

Kemik iliği öncüllerinin ICAM-1 ekspresyonunda TSH aracılı IL-6 sekresyonunun önemi

Significance of TSH-mediated IL-6 secretion in expression of ICAM-1 on bone marrow precursors

E. Ümit Bağrıaçık

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Bu çalışmada tiroid stimule edici hormonun (TSH) etkisi ile salgılanan IL-6'nın kemik iliği öncül hücrelerinin ICAM-1 ekspresyonu üzerindeki etkileri *in vitro* yöntemlerle araştırıldı. Ayrıca, stromal hücrelerin varlığının, öncüllerin ICAM-1 ekspresyonuna olan etkileri incelendi.

Gereç ve Yöntem: Fare femur ve tibiasından elde edilen kemik iliği öncüllerinin, kültür ortamına TSH ilavesine cevap olarak IL-6 salgıladığı ELISA yöntemiyle araştırıldı. IL-6 ilave edilen kültürlerde kemik iliği öncüllerinin ICAM-1 ekspresyonu, akım sitometrik yöntemle belirlendi. Stromal hücrelerin bulunduğu kültür ortamında, lenfoid ve myeloid kökenli kemik iliği öncüllerinin ICAM-1 ekspresyonunu saptamak için de akım sitometrik yöntemler kullanıldı.

Bulgular: TSH varlığında, kemik iliği hücrelerinin önemli miktarlarda IL-6'nı salgıladığı tespit edildi. IL-6'nın ICAM-1 ekspresyonunu kısmen baskılayıcı bir etki gösterdiği izlendi. Stromal hücrelerin varlığında ise hem lenfoid hemde myeloid kemik iliği öncül hücreleri üzerindeki ICAM-1 ekspresyonunda, önemli derecede artış gözlemlendi.

Sonuç: Bu sonuçların ışığı altında, kemik iliği öncüllerinin IL-6 salgılamasında TSH'nın etkin olduğunu söylelenebilir. Stromal hücrelerin varlığı, hem lenfoid hemde myeloid öncüllerin yüksek seviyelerde ICAM-1 ekspresyone edebilmeleri için önemli bir faktördür. IL-6'nın ICAM-1 ekspresyonunu baskılayıcı etkisi, stromal hücrelerin yokluğunda ortaya çıkmaktadır. Bu durumda, ICAM-1 ekspresyonunun artışından, stromal hücreler tarafından salgılanan diğer büyüme faktörlerinin sorumlu olabileceği fikri öne çıkmaktadır.

Anahtar sözcükler: **TSH, IL-6, kemik iliği, ICAM-1**

Significance of TSH-Mediated IL-6 Secretion in Expression of ICAM-1 on Bone Marrow Precursors

Aim: In this study effects of IL-6 secretion, which is mediated by thyroid stimulating hormon (TSH), on ICAM-1 expression of bone marrow precursors were investigated in an *in vitro* culture system. Additionally, ICAM-1 expression of bone marrow precursors was assessed in the presence of stromal cells.

Materials and Methods: Bone marrow precursors which were isolated from tibia and femur were treated with TSH. IL-6 secretion induced by TSH treatment was quantified using ELISA. Expression of ICAM-1 on precursors which were stimulated with IL-6 was determined by flow cytometry. Lymphoid and myeloid precursors were cultured in the presence of stromal cells as a feeder layer. ICAM-1 expression was also determined by flow cytometry.

Results: Precursors secreted IL-6 at significant levels following TSH treatment. IL-6 which was included in total bone marrow cultures in the absence of stromal cells suppressed ICAM-1 expression partially. However, lymphoid and myeloid precursors that were cultured in the presence of stromal cells expressed ICAM-1 at higher levels in comparison to precursors that were cultured in the absence of stromal cells.

Conclusion: TSH is an efficient hormone to induce IL-6 secretion from bone marrow precursors. IL-6 suppresses ICAM-1 expression of bone marrow precursors if the cells are cultured in the absence of stromal cells. The presence of stromal cells in bone marrow cultures is a significant factor for both lenfoid and myeloid precursors to be able to express ICAM-1 at high levels. Therefore, other growth factors which are secreted by stromal cells may be responsible for the increased expression of ICAM-1.

Key words: **TSH, IL-6, bone marrow, ICAM-1**

Geliş Tarihi: 21.02.2006 - Kabul Tarihi: 09.03.2006

Yazışma adresi

Yrd. Doç. Dr. E. Ümit Bağrıaçık
Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Bilim Dalı,
Beşevler, 06500 Ankara
Tel : (312) 202-4648
E-posta adresi : umit_bagriacik@yahoo.com

İmmün sistem, pek çoğu henüz tam olarak anlaşılammış, oldukça karmaşık olan düzenleyici mekanizmalar sayesinde kontrol edilmektedir. Bu mekanizmalar arasında yer alan neuroendokrin etkileşimlerin direk veya dolaylı yollardan immün sistem üzerindeki etkileri gösterilmiştir (1). Tiroid stimule edici hormon (TSH), immün sistem hücreleri üzerinde eksprese edilen reseptörüne bağlanarak, hücrelerin immünofizyolojik fonksiyonlarını değiştirebilmektedir (2, 3); ya da immün sistem hücrelerinin köken aldığı, hematopoetik sistemin lenfoid ve myeloid kökenli öncülleri üzerinde etkili olabilmektedir. Örneğin, hematopoetik sistem hücreleri üzerindeki reseptörüne bağlanan TSH'nun, tümör nekroze edici faktör alfa (TNF α), interlökin 6 (IL-6) gibi sitokinlerin salgılanmasında rol oynadığı, başlıca gösterilen etkiler arasındadır (4, 5).

Bir anlamda hematopoez, pluripotent kök hücrelerin bulunduğu mikroçevredeki stroma elementleri adı verilen diğer hücreler ile yaptığı fiziksel etkileşimler sonucunda, bilinen immün sistem öncül hücrelerinin farklılaşmasını içeren, dinamik bir süreçtir. Bu süreç sırasında, öncül hücrelerin hayatlarını devam ettirmeleri ve farklılaşma işlemlerini gerçekleştirebilmeleri için, sitokinler olmaz ise olmaz denilebilecek kadar önemli rol oynamaktadır (6). Kemik iliğindeki hücreler etkileşimleri içeren moleküler olaylar zincirinde adezyon moleküllerinin önemli roller oynadığı bilinmektedir. Myeloid ve lenfoid öncül hücrelerin stroma elementleri ile yaptığı hücre-hücre etkileşimleri adezyon molekülleri aracılığı ile olmaktadır. Ayrıca, bazı lenfosit öncüllerinin ve farklılaşmalarını tamamlamış olan hücrelerin hedef doku ve organlara infiltrasyonu sırasında adezyon moleküllerinin gerekliliği defalarca gösterilmiştir (7, 8).

ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) bilinen önemli adezyon molekülleri arasında yer almaktadır. Ligan- dı olan LFA-1'e (lymphocyte function-associated antigen-1) bağlanarak hücre-hücre kontaklarının kurulmasında etkili olan ICAM-1'in, inflamatuvar olaylarda lökosit göçü ve T lenfositlerin antijen sunucu hücreler ile yaptığı kontaklar gibi, bir çok olayda önemli rol oynadığı bilinmektedir (9). Hücre-hücre ve hücre-stroma kontaklarının hematopoez regülasyonunda oldukça önemli olduğu, ve ICAM-1'in de bu olaylarda rol oynadığı öne sürülmüştür (10).

TSH aracılığı ile öncül hücreler tarafından salgılanan IL-6'nın ICAM-1 ekspresyonu üzerindeki rolü hususundaki bilgilerin literatürdeki eksikliği göze çarpmaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı, TSH'nun etkisiyle kültürlerde salgılanan IL-6'nın, kemik iliği hücreleri tarafından eksprese edilen adezyon moleküllerinden ICAM-1 üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve stromal hücrelerin varlığında kültürü yapılan myeloid veya lenfoid kökenli öncül hücrelerin ICAM-1 ekspresyonundaki etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve yöntem

Kemik iliği hücrelerinin hazırlanması

Kemik iliği, daha önceden yayınlanmış literatürde (4) belirtildiği gibi hazırlandı. Özet olarak, steril koşullarda, 8-10 hafta yaşında Balb/c farelerin femur ve tibiası, keskin makaslar yardımıyla kas dokusu temizlendikten sonra, her iki ucundan kesilerek açıldı. Ucunda 25G iğne olan bir enjektör yardımıyla, besi yeri püskürtülerek yaratılan basınç ile çıkartılan kemik iliği, içinde besi yeri bulunan steril plastik Petri kaplarında (Fisher Scientific, Dallas, TX, USA) toplandı. Kemik iliği hücrelerini içeren besi yeri, 1200 rpm hızla santrifüj edilerek, deneylerde kullanılmak üzere hazırlandı.

Kemik iliğinin stroma ve lenfoid hücrelerinin ayrıştırılması

Stroma hücrelerini ayırmak için, çıkartılan kemik iliği kültür besi yerinde [%10 (v/v) fetal sıgır serumu (FBS), 100 U ml⁻¹ penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 2 mmol l⁻¹ L-glutamine, and 5x10⁻⁵ mol l⁻¹ 2-mercaptoethanol içeren DMEM (kullanılan maddelerin hepsi için Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)], 25 cm² kültür flasklarında (Falcon, Lincoln Park, NJ, USA), 37 °C de %5 CO₂ içeren inkübatörde 24 saat inkübe edildi. Bu süre içinde stroma hücreleri, kültür flasklarının tabanına yapıştı. Yapışmayan hücreler ortamdaki alınılarak, flasklar 2 kez Phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. Böylece kültür flasklarında sadece tabana yapışan stroma hücreleri kaldı. Flasklara kültür besi yeri ilave edilerek, hücreler 48-72 saat inkübe edildi. 0.05% / 0.53 mM Trypsin / EDTA (Gibco, Grand Island, NY, USA) kullanılarak toplanan bu hücreler bazı deneylerde, destekleyici veya besleyici (feeder layer) hücreler olarak kullanıldı.

Stroma hücreleri ayrıştırılan lenfoid ve myeloid kökenli kemik iliği hücreleri, akım sitometre yardımıyla, hücre ayırma (cell sorting) yöntemi ile saflaştırıldı. Lenfoid kökenli öncülleri ayırmak için hücreler, fikoeritrin'e (PE) bağlı anti-fare CD45 antikoru (30-11, Pharmingen, San Diego, CA, USA) ile işaretlendi. CD45 pozitif olan lenfoid kökenli hücreler kapılanarak (gated), akım sitometre ile saflaştırıldı. Saflaştırılan hücrelerin >%99 oranında CD45 içerdiği tespit edildi (bulgulara gösterilmiyor).

Hücre kültürleri

Total kemik iliği hücreleri için yapılan kültürlerde, hücreler (5x10⁶ hücre/ml) kültür besi yeri içeren 6 kuyulu kültür plaklarında (Falcon, Lincoln Park, NJ, USA), 37 °C'de 72 saat inkübe edildi. Stromal hücreler (5x10⁵ hücre), 24 kuyu içeren kültür plaklarında kuyulara yerleştirildikten sonra 24 saat 37 °C'de inkübe edildi. Bu süre içinde stromal hücrelerin kültür plaklarının tabanına yapışması sağlandı.

Daha sonra üzerine taze besi yeri içinde lenfoid veya myeloid hücreler ilave edildi. Lenfoid veya myeloid hücreler (1×10^6 hücre/ml) stromal hücrelerin üzerinde 72 saat 37°C 'de inkübe edildi. Kültür ortamına, 10^{-7} M, 10^{-9} ve 10^{-11} M recombinant insan TSH'nu (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA), veya 10 ng/ml recombinant fare IL-6'sı (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) ilave edildi. İstenilen süreler sonunda kültür süpernatantları, sitokin salgısının tespiti için kullanıldı veya daha sonra kullanılmak üzere -70°C 'de dondurularak saklandı.

ELISA Yöntemi

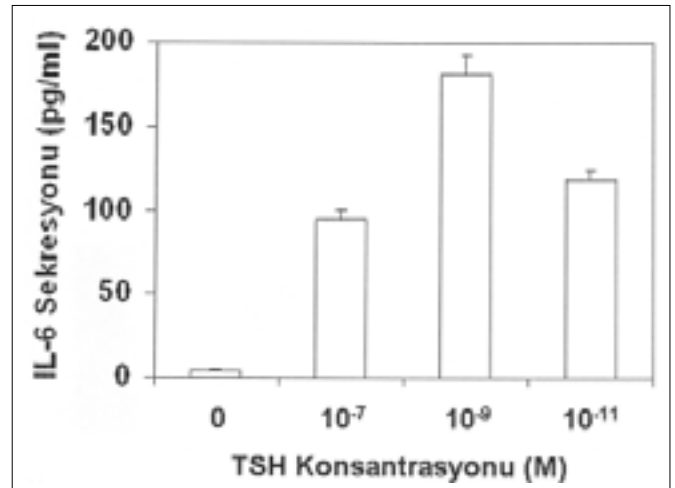
Kültür süpernatantlarından IL-6 tayini, fare IL-6 ELISA kiti (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) kullanılarak, üretici firmanın kit prospektüsünde verdiği talimatlar doğrultusunda yapıldı. Her bir örnek için üç kuyu kullanıldı. Sonuçlar ELISA okuyucusu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) kullanılarak 450 nm'de kaydedildi. Bulunan absorbans değerleri, Microsoft Excel programı kullanılarak grafik haline getirildi.

Akım sitometre ile ICAM-1 ekspresyonu tayini

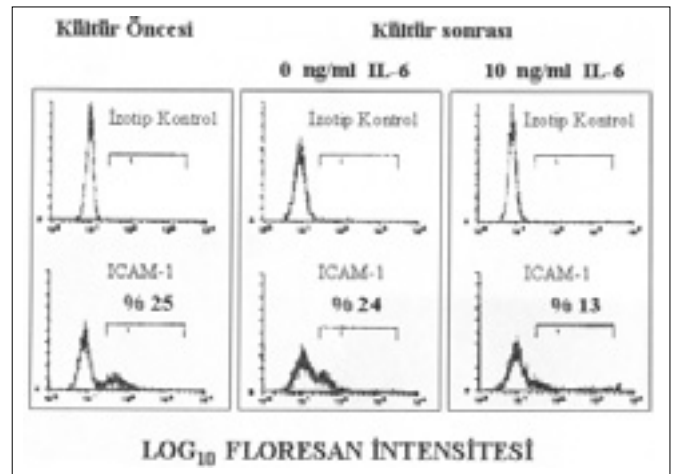
Kültürü yapılan hücrelerin ICAM-1 ekspresyonu için, PE işaretli anti-ICAM-1 (3E2), PE işaretli hamster IgG2b izotip kontrol antikor ve FcR blokeri olan anti-CD16/CD32 (2.4G2) (bütün antikorlar için, Pharmingen, San Diego, CA, USA) antikorları kullanıldı. Kültürü yapılan hücreler santrifüj edildi ve 100 μl boyama solüsyonu (%1 FBS içeren PBS) içinde 1×10^6 hücre içeren tüplere 1 μg anti-CD16/CD32 antikorunu ilave edilerek 10 dakika oda derecesinde inkübe edildi. Daha sonra tüplere 1 μg anti-ICAM-1 antikorunu eklendi ve $+4^\circ\text{C}$ 'da 30 dakika inkübe edildi. Hücreler bir defa boyama solüsyonu ile yıkandıktan sonra %2'lik paraformaldehit solüsyonu (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) ile fikse edildi. Antikor ile boyanan hücrelerin ICAM-1 ekspresyonu, Coulter marka, EPICS 751 model, argon lazerli (Coulter Electronics, Hialeah, FL, USA), CICERO system CYCLOPS software (Cytomation, Inc., Fort Collins, CO, USA) içeren akım sitometrede okunarak kaydedildi.

Bulgular

Öncül hücrelerin IL-6 sekresyonuna TSH'nun etkileri: TSH'nun kemik iliği öncül hücrelerinden IL-6 salınması üzerindeki etkilerini araştırmak için, öncül hücreler, TSH'nun farklı konsantrasyonlarının varlığında, *in vitro* ortamda kültür edildi. Kontrol hücre kültürleri TSH içermedi. Kültür süpernatantları toplanarak, ELISA yöntemi ile IL-6 tayini yapıldı. Şekil 1, TSH varlığında öncül hücreler tarafından salgılanan IL-6 miktarlarını göstermektedir. TSH içermeyen kontrol kültürlerde kayda değer IL-6 salgısı olmadı. Buna karşın, TSH ilave edilen



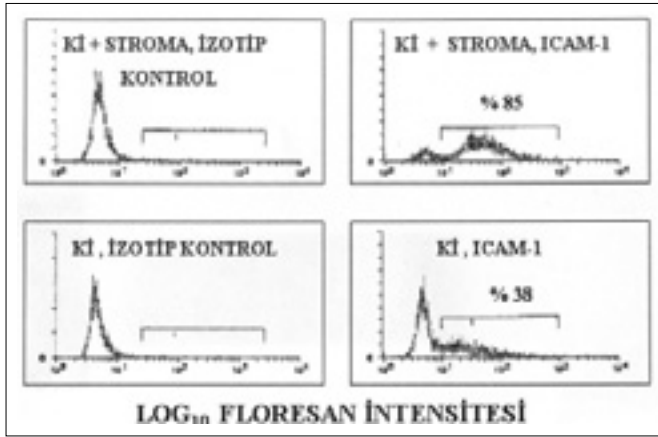
Şekil 1. TSH varlığında inkübe edilen kemik iliği hücreleri tarafından salgılanan IL-6 miktarları



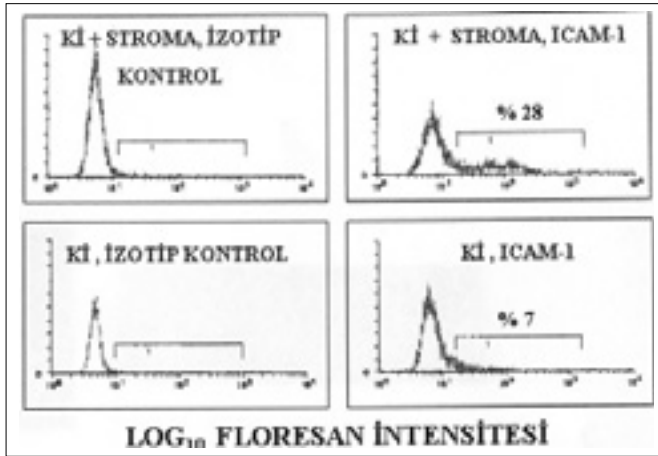
Şekil 2. IL-6'nın, kemik iliği (Kl) öncül hücrelerinin ICAM-1 ekspresyonu üzerine etkisi. Kültür öncesinde ve IL-6 içeren kültür ortamında, kültür sonrasında, hücreler PE işaretli ICAM-1 antikorunu veya PE işaretli izotip kontrol antikor ile boyandı.

kültürlerde, hücreler önemli miktarda IL-6 salgıladı. IL-6 salgısı, TSH konsantrasyonuna bağlı olarak, doza-bağımlı bir şekilde arttı ve azaldı. Maksimum IL-6 salgısı (182 ± 10.85 pg/ml), 10^{-9} M TSH içeren kültür ortamında saptandı. 10^{-7} M ve 10^{-11} M TSH içeren kültürlerde ise, sırasıyla 95.38 ± 4.65 pg/ml ve 118.4 ± 6.2 pg/ml IL-6 salgılandığı tespit edildi. Bu sonuçlardan anlaşıldığı gibi, TSH'nun TSH tarafından uyarılması sonucunda, kemik iliği hücreleri IL-6 sentezleyerek salgılamaktadır. TSH'nın, IL-6 salınması üzerindeki etkisi, TSH konsantrasyonuna bağlıdır. Dolayısıyla IL-6 salgılanması optimal TSH konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol edilmektedir.

Öncül hücrelerin ICAM-1 ekspresyonuna IL-6'nın etkisi: IL-6'nın kemik iliği hücreleri üzerindeki ICAM-1 ekspresyonuna olan etkisini araştırmak için, total kemik iliği hücreleri (lenfoid ve myeloid kökenli kemik iliği ön-



Şekil 3. Kültür ortamında Stroma hücrelerinin varlığının, kemik iliği (KI) lenfoid kökenli öncül hücrelerinin ICAM-1 ekspresyonu üzerine etkisi. Stroma hücrelerinin varlığında veya yokluğunda, kemik iliği lenfoid öncülleri 72 saat süreyle kültür edildi. Kültür sonrasında, hücreler PE işaretli ICAM-1 antikoru veya PE işaretli izotip kontrol antikor ile boyandı.



Şekil 4. Kültür ortamında Stroma hücrelerinin varlığının, kemik iliği (KI) myeloid kökenli öncül hücrelerinin ICAM-1 ekspresyonu üzerine etkisi. Stroma hücrelerinin varlığında veya yokluğunda, kemik iliği myeloid öncülleri 72 saat süreyle kültür edildi. Kültür sonrasında, hücreler PE işaretli ICAM-1 antikoru veya PE işaretli izotip kontrol antikor ile boyandı.

cülleri), IL-6 içeren ortamlarda 37 °C de 72 saat kültür edildi. Hücre kültürlerine, 10 ng/ml IL-6 ilave edildi. IL-6'nın hücre kültürü sırasındaki ICAM-1 ekspresyonu üzerindeki etkileri, kültür yapılmadan önce hücrelerin ICAM-1 ekspresyonu değerleri ile karşılaştırıldı. Kültür öncesi ve sonrasında toplanan hücreler anti-ICAM-1 antikoru ile işaretlenerek, analiz edildi. Kültür öncesinde, öncül hücrelerin %25 oranında ICAM-1 eksprese ettiği saptandı (Şekil 2). IL-6 içermeyen kontrol kültürlerde hücrelerin ICAM-1 ekspresyonunda önemli bir değişim gözlenmedi. Buna karşın 10 ng/ml IL-6 içeren kültürlerde hücrelerin ICAM-1 ekspresyonu azaldı (%13).

Myeloid ve lenfoid öncüllerin ICAM-1 ekspresyonunun regüle edilmesinde stromal hücrelerin rolü: Stromal hücrelerin, lenfoid ve myeloid kökenli öncül hücreler üzerindeki

ICAM-1 ekspresyonunda herhangi bir rol alıp almadıklarını araştırmak için, myeloid ve lenfoid hücreler saflaştırıldı. Ayrıştırılan myeloid veya lenfoid öncüller, stromal hücreler içeren veya içermeyen ortamlarda 37 °C de 72 saat kültür edildi. Kültür sonrasında toplanan hücreler anti-ICAM-1 antikoru ile işaretlenerek, akım sitometrede ICAM-1 ekspresyonu için analiz edildi. Stromal hücre içermeyen control hücre kültüründe lenfoid hücreler, % 38 oranında ICAM-1 eksprese etti (Şekil 3). Buna karşın, stromal hücreler içeren kültürdeki lenfoid hücrelerin büyük bir çoğunluğunun (%85) ICAM-1 eksprese ettiği saptandı. Aynı deneyler myeloid öncül hücreler için yapıldı. Stromal hücrelerin varlığında, myeloid hücrelerin % 28 oranında ICAM-1 eksprese ettiği gözlemlendi (Şekil 4). Ancak stromal hücre içermeyen ortamlarda, ICAM-1 ekspresyonu yok denecek kadar düşük seviyelere inerek % 7 olarak saptandı. Bu sonuç, en azından ICAM-1 ekspresyonunun regülasyonunda, stromal hücrelerin oynadığı rolün önemini ortaya koymaktadır.

Tartışma

TSH, tiroid hücrelerini stimüle ederek, T3 ve T4 gibi tiroid hormonlarının sentezine ve salınımına yol açan bir adenohipofiz hormonudur (1). TSH'nun bu görevi dışında rol oynadığı mekanizmaların varlığı kısmen gösterilmiştir. TSH'nun immün sistem (2) ve hematopoetik sistem (4, 5) hücreleri üzerinde etkileri olduğu bildirilmiştir. TSH reseptörü (TSHR) taşıyan bu hücrelerin TSH ile uyarılmaları sonucunda verdikleri yanıt, bütün hücre tipleri için genellemlenebilen bir yanıt değildir. Örneğin, TSH reseptörü taşıyan dalak dendritik hücrelerinin TSH ile direk olarak uyarılması sonucunda, hücrelerin fagositoz yeteneğinin arttığı bildirilmiştir (2). Aynı çalışmada, dendritik hücrelerin Zymosan'a karşı oluşturduğu immün yanıtlarda, ortamda TSH bulunması IL-1 β ve IL-12 salgısını arttırıcı yönde bir etki göstermiş, ancak TNF- α ve IL-6 salgısını etkilememiştir (2). Buna karşın yapılan diğer bir çalışmada, kemik iliği öncülleri TSH ile direk olarak uyarılırsa, TNF- α ve IL-6 salgısı belirgin olarak artmaktadır (4). Bu araştırma sonucunda da benzer sonuçlar elde edildi. Dolayısıyla daha önceden yayınlanmış literatürdeki çalışma sonuçları, bu araştırmanın sonuçları ile uyum içinde bulunmaktadır. Yukarıda belirtildiği gibi, TSH'ya karşı farklı hücre gurupları birbirinden farklı, hatta zıt yanıtlar oluşturabilmektedir. Bunun nedeni henüz anlaşılmış değildir.

Bu çalışmada da gösterildiği gibi, *in vitro* ortamda TSH kemik iliği öncül hücrelerini uyararak IL-6 salınımına yol açmaktadır. TSH'nın IL-6 salgısı üzerindeki maksimum etki gösterdiği doz 10⁻⁹ M olarak saptanmıştır. Ancak bu değer mutlak bir değer olarak kabul edilmeyebilir. Yani deneysel koşullara ve kullanılan parametrelere göre değişkenlik gösterebilir. Örneğin, kültürlerde kullanılan hücre sayısına, se-

çilen fare türüne veya hücrelerin inkübasyon süresine göre değişebilir. Bu çalışmada kullanılan TSH, rekombinant olarak sentezlenmiş olan insan TSH'dur. Rekombinant insan TSH'nunun, farelerde de etkili olduğu bilinmektedir (2). İnsan, sıçan ve fare TSH genleri arasında büyük benzerlikler olduğu bilinmektedir (11). Dolayısıyla, genetik yapıda gözlenen yüksek orandaki benzerlik, hormonun türler arasında fonksiyonel olabileceğinin bir işaretidir.

TSH uyarımına bir yanıt olarak salgılanan IL-6, tek başına ICAM-1 ekspresyonunu arttırıcı yönde bir etki göstermedi. Tam aksine, IL-6 tek başına uygulandığı zaman ICAM-1 ekspresyonunu baskılayıcı bir etki gösterdi. Ancak *in vitro* koşullar altında ortaya çıkan bu durum, *in vivo* koşullarda gerçekleşmeyebilir. Nitekim, *in vivo* koşullara daha yakın bir deney ortamı yaratmak amacıyla stromal hücreler feder layer (besleyici ve destekleyici) olarak kullanıldığı zaman, hem lenfoid hemde myeloid hücrelerin ICAM-1 ekspresyonunda önemli bir artış oldu. Stromal hücreler, *in vitro* koşullar altında, serum içeren besi yerinde, herhangi bir uyarı olmaksızın devamlı olarak IL-6 salgılamaya özelliği taşımaktadır (12). Bu nedenle stromal hücrelerin varlığında ICAM-1 ekspresyonunda gözlenen artış, direkt olarak IL-6 ile ilişkilendirilemez. Çünkü IL-6 tek başına ICAM-1 ekspresyonunu baskılamaktadır. Bu durumda akla ilk gelen açıklama, stromal hücrelerin IL-6 dışındaki salgıladıkları diğer büyüme faktörlerinin sinerjik etkisidir. Nitekim stromal hücrelerin bir çok büyüme faktörünü

sentezleyebildikleri ve salgıladıkları bilinmektedir. Örneğin, IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15, LIF, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, Flt-3L (FL), SCF gibi önemli sitokinler, stromal hücreler tarafından sentezlenen büyüme faktörleri arasında yer almaktadır (13, 14). Bu moleküllerin bireysel veya sinerjik etkileri, kemik iliğinde öncül hücrelerin farklılaşma ve büyüme olaylarını yönlendirerek hematopoezin regülasyonuna önemli katkılarda bulunur. Muhtemelen bu tür sinerjik etkiler ICAM-1 ekspresyonunun artışından sorumludur. Dolayısıyla, öncüllerin ICAM-1 ekspresyonu doğrudan veya dolaylı olarak, stromal hücreler tarafından kontrol edilmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada TSH'nun ve TSH aracılığı ile salgılanan IL-6'nın ICAM-1 ekspresyonundaki etkileri araştırılmıştır. TSH'nun kemik iliği öncül hücrelerini etkileyerek IL-6 salgılamalarına neden olduğu gösterilmiştir. TSH'nun reseptörüne bağlanması sonucunda TSHR'nün JAK2 kinaz aracılığı ile kemik iliği hücrelerinde sinyaller oluşturduğu bilinmektedir (4). Salınan sitokin IL-6 ile bu sinyaller arasında bağlantı kurulabilir. Ancak bu bağlantının detaylı olarak araştırılması gereklidir. Bu çalışmanın diğer bulgusu olan ICAM-1 sentezinin artışı, stromal hücrelerin kontrolü altında olup, IL-6'nın etkisine bağımlı değildir. ICAM-1 artışından sorumlu olabilecek etkenin ortaya çıkartılması için çalışmalar sürdürülmektedir.

Kaynaklar

1. Klein JR. Physiological relevance of thyroid stimulating hormone and thyroid stimulating hormone receptor in tissues other than the thyroid. *Autoimmunity* 2003; 36:417-421.
2. Bağriacık EU, Klein JR. The thyrotropin (thyroid-stimulating hormone) receptor is expressed on murine dendritic cells and on a subset of CD45RBhigh lymph node T cells: Functional role for thyroid-stimulating hormone during immune activation. *J. Immunol* 2000; 164:6158-6165.
3. Bağriacık EU, Zhou, Q, Wang, HC et al. Rapid and transient reduction in circulating thyroid hormones following systemic antigen priming: Implications for functional collaboration between dendritic cells and thyroid. *Cell Immunol* 2001; 212: 92-100.
4. Whetsel M, Bağriacık EÜ, Seetharamaiah GS et al. Neuroendocrin-induced synthesis of bone marrow-derived cytokines with inflammatory immunomodulating properties. *Cellular Immunol* 1999; 192: 159-166.
5. Wang H-C, Drago J, Zhou Q et al. An intrinsic thyrotropin-mediated pathway of TNF- production by bone marrow cells. *Blood* 2003; 101: 119-123.
6. Dorshkind K. Regulation of hemopoiesis by bone marrow stromal cells and their products. *Annu Rev Immunol* 1990; 8:111-37.
7. Roy V, C. M. Verfaillie. Expression and function of cell adhesion molecules on fetal liver, cord blood and bone marrow hematopoietic progenitors: implications for anatomical localization and developmental stage specific regulation of hematopoiesis. *Exp. Hematol* 1999; 27:302-312.
8. Vermeulen M, Le Pesteur F, Gagnerault M-C et al. Role of adhesion molecules in the homing and mobilization of murine hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 1998; 92:894-900.
9. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ, editors. *Immuno Biology: The immune system in health and disease*. 6th ed. New York: Garland Science Publ., 2005; p. 81-85.
10. Arkin S, Naprstek B, Guarini L et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) on hematopoietic progenitors. *Blood* 1991 ;77: 948-953.
11. Wondisford FE, Radovick S, Moates JM et al. Isolation and the characterization of the human thyrotropin β -subunit gene: Differences in gene structure and promoter function from murine species. *J Biol Chem* 1988; 263:12538-12542.
12. Susan CG, Carolyn IS, Lisa R et al. Bone marrow stromal fibroblasts secrete interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the absence of inflammatory stimulation: demonstration by serum-free bioassay, enzyme-linked immunosorbent assay, and reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Blood* 1992; 80:1190-1198.
13. Kim DH, Yoo KH, Choi KS et al. Gene expression profile of cytokine and growth factor during differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cell. *Cytokine* 2005; 31:119-126.
14. Majumdar MK, Thiede MA, Mosca JD et al. Phenotypic functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *J Cell Physiol* 1998; 176:57-66.