

Stresle İndüklenen Ligandların İmmun Yanıttaki Rolü

*Dok. Öğr. G.Şeyda SEYDEL**
*Prof. Dr. Kıymet AKSOY**

Giriş

Doğal öldürücü (Naturel Killer- NK) hücreler, tümör veya virüs ile enfekte olmuş hücrelere karşı immün yanıtta önemli bir rol oynamaktadır. Bu hücrelerin tanınmasını sağlayan mekanizmaları anlamak önemlidir. Son 20 yıl boyunca, NK hücrelerinin hastalıklı hücreleri nasıl tanıdığına anlaşılmasında büyük ilerlemeler olmuştur. Bu mekanizmalardan biri de NK hücre aktivatör reseptörü olarak tanımlanan NKG2D aracılı mekanizmadır. NKG2D, normal hücreler üzerinden eksprese olmayan fakat mikrobiyal enfeksiyon ya da hücrel transformasyon sırasında sıklıkla gözlenen hücrel stres durumuna cevap olarak upregüle olan ligandların bir çeşidine bağlanmaktadır. NKG2D reseptörleri tarafından NKG2D ligandlarının birleşmesi NK hücrelerini güçlü bir şekilde aktive etmektedir. Bu da immün sistem tarafından strese giren hücrelerin yok edilmesinde önem taşımaktadır. Bu özellik 'missing self' (özün kaybı) teorisininin tamamlayıcısı olarak 'induced self' (özün indüklenmesi) ya da 'stress self' (özün strese girmesi) teorisinin gelişiminde görülmektedir. NKG2D sinyalleri otoimmün olanlarda dahil olmak üzere diğer yaygın hastalıklarda da önemlidir. NKG2D ligandlarının uygunsuz ekspresyonları otolog hücrelere karşı immün sisteminin aktivasyonuna yol açabilir, tetikleyici olabilir ya da T hücre aracılı otoimmün hastalıkları şiddetlendirebilir¹. Bu derlemede, NK hücrelerinin işlevsel düzenlemesi ve tümörden kaçışta MICA/B- NKG2D sisteminin rolü özetlenmiştir.

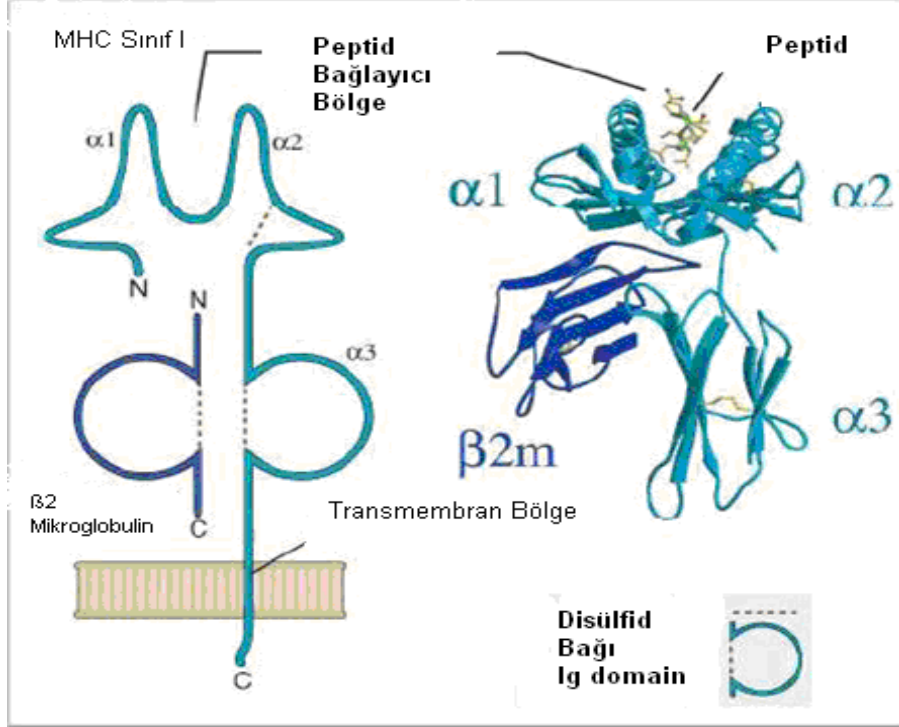
*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, ADANA

Majör Doku Uyum Kompleksinin Genomik Yapısı

Bağıışıklık sisteminin kendinden olanı veya olmayanı tanıması için gerekli olan doku antijenlerini kodlayan gen bölgesi, Major Doku Uyum Kompleksi (Major Histocompatibility Complex-MHC) olarak adlandırılır. MHC tüm omurgalıların genomunda yer alan, immun yanıtta ve doku uygunluğunda işlev gören gen bölgesini içerir². MHC genleri 6. kromozomun kısa kolu üzerinde, 6p21.31 bölgesinde yer alır ve yaklaşık olarak 4000 kilobaz uzunluğundadır³. Bu bölgede bulunan genlerin çoğu oldukça polimorfiktir ve yaklaşık 300 gen içermekte olup bu genlerin %20'si immun yanıtta rol alan protein ürünlerini kodlamaktadır⁴.

MHC kompleksi kendi içinde 3 sınıfa ayrılmaktadır. Sınıf-I bölgesi, MHC'nin telomerik ucunda yer alıp, HLA -A, -B, -C olarak da tanımlanan klasik transplantasyon antijenlerini, HLA -E, -F, -G gibi klasik olmayan Sınıf I antijenlerini kodlayan gen lokuslarını, HLA-H, -J, -K, -L gibi psödogenlerini, ayrıca MICA, MICB işlevleri iyi anlaşılmamış olan daha bir çok geni kodlamaktadır. Sınıf II bölgesi, sentromere yakın olup HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP molekülleri ile HLA-DM ve HLA-DO moleküllerinin gen lokuslarını içerir. Sınıf III gen bölgesi ise sınıf I ile sınıf II bölgeleri arasında bulunan doku grubu antijenlerini kodlamayan bir bölgedir. C4B, C4A, Bleferidin, C2, HSP-70, TNF α ve TNF β bu bölgede kodlanan bazı genlerin ürünüdür⁵ (Şekil1).

281 aa), transmembran hidrofobik bölge (282-306 aa) ve intraselüler hidrofilik (307-338 aa) bölge olarak adlandırılır⁶ (Şekil 2).



Şekil 2. MHC Sınıf I molekülleri

Doğal Öldürücü (NK) Hücreler ve Reseptörleri

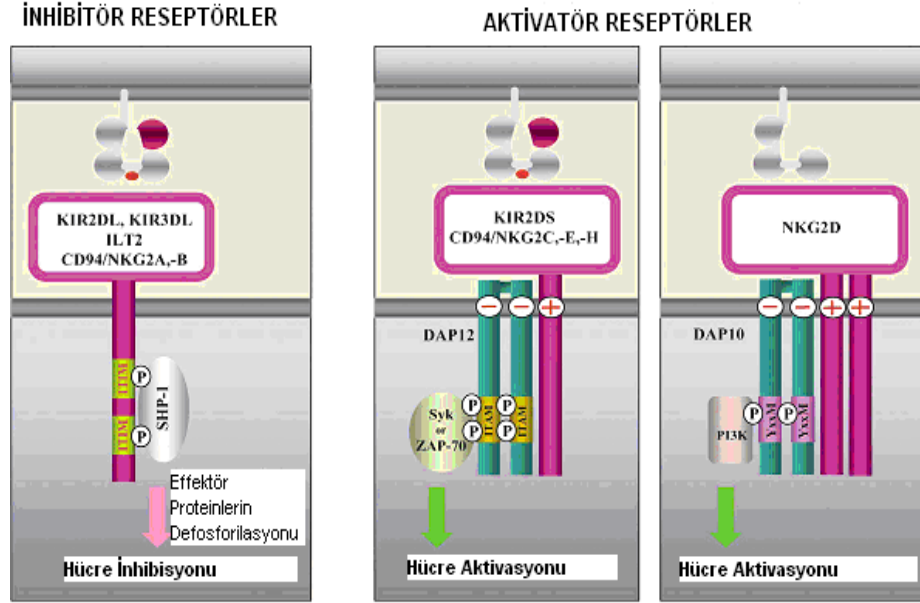
İnsanlarda, T ve B hücrelerinden sonra lenfosit popülasyonunun 3. alt grubunu doğal öldürücü hücreler oluşturur. NK hücrelerinin transforme olmuş ya da virüs ile enfekte olmuş hücrelerin yok edilmesinde çok önemli işlevi vardır⁷. NK hücreleri hem hücresel sitotoksite göstererek hem de sitokin ve kemokin salgılayarak doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemi arasında köprü işlevi görür. NK hücreleri, büyük granüllü lenfositler olup periferik kan

hücrelerinin %5-15'ini oluştururlar. Granüllerde perforin, granzim A ve granzim B molekülleri bulunur. Bu moleküller, tümör hücrelerinin osmotik ve apoptotik olarak öldürülmesinde katkıda bulunurlar. NK' nın sitolitik işlevinin sitoplazmik kinazların kaskadları gibi nukleusdan bağımsız olduğu düşünülür. NK hücreleri ile hedef hücre arasında oluşturulan immunolojik sinapsta, adaptör proteinler, kalsiyum salınımına yol açar ve perforin içeren sitolitik granüller salınır. Perforin, hücre aracılı sitotoksiste reaksiyonlarında salgılanan primer mediatördür. Salgılandıktan sonra hedef hücrede kalsiyum varlığında hızla polimerize olarak transmembran porları oluşturur. Poliperforin porları, diğer granül komponentleri olan granzim A ve granzim B moleküllerinin hücre membranına girişini kolaylaştırır. Perforin, granzim aracılı apoptoza yol açar fakat tek başına apoptoza neden olmaz. Hedef hücredeki ölüm reseptörlerine, NK yüzeyinde bulunan ligandlarıyla bağlanır. NK hücrelerinin hedef hücreleri lizisinde majör mekanizma perforine bağımlı lizistir. Bunun dışında daha az etkinlikte ve daha uzun sürede olsa da Fas ligandı (FasL) , TNF ya da TNF ile ilişkili apoptoz uyarıcı ligand (TRAIL) aracılığıyla da perforinden bağımsız bir yol olarak lizis gerçekleştirilebilmektedir⁸.

NK hücrelerin işlevi MHC sınıf I moleküller aracılığı ile kontrol edilmektedir. MHC, normal hücrelerin NK hücreleri tarafından liziz edilmesini engeller. NK hücrelerinin etkin işlevi hem aktivatör hem de inhibitör yüzey reseptörleri tarafından kontrol edilir. Aktivatör ve inhibitör reseptörlerin farklı düzeylerde uyarılması hücrenin vereceği yanıtı direk olarak etkilemektedir. Aktivatör reseptörlerin uyarılması sonucu NK hücreleri proenflamatuvar sitokin ve kemokinler salgılayıp, sitotoksitelerini artırırken, inhibitör reseptörlerin uyarılması ise hücresel yanıtı baskılayıcı yönündedir⁹.

İnsanlarda, MHC sınıf I moleküllerinin reseptörlerini kodlayan 3 farklı gen ailesi tanımlanmıştır. İlk gen ailesi, immunglobulin süper ailesine (Ig) ait olan tip I transmembran moleküllerini içermektedir ve öldürücü hücre Ig-benzeri reseptör (KIR) olarak adlandırılmaktadır. İkinci grup, immunglobulin benzeri transkript (ILT) olarak adlandırılan, Ig süper ailesine ait reseptör grubudur. Aynı zamanda lökosit Ig-benzeri reseptör (LIRs) ve makrofaj benzeri reseptör

(MIRs) olarak da isimlendirilirler. Başlıca B,T ve myeloid hücreler üzerinden eksprese olurlar fakat bu grubun bazı üyeleri NK hücreleri üzerinden de eksprese olurlar. Üçüncü grupta ise C- tipi lektin ailesinin üyeleri bulunur. Bu aile üyelerinin çoğu NKG2 ailesinin bir üyesiyle bağlantılı olarak CD94'ü heterodimer olarak eksprese ederler^{9,10} (Şekil 3).



Şekil 3. NK hücre reseptörleri.

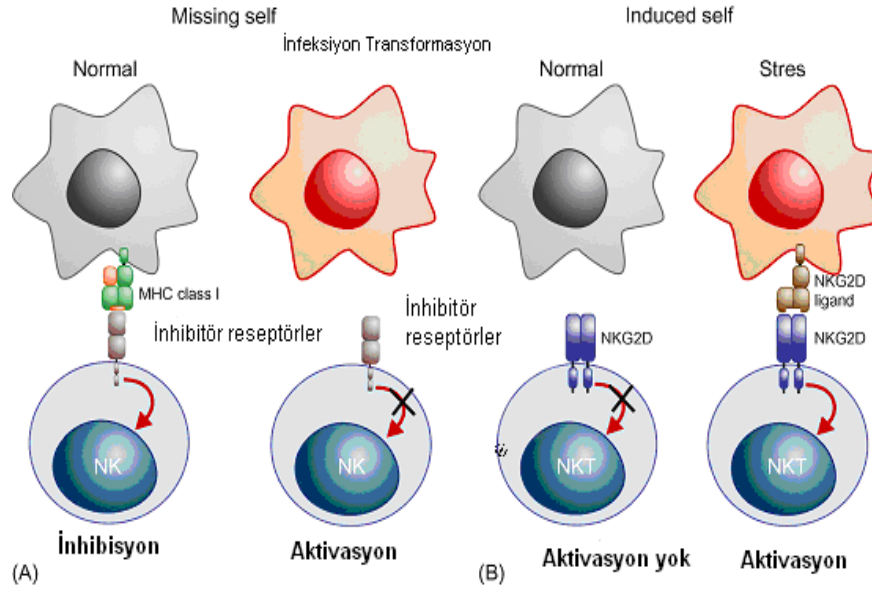
NK Hücre Cevabının Düzenlenmesi

İnsanlarda ve farelerde çok sayıda aktivatör reseptör tanımlanmış olmasına rağmen, bu reseptörlerin birbirleriyle nasıl işbirliği yaptığı ve farklı NK hücreler üzerinde nasıl klonal düzeyde dağılım gösterdikleri tam olarak bilinmemektedir. Yapılan deneysel çalışmalar bazı aktivatör reseptörlerin hedef hücreyi tanıması için primer reseptör olarak hareket ettiğini

göstermektedir^{10,11}.

İnhibitör reseptörler, MHC sınıf I moleküllerine bağlanarak otolog hücrelerin yok etmesinden kaçarlar. Fakat transformasyonla ya da viral enfeksiyonla MHC sınıf I ekspresyon kaybına uğrayan hedef hücreler, NK hücreler tarafından lizise uğramaktadır^{12,13}. Ljunggren ve Karre tarafından bu amaca uyan "missing self" (özün kaybı) hipotezi ortaya konmuştur. Böylece NK hücreleri, inhibitör reseptörlerini 'self' ve 'missing self' olarak ayırt etmek için kullanmaktadır¹⁴. Ayrıca, NK hücre işlevleri doğal sitotoksikite reseptörleri olarak da bilinen NKG2D, LIR ailesini ve Nkp30, Nkp44, Nkp46 proteinlerini içeren aktive edici reseptörler tarafından da kontrol edilmektedir. NKG2D ligandları normal hücrelerden eksprese olmazken, çeşitli tümör hücrelerinden ve virüsle enfekte hücreler üzerinden hücrel cevapla düzenlenmektedir. Bu olay 'induced self' (özün indüklenmesi) ya da 'stress self' (özün strese girmesi) hipotezinden köken almaktadır. Böylece, NKG2D ligandları hücre transformasyonu ya da mikrobiyal enfeksiyonların neden olduğu hücrel stresle indüklenebilir ya da hasarlı yapı olarak sinyal gönderirler¹⁵ (Şekil 4).

NK hücrelerinin farklılaşması ve stimülasyonu, IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21, IL-23 ve IFN- α/β gibi makrofajların ve dentritik hücreler tarafından salgılanan farklı sitokinlerin kontrolü altındadır. Bu proinflatuar sitokinler, NK hücreler üzerindeki belirteçlerin aktivasyonunu, IFN- γ ve NK hücre aracılı sitotoksitenin tetiklenmesini düzenlemektedir. IL-12, IL-15 ve IL-18 gibi bazı proinflatuar sitokinler ise NKG2D'nin ve onun bazı ligandlarının ekspresyonunu artırmaktadır^{16,17}.



Şekil 4. NK hücre cevabının düzenlenmesi. A. NK inhibitör reseptörleri otolog hücrelerin yok etmesinden kaçmak için (self) her yerde MHC sınıf I moleküllerine bağlanırlar. Transformasyon ya da viral enfeksiyon tarafından (missing self) MHC sınıf I ekspresyon kaybı NK hücreler tarafından bu hücrelerin yok edilmesine yol açmaktadır. B. NKG2D indüklenerek eksprese olan (induced ya da stressed-self) çeşitli ligandları tanımaktadır. NKG2D ligandları çoğu benign hücreler üzerinde bulunmamaktadır, fakat çeşitli tümörlerde ve virüsle enfekte olmuş hücrelerde ileri derecede regüle edilmektedir.

NK hücrelerinin İşlevleri ve Gelişimi

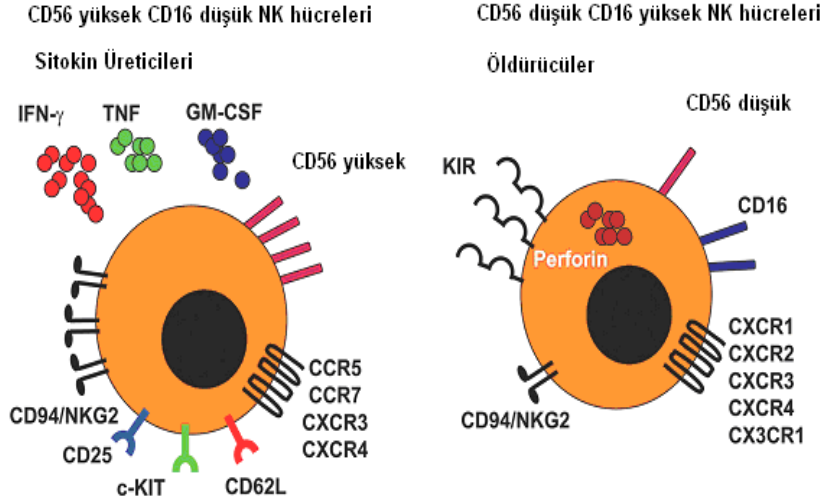
Doğal immunitenin elemanı olan NK hücreleri, kemik iliği kökenli, büyük granüllü lenfositlerdir. Doğal immun sistemi hücreleri içerisinde homojen bir populasyon gösteren bir grup olarak tanınmasına rağmen NK hücrelerinin gelişimsel kökenlerinin, buldukları yerlerin ve işlevlerinin farklı olmasından dolayı farklı alt gruplara ayrılmaktadır. İnsanlarda periferik kanda bulunan NK hücreleri yüzeylerinde taşıdıkları CD56 ve CD16 ekspresyonlarına göre iki işlevsel alt birime ayrılmaktadır. Bu alt birimler farklı fenotipik ekspresyonlara

ve işlevlere sahiptirler¹⁸.

CD56 dim (düşük) CD16 bright (yüksek) NK hücreleri, tüm kan dolaşımında bulunan NK hücrelerinin yaklaşık % 90'nını oluşturmaktadır. Bu hücreler etkili şekilde hedef hücreleri öldürürler ve sadece düşük düzeyde sitokin salgılamaktadırlar. Bu hücrelerin aksine CD56 bright (yüksek) CD16 dim (düşük) NK hücreleri, tüm kan dolaşımının % 10'nundan az bir kısmını oluşturmaktadır, fakat bu hücreler ikincil lenfoid organlarda yerleşmiş olarak bulunurlar. CD56 dim (düşük) CD16 bright (yüksek) NK hücrelerinin tersine, aktive olmuş CD56 bright (yüksek) CD16 dim (düşük) hücreleri IFN- γ , TNF ve GM-CSF içeren pek çok sitokin üretmektedir fakat uzun süreli aktivasyondan sonra sitotoksikite özelliği kazanmaktadır. Bu yüzden sitokin salgılanması ve sitotoksik etkisi insan NK hücreleri için birbirinden ayrılmış olur¹⁸ (Şekil 5).

CD56 yüksek CD16 düşük ve CD56 düşük CD16 yüksek NK hücreleri, inhibitör ve aktive edici NK hücre reseptörleri taşıdıkları adezyon molekülleri ve kemokin reseptörleri açısından da farklılık gösterirler. Adezyon ve kemokin reseptörlerinin farklılığı NK hücrelerinin lenfoid dokulara yerleşimini veya enflamasyon bölgesine göçünü kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, NK hücre alt grupları farklı düzeyde yüzey reseptörleri eksprese ederler. CD56yüksek NK hücreleri, yüksek düzeyde C-tipi lektin reseptörleri, düşük düzeyde öldürücü hücre immünoglobülin benzeri reseptör (KIR) eksprese ederken, CD56düşük NK hücreleri, hem KIR hem de C-tipi lektin reseptörlerini yüksek miktarda eksprese ederler¹⁸.

NK hücreleri salgıladıkları sitokin profiline göre de NK1 ve NK2 olarak iki alt gruba ayrılırlar. NK1 hücreleri ağırlıklı olarak interlökin 2 (IL-2), interferon γ (IFN- γ) ve tümör nekroz faktörü α (TNF- α), NK 2 hücreleri IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılar⁸.



Şekil 5. NK hücreleri

NKG2D Reseptörü ve Ligandları

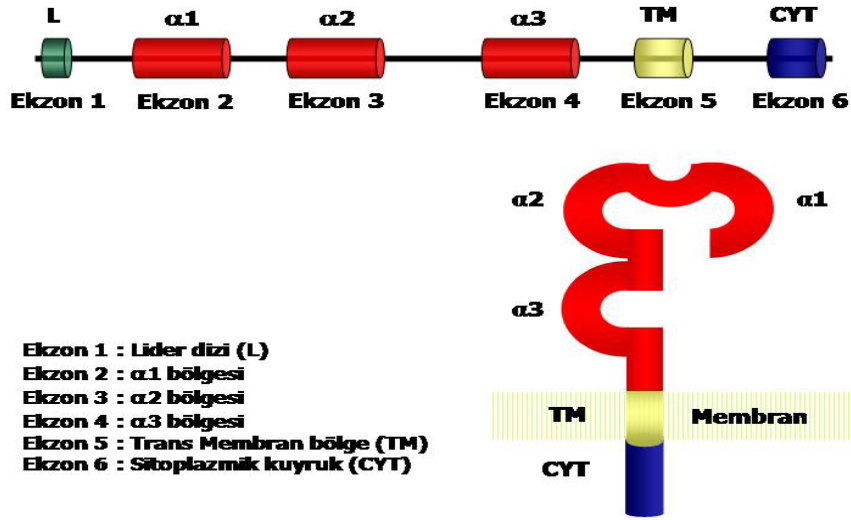
NK hücreleri çok sayıda farklı hücre yüzey reseptörlerini eksprese etmektedirler. NKG2 gen ailesi, tip II lektin benzeri proteinler olarak bilinir. Bu ailenin üyeleri; NKG2A,B,C,D,E ve F' dir. NKG2A,B,C ve E %94-95 düzeyinde aminoasit homolojisi gösterirken NKG2D sadece %21 oranında homoloji göstermektedir. NKG2D hariç bütün NKG2 proteinleri CD94 ile heterodimer oluştururken, NKG2D homodimerik yapıdadır. NKG2C, NKG2D ve NKG2E aktive edici özelliğe sahiptir. Bunlardan en önemlisi NK aktivasyonuna katılan önemli bir hücre yüzey reseptörü olan NKG2D (Doğal öldürücü grup 2, D üyesi-CD314)'dir. İnsan NKG2D, ilk defa 1991 yılında, NK ve birçok T hücreleri tarafından eksprese edilen bir reseptör olarak tanımlanmıştır^{9,19}.

Bu reseptörün işlevi ilk defa 1999 yılında, MICA/MICB ligandları ve DAP10

adaptör protein yoluyla oluşan sinyal iletimini araştıran farklı iki grup tarafından tanımlanmıştır. Dinlenen ya da aktive olan bütün insan ve fare NK hücreleri, $\gamma\delta$ T lenfositlerinden, dinlenen ya da aktive olan insan $\alpha\beta$ CD8⁺T lenfositlerinden, aktifleşmiş fare $\alpha\beta$ CD8⁺T lenfositlerinden homodimer olarak eksprese olmaktadır. Bu reseptör, C- tipi (Ca^{+2} bağlayıcı) lektin benzeri reseptör ailesindedir ve tip II yüzey glikoproteinidir. Bu domain'in orijinal prototipi olan mannoz-bağlayan protein, aslında karbonhidrat ligandı bağlamasına rağmen daha çok protein ligandlarını tanırlar. NKG2D hem primer reseptör hem de koreseptör olarak rol oynayabilir. Böylece hem sitotoksitesiteyi, hem de IFN γ sekresyonunu tetikler. Diğer NKG2 reseptörleriyle direk ilişkisi yoktur ve CD94 ile bağlantısı bulunmamaktadır. İnsanlarda NKG2D ligandının sinyal kaskadının aktivasyonunu sağlayan DAP 10 adaptörüyle ilişkisi vardır¹⁹⁻²¹.

İnsanlarda, NKG2D ligandları MHC sınıf I genleri olan A, B (MICA, MICB) ve glikozilfosfatidilinozitol (GPI)-bağlayıcı yüzey molekülü UL-16 bağlayıcı protein olarak adlandırılan ULBP'dir. Yapılan çalışmalarda 7 tane MIC geni (MICA- MICG) tanımlanmıştır. Bunlardan MICA ve MICB işlevsel olarak eksprese edilen genlerdir, fakat MIC C,D,E ve F pseudogenlerdir. MICA ve MICB terimi ilk olarak 1994 yılında Bahram ve arkadaşları tarafından MHC sınıf I bölgesinde kodlanan bir grup gen olarak tanımlanmıştır. MHC sınıf I genleriyle baz dizimi olarak %28-35 oranında benzerlik göstermektedirler. MHC sınıf I proteinlerine benzer olarak α 1- α 2- α 3 ekstrasellüler domaine ve transmembran kuyruğa sahiptirler. Fakat β 2- mikroglobulin ya da peptidlerle bağlantısı yoktur. MICA ve MICB ısı şok promotör dizileri taşıdıkları için stres ile indüklenirler²²⁻²⁴. Yüksek derecede polimorfiktir. Şimdiye kadar tanımlanmış 60'a yakın MICA, 25'e yakında MICB alleli bulunmuştur. Bu değişkenliğin önemi bilinmemektedir, fakat MICA allelleri NKG2D bağlanması için onların afinitesini değiştirebilir ve bu değişiklik NK hücreleri ve T lenfositler tarafından tanımlanmasının eşiklerini etkileyebilir. Ayrıca, MICA transmembran bölgesinde üçlü tekrar kısa tandem polimorfizme sahiptir ve 6 farklı alleli rapor edilmiştir²⁴.

MICA zincirleri üçboyutlu yapı ve aminoasit dizileri bakımından MHC Sınıf I proteinine benzemektedir. Bu proteinlerden farkı β 2- mikroglobulin bağlantısının olmamasıdır. İnsanlarda 11,722 nükleotid uzunluğundaki MICA geni 6. ekzon içermektedir. 1. ekzon lider peptidi, 2.3. ve 4. ekzonlar sırasıyla α 1-3 ekstrasellüler immünoglobulin (Ig) benzeri bölgeleri, 5. ekzon trans membran (TM) bölgesini, 6. ekzon hücre içi kısmı kodlamaktadır²⁵ (Şekil 6).



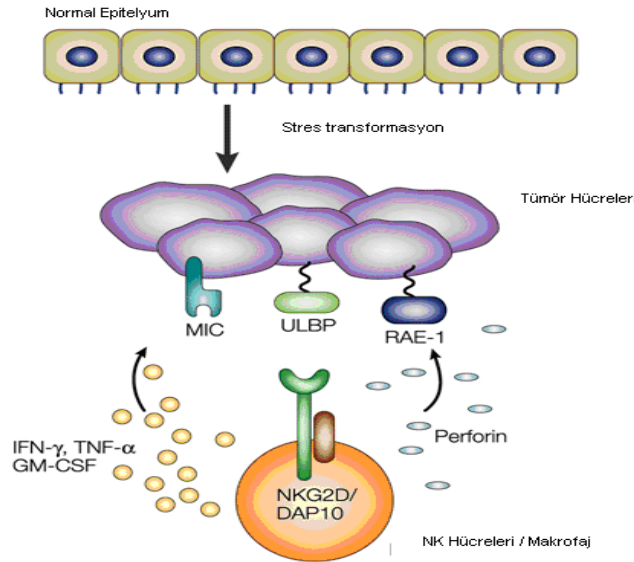
Şekil 6. MICA molekülünün yapısı

MICA'nın ekspresyonu insan epitelyum ve fibroblast hücre hattında, endotelial hücrelerin ve fibroblastların primer kültürlerinde, timik medullada ve gastrointestinal epitelyumda gözlenmektedir. Kültüre edilmiş insan keratositlerinde de gözlenmiştir. Fakat bu ekspresyon hücre yüzeyi üzerinde gözlenmemiştir. Genel olarak malignant neotransformasyonun sonucu olarak pek çok tümörde de gözlenmiştir. Son çalışmalar neotransformasyon sırasında kritik bir basamak olan genotoksik harekete cevap olarak DNA hasar yolu tarafından MICA ve diğer NKG2D'nin ekspresyonunun

indüklendiğini göstermiştir²⁶.

Aktivatör reseptörlerin yaygın özellikleri ITIM domain eksikliğidir. Adaptör proteinleriyle ilişkisi için gerekli olan transmembran domainlerindeki yüklü aminoasidlere sahip olmalarıdır. Bu adaptör proteinler, hücre yüzeyinde spesifik ligandlar tarafından NK hücre reseptörlerinin birleşmesiyle oluşan sinyal tetikleyici moleküllerdir. Genel olarak, aktivasyon sinyalleri NK hücre içerisinde spesifik kinazların fosforilasyonunu indüklemektedir¹⁰.

NKG2D reseptör sinyali için DAP10 adaptör proteinine ihtiyaç vardır. NK hücrelerindeki NKG2D'nin ligandına bağlanması sitolitik aktiviteyi tetikler. Bu da sitokin üretimini sağlar⁸ (TNF- α , IFN- γ gibi) (Şekil 7).



Şekil 7. NKG2D, MIC ve DAP10 adaptör protein ilişkisi

NKG2D Ligandlarının Kanser İmmunolojisindeki Roller

Tümörlerin transformasyon ve büyüme olayı mutasyon oluşumunu, genetik instabiliteyi, hücre döngüsü kontrol kaybını, apoptozise direnci ve sınırsız

kendini yenileme kapasitesini içeren çok aşamalı bir süreçtir. Tümör büyümesinin kontrolünde çok sayıda faktör rol oynamasına karşın immün sisteminin rolü çok önemlidir. Sitotoksik hücrelerin, özellikle NK hücrelerin ve proinflatuar sitokinlerin tümöre karşı immünyetede katkısı büyüktür. Son yıllarda NK hücrelerin sitotoksite özellik sergilediği ve duyarlı hedef tümör hücreleriyle temas halinde olduğunda IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-13, IL-10 ve GM-CSF gibi proinflatuar sitokinleri salgıladığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bunlara ek olarak son zamanlarda NK hücrelerinin farelerde ve insanlarda kazanılmış immün cevapta da rolü olduğu gösterilmiştir. Birkaç NK hücre reseptörü, tümörlerin öldürülmesinden sorumlu tutulmakla birlikte, NKG2D reseptörleri odak noktası olarak gösterilmektedir. Çünkü çok sayıda farklı tümörler üzerinden aşırı eksprese olan belirli antijenleri tanır bu da bu reseptörün kansere karşı immün gözetimdeki rolünü belirtir. Birçok tümörün NK hücre saldırısından korunabilmek için NKG2D aracılıklı sinyal iletim yolunu etkisiz hale getirdiği gösterilmiştir. MHC molekülleri hücre yüzey belirteçleri olarak aktivasyon gösterirler ve enfekte hücrelerin sitotoksik ve yardımcı T hücrelerine sinyal iletimini sağlarlar. NK hücrelerinin MICA eksprese eden tümörler ile uzun süre maruz kalmaları sonucu NKG2D reseptör kompleksinin işlevsel olarak bozulduğu ve sinyal iletemeyecek duruma gelerek tümörlere yanıt geliştiremedikleri de gösterilmiştir^{26,27}.

İnsanlarda MICA/B proteinleri, kökeni farklı epitelyum tümörlerinden eksprese olurken hematopoetik kökenli malignatlarda daha az eksprese olurlar. NKG2D'nin tümöre karşı immün cevaptaki ana işlevi kanser hücrelerinde gözlenen immün kaçış mekanizmasıdır. İmmün yanıtta kaçarken, kanser hücreleri NKG2D ligandlarının işlevini ve ekspresyonunu baskılayarak kontrol ederler. Tümöre karşı immün yanıtta NKG2D-NKG2DL etkileşiminin immün kaçış mekanizmasında önemli işlevi vardır. Tümör hücresinin yüzeyinden MICA'nın kesilmesi için metalloproteinaz bağımlı mekanizma aracılığıyla ortama NKG2DL(sMICA)'nin çözünür formu salınır. Nöroblastoma, prostat ve pankreas kanserlerinde hücre yüzeylerindeki MICA molekülü metalloproteinazlar tarafından proteolitik kesimle atılarak NK

hücrelerindeki NKG2D reseptörü ve hücrel sitotoksite baskı altına alınır^{8,26,27}.

Kanserli hücrelerde MICA ve MICB'nin ekspresyonunun artışı düzenleyen mekanizmalar hala iyi tanımlanmış değildir. Bazı onkogenler MICA ve MICB'nin ekspresyonunu artırabilir. Böylece NKG2D ligandlarının düzenlenmesinde ilk kavram ısı şokun MICA ekspresyonunu indüklemesidir. MICA ve MICB moleküllerinin hücrel stresin bir sensörü olarak işlev gördüğü bilinmektedir. Doku kültürü sırasında indüklenen hücrel stres MICA ve MICB moleküllerinin ekspresyonunun artmasına yol açmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda MICA ve MICB'nin çözünür formlarının otoimmün hastalıklarda ve akciğer, karaciğer, ovar, kolon gibi çeşitli kanserlerde arttığı rapor edilmiştir²⁶⁻²⁸. Kahraman ve arkadaşlarının Nonalkolik Steatohepatitis (NASH)'li hastalarda, karaciğer yaralanması, apoptozis ve fibrozis üzerine MICA ve MICB moleküllerini etkisini araştırdıkları bir çalışmada, NASH'lı hastalarda hepatik NK hücrelerinin NKG2D ve MICA ve MICB transkriptlerinin arttığını ve NASH'lı hastalarda, hastalığın gidişatıyla MICA/B proteinleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir²⁹. Kohga ve arkadaşları transkateter arteriyel embolizasyon sırasında hepatosellüler karsinomalı hastalarda MICA ve MICB'nin serum düzeyinin değiştiğini göstermişlerdir. Bu araştırmacılar kronik karaciğer hastalığının yanı sıra hepatosellüler karsinomanın ilerlemesiyle de sMICA/sMICB seviyesinin arttığını, transkateter arteriyel embolizasyon tedavisinden sonrada sMICA /sMICB seviyesinin önemli düzeyde azaldığını ve NK hücreleri tarafından NKG2D ekspresyonunun arttığını rapor etmişlerdir³⁰. Duan ve arkadaşları pankreas kanserinde, NK hücreleri üzerinde MICA ve NKG2D reseptörlerinin klinik önemini araştırmışlardır. MICA ekspresyonunun pankreas kanser dokularında %89.3 oranında, inflamatuvar ve normal pankreatik dokularda ise daha az eksprese edildiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca sMICA düzeyinin ileri pankreas kanserli olan hastalarda sıklıkla yüksek olduğunu, artmış sMICA düzeyinin azalmış NKG2D ekspresyonuyla ilişkili olduğunu ve NK hücrelerinin aktivasyonunun bozulmuş olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlarda riskli

hastaların zamanında tanımlanması için sMICA ve NKG2D ekspresyonunun yararlı bir gösterge olduğu bildirilmiştir³¹. Yine benzer bir çalışmada kolorektal hastaların serum örneklerinde artmış MICA düzeyleri saptanmış, NK hücrelerinin yüzeyinde NKG2D aktivatör reseptörü ekspresyonunun ve tümöre yönelik yanıtın baskılanmış olduğu gösterilmiştir³².

NK hücreleri tümörün hücre büyümesini kontrol etmek için çeşitli mekanizma kullanırlar. MICA ve MICB'nin ısı şok, viral ve bakteriyel infeksiyonlarla indüklenmesine rağmen, MICA/B ekspresyonunu düzenleyen farmakolojik ajanlar ile ilgili çalışmalar çok yetersizdir. Retinoik asidin hepatosellüler karsinomada MICA/MICB ekspresyonunun bir modülatörü olarak işlev gördüğü ve bu davranışından dolayı NK hücrelerini aktive ettiği, tümöre karşı ajan olarak hareket edebileceği gösterilmiştir. İnsan endometriyal hücrelerinde MICA'nın ekspresyonunun estradiolle düzenlendiği ve hormonal olarak da kontrol edilebileceği rapor edilmiştir³³. Yapılan diğer bir çalışmada, insan akciğer karsinoma hücre hatları kullanılarak Valproik asidin (VPA) MICA gen ekspresyonu üzerindeki etkileri araştırılmış ve VPA'nin MICA ekspresyonunu indüklediği, NK hücrelerinin yok etme etkisinin VPA(+)'li tedavinin VPA (-)'süz tedaviye göre önemli ölçüde daha güçlü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmanın sonuçları kanser tedavisinde yeni bir yöntem ve uygulama alanının oluştuğunu göstermiştir³⁴.

MICA ve MICB ekspresyonunun hücrel genotoksik stres ve DNA hasarı tarafından transkripsiyonel seviyede indüklendiği de gösterilmiştir. BCR/ABL onkogeninin kronik myeloid lösemi (KML)'lerde MICA ekspresyonunu direk olarak kontrol ettiği, PI3K/mTOR ve MAPKinase/ERK yollarını içeren çeşitli sinyal yollarını tetiklediği saptanmıştır³⁵.

Sonuç

İmmun sistem tehlikeyi algılamak için pek çok sinyal molekülüyle bağlantılı olarak çalışmaktadır ve NKG2D'nin bu tanımayı sağlamak için önemli bir katkısı olduğu görülmektedir. Transforme olmuş hücrelerde, virüsle enfekte olmuş hücrelerde MIC proteinlerin upregulasyonu NKG2D vasıtasıyla bir

cevap oluşturmaktadır. NKG2D ile yapılan araştırmalar sonucunda, NK hücrelerinin de direk olarak stres sinyallerine yanıt verdiği ve çeşitli NKG2D ligandlarının dağılım ve ekspresyon özelliklerinin doğuştan gelen immun yanıtta önemli rol oynadığı gösterilmiştir³⁶.

Kaynaklar

1. López-Larrea C, López-Soto A, González S. NK cell immune recognition: NKG2D ligands and stressed cells. *Naturel Killer Cells. Bas Sci Cli App.* 2010, 65-77.
2. Gruen JR, Weissman SM. Evolving views of the major histocompatibility complex. *Blood.*1997; 90:4252-4265.
3. Oğuz F, Karahan G, Özilli K, et al. MHC and MIC genes Autoimmunity. *Turk J Immunol.* 2005;10:1-7.
4. Hughes AL, Nei M. Evolutionary relationships of the classes of major histocompatibility complex genes. *Immunogenetics.* 1993;37:337-346.
5. Shankarkumar U. The human leukocyte antigen (HLA) system. *Int J Hum Genet.*2004;4:91-103.
6. Kostyu DD, Hannick LI, Traweek JL, et al. HLA Sınıfı polymorphism: structure and function and still questions. *Hum Immunol.* 1997; 571: 1-18.
7. González S, Groh V, Spies T. Immunobiology of human NKG2D and its ligands. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006; 298:121-138.
8. Örnek O. IL-12 ve IL-15 ile uyarılmış insan NK hücrelerinin kolon karsinomuna yönelik anti-tümöral etkileri. Doktora Tezi; İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2007.
9. Borrego F, Kabat J, Kim DK, et al. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells. *Mol Immunol.* 2002;38:637-660.
10. Jamieson AM, Diefenbach A, McMahon CW, et al. The role of the NKG2D immunoreceptor in immune cell activation and natural killing. *Immunity.* 2002;17:19-29.
11. Pende D, Cantoni C, Rivera P, et al. Role of NKG2D in tumor cell lysis mediated by human NK cells: cooperation with natural cytotoxicity receptors and capability of recognizing tumors of nonepithelial origin. *Eur J Immunol.* 2001;31:1076-1086.
12. Bacon L, Eagle RA, Meyer M, et al. Two human ULBP/RAET1 molecules with transmembrane regions are ligands for NKG2D. *J Immunol.* 2004;173:1078-1084.
13. Bahram S, Bresnahan M, Geraghty DE, et al. A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91: 6259-6263.
14. Ljunggren HG, Karre K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today.* 1990;11: 237-244.

15. Oppenheim DE, Roberts SJ, Clarke SL, et al. Sustained localized expression of ligand for the activating NKG2D receptor impairs natural cytotoxicity in vivo and reduces tumour immunosurveillance. *Nat Immunol.* 2005;6:928-937.
16. Colombo MP, Trinchieri G. Interleukin-12 in anti-tumor immunity and immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13:155-168
17. Becknell B, Caligiuri MA. Interleukin-2, Interleukin-15, and their roles in human natural killer cells. *Adv Immunol.* 2005;86:209-239.
18. Lünemann A, Lünemann JD, Münz C. Regulatory NK-cell functions in inflammation and autoimmunity. *Mol Med.* 2009;15:352-358.
19. Bauer S, Groh V, Wu J, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science.* 1999;285:727-729.
20. Raulet DH. Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:781-790.
21. Wu J, Song Y, Bakker AB, et al. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10. *Science.* 1999;285:730-732.
22. Petersdorf EW, Schuler KB, Longton GM, et al. Population study of allelic diversity in the human MHC class-I related MIC-A gene. *Immunogenetics.* 1999;49:605-612.
23. Stephens HA. MICA and MICB genes: can the enigma of their polymorphism be resolved. *Trends Immunol.* 2001;22:378-385.
24. Bahram S, Inoko H, Shiina T, et al. MIC and other NKG2D ligands: from none to too many. *Curr Opin Immunol.* 2005;17:505-509.
25. Yiğitbaştürk E. Türk popülasyonunda yüksek rezolusyon MHC class-I related chain a (MICA) genotiplenmesi, HLA-B – MICA haplotiplerinin incelenmesi ve yeni MICA alellerinin araştırılması. Doktora Tezi; Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2006.
26. Zwirner NW, Fuertes MB, Giart MV, et al. Cytokine-driven regulation of NK cell functions in tumor immunity: Role of the MICA-NKG2D system. *Cytokine Growth Fact.* 2007;18:159-170.
27. Coudert JD, Held W. The role of the NKG2D receptor for tumor immunity. *Sem Can Biol.* 2006;16:333-343.
28. Tamaki S, Kawakami M, Ishitani A. Soluble MICB serum levels correlate with disease stage and survival rate in patients with oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.* 2010;30:4097-4101.
29. Kahraman A, Schlattjan M, Kocabayoğlu P, et al. Major histocompatibility complex class I-related chains A and B (MIC A/B): A novel role in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2010; 51:92-102.
30. Kohga K, Takehara T, Tatsumi T, et al. Serum levels of soluble major histocompatibility complex (MHC) class I-related chain A in patients with chronic liver diseases and changes during transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 2008;99:1643-1649.

31. Duan X, Deng L, Chen X, et al. Clinical significance of the immunostimulatory MHC class I chain-related molecule A and NKG2D receptor on NK cells in pancreatic cancer. *Med Oncol*. 2010;10:9480-9489.
32. Gong WJ, Xiao WM, Gong CX, et al. Association of MICA gene polymorphism and serum soluble MICA level with colorectal cancer. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2010;27:335-339.
33. Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, et al. Ekspression and role of MICA and MICB in human hepatocellular carsinomas and their regulation by retinoic acid. *Int J Cancer*. 2003;104:354-361.
34. Rui J, Long D, Wang W, et al. Valprole acid induce the Expression of MICA antigen in human lung cancer cells and promote the NK killing effects on the cells. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2010; 41:10-14.
35. Boissel N, Rea D, Tieng V. BCR/ABL oncogene directly controls MHC class I chain-related molecule a expression in chronic myelogenous leukemia. *J Immunol*. 2006;176: 5108-5116.
36. http://www.rnssystem.com/mini_review_detail_objectname_MR02_NKG2D.aspx

Yazışma Adresi:

Dok.Öğr. G. Şeyda SEYDEL
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tel: 0322 3386060-3466-3467