

Mikrobiyota ve Kanser Microbiota and Cancer

Ahmet Cihat GENÇ¹, İlhan HACİBEKİROĞLU²

¹ Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Sakarya

² Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji BD, Sakarya

Genç AC, Hacibekiroğlu İ. Mikrobiyota ve Kanser.

J Biotechnol and Strategic Health Res. 2017;1 (Special issue):123-131.

Özet

Kanser, önemli bir halk sağlığı sorunudur. Günümüzde, onkoloji alanındaki çok önemli gelişmelere rağmen halen kanser küratif hastalıklar kategorisinde değildir. Ancak, kompleks karsinogenez aşamalarında rol oynayan faktörlerin saptanması ile bu yolda önemli adımlar atılmaktadır. İnsan Mikrobiyota projesi kapsamında son dönemde elde edilen veriler, vücudumuzun epitelyal yüzeylerinde yaşayan kommensal mikroorganizma türlerinin bu süreçte aktif rol aldığını, aynı zamanda kanser tedavisine verilen kişisel yanıtlar ve toksisite ile de ilişkili olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, kanser oluşumu ve tedavisi aşamalarında anahtar role sahip major bir faktörün daha ortaya çıkarılması, kansere bağlı kişisel, toplumsal ve ekonomik kayıpları azaltacaktır. Biz, bu derlemede, yakın zamanda yapılan çalışmalardan elde edilen verilere dayanarak, Mikrobiyotanın, karsinogenezdeki rolünü ve kanser tedavilerine yanıt ve toksisite üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Anahtar Kelimeler Kanser, Karsinogenes, Mikrobiyota

Abstract

Cancer is a major public health problem. Today, despite the very important developments in oncology, cancer is still not in the category of curative diseases. However, significant steps are being taken in this direction by the identification of factors that play a role in the stages of complex carcinogenesis. Recent data from the human microbiology project have shown that commensal microorganism species living on the epithelial surfaces of the body play an active role in this process and are also associated with personal responses to cancer treatment and toxicity. As a result, further exposure of a major factor with key roles in cancer development and treatment stages will reduce personal, social and economic losses associated with cancer. We aimed to assess the role of microbiota in carcinogenesis and their effects on response to cancer treatments and toxicity, based on the data obtained from recent studies in this review.

Keywords Cancer, Carcinogenesis, Microbiota



Geliş Tarihi / Received : 17.08.2017

Kabul Tarihi / Accepted : 13.09.2017

*Corresponding Author:

Doç. Dr. İlhan HACİBEKİROĞLU
Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Onkoloji AD, Sakarya

E-mail: ilhanhbo@hotmail.com

Mikrobiyota

Kanser, bir dizi genetik bozukluk sonucu oluşan kompleks bir hastalıktır. Tüm dünyada, kalp hastalıklarından sonra en sık rastlanan ölüm nedeni olması nedeniyle çok önemli bir halk sağlığı sorunudur¹. Kanser oluşumuna neden olan faktörlerin nitel ve nicel artışının yanı sıra, tanı olanaklarının gelişmesi ile paralel bir artış gösteren olgu sayıları, gerek ülkemiz ve gerek ise küresel anlamda, birçok kurum ve kuruluşun, kanserle daha fazla ilgilenmesi sonucuna yol açmıştır. Günümüzde, kanserogenezde rol oynayan birçok faktörün net olarak tanımlanmış olmasına, moleküler mekanizmaların ortaya çıkarılarak bunların terapötik hedef olarak kullanımına rağmen, sağkalım artışları elde edilse de, kanserin küratif bir hastalık haline getirilememesi nedeniyle, kanser etiopatojenezinde sorumlu potansiyel aktörlerin aranmasına devam edilmektedir. Bu sayede kanser kaynaklı kişisel, toplumsal ve ekonomik kayıplar önlenebilecek ve belki de kanser uzun yıllar sonrasında, kürabl hastalıklar arasında yerini alabilecektir.

Mikrobiyota, vücudumuzun epitelyal bariyer yüzeylerinde yaşayan bakteri ve diğer organizmaları (fungus, protozoa, virüs vs.) ya da birlikte yaşadığımız özel türlerin tamamını tanımlamaktadır². Mikrobiyota, hematopoez, inflamasyon ve immünite başta olmak üzere birçok fizyolojik fonksiyon üzerinde etkisi bulunmaktadır³. Mikrobiyotanın insan sağlığı ve kanser dahil pek çok hastalıkla ilişkisinin gösterilmesi ile bu alanda çalışmalar hız kazanmış ve mikrobiyotanın artık, yeni bir organ olarak değerlendirilmesi gerektiği görüşü ortaya çıkmıştır⁴. Yaş, coğrafi farklılıklar, diyet alışkanlıkları, antibiyotikler, probiyotikler gibi faktörler intestinal motilite, pH, redoks durumu, mikronutrientler, sekresyonlar (asit, safra, mukus, enzimler) gibi tanımlanmış birçok etiyolojik faktör, mikrobiyotanın kompozisyonunun farklılık göstermesine yol açabilmekte, ve bu değişiklikler diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser dahil birçok kronik hastalık ile ilişkili bulunmuştur⁵⁻⁷

Tüm kanserlerin yaklaşık %15 'inde patojenik mikroorganizmalar etken olarak tanımlanmıştır⁸. Karaciğer, serviks, mide, nazofarenks ve kaposi sarkomunun ağırlıklı olarak infeksiyon ajanları nedeniyle oluştuğu ve bu tümörlerin oluşmasında Hepatit B ve C, HPV, Helikobakteri pilori ve Epstein Barr virüsü gibi patojenlerin uzun süreli varlığı gerekmekte idi. Bu ajanlar, tümör supresyonunun

bozulması, konakçı DNA'sında virusun onkogenik etkileşimi, lokal immün yanıtı bozması gibi farklı biyolojik yöntemlerle tümör oluşumuna neden olmakta idiler. Ancak, vücudumuzdaki simbiyotik ve kommensal organizmaların karsinogenezdeki rolü açık değildi. Günümüzde insan mikrobiyota projesi kapsamındaki araştırmalar sonucunda, vücudumuzda doğumdan itibaren var olan, vücut homeostazisinde aktif rol oynayan mikroorganizmaların rolleri daha iyi anlaşılmaya başlanması, onkoloji alanında da heyecan verici gelişmelere yol açmıştır⁹. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, Mikrobiyotanın, özellikle barsak Mikrobiyotasının kanserin inisiyasyonu, progresyonu ve vücuttaki yaygınlığı ile yakın bir ilişki içinde bulunduğu, yani karsinogenezin her aşamasında anahtar bir rol oynayabileceği, ek olarak da, anti kanser tedavilere yanıt ve toksik yan etki eğilimlerini de değiştirebileceği ile ilgili yeni kanıtlar ortaya çıkmaktadır¹⁰.

Biz, bu derlemede, yakın zamanda yapılan çalışmalardan elde edilen verilere dayanılarak, Mikrobiyotanın, karsinogenezdeki rolünü ve kanser tedavilerine yanıt ve toksisite üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Karsinogenez, sağlam bir vücut hücresinin genetik ve epigenetik değişiklikler sonrası kanser hücresine dönüşüm aşamalarının tümünü tanımlamaktadır. Genetik hasarın bir şekilde başlatılması, tümör süpresör genler ve protoonkogenlerin aktif rol oynadığı, bir dizi genetik ve moleküler değişiklik sonrası, irreversibl aşamaya geçiş ve nihayetinde organizmanın kanser hücreleri ile karşı karşıya kaldığı etiopatojenezinde birçok faktörün olduğu, halen tam olarak aydınlatılmamış aktif bir süreçtir. Çevresel toksik maddeler, iyonize radyasyon, beslenme bozuklukları, immün sistem anomalileri gibi birçok faktör karsinogenez başlatabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Mikrobiyotanın da multifaktöriyel karsinogenez aşamalarında aktif rol aldığı gösterilmiştir¹¹.

Mikrobiyotanın karsinogenezdeki rolü temel olarak 3 kategoride incelenmektedir;

1) Gastrointestinal sistem mukozasında orantısız proinflamatuvar sinyalizasyon, nihayetinde neoplazi ile sonuçlanabilen artmış dö-külme ve onarıma neden olabilmektedir.

Flora alanlarında gereksiz inflamasyon olmaması sağlıklı mikrobiyotaya ve bağışıklık sisteminin işbirliği ile sağlanır¹². Mikrobiyotaya, pek çok bölgede olmasına rağmen, mikroorganizma sayısının fazlalığı nedeniyle intestinal mikrobiyotaya sistemik immün yanıtta daha önemlidir. Mikrobiyotaya, intestinal immün yanıtı, primer olarak metabolik ürünler ve patojen ilişkili moleküler paternler üreterek düzenlenmektedir¹³. Mikrobiyotaya, mukozal bariyer direncinin artırılmasına katkıda bulunarak, mukozal dokuları antijen ve patojenlerden korur¹⁴. Son zamanlarda, mikrobiyotaya aracılı epitelyal immünitenin modülasyonu ile mekanizmalar tanımlanmaya başlanmıştır. Mikrobiyotaya, Makrofaj, T lenfositleri ve Dentritik hücreler gibi immün sistem hücreleri üzerine düzenleyici etkilere sahiptir¹⁵. Mikrobiyotanın, disbiyozis veya intestinal bariyerin yıkımı sonrası hemopoetik hücrelerle direkt teması kanserojenite inflamatuvar süreci başlatabilmektedir^{16,17}. Mikrobiyotanın immün yanıt düzenlenmesine katkısında, ürettiği aktif moleküllerden IL-1, IL-18, interferonlar, TNf, IL-10, serum amiloid A en etkin olanlardır¹⁸. Mikrobiyotaya tarafından, fermentasyonla oluşturulan kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), G-protein aracılığıyla mukozal immüniteyi düzenlemekte ve mukoza fonksiyonlarını desteklemektedir¹⁹. KZYA regülatuar T (Treg) hücrelerini direkt etkiler ve onların büyüme ve fonksiyonlarını düzenler ve enterositlerde interlökin -18 (IL-18) üretimini tetikler^{19, 20}. IL-18'in mukozal koruyucu etkisi vardır ve IL-18 üretimi olmayan deney hayvanlarında, gelişen disbiyozis sonucu kimyasal uyanlarla kolon kanseri gelişimi olmaktadır²¹. Diğer bir Mikrobiyotaya ilişkili sitokin, IL-22, STAT3 aracılığı ile lamina propiadaki lenfoid dokuda üretilir ve intestinal bariyeri, bakteriyel etmenler ve proinflamatuvar süreçlerden korur ve aynı zamanda antikarsinojeniktir²². IL-18 ve IL-22 ekspresyonu engellenen deney hayvanı modellerinde bakteriyel endotoksinler kanserojenite indükleyebilmektedir²³. Mikrobiyotanın önemli bakterilerinden olan bakteriyel frajilis, kapsüler polisakkarit A ile IL-10 sekrete eden Treg hücre diferensiyasyonunu sağlar ve bu mekanizma kolon inflamasyonu ve inflamasyonla ilişkili patolojik olaylardan koruyucu özelliğindedir²⁴. Lokal bariyere olan katkısı dışında mikrobiyotaya sistemik immünitenin korunması ve sürdürülmesinde önem işlevlere sahiptir. Farelerde mikrobiyotanın olmaması pek çok anatomik bölgede direnç gösterilemeyen enfeksiyonların gelişimi, otoimmün hastalıklar, kemoterapi direnci, immün tedavilere azalmış yanıt oranları dahil birçok patolojik süreç ve ölümlü sonuçlanmaktadır^{25,26}. Prekanseroz

poliplerin oluşturulduğu hayvan modellerinde, sağlıklı dokuya göre poliplerde transmukozal bakteriyel translokasyon daha fazla bulunmuştur. Bu modellerde poliplerin progresyonu için translokasyon gösteren mikrobiyotada ekspresyonu artan IL-6, IL-11, IL-23 ve IL-22 gerekmektedir ve bu kanser proliferasyonunu hızlandırmaktadır²⁷.

2) Bazı mikrobiyal türler direkt veya indirek olarak konak hücrelerinde sitotoksik etkilere sahiptir ve hücrede kanserojenite tetikleyen patolojik genomik değişiklikleri başlatabilirler.

Pek çok mikrobiyal etmenin özellikle, entereokokus fekalis, enterotoksijenik bakteriyel frajilis, entero patojenik E.koli, fusobakteriyum spp ve streptokokus gallolitikusun, konak hücreleri üzerine direkt toksik etkileri ile kanserojenite aşamalarındaki rolü tanımlanmıştır^{28,29}. Odaribakter ve akkermanya kolonizasyonu, kolon kanseri geliştirilen hayvan modellerinde, mikrobiyotada artmış oranda bulunmaktadır ve kolorektal kanser gelişimi ile ilişkili bulunmuştur³⁰. Fusobakteriyum nukleatum, E-kadherine bağlanarak wnt / katenin yolak aktivasyonu yapmakta ve tümör proliferasyonunda rol oynamaktadır²⁸. Mikrobiyotaya sadece lokal etki ile kanserojenite uyarmamakta, aynı zamanda sistemik etkiler ile de kompleks kanserojenite aşamalarına katkıda bulunabilmektedir. Helikobakter hepatikusun artmış kolonizasyonu APCmin/+ / Rag2-/- farelerde prostat, meme ve hepatoselüler kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir³¹. Atm-/- farelerde disbiyozis varlığında, çevresel faktörlerin deneysel kullanımı ile lenfoma gelişimi gözlenmiştir³². Mikrobiyotanın uzak organlardaki kanserojeniteye tümör nekrotizan faktör (TNF) tarafından düzenlenen sistemik inflamasyon, oksidatif stres ve epitelyal genotoksite ile katkıda bulunduğu tanımlanmıştır³³. Antibiyotik kullanımına bağlı değişen mikrobiyotaya, östrojen metabolizmasında değişimlere sebep olmakta ve meme kanseri gelişiminde bir risk faktörü olarak ortaya çıkmaktadır³⁴. Yine, antibiyotik kullanımı sonucu gelişen kolondaki candida albicans kolonizasyonu, mikrobiyotayı bozmaktadır. Bu bozulma sırasında akciğerlerde alerjik etkileri yanında tümör proliferatif etkileride olan prostaglandinler ve makrofaj kolonizasyonu olmaktadır³⁵.

3) Mikrobiyal metabolizma sonucu oluşan bazı ürünler, epitel için toksik ya da koruyucu olabilmekte ve neoplastik transformasyonu başlatabilmektedir ya da engelleyebilmektedir.

Alınan besinlerin Mikrobiyotada metabolizması sonucu oluşan bütirat, ürolitinler, ekuol gibi biyoaktif bazı maddeler, antioksidan, anti inflamatuvar ve antianjiogenik özelliklere ve histon deasetilaz aktivitesinde azaltıcı fonksiyonlara sahiptirler³⁶. Bu moleküller, karsinogenez aşamasında aktifleyici ya da süprese edici etki göstererek aktif rol alabilmektedirler. Örneğin, diyet fiber alımı ile barsakta bütirat üreten mikroorganizma sayısı artmaktadır. Butirat, bir KZYA olup intestinal sistemde diyetdeki fiberlerden bakteriler tarafından üretilir ve intestinal hücrelerdeki GPR109a aracılığı ile IL-18 üretimini sağlamaktadır²⁰. KZYA, Treg hücreleri uyararak kolonik inflamasyon ve karsinogenezisi baskılayan IL-10 üretimini artırır¹⁹. Birçok çalışmada bütirat üreten bakteri miktarında azalma kolon kanseri ile ilişkili bulunmuştur. Ancak mikrobiom değişikliğinin sebep mi yoksa Sonuç mu olduğu net olarak açıklanamamıştır³⁶.

Kanser tedavileri ve Mikrobiyota

Hardal gazının 2. Dünya savaşı esnasında sitotoksik etkilerinin keşfinden sonra kanser tedavilerinin ana bileşeni olan kemoterapotik ajanlar, halen kanser tedavisinin major bileşeni konumundadır³⁷. Birçok kemoterapotik etkilerini hücre siklusu ve DNA üzerindeki değişiklikler aracılığıyla gerçekleştirmektedir. Kemoterapi spesifik olmayıp bölünen sağlıklı tüm hücreler üzerine toksik etkileri vardır. Kanser tedavisinde bir çok yenilik olmasına rağmen halen tedavi aşamalarında aktif kullanımları süren kemoterapotiklerin etkinliğinin artırılması ve toksisitesinin azaltılmasına yönelik arayışlar sürmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, Mikrobiyotanın, antikanser tedavi modalitelerine bireysel yanıt ve toksisite farklılıklarını açıklayacak bir bileşen olduğunu destekler nitelikte olduğunu, sadece karsinogenez aşamalarında değil, tedavi aşamalarında da anahtar bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, mikrobiyotanın kemoterapi ve immüno-terapiye verilen yanıtı, tümör mikroçevresindeki myeloid kökenli hücreler aracılığıyla etkilediğini göstermiştir³⁸.

İlaç metabolizması

Barsak Mikrobiyotası birçok düzeyde ilaç farmakokinetiklerini, antikanser aktivite ve toksisiteyi etkilemektedir³⁹. Birçok oral ilacın absorpsiyonu ve biyoyararlanımı dolaşıma girmeden önceki barsaktaki konak ve bakterial enzimlere maruziyetine bağlıdır. Komensal mikroorganizmalar bazı ilaçların absorpsiyonunu fiziksel

bağlanma ve ayrılma ile azaltabilmektedir⁴⁰. Birçok ilaç intestinal Mikrobiyotada metabolize edilmesine rağmen, antikanser ilaçlar arasında sadece , misonidazol nitroreduksiyonu, metotrexatın hidrolizi ve irinotekanın detoksifiye formu CPT-11'in gut Mikrobiyota tarafından etkilendiği gösterilmiştir⁴¹. Ek olarak, oral ve sistemik uygulanan ilaçların metabolizmasını, gen ekspresyonunun modülasyonu ve lokal mukozal bariyerler ve karaciğer gibi uzak organların fizyolojisi üzerine etkileri ile indirek olarak etkileyebilmektedir⁴². Kemoterapilere yanıt çeşitliliği ve toksisite eğilimindeki bireysel farklılıkların bireysel barsak Mikrobiyota bileşimi ve aktivitesindeki farklılıklardan kaynaklanabileceğini belirten çalışmalar mevcuttur⁴³. Ek olarak, oral ve safra ile barsağa sekrete edilen parenteral kemoterapotikler, barsak Mikrobiyotasına maruz kalarak ileri metabolizma ve reabsorpsiyona uğrayabilirler. Buna örnek olarak, kolorektal kanser tedavisinde kullanılan irinotekan, karaciğer ve incebarsak dokusundaki karboksil esteraz aracılığı ile aktif formu olan SN-38'e çevrilir ve sonrasında UDP- Glikuronil transferaz aracılığıyla inaktif formu olan SN-38G'ye dönüştürülerek barsağa sekrete edilir⁴⁴. Barsakta, SN-38G bakteriyel B-glikuronidaz aracılığıyla yeniden aktif form olan ve intestinal toksisite ve diareyi indükleyen SN-38'e dönüştürülebilir⁴⁵. İnsan barsağında B-glikuronidaz aktivitesi en çok Firmicutes phylum, particularly within Clostridium clusters XIVa ve IV türlerinde bulunmaktadır⁴⁶. Deneysel çalışmalarda, B-glikuronidaz pozitif türleri azaltan Antibiyotik tedavisi veya probiyotik kullanımının irinotekan tedavisi kaynaklı intestinal inflamasyon ve diyarede azalma sağladığı gösterilmiştir⁴⁷. Sonuçta, B-glikuronidaz inhibisyonu kanser tedavisinde terapötik bir hedef haline gelmiştir.

Kemoterapiye yanıt

Bakterilerle direk etkileşim kemoterapotiklerin biyotransformasyonu ile sonuçlanabilmekte ve efikasitesini etkileyebilmektedir. 30 kemoterapotik ilaç ile non patojenik gram pozitif Escherichia coli veya gram pozitif Listeria welshimeri varlığında yapılan in vitro çalışmada, 10 ilacın aktivitesinde azalma saptanırken, 6 ilacın efikasitesinde genişleme saptanmıştır⁴⁸. Yapılan invivo hayvan çalışmalarında ise İntratümöral E. Coli inokulasyonu ile gemstabinin antitümöral etkisinde azalma ve geniş spektrumlu antibiotik kullanımı sonrası Parabacteroides distasonis aşırı üremesi doksorubisinin antitümöral etkisinde azalma saptanmıştır^{48,49}. Daha detaylı invivo klinik çalışmalar ise sadece platin analogları ve siklofosamid ile

rapor edilmişlerdir. Platinler, DNA replikasyonunu inhibe ederek etki gösteren, ciddi intestina toksisite, ototoksisite, nerotoksisite ve periferik nöropati riskine sahip antineoplastik ilaçlardır. Komensal mikroorganizmalardan yoksun farelerde, platin bileşiklerinin subkutan transpanabl tümöre karşı aktivitelerinde dramatik azama gözlenmiştir³⁸. Platin analoglarının DNA ve diğer hücrel hasar oluşturmaya reaktif oksijen türleri aracılık etmektedir. Farede gut Mikrobiyotaya yokluğunda, tümör infiltre eden myeloid hücrelerden NADPH oksidaz-2 aracılığıyla parakrin reaktif oksijen türleri salınımının önlenmesi ve buna ikincil platin etkisinde azalma gösterilmiştir⁵⁰. Benzer şekilde, bu farelerde probiyotik *Lactobacillus* türleri tedavisi sonrası ise platinlerin indüklediği inflamatuvar gen ekspresyonunda ve antitümoral etkilerinde düzelme gözlenmiştir⁵¹. Okzaliplatin, immünojenik kanser hücre ölümünü indükler ve antijen sunan hücreler aracılığı ile antitümör immün yanıtı stimüle ederek ve uzun süreli tümör regresyonu ve kür sağlayabilmektedir⁵². Mikrobiyotadan yoksun farelerde, erken genotoksik ve sitotoksik etkilere ilaveten adoptif immün yanıtta azalma sonucu oksaliplatinin indüklediği uzun dönem sağkalımda da azalmalar bildirilmiştir³⁸. Siklofosfamid tedavisi, kanserli hastalarda bir hafta içinde ince barsak komensal bakteri bileşimini değiştirmektedir. Siklofosfamidin indüklediği immünojenik tümör hücre ölümünü takiben mezenterik lenf nodlarına transloke olan *Enterococcus hirae* gibi gram pozitif bakteriler, antitümoral adoptif immün yanıtı indükleyen intratümörel CD8(+) T hücre/ T regülatör hücre oranında artışa ve patojenik T helper 17 aktivasyonuna yol açmaktadır⁵². Mikrobiyotaya fonksiyon bozukluğu ya da eksikliği olan farelerde, patojenik T helper 17 hücre yanıtında ve siklofosfamidin antitümör etkisinde azalma saptanmıştır⁵³.

Kemoterapi Toksisitesi

Kanser tedavisinde kullanılan birçok ilacın, neoplastik hücreler dışında hızlı çoğalan tüm hücrelerde de etkili olması nedeni ile birçok sistemde toksisite görülebilmektedir. Bu toksisiteler mortalite ve morbidite nedeni olabileceği gibi, tedavi ile ilişkili maliyet artışlarına, tedavi aksamalarına sebep olabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, Mikrobiyotadaki değişikliklerin sadece etyopatenez ve yanıt ile değil toksisite ile de ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Oral ve intestinal Mikrobiyotadaki majör değişimler, kardiyomyopati ve intestinal mukozit gibi doksorubisin kaynaklı ciddi

yan etkiler ile ilişkili bulunmuştur⁵⁴. Ancak, bakteriyel muramil dipeptid ilişkili NOD-2 (Nucleotide-binding oligomerization domain containing-2) stimülasyonu doksorubisin kaynaklı mukozal hasar önlemektedir⁵⁵ *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* probiyotik kombinasyonu, sisplatin kaynaklı bazı toksisiteyi önlerken, aynı zamanda da antitümoral etkide artış sağlayabilmektedir⁵⁶. yine metotreksat kaynaklı intestinal toksisite, mikrobiyal ürünler ve endojen DAMP (Damage associated molecular pattern) kaynaklı TLR4 (Tool like receptor-4) aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur⁵⁷.

Barsak Mikrobiyotası, pankreas beta hücre kütlelerini, yağdoku inflamasyonunu ve lipid dağılımını düzenlemektedir. Yağ metabolizması ve adipoz doku bozuklukları sonrası tümör hastalarında kaşeksine gelişebilmektedir. Sisplatin gibi bazı kemoterapötikler kanser kaşeksisine benzeyen kas zayıflamalarına yol açabilmektedir ve kaşektik hastalarda kemoterapi farmakokinetiği değiştirebilmektedir⁵⁸. Kanser kaşeksisinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamış olsa da, bu durumun barsak Mikrobiyotası ve enerji metabolizması ile yakın ilişkili olduğu, Mikrobiyota değişimlerinin patojenezden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Kanser hastalarında probiyotiklerin tek başına ya da nutrisyonel destek ürünleri ile beraber kullanımı, kanser ilişkili kaşekside düzelmeye yol açabilmektedir⁵⁹.

Radyoterapi ve mikrobiyotaya

Birçok kanser hastası iyonize radyasyon tedavisi almaktadır. Radyoterapiye sekonder intestinal hücre apoptozisi ve Mikrobiyotaya bileşiminde değişimler olabilmektedir⁶⁰ Lokal radyoterapi immünojenik tümör hücre ölümünü indükler ve sistemik inflamasyon ve immüniteyi uyarmaktadır. Mikrobiyotanın radyoterapiye yanıt ve radyasyon toksisitesi üzerine etkisi tam olarak açığa çıkarılmamıştır. İyonize radyasyon, abskobal etki olarak da adlandırılan, radyasyon uygulanan saha dışında immün ilişkili ve antijen sunan dentritik hücre ve T lenfosit aktivasyonu gerektiren antitümör yanıt oluşturabilmektedir⁶¹. Barsak Mikrobiyotasının kemoterapi ve immünoterapi ilişkili immünojenik kanser hücre ölümünü indüklediği gözönüne alınarak, radyasyon tedavisindeki immünstimulator etkiyi de artırabileceği ve bu sayede tedaviye yanıtı artırabileceği hipotezi oluşturulmuştur.

Radyoterapiye bağlı lokal ve sistemik toksisite tedavi etkinliğini azaltabilmektedir. Probiyotik tedavileri ile yapılan bazı çalışmalarda radyasyonun indüklediği barsak hasarında azalma gözlemlenmiştir. Farelerde, *Lactobacillus rhamnosus* gibi TLR-2 etkinleştirilmiş mikroorganizmalar, siklooksijenaz-2 ekspresine eden hücrelerin, intestinal kriptlerin villuslardan tabana taşınması yoluyla intestinal mukozayı radyoterapi etkilerine karşı koruduğu gösterilmiştir⁶². *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* içeren kombinasyon preparatlarının ile pelvik radyasyona bağlı gelişen ciddi ishal insidansında azalma sağladığı saptanmıştır⁶³. Hayvan çalışmalarında, radyasyon toksisitesine eğilim geceye göre gündüz daha fazladır. Sirkadyan ritim radyasyonun indüklediği apoptozisi ve barsak kemik iliği ve periferik kandaki p53 yanıtı genlerin aktivasyonunu etkilemektedir⁶⁴. Sirkadyan ritim, barsak mikrobiyal bileşimindeki ve kısa zincirli yağ asidi üretimindeki günlük değişimler ve gut Mikrobiyotaya kaynaklı immün reseptörlerdeki periyodik değişiklikler ile ilişkili olduğu için , radyasyon duyarlılığındaki bu değişiklikler Mikrobiyotaya bileşimi ile ilişkilendirilebilir⁶⁵.

İmmünoterapi ve Mikrobiyotaya

Birçok kanser hastasında konvansiyonel kemoterapi tedavileri sonrasında, yanıt süreleri çok uzun olmamakta, bir süre sonrasında tedaviye direnç geliştirmekte ve tümör rekürrensleri yaşanmaktadır. Son zamanlarda, özellikle kemoterapiye dirençli metastatik akciğer kanseri ve melanom hastaları başta olmak üzere hematolojik ve solid neoplazilerde yapılan çalışmalarda, immünoterapi yaklaşımları ile uzun süreli yanıt oranları elde edilmiştir⁶⁶. Ancak, immünoterapi etkinliği, farklı hasta ve tümör tiplerinde immün yanıt değişkenliği nedeniyle halen sınırlı düzeydedir. Barsak Mikrobiyotasının immün yanıt üzerindeki düzenleyici etkileri nedeniyle, mikroorganizma bazlı yaklaşımlar ile immünoterapi etkinliğinin artırılacağı düşünülmektedir⁶⁷. Antibiyotik tedavisi sonrası farelerde, tüm vücut ışınlanması sonrasında adoptif tümör spesifik T lenfosit transferi tedavisinin etkinliği azalmış olarak gözlemlendi. Bu T lenfositlerinin çoğalmı ve antitümör sitotoksik aktivitelerinin, total vücut ışınlanmasının indüklediği barsak mikrobiyotasının mezenterik lenf nodlarına translokasyonu tarafından artırıldığı gözlemlenmiştir⁶⁸. Bu çalışma, tümör infiltrate eden lenfositlerin kullanıldığı adoptif hücre transferi tedavilerinin, myeloablatif radyoterapi kullanılan melanom hastalarında neden daha iyi yanıt alındığını açıklamaya da yardımcı

olabilir⁶⁹.

İmmün kontrol noktası inhibitörleri

Birçok kanser hastasında antitümör immünite, yeterince etkin değil ya da baskılanmıştır. Tlenfositler üzerinde yer alan immün kontrol noktalarından Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA4) ve Programmed cell Death protein 1 (PD1)' e karşı geliştirilen immün kontrol noktası inhibitörleri tedavileri sonrasında , birçok kanser türünde güçlü antitümör aktivite ve uzun süreli klinik etkinlik saptanmıştır⁷⁰. Ancak, tümör yanıtlarındaki bireysel farklılıklar, bazı tümör tiplerindeki tedavi başarısızlığı ve immün ilişkili yan etkiler halen güncel tartışma konularıdır. Son zamanlarda yapılan iki çalışmada barsak Mikrobiyotasının, anti-CTLA4 ve anti-PD1 tedavilerinin etkinliklerini düzenlediği saptanmıştır. Antibiyoterapi sonrası ya da mikroorganizmasız farelerde, tümör yanıtı yetersiz olduğu ve CTLA4 antagonizmasına sekonder artmış T hücre yanıtının indüklediği kolon mukoza hasarının, fekal ve intestinal Mikrobiyotada Clostridiales, Bacteroides ve Burkholderia gibi türler arasındaki değişimlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir⁷¹. Bu Mikrobiyotasız farelere, *Bacteroides fragilis* ve *Bacteroides thetaiotaomicron* oral verilmesi ile intratümöral dentritik hücre maturasyonunun indüklenmesi sonucu terapötik anti CTLA4 yanıtında ve kolit gibi immün yan etki lerdede düzelme gözlemlenmiştir⁷¹. Bireysel antibiyotik kullanımı, barsak Mikrobiyotaya bileşiminde değişim sağlayarak immünoterapi etkinliğini değiştirebilmektedir. Örneğin vankomisin kullanımı, gram pozitif bakteri yoğunluğunu azaltıp, Bacteroidales ve Burkholderiales türlerini muhafaza ederek anti CTLA4 tedavi yanıtlarında artışa yol açmaktadır⁷¹.

Kanser tanı ve taramasında Mikrobiyotaya

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, Mikrobiyotanın kanser etiyo-patojenezi, tedavi yanıtı ve toksisite ile ilişkilerinin gösterilmesi, ve karsinogenez aşamalarındaki rolünün daha iyi anlaşılması, tanı ve tarama testlerinde kullanılabileceği hipotezini gündeme getirmiştir. Kolorektal kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda kanserli doku ve sağlıklı komşu dokular arasında Mikrobiyotaya açısından belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir⁽⁷²⁾. Bu bulgular ışığında yapılan çalışmalarda, Mikrobiyotaya ilişkili testlerin kanser tarama stratejilerinde kullanımı gündeme gelmiştir. Gaytada gizli kan testlerine ilave olarak bazı *Fusobacterium* türlerinin kullanıldığı metagenomik testlerde, sen-

sitivitede %45 artış saptanmıştır⁷³.

Sonuç olarak;

Kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığın oluşumu ve tedavisi aşamalarında anahtar rollere sahip olan mikrobiyota, güncel araştırmalar ışığında, artık yeni bir organ olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda , kompleks karsinogenez aşamaları ve antikanser tedavilere yanıt ve toksisite de dahil olmak üzere kanserin her aşamasında çok önemli roller oynayan Mikrobiyota, onkoloji alanındaki potansiyel terapötik hedef olarak değerlendirilmektedir. Gelecekte, mikrobiyotanın karsinogenezdeki rolünün daha iyi anlaşılması ile kanser tanı, tarama ve tedavisindeki yerinin artacağı öngörülmektedir.

Kaynaklar

- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(2):87-108.
- Xu Z, Knight R. Dietary effects on human gut microbiome diversity. *The British journal of nutrition*. 2015;113 Suppl:S1-5.
- Dzutsev A, Goldszmid RS, Viaud S, Zitvogel L, Trinchieri G. The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy. *European journal of immunology*. 2015;45(1):17-31.
- Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2014;28(8):1221-38.
- Gerritsen J, Smidt H, Rijkers GT, de Vos WM. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes & nutrition*. 2011;6(3):209-40.
- Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50(16):1561-9.
- Fuentealba C, Figuerola F, Estévez AM, Bastías JM, Muñoz O. Bioaccessibility of lignans from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) determined by single batch in vitro simulation of the digestive process. *Journal of the science of food and agriculture*. 2014;94(9):1729-38.
- de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*. 2012;13(6):607-15.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JL. The human microbiome project. *Nature*. 2007;449(7164):804-10.
- Roy S, Trinchieri G. Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy. *Nature reviews Cancer*. 2017;17(5):271-85.
- Bhatt AP, Redinbo MR, Bultman SJ. The role of the microbiome in cancer development and therapy. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2017;67(4):326-44.
- Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014;157(1):121-41.
- De Santis S, Cavalcanti E, Mastronardi M, Jirillo E, Chieppa M. Nutritional Keys for Intestinal Barrier Modulation. *Frontiers in immunology*. 2015;6:612.
- Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature reviews Immunology*. 2014;14(3):141-53.
- Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padia R, Shi H, et al. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity*. 2014;40(1):128-39.
- Plottel CS, Blaser MJ. Microbiome and malignancy. *Cell host & microbe*. 2011;10(4):324-35.
- Goldszmid RS, Trinchieri G. The price of immunity. *Nature immunology*. 2012;13(10):932-8.
- Larsson E, Tremaroli V, Lee YS, Koren O, Nookaew I, Fricker A, et al. Analysis of gut microbial regulation of host gene expression along the length of the gut and regulation of gut microbial ecology through MyD88. *Gut*. 2011;gutjnl-2011-301104.
- Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-y M, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*. 2013;341(6145):569-73.
- Kalina U, Koyama N, Hosoda T, Nuemberger H, Sato K, Hoelzer D, et al. Enhanced production of IL 18 in butyrate treated intestinal epithelium by stimulation of the proximal promoter region. *European journal of immunology*. 2002;32(9):2635-43.
- Salcedo R, Worschech A, Cardone M, Jones Y, Gyulai Z, Dai RM, et al. MyD88-mediated signaling prevents development of adenocarcinomas of the colon: role of interleukin 18. *The Journal of experimental medicine*. 2010;207(8):1625-36.
- Saleh M, Trinchieri G. Innate immune mechanisms of colitis and colitis-associated colorectal cancer. *Nature reviews Immunology*. 2010;11(1):9.
- Wlodarska M, Thaiss CA, Nowarski R, Henao-Mejia J, Zhang J-P, Brown EM, et al. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion. *Cell*. 2014;156(5):1045-59.
- Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*. 2008;453(7195):620.
- Belkaid Y, Naik S. Compartmentalized and systemic control of tissue immunity by commensals. *Nature immunology*. 2013;14(7):646-53.
- Chervonsky AV. Microbiota and autoimmunity. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2013;5(3):a007294.
- Bongers G, Pacer ME, Geraldino TH, Chen L, He Z, Hashimoto D, et al. Interplay of host microbiota, genetic perturbations, and inflammation promotes local development of intestinal neoplasms in mice. *Journal of Experimental Medicine*. 2014;211(3):457-72.
- Sears CL, Garrett WS. Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell host & microbe*. 2014;15(3):317-28.
- Zackular JP, Baxter NT, Iverson KD, Sadler WD, Petrosino JF, Chen GY, et al. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *MBio*. 2013;4(6):e00692-13.
- Mira-Pascual L, Cabrera-Rubio R, Ocon S, Costales P, Parra A, Suarez A, et al. Microbial mucosal colonic shifts associated with the development of colorectal cancer reveal the presence of different bacterial and archaeal biomarkers. *Journal of gastroenterology*. 2015;50(2):167-79.
- Poutahidis T, Cappelle K, Levkovich T, Lee C-W, Douberis M, Ge Z, et al. Pathogenic intestinal bacteria enhance prostate cancer development via systemic activation of immune cells in mice. *PloS one*. 2013;8(8):e73933.
- Yamamoto ML, Maier I, Dang AT, Berry D, Liu J, Ruegger PM, et al. Intestinal bacteria modify lymphoma incidence and latency by affecting systemic inflammatory state, oxidative stress, and leukocyte genotoxicity. *Cancer research*. 2013;73(14):4222-32.
- Westbrook AM, Wei B, Hacke K, Xia M, Braun J, Schiestl RH. The role of tumour necrosis factor- and tumour necrosis factor receptor signalling in inflammation-associated systemic genotoxicity. *Mutagenesis*. 2011;27(1):77-86.
- Sergentanis TN, Zagouri F, Zografos GC. Is antibiotic use a risk factor for breast cancer? A meta analysis. *Pharmacoepidemiology and drug safety*. 2010;19(11):1101-7.
- Kim Y-G, Udayanga KGS, Totsuka N, Weinberg JB, Núñez G, Shibuya A. Gut dysbiosis promotes M2 macrophage polarization and allergic airway inflammation via fungi-induced PGE 2. *Cell host & microbe*. 2014;15(1):95-102.
- David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505(7484):559-63.
- DeVita VT, Chu E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer research*. 2008;68(21):8643-53.
- Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, et al. Commensal bacteria control cancer response to

- therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science*. 2013;342(6161):967-70.
39. Dzutsev A, Goldszmid RS, Viaud S, Zitvogel L, Trinchieri G. The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy. *European journal of immunology*. 2015;45(1):17-31.
40. Carmody RN, Turnbaugh PJ. Host-microbial interactions in the metabolism of therapeutic and diet-derived xenobiotics. *The Journal of clinical investigation*. 2014;124(10):4173.
41. Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Developing a metagenomic view of xenobiotic metabolism. *Pharmacological research*. 2013;69(1):21-31.
42. Björkholm B, Bok CM, Lundin A, Rafter J, Hibberd ML, Pettersson S. Intestinal microbiota regulate xenobiotic metabolism in the liver. *PLoS one*. 2009;4(9):e6958.
43. Yip LY, Chan ECY. Investigation of host-gut microbiota modulation of therapeutic outcome. *Drug Metabolism and Disposition*. 2015;dmd.115.063750.
44. Fujita K-i, Sparreboom A. Pharmacogenetics of irinotecan disposition and toxicity: a review. *Current clinical pharmacology*. 2010;5(3):209-17.
45. Stringer AM, Gibson RJ, Logan RM, Bowen JM, Yeoh AS, Keefe DM. Faecal microflora and β -glucuronidase expression are altered in an irinotecan-induced diarrhea model in rats. *Cancer biology & therapy*. 2008;7(12):1919-25.
46. McIntosh FM, Maison N, Holtrop G, Young P, Stevens VJ, Ince J, et al. Phylogenetic distribution of genes encoding β -glucuronidase activity in human colonic bacteria and the impact of diet on faecal glycosidase activities. *Environmental microbiology*. 2012;14(8):1876-87.
47. Wallace BD, Wang H, Lane KT, Scott JE, Orans J, Koo JS, et al. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science*. 2010;330(6005):831-5.
48. Lehouritis P, Cummins J, Stanton M, Murphy CT, McCarthy FO, Reid G, et al. Local bacteria affect the efficacy of chemotherapeutic drugs. *Scientific reports*. 2015;5.
49. Selwyn FP, Cui JY, Klaassen CD. RNA-Seq quantification of hepatic drug processing genes in germ-free mice. *Drug Metabolism and Disposition*. 2015;43(10):1572-80.
50. Gui Q, Lu H, Zhang C, Xu Z, Yang Y. Well-balanced commensal microbiota contributes to anti-cancer response in a lung cancer mouse model. *Genet Mol Res*. 2015;14(2):5642-51.
51. Tesniere A, Schlemmer F, Boige V, Kepp O, Martins I, Ghiringhelli F, et al. Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin. *Oncogene*. 2010;29(4):482.
52. Daillère R, Vétizou M, Waldschmitt N, Yamazaki T, Isnard C, Poirier-Colame V, et al. Enterococcus hirae and *Barnesiella intestinihominis* facilitate cyclophosphamide-induced therapeutic immunomodulatory effects. *Immunity*. 2016;45(4):931-43.
53. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Hannani D, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science*. 2013;342(6161):971-6.
54. Rigby RJ, Carr J, Orgel K, King SL, Lund PK, Dekaney CM. Intestinal bacteria are necessary for doxorubicin-induced intestinal damage but not for doxorubicin-induced apoptosis. *Gut microbes*. 2016;7(5):414-23.
55. Nigro G, Rossi R, Commere P-H, Jay P, Sansonetti PJ. The cytosolic bacterial peptidoglycan sensor Nod2 affords stem cell protection and links microbes to gut epithelial regeneration. *Cell host & microbe*. 2014;15(6):792-8.
56. Chitapanarux I, Chitapanarux T, Traisathit P, Kudumpee S, Tharavichitkul E, Lorvidhaya V. Randomized controlled trial of live lactobacillus acidophilus plus bifidobacterium bifidum in prophylaxis of diarrhea during radiotherapy in cervical cancer patients. *Radiation Oncology*. 2010;5(1):31.
57. Cario E. Toll-like receptors in the pathogenesis of chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity. *Current opinion in supportive and palliative care*. 2016;10(2):157-64.
58. Cvan Trobec K, Kerec Kos M, Trontelj J, Grabnar I, Tschirner A, Palus S, et al. Influence of cancer cachexia on drug liver metabolism and renal elimination in rats. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2015;6(1):45-52.
59. Yeh K-Y, Wang H-M, Chang JW-C, Huang J-S, Lai C-H, Lan Y-J, et al. Omega-3 fatty acid-, micronutrient-, and probiotic-enriched nutrition helps body weight stabilization in head and neck cancer cachexia. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2013;116(1):41-8.
60. Barker HE, Paget JT, Khan AA, Harrington KJ. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. *Nature reviews Cancer*. 2015;15(7):409.
61. Demaria S, Ng B, Devitt ML, Babb JS, Kawashima N, Liebes L, et al. Ionizing radiation inhibition of distant untreated tumors (abscopal effect) is immune mediated. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*. 2004;58(3):862-70.
62. Jones RM, Desai C, Darby TM, Luo L, Wolfarth AA, Schärer CD, et al. Lactobacilli modulate epithelial cytoprotection through the Nrf2 pathway. *Cell reports*. 2015;12(8):1217-25.
63. Delia P, Sansotta G, Donato V, Frosina P, Messina G, De Renzi C, et al. Use of probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2007;13(6):912.
64. Ishihara H, Tanaka I, Yakumaru H, Chikamori M, Ishihara F, Tanaka M, et al. Circadian transitions in radiation dose-dependent augmentation of mRNA levels for DNA damage-induced genes elicited by accurate real-time RT-PCR quantification. *Journal of radiation research*. 2010;51(3):265-75.
65. Mukherji A, Kobiita A, Ye T, Chambon P. Homeostasis in intestinal epithelium is orchestrated by the circadian clock and microbiota cues transduced by TLRs. *Cell*. 2013;153(4):812-27.
66. Couzin-Frankel J. Cancer immunotherapy. *American Association for the Advancement of Science*; 2013.
67. Sivan A, Corrales L, Hubert N, Williams JB, Aquino-Michaels K, Earley ZM, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. 2015;350(6264):1084-9.
68. Paulos CM, Wrzesinski C, Kaiser A, Hinrichs CS, Chieppa M, Cassard L, et al. Microbial translocation augments the function of adoptively transferred self/tumor-specific CD8⁺ T cells via TLR4 signaling. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(8):2197.
69. Dudley ME, Yang JC, Sherry R, Hughes MS, Royal R, Kammula U, et al. Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *Journal of Clinical Oncology*. 2008;26(32):5233-9.
70. Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science*. 2015;348(6230):56-61.
71. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science*. 2015;350(6264):1079-84.
72. Gao Z, Guo B, Gao R, Zhu Q, Qin H. Microbiota dysbiosis is associated with colorectal cancer. *Frontiers in microbiology*. 2015;6.
73. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, et al. Potential of fecal microbiota for early stage detection of colorectal cancer. *Molecular systems biology*. 2014;10(11):766.