sitotoksosite reseptörlerinin de sorumlu olabileceği sanılmaktadır. Bu görüşü destekleyen çok yeni bir çalışmada yakında bildirilmiş, MH'nin kaspazdan bağımsız olarak T lösemi hücre dizilerinde (Jurkat) DNA yıkımına yol açtığı ve burada

kimaz ve TNF reseptör ailesinden farklı olan hücre yüzey moleküllerinin rolüne dikkat çekilmiştir (40). 18 saatlik veya daha uzun inkübasyonlarla sitotoksosite geliştiğinden tümör ile MH arasında temasın önemli olduğu ve buradaki bilinen ve bilinmeyen bazı faktörlerin rolü olabileceği sıklıkla iddia edilmiştir. Bu faktörün TNF-sensitif hücrelerde etkili olduğu halde, resistant hücre dizilerini etkilemediği ve poliklonal TNF antisera ile nötralize edildiği görülmüştür. IL-3-bağımlı MH dizisi olan PT18-A17 nin solubl bir faktör aracılığıyla tabii sitotoksik aktiviteye yol açtığı ve buna sensitif /lizise duyarlı WEHI-164 hücrelerini öldürdüğü fakat lizise resistant/NK-sensitif YAC-1 tümör hücrelerine etkisiz olduğu ayrı bir çalışmada gösterilmiştir. Yine bu faktörün stimulyasyonla hücre içinde bol miktarda sentezlenebildiği, serbest sitozol ve granül içeriğinden kaynaklanması preforme TNF'nin rolünü düşündürülebilir. Aksine kültür ve taze fare MH WEHI-164 ve YAC-1 hücrelerine 18-saatlik testlerde sitotoksik bulunmuş ve bu faktörün membranöz TNF- α olduğu düşünülmüştür. İnsan ve fare TNF'ne karşı antikorlarla ölüm inhibe edilmiş fakat phorbol ester/concanavalin A veya lipopolisakkarid stimulyasyonları ile ölüm artırılmıştır (41). Başka bir çalışmada IL-3'e bağımlı fare MH'leriyle tümörisidal etki görülmüş ve etkinin TNF'ye karşı olan antikorlarla, kolera toksini, siklosporin ve aktinomisin ile bloke edildiği gösterilmiştir. Bu sitotoksitesinin MH'nin degranülasyonundan bağımsız olarak geliştiği de gösterilmiştir (42).

B2- Mast hücre TNF- α 'sı aracılığıyla olan sitotoksosite

MH sitotoksitesinde hücresel kontakın dışında özellikle önceden sentezlenip depolanan TNF- α mediatör olarak esas bir unsurdur. Hayvanlardaki bakteriyel peritonit ve bazı parazitozlarda TNF'nin sitotoksik rolü fare serozal MH'leri ile yapılan deneylerde gösterilmiştir. Yine Chediak-Higashi sendromunun hayvan modeli olan bej farelerle yapılan çalışmada kromiyum salınma metodu ile fare fibrosarkom hücre dizisi olan WEHI-164 hücrelerinin öldüğü gösterilmiş hatta bej farenin büyük granüllerine rağmen normal fareden öldürmede farkı IgE stimulyasyonuna rağmen bile saptanmamıştır (43). Yine tabii sitotoksositeye duyarlı WEHI-164 ve L929 hücreleriyle farelerde yapılan çalışmada kemik iliğinden elde edilen IL-3 bağımlı MH ve bazofilik lösemi hücrelerinin (RBL-1) bu hücreleri öldürebildiği görülmüş ve bu etki preforme TNF'ye bağlanmıştır. Fare peritonu MH lizatının stimüle edilmeden WEHI hücrelerini öldürmesi ve fare serozal MH ve kardiyak endotel hücreleri ile yapılan çalışmada apoptotik etkinin preforme ve solubl TNF'ye bağ-

lanması bu tezi güçlendirmektedir. MH aktivasyonu ile sitotoksosite genelde artmasına rağmen NK-sensitif K562'ye etkisi bulunmamıştır (44). Ayrıca stimüle edilmemiş deri MH'leri ile sitotoksosite saptanmazken, 18 saatlik uzun inkübasyon veya stimülasyon sonrası sitotoksosite görülmesi ve TNF'ye karşı antikörlerle inhibe edilebilmesi preforme olmayan membranöz TNF'nin rolünü göstermiştir (45).

Yine fare MH_{TC} hücreleriyle yapılan çalışmalarda bunların TNF'ye duyarlı [WEHI-164], TNF'ye az duyarlı [5C25], insan böbrek hücre tümörü [Currie], ve TNF'ye duyarlı olmayan YAC-1 hücrelerine etkisi incelenmiştir. 8 saatten itibaren başlayan ve 16 saatte pik yapan bu lizis ile sensitif ilk 3 hücre tipinde önemli oranda sitotoksosite saptanmasına rağmen YAC hücreleriyle konjugat yaptığı görüldüğü halde lizis saptanmamıştır. TNF'ye karşı antikörlerle blok sonrasında ise WEHI'de büyük oranda, 5C25'de kısmen, Currie'de ise hiç inhibisyon görülmemiş ve buradan da MH_{TC} sitotoksitesinin TNF'ye kısmen bağımlı olduğu veya bağımsız olarak da gerçekleşebildiği düşünülmüştür (36,46). Bu çalışmalarla lizise resistant, TNF sensitif olmayan YAC-1, Currie veya 5C25 vb. üzerine özellikle 18 saat gibi uzun sürede olan etkisi ve daha çok bu sitotoksitesinin kimaz da içeren MH_{TC} tipleriyle olması bize TNF dışındaki faktörlerin rol alabileceğini (FasL, ayrıca yeni tanımlanan sitotoksosite reseptörleri vb.) önemle düşündürmektedir. Farelerde MH'nin FasL ekspresyonu ettiği de gösterilmiştir (47).

B3- Kimaz

Yukarıda anlatıldığı gibi son zamanlarda MH kimazının bir granzim olduğu ve değişik hücre tiplerinde (damar düz kas hücreleri dahil) apoptozu indüklediği bildirilmiştir (48,49). Yine kimaz içeren MH granüllerinin insan kardiomyositlerinde apoptoz ile kalp yetmezliğinin ilerlemesine, fare kardiomyositlerinde ise %70 oranında apoptozu yol açtığı gösterilmiştir (50).

B4- Nitrik oksit (NO)

NO'nun bir çok değişik fonksiyonları olduğu kadar fagositik hücrelerin sitotoksitesini artırdığı bilinmektedir. MH'ne bağımlı TNF- α aracılığıyla gerçekleşen sitotoksitede NO'nun rolü, fare peritoneal MH ve intestinal mukozal MH'lerinde WEHI-164 ile araştırılmıştır. L-arginin ile sitotoksosite artmış, fakat NO kompetitif inhibitörleri olan N omega-nitro-L-arginin ve NG-methyl-L-arginin ile azaldığı görülmüştür (51).

B5- Peroksidaz, H_2O_2 , superoksid (O_2^-) anyonları

Enflamatuvar ortamda çevrede oluşan veya çevre/MH endojen peroksidazlarının etkisiyle meydana gelen H_2O_2 'nin MH'sini degranüle edip, granüllerinin ortama salınmasına ve memeli tümör hücrelerine sitotoksik olduğu hatta helminti (*Schistosoma mansoni*) bile öldürebildiği iddia edilmiştir (52). Deri MH'nin peroksidaz içerdiği (52) ayrıca fare serozal MH'nin de önemli miktarlarda O_2^- anyonları üretebildiği gösterilmiştir (53).

B6- Geçikmiş tip hipersensitivite (GTH)

Yine farelerde anti-tümör GTH'den hem T hücresi hem de MH sorumlu tutulmuştur. Burada T hücrelerine bağımlı olarak oluşan MH aktivasyonunun, mononükleer hücrelerin olana çekilmesine ve anti-tümör cevabın oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir (54). Yine MH'nin GTH ve sitolitik etkiye sahip efektör öldürücü hücreler olarak tümör rejeksiyonunda rol oynadığı iddia edilmiştir (55).

B7- Antikora bağımlı hücrel sitotoksosite (ABHS)

Mastositoma hücre dizisi (P815) veya kemik iliğinden elde edilen MH ve tripomastigotlar arasında yapılan çalışmada, her iki MH tipinin de ABHS'ye yol açtığı gösterilmiştir. Böylece T hücresine bağımlı ve bağımsız MH'lerinin ABHS'ye muhtemelen degranülasyona ihtiyaç duymadan yol açabildiği ispatlanmıştır (56).

SONUÇ VE GELECEKTEN BEKLENTİLER

Tümörün tedavisinde her geçen gün yeni yöntem ve tedavi metodları araştırılırken, özellikle tümör anjiogenezi-mekanizmaları-inhibisyonuna yoğunlaşıldığı şu sıralarda kanaatimce MH'nin tümör ile olan karşılıklı etkileşimlerinde iki husus çok önemlidir: MH'nin anjiogenez üzerine olan etkisi ve iddia edilen sitotoksik etkisi. Bu her ikisinin de çok daha iyi anlaşılması bize tümörün tedavisinde yeni ufuklar açacaktır. Bir de artık herhalde MH'ni bir bazofil benzeri hücre olarak görmekten vazgeçip onun innate-tabii bağışıklıktaki gerçek rolleri araştırılmadığı. Yakın zamanlarda bu konudaki araştırmalar da çığ gibi büyümeye başlamış olup biz de özellikle bu konuda literatüre daha fazla katkıda bulunmayı ümit etmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Bu yazıda sayın Prof. Dr. Fahri Ovalı'nın da ikeri fikirlerinden faydalanılmış ve görüşleri doğrultusunda yazı şekillendirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Gurish MF, Austen KF. The diverse roles of mast cells. *J Exp Med.* 2001; 194: F1-5.
2. Hiromatsu Y, Toda S. Mast cells and angiogenesis. *Microsc Res Tech.* 2003; 60: 64-69.
3. Roche WR. The nature and significance of tumour-associated mast cells. *J Pathol.* 1986; 148: 175-182.
4. Hartveit F. Mast cells and metachromasia in human breast cancer: their occurrence, significance and consequence: a preliminary report. *J Pathol.* 1981; 134: 7-11.
5. Ribatti D, Ennas MG, Vacca A, et al. Tumor vascularity and tryptase-positive mast cells correlate with a poor prognosis in melanoma. *Eur J Clin Invest.* 2003; 33: 420-425.
6. Tomita M, Matsuzaki Y, Edagawa M, et al. Association of mast cells with tumor angiogenesis in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus.* 2001; 14: 135-138.
7. Ueda T, Aozasa K, Tsujimoto M, et al. Prognostic significance of mast cells in soft tissue sarcoma. *Cancer.* 1988; 62: 2416-2419.
8. Nechushtan H, Razin E. Regulation of mast cell growth and proliferation. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1996; 23: 131-150.
9. Uspenskii VM, Grinevich VB. Gastric mucosal mast cells and precancerous states. *Vopr Onkol.* 1981; 27: 26-31.
10. Caruso RA, Fedele F, Rigoli L, et al. Mast cell interaction with tumor cells in small early gastric cancer: ultrastructural observations. *Ultrastruct Pathol.* 1997; 21: 173-181.
11. Molica S, Vacca A, Crivellato E, et al. Tryptase-positive mast cells predict clinical outcome of patients with early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol.* 2003; 71: 137-139.
12. Aoki M, Pawankar R, Niimi Y, et al. Mast cells in basal cell carcinoma express VEGF, IL-8 and RANTES. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003; 130: 216-223
13. Fischer M, Juremalm M, Olsson N, et al. Expression of CCL5/RANTES by Hodgkin and Reed-Sternberg cells and its possible role in the recruitment of mast cells into lymphomatous tissue. *Int J Cancer.* 2003; 107: 197-201.
14. Reed JA, McNutt NS, Bogdany JK, et al. Expression of the mast cell growth factor interleukin-3 in melanocytic lesions correlates with an increased number of mast cells in the perilesional stroma: implications for melanoma progression. *J Cutan Pathol.* 1996; 23: 495-505.
15. Yang ML. Basal cell carcinoma and mast cells. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 1989; 11: 404-406.
16. Molin D, Fischer M, Xiang Z, et al. Mast cells express functional CD30 ligand and are the predominant CD30L-positive cells in Hodgkin's disease. *Br J Haematol.* 2001; 114: 616-623.
17. Thoresen S, Thorsen T, Hartveit F. Does progesterone receptor in human breast cancer reflect the mast-cell content of the tumour tissue? *Br J Cancer.* 1982; 45: 618-620.
18. de Cidre LL, Eijan AM, Bertolesi G, et al. Influence of mast cells on two murine mammary adenocarcinomas. *Tumour Biol.* 1996; 17: 345-353.
19. Fisher ER, Sass R, Watkins G, et al. Tissue mast cells in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1985; 5: 285-291.
20. Tanooka H, Kitamura Y, Sado T, et al. Evidence for involvement of mast cells in tumor suppression in mice. *J Natl Cancer Inst.* 1982; 69: 1305-1309.
21. Benitez-Bribiesca L, Wong A, Utrera D, et al. The role of mast cell tryptase in neoangiogenesis of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. *J Histochem Cytochem.* 2001; 49: 1061-1062.
22. Ribatti D, Vacca A, Ria R, et al. Neovascularisation, expression of fibroblast growth factor-2, and mast cells with tryptase activity increase simultaneously with pathological progression in human malignant melanoma. *Eur J Cancer.* 2003; 39: 666-674.
23. Hart PH, Grimbaldeston MA, Finlay-Jones JJ. Sunlight, immunosuppression and skin cancer: role of histamine and mast cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2001; 28: 1-8.
24. Lauria de Cidre L, Sacerdote de Lustig E. Mast cell kinetics during tumor growth. *Tumour Biol.* 1990; 11: 196-201.
25. Feoktistov I, Ryzhov S, Goldstein AE, et al. Mast cell-mediated stimulation of angiogenesis: cooperative interaction between A2B and A3 adenosine receptors. *Circ Res.* 2003; 92: 485-492.
26. Duncan LM, Richards LA, Mihm MC Jr. Increased mast cell density in invasive melanoma. *J Cutan Pathol.* 1998; 25: 11-15.
27. Sharma VK, Agrawal A, Pratap VK, et al. Mast cell reactivity in lymphoma: a preliminary communication. *Indian J Cancer.* 1992; 29: 61-65.
28. Grimbaldeston MA, Skov L, Finlay-Jones JJ, et al. Squamous cell carcinoma is not associated with high dermal mast cell prevalence in humans. *J Invest Dermatol.* 2002; 119: 1204-1206.
29. Grizzi F, Franceschini B, Chiriva-Internati M, et al. Mast cells and human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2003; 9: 1469-1473.
30. Ionov ID. Inhibition of mast cell activity as a new approach to anti-cancer therapy. *Int J Radiat Biol.* 1991; 60: 287-291.
31. Imada A, Shijubo N, Kojima H, et al. Mast cells correlate with angiogenesis and poor outcome in stage I lung adenocarcinoma. *Eur Respir J.* 2000; 15: 1087-1093

32. Fukushima N, Satoh T, Sano M, et al. Angiogenesis and mast cells in non-Hodgkin's lymphoma: a strong correlation in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2001; 42: 709-720.
33. Muramatsu M, Katada J, Hattori M, et al. Chymase mediates mast cell-induced angiogenesis in hamster sponge granulomas. *Eur J Pharmacol*. 2000; 402: 181-191.
34. Roche WR. Mast cells and tumour angiogenesis: the tumor-mediated release of an endothelial growth factor from mast cells. *Int J Cancer*. 1985; 36: 721-728.
35. Edwards KM, Kam CM, Powers JC, et al. The human cytotoxic T cell granule serine protease granzyme H has chymotrypsin-like (chymase) activity and is taken up into cytoplasmic vesicles reminiscent of granzyme B-containing endosomes. *J Biol Chem* 1999; 274: 30468-30473.
36. Tharp MD, Kasper C, Thiele D, et al. Studies of connective tissue mast cell-mediated cytotoxicity. *J Invest Dermatol* 1989; 93: 423-428.
37. Ghiara P, Boraschi D, Villa L, et al. In vitro generated mast cells express natural cytotoxicity against tumour cells. *Immunology*. 1985; 55: 317-324.
38. Richards AL, Okuno T, Takagaki Y, et al. Natural cytotoxic cell-specific cytotoxic factor produced by IL-3-dependent basophilic/mast cells. Relationship to TNF. *J Immunol*. 1988; 141: 3061-3066.
39. Özdemir Ö, Ravindranath Y, Savaşan S. Evaluation of long-term liquid culture grown human bone marrow mast cell cytotoxicity against human leukemia cells. (44th annual meeting of the American Society of Hematology, Philadelphia, Pennsylvania, December 6-10, 2002.) *Blood* 2002; 100, 45b, published abstract # 3642.
40. Gallagher SJ, Marshall JS, Hoskin DW. Human mast cells induce caspase-independent DNA fragmentation in leukemic T cells. *Oncol Rep*. 2003; 10: 1019-1023.
41. Young JD, Liu CC, Butler G, et al. Identification, purification, and characterization of a mast cell-associated cytolytic factor related to tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987; 84: 9175-9179.
42. Manning JK, Malkovsky M, Meager A. Modulation of anti-tumor cytotoxicity of cultured mast cells by metabolic inhibitors. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992; 98: 153-157.
43. Jippo-Kanemoto T, Kasugai T, Yamatodani A, et al. Supernormal histamine release and normal cytotoxic activity of beige (Chediak-Higashi syndrome) rat mast cells with giant granules. *Int Arch Allergy Immunol*. 1993; 100: 99-106.
44. Jadus MR, Schmunk G, Djeu JY, et al. Morphology and lytic mechanisms of interleukin 3-dependent natural cytotoxic cells: tumor necrosis factor as a possible mediator. *J Immunol*. 1986; 137: 2774-2783.
45. Benyon RC, Bissonnette EY, Befus AD. Tumor necrosis factor-alpha dependent cytotoxicity of human skin mast cells is enhanced by anti-IgE antibodies. *J Immunol*. 1991; 147: 2253-2258.
46. Clarke GR, Shirzadeh H, Pang G, et al. TNF-alpha is not the sole mediator of WEHI-164 tumour cell killing in natural cytotoxicity. *Cytokine*. 1997; 9: 254-262.
47. Wagelie-Steffen AL, Hartmann K, Vliagoftis H, et al. Fas ligand (FasL, CD95L, APO-1L) expression in murine mast cells. *Immunology*. 1998; 94: 569-574.
48. Leskinen M, Wang Y, Leszczynski D, et al. Mast cell chymase induces apoptosis of vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21: 516-522.
49. Leskinen MJ, Lindstedt KA, Wang Y, et al. Mast cell chymase induces smooth muscle cell apoptosis by a mechanism involving fibronectin degradation and disruption of focal adhesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 238-243.
50. Hara M, Matsumori A, Ono K, et al. Mast cells cause apoptosis of cardiomyocytes and proliferation of other intramyocardial cells in vitro. *Circulation*. 1999; 100: 1443-1449.
51. Bissonnette EY, Hogaboam CM, Wallace JL, et al. Potentiation of tumor necrosis factor-alpha-mediated cytotoxicity of mast cells by their production of nitric oxide. *J Immunol*. 1991; 147: 3060-3065.
52. Henderson WR, Chi EY, Jong EC, et al. Mast cell-mediated tumor-cell cytotoxicity. Role of the peroxidase system. *J Exp Med*. 1981; 153: 520-533.
53. Mannaioni PF, Masini E, Pistelli A, et al. Mast cells as a source of superoxide anions and nitric oxide-like factor: relevance to histamine release. *Int J Tissue React*. 1991; 13: 271-278.
54. Van Loveren H, Den Otter W, Meade R, et al. A role for mast cells and the vasoactive amine serotonin in T cell-dependent immunity to tumors. *J Immunol*. 1985; 134: 1292-1299.
55. Nikol'skii IS, Ovsienko VV. Mast cells and antitumor resistance. *Eksp Onkol*. 1988; 10: 15-19.
56. Tambourgi DV, Kipnis TL, Dias da Silva W. *Trypanosoma cruzi*: antibody-dependent killing of bloodstream trypomastigotes by mouse bone marrow-derived mast cells and by mastocytoma cells. *Exp Parasitol*. 1989; 68: 192-201.