

TÜMÖR İMMUNOLOJİSİ VE KANSER AŞILARI

Gökhan DEMİR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Medikal Onkoloji Bilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Kanserle bağışıklık sistemi arasında son derece karmaşık ve çok faktörlü bir ilişki söz konusudur. Çoğu kanserli hastada zayıf ve güçsüz bağışıklık yanıtı oluşmakta ve kanserli hücrelerin temizlenmesine yeterli olmamaktadır. Kanser immunoterapisini anlamak için öncelikle kanser ve bağışıklık sistemi arasındaki karşılıklı etkileşimler güncel bilgiler ışığında tartışılmış, ardından tedavi yaklaşımları irdelenmiştir. Son günlerde kanserli hastalarda dendritik hücrelerle ve dendritik hücrelere dayalı kanser aşıları ile başarılı sonuçlar bildirilmektedir. Dendritik hücrelerin sitokin kokteylleri varlığında kanser antijenleri ile karşılaştırılmasına dayanan bu yaklaşımda, temel sorun hala doğru antijenin bulunmasıdır.

Anahtar kelimeler: Akciğer kanseri, bağışıklık sistemi, kanser aşıları, tümör immunolojisi

(Solunum 2003;5:173-179)

SUMMARY

TUMOR IMMUNOLOGY AND CANCER VACCINES

The interaction between cancer and immunity are complex and multifactorial. In vast majority of cancer patients only very weak immune responses insufficient to eliminate cancer cells from the body are observed. To understand cancer immunology, we reviewed the nature of interactions between the cancerous and immune cells in the light of current knowledge and discussed therapeutic approaches. Recently promising results on cancer immunotherapy are obtained with dendritic cells and dendritic cell based vaccine therapies. The dendritic cells seem to have pivotal role in cancer immunity; since, their stimulation with particular cancer antigens in the presence of cytokines like GM-CSF can cause efficient stimulation of the immune system against cancer. However, to be able to define the right antigen remains a major issue.

Key words: Immune system, immunotherapy, lung cancer, tumor immunity

(Solunum 2003;5:173-179)

GİRİŞ

Kanser ve bağışıklık sistemi arasındaki ilişki yüzyılı aşkın süredir hem onkologların hem de immunologların ilgi alanını oluşturmaktadır. Bedeni enfeksiyöz ajanlardan etkin şekilde koruyabilen bağışıklık sistemi, çoğu kez kansere karşı yeterli düzeyde etkinlik sağlayamamaktadır. Peki bağışıklık sistemini uyararak kanserle daha etkin şekilde savaşmasını sağlamak mümkün olabilir mi? Bu sorunun cevabı, bu konudaki aldığımız bunca yola rağmen hala “belki” den öteye gitmemektedir. Ancak yıllar içinde yapılan çalışmalar, kanserli hastadaki immun “network”un nasıl

baskılandığını ve kanserli hücrenin değişim yerindeyse bağışıklık sistemini nasıl atlattığını anlamamızı sağlamıştır.

Kanser aşıları, immum tedavi modaliteleri içinde giderek önem kazanmaktadır. Özellikle genetik olarak modifiye edilmiş aşılarla bazı tümörlerde yüz güldürücü sonuçlar elde edilmektedir. Bu konu daha detaylı olarak tartışılmaya başlamadan tümör ve çevresi arasındaki ilişkiyi kısaca özetlemekte fayda olduğu kanısındayım. Bağışıklık sisteminin uyarılarak kanserin tedavi edilmesi fikri Paul Ehrlich tarafından yüzyılın başında ortaya atılmıştır. Kanserle bağışıklık sistemi arasındaki yakın bir ilişkinin varlığı klinik gözlemlere

dayanmaktadır. Çeşitli nedenlerle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde kanser riski belirgin şekilde artmaktadır. Nadir de olsa malign melanom olgularında görülebilen spontan remisyonlarda lezyondan alınan biopsiler bu bölgeye yoğun lenfosit infiltrasyonu olduğunu göstermektedir. Malign olmamasına rağmen histolojik görüntüsü malign melanomu andıran halo nevüslerde de nevüs çevresindeki depigmente vitiligo alanında yoğun lenfosit infiltrasyonu saptanmaktadır. Bu melanositlere karşı gelişen immun yanıtı göstermesi açısından önemlidir. Allogenik kemik iliği nakli arkasından nüks eden hastalarda graft versus host (graft versus lökemi) geliştiği takdirde lökemide regresyon görülebilmektedir. Literatürde de bildirildiği gibi malign melanom, böbrek hücreli kanser ve nöroblastomda spontan remisyonlar söz konusu olabilmektedir. Ancak vücudu kendinden olmayana “non-self” karşı korumakla yükümlü olan bağışıklık sistemi enfeksiyon ve doku nakillerinde son derece etkin olmasına rağmen çoğu kez kansere karşı etkisiz kalmaktadır. Kansere karşı bağışıklık yanıtındaki yetersizlik bu konu ile uğraşanların en önemli çıkış noktasını oluşturmaktadır. Bir yandan kansere bağlı bağışıklık mekanizmasının neden baskılandığının cevabı aranırken, diğer yandan baskılanmış bağışıklık sisteminin tekrar uyarılabilmesi için araştırmalar yapılmaktadır.

KANSERE BAĞLI İMMUNOLOJİK BASKILANMA

Yukarıda da kısaca değinildiği gibi enfeksiyon, transplantasyon gibi durumlarda son derece etkin olarak çalışan immun sistem kanserli hücelere karşı yeterince etkin olamamaktadır. Kanserli hastalarda diğer immun fonksiyonlar da çoğu kez baskılanmıştır. Stiever ve Wienerman'ın yaptıkları araştırmada lokalize kanseri olan hastalara influenza aşısı uygulanmış, sağlıklı kontrollerin %98'inde bağışıklık oluşturan bu aşının kanserli hastalarda yalnızca %36 oranında bağışıklık oluşturabildiği gözlenmiştir. Kanserli hastalarda görülen bağışıklık sistemi baskılanmasını çeşitli başlıklar altında toplamak mümkündür.

Tümör Hücrelerine Bağlı Nedenler

Çoğu tümör hücrelerinde antijen hazırlayıcı ve sunucu (“processing/presenting”) mekanizmalar kalıtsal olarak hatalıdır. Ek olarak çoğu kanser hücrelerinde sınıf I doku uygunluk antijeni “major histocompatibility” (MHC-I) ekspresyonu az ve yetersizdir, böylece bağışıklık hücrelerinin kanser hücrelerini tanıması zorlaşmaktadır. Kanser hücrelerinde çoğu kez MHC I molekülü yanında

önemli bir yardımcı uyarıcı molekül (co-stimulatory) olan B27 ekspresyonu da yetersizdir. Ayrıca tümör hücrelerinin bağışıklık sistemi üzerine etkili pek çok sitokin salgıladıkları gösterilmiştir. Bu sitokinler tümör hücrelerinin bulunduğu ortamda diğer hücrelerle ilişkisini sağlamaktadır. Tümörün kendini besleyecek yani damar oluşumunu uyaran, kendi büyümesini kontrol eden bu sitokinler bağışıklık sistemi üzerine ise çoğu kez negatif etki etmektedir. Böylece tümör hücreleri bağışıklık sisteminin kontrolünden kaçmasını sağlayan mekanizma dışında salgıladıkları sitokinler yoluyla da gerçek anlamda bir immunsupresyon tablosu oluşturmaktadırlar.

TGF-β (“transforming growth factor”)

Bilinen en güçlü immun baskılayıcı faktördür. Çoğu önemli sitokinin salgılanmasını baskılar (örneğin: monositlerin IL-2 salgılamasını). Sitotoksik T-lenfositlerin diferansiyasyonu engeller. In vivo çalışmalarda TGF-beta'nın virüslere ve allojenik tümörlere karşı bağışıklık yanıtını baskıladığı gösterilmiştir. Aynı zamanda, TGF-beta sitokinlerin başlattığı hücre içi sinyal ileti kaskadını da bloke etmektedir (örneğin: protein tirozin kinazlar PTK, JAK2; mitojenle aktiflenen protein MAP; nükleer protein STAT 1)

İnterlökin 10 (IL-10)

İlk kez CD4 pozitif yardımcı T –lenfositlerin alt grubu olan Th2 hücrelerinden salgılandığı ve hücrel bağışıklığı yönlendiren Th1 grubu yardımcı CD4 pozitif T-lenfositleri baskıladığı gösterilmiştir. Daha sonra pek çok tümör hücrelerinin de IL-10 salgıladığı saptanmıştır. Aynı zamanda IL-10, T-hücrelerine antijen sunumunu zayıflatmakta ve MHC-II moleküllerinin ekspresyonunu azaltmaktadır. İnterlökin-10, TGF-β ile birlikte Th1/Th2 dengesini Th2 lehine bozarak hücrel bağışıklığı zayıflatmakta ve tümör hücrelerini T-lenfositlerinin litik etkisine karşı duyarsızlaştırılmaktadır .

VEGF (“vascular endothelial growth factor”)

İlk olarak tümörde yeni damar oluşumunu uyarıcı etkisi saptanmıştır. Bugün angiogenetik etkisi yanında, CD34-pozitif kök hücreden esas antijen sunucu hücreler olan dendritik hücrelerin gelişmesini bloke ettiği, böylece hücrel bağışıklığı zayıflattığı saptanmıştır .

İnterlökin 6 (IL-6)

Pek çok çalışma IL-6 sekresyonunun immunoterapiye dirençli yol açtığını göstermiştir. Metastatik böbrek hücreli karsinom ve malign melanomda yüksek bazal

IL-6 düzeyi immunoterapiye yanıtla ters korelasyon göstermektedir.

Kanser Antijenleri

Kanserli hücrelerin normal dokudan farklı antijenleri eksprese edeceği ve bu antijenlerin bağışıklık sistemi tarafından kolayca saptanarak yok edileceği fikri ilk kez 1943 yılında Gross ve arkadaşları tarafından farelerde indüklenmiş sarkom modelinde denenmiş ve alınan dramatik yanıt üzerine büyük bir heyecanla yeni araştırmalar başlatılmıştır. Ancak zaman geçtikçe kansere özgü antijenlerin saptanmasının kolay olmadığı, bu antijenlerin çoğunun normal hücrelerde de eksprese edildiği, spesifik olan bazılarının da immunojenitelerinin veya MHC moleküllerine afinitelerinin az olduğu saptanmıştır. Bu çalışmaların bugün en fazla yoğunlaştığı tümör grubunu malign melanom oluşturmaktadır. Malign melanomda eksprese edilen birçok tümör antijeni saptanmış ve uygun MHC alt grubunu taşıyan hastalara (HLA A2 ve HLA C) etkin aşılama programları uygulanmaktadır.

Kanser Hastalarında Bozulmuş Dendritik Hücre İşlevleri

Dendritik hücreler bugün bilinen en etkin antijen sunucu hücrelerdir. Dokuda tümörle ilgili antijenlerin T-lenfositlere sunulmasında ve böylece anti tümöral bağışıklık yanıtının oluşturulmasında birinci derece sorumluluk taşımaktadırlar. Kanserli hastada etkin hücrel bağışıklık yanıtının oluşabilmesi için bağışıklık sistemi içerisinde yer alan üç temel unsurun, yani, 1) antijen sunucu hücrenin 2-) yardımcı T-lenfositin, 3) sitotoksik T-lenfositin, mutlaka iyi uyumla birlikte çalışması gerekmektedir. Antijen sunucu hücre, yardımcı (CD4) ve sitotoksik (CD8) T-lenfositlere hazırladığı antijenleri, yardımcı aktivasyon molekülleri ile birlikte sunmakta, aktive yardımcı T-lenfositler de, monosit/makrofajlarla birlikte sitotoksik T-lenfositin klonal çoğalması için etkin sitokin desteği sağlamaktadırlar. Kanserli konakta dendritik hücrelerin işlev bozukluğunu gösteren pek çok çalışma yayınlanmıştır. Bu işlev bozukluğu, kanserli hastada saptanan bozulmuş hücrel bağışıklık yanıtının en önemli nedenlerinden birini oluşturmaktadır. Kanserli hastada dendritik hücrelerin hemopoetik kök hücreden olgulaşması tümörden salgılanan VEGF tarafından engellenmektedir.

Sonuç olarak, hastada kanserli dokuya karşı etkin bağışıklık yanıtının oluşmaması yukarıda kısaca değinilen pek çok faktörün çok yönlü işbirliği ile gerçekleşmektedir. Bu faktörlerin oluşturduğu kısır döngüyü kırabilmek ise bugün hala işlevi hakkında

çok az bilgiye sahip olduğumuz “immune network”ü daha iyi tanımamız ve daha iyi manipüle etmemizle mümkün görünmektedir.

Tümör İmmunitesinde Önemli Bağışıklık Sistemi Hücreleri

Her ne kadar süper-antijenler (protein-dışı antijenler) varsa da, genel olarak, T hücreleri nativ antijenlere (bütün proteinler) cevap olarak aktive olamazlar. Bağışıklık cevabının ilk basamağında antijeni içine alarak işleme gereken bir ara hücre bulunması gereklidir. Hematopoetik kök hücrelerden kaynaklanan ve bu işlevi yürüten bir hücre topluluğu vardır. Bunlar arasında en iyi tanımlanmış olanlar mononükleer fagositler, B hücreleri, Langerhans hücreleri ya da son zamanlardaki adıyla dendritik hücrelerdir (DC). Bu antijen sunan hücreler sadece antijeni almakla kalmaz; aynı zamanda T-hücre tanınması ve aktivasyonu sürecinde gerekli bir bileşen olan doku uygunluk antijenleri MHC moleküllerini de sentezlerler. Antijenlerin antijen sunan hücrelere girişi, işlenişi ve yüzeyde eksprese edilmesinin mekanizması karmaşıktır ve son 20-30 yıl içinde pek çok çalışmacının çalışmaları ile belirlenmiştir. Kısaca, iki tip MHC molekülü vardır: Sınıf I ve Sınıf II. Bu iki tip MHC molekülü farklı genler tarafından kodlanır ve hücre içine farklı şekillerde giren antijenlerle ve farklı T hücre tiplerinin aktivasyonunu sağlar. Antijen, antijen sunan hücre tarafından fagosite edildikten sonra küçük parçalara (peptidlere) bölünür ve bir MHC molekülüne kovalent bağla bağlanır. Daha sonra MHC-peptid kompleksi hücre yüzeyine taşınır. Dolaşan T hücrelerinden spesifik bir peptidi tanıyanlar, o peptidi taşıyan MHC kompleksini eksprese eden antijen sunucu hücre (ASH) ile karşılaşır ve T hücre reseptörü aracılığı ile bu komplekse bağlanır. T hücresi MHC-peptid kompleksine bağlandığında bir hücrel reaksiyonlar zinciri oluşur, bu da T hücresinin aktivasyonu, farklılaşması ve proliferasyonuna yol açar. Sınıf I MHC molekülleri başlıca, ASH için endojen olan proteinlerden türetilmiş küçük peptidlerle bağlanma gösterir (9 aa.). MHC sınıf I ile sunulan antijenler, sadece sınıf I molekülü ile bağlanmış antijeni tanıyabilen CD8 pozitif sitotoksik (CTL, “cytotoxic T lymphocyte”) T lenfositlerini aktive eder.

Sınıf II MHC molekülleri başlıca, ASH için eksojen olan proteinlerden türetilmiş daha büyük peptidlerle bağlanma gösterir (14-20 aa.). MHC sınıf II ile sunulan antijenler, sadece sınıf II molekülü ile bağlanmış antijeni tanıyabilen CD4 pozitif yardımcı T hücrelerini (Th “T helper”) aktive eder.

Dendritik hücreler ilk kez 1868’de cilt histolojik

kesitlerinde Langerhans tarafından tanımlanmıştır. Bu interdigitating non-epitelyal, non-lenfoid hücrelerin işlevi onyıllar boyunca spekülasyon ve tartışma konusu olmuştur. 1970'lerde Steinman ve diğerleri tarafından yürütülen çalışmalar, dalak, lenf nodları ve bazı non-lenfoid dokularda bulunan DC'lerin işlevinin primer immun yanıtın uyarıcısı olduğunu ortaya koymuştur. Dendritik hücrelerin (DC) morfolojik ve işlevsel olarak belirlenmesindeki ilerlemeler çeşitli faktörler tarafından engellenmiştir. Bunlar: 1)DC'lerin makrofaj-monositlerden ayrımının güç olması, 2)bu hücrelerin belirlenmesinde ve izole edilmesinde DC-spesifik markerlerin yokluğu, ve 3)kanda dolaşan DC sayısının görece düşük olması. Bu engellere karşın günümüzde DC'lerin in vivo ve in vitro olarak belirlenmesinde ve izole edilmesinde ve ekspansiyonunda kullanılacak DC-spesifik marker ve yöntemleri belirlenmiştir. Böylece DC işlevinin hem primer olarak (naif T hücrelerinde) hem de sekonder olarak (primed T hücrelerinde) T hücre yanıtı oluşturabileceğini gösterdiler.

Hücrelerin yaşam öyküsü bir proliferen olan progenitör ile başlar; bu insanlarda kemik iliğinin CD 34 fraksiyonudur. Daha sonra proliferen olmayan öncüler, özellikle kan monositleri gelir. Bu hücreler DC özelliklerinin hiçbirini taşımayan hücrelerdir. Ancak, uygun sitokinler ve diğer uyarılar ile DC haline dönüşebilirler. Daha sonra olgunlaşmamış (immatür) DC'ler gelir. Bunlar tipik olarak vücut yüzeylerinde ve interstisyel boşluklarda bulunurlar. Olgunlaşmamış DC'ler MHC sınıf II ürünleri ve interselüler bileşenleri (MIIC'ler) ile yüklüdürler ve bu hücreler inflamatuvar sitokinlere ve mikrobiyal ürünlere çok hızlı yanıt vererek olgun DC'ye dönüşürler. Bunlar T hücrel immünitenin çok güçlü bir uyarıcıdır. Bu hücreler yüzeylerinde bol miktarda MHC I ve II ürünleri taşırlar. İmmatür DC, antijenle karşılaştığında olgunlaşma süreci başlar ve DC'ler dokudan T ve B hücrelerinin bulunduğu lenf düğümüne geçer.

Olgunlaşma sürecinin sonucunda işlenmiş antijeni uygun MHC molekülü ile bağlanmış olarak yüzeyinde sunan, aynı zamanda T hücresinin aktivasyonu için gerekli ilişkili aksesuar molekülleri taşıyan bir DC hücrelidir

Dendritik hücre tarafından kodlanan lenfositler klonal proliferasyonlarını tamamladıktan sonra bağışıklık sisteminin regulasyonundaki ikinci önemli süreç başlamaktadır. Bu sürece Yardımcı T lenfositlerin polarizasyonu süreci adı verilmektedir. Lenfositlerin antijene karşı hangi yolla mücadele edeceklerini bu polarizasyon süreci sağlar. Bilindiği gibi spesifik immunitenin iki önemli kolu hücrel ve humoral

immunitedir. Humoral bağışıklıktan sorumlu B lenfositler antijene spesifik antikor yapımı ve bu antikorun dolaşıma salınması ile görevlerini yerine getirirler. Hücrel bağışıklık ise antijeni taşıyan hücre ile lenfosit arasında doğrudan fiziksel temas sonucunda antijeni taşıyan hücrenin yok edilmesi ilkesine dayanmaktadır. Hücrel bağışıklığın iki önemli efektör hücresi CD8 pozitif sitotoksik T lenfositler ve CD16/CD56 pozitif doğal öldürücü ("natural killer") lenfositlerdir. Bu iki efektör hücre arasındaki en temel fark doğal öldürücü hücrelerin tümör hücrelerine saldırmak için doku uygunluk antijenine ihtiyaç duymamalarıdır. Ancak bu iki lenfosit te tümör hücresiyle temas ettiğinde perforin ve granzim B gibi tümör hücresini membranında porlar oluşturup tümör hücresinde apoptotik süreci başlatan enzimler salgırlar. Aynı zamanda yüzeylerinde taşıdıkları FAS ligandı sayesinde de yüzeyinde Fas resptörü taşıyan (CD 95 pozitif) tümör hücrelerinde programlı hücre ölümünün başlamasında katkıda bulunurlar. İlk aşamada tümör hücresinden elde ettiği antijeni hazırlayarak lenfositlere sunan dendritik hücre, aynı zamanda spesifik bağışıklığın hangi konunun aktifleneceğine de karar verir. Bu karar ise CD4 pozitif yardımcı lenfositlerin T-helper 1 (Th1) ya da T-helper 2 (Th2) yönüne doğru olgunlaşmasının uyarılması ile alınır. Bu günkü bilgilerimiz ışığında Th1/Th2 farklılaşmasını belirleyen en önemli faktör, ortama dendritik hücreler tarafından salgılanan sitokinlerdir. Th 1 yönüne doğru farklılaşan CD4 pozitif yardımcı T lenfositler, IL-2, IFN-gamma salgılayarak hücrel immuniteyi uyarırlar. Th2 yönüne olgunlaşan CD4 pozitif yardımcı lenfositler ise IL-6, IL10 gibi humoral bağışıklığı uyarın sitokinler salgırlar. Tümör immunoterapisinde esas olarak uyarılması arzulanan hücreler, CD8 pozitif sitotoksik T lenfositler ve doğal öldürücü hücreler olduğu için Th1 yardımcı lenfositler ve bu grubu manüle eden sitokin tedavileri önem kazanmaktadır.

Sitokinler

Bağışıklık sistemi hücrelerinin arasında diğer sistemlerde olduğu gibi (örneğin sindirim, solunum sistemleri) doğrudan fiziksel temas yoktur. Bu sistemi oluşturan hücrelerin koordine çalışmalarını sağlamak amacıyla doğa soluble hücreler arası iletişim molekülleri kullanılmaktadır. Genel olarak sitokin diye adlandırılan, genellikle glikoprotein yapısındaki bu moleküller bağışıklık sistemi hücreleri arasındaki iletişimden sorumludurlar ve iletişimini üstlendikleri hücre grubuna göre de adlandırılabilirler (örneğin lökositler arası iletişimi sağlayan interlökin, lenfositler arası iletişimi sağlayan moleküller lenfokin, monositler arası iletişimi

sa layan molek ller monokin, vb) G n m2zdEteproteinler ve peptidler rekombinant teknolojinin sayesinde baz sitokinlerinlerde t m r h cresinin t m yerine s eldesi ve immun tedavilerde kullan lmas t m r h cresinden salg lanan bir protein p rifiye olmu tur. lkemizde halen IL-2, interferon olarak kullan lmaktadır. Bu ekilde yap lan Interferon- , G-CSF, GM-CSF, huEPO uygulamada in vitro artifisyel bir peptidi bulunan sitokinlerdir. Bug n interl kin 1 devallerinkisalgalamalar genetik modifikasyo 18 e kadar farkl etkileri olan 18 de i s k lanan kim r h creleri, bu peptide kar a tan mlanm t r Ancak klinik uygulamada hayvanlara inok le edildiklerinde, t m re kar kullan lan IL-2 dir. Interferonlar memeli bacrelatikiryan t heyecan uyand rm t r. Daha viral infeksiyonlara kar geli tirdikleresentstakunpeptidler de kullan larak farkl a molek lleridir. Hem infekte olan h yreninlm t r. Ayn ama la viral proteinler de proliferasyonunu durdurucu etkileri hem deaginfEPV) protein a lar olarak kullan lm h crenin ba kl k h creleri taraf ndan tan nmas n sa layan etkileri vard r. Bug n onkoölojikbeik asitler ve rekombinant viruslar immunomodulatuvar olarak zellikle maşugyakla mda plak DNA molek l , DNA ile melanomun adjuvant tedavisinde, hepatolojidekanmik sentetik partik ller ve son olarak t viral hepatitlerin tedavisinde, n rolojide multipleasklenoz kodlayan cDNA i eren plasmid ile t tedavisinde yayg n olarak kulln lmaktadır. leri klinik viruslar bu ama la kullan lm lar immunoterapide kullan m g n ge tik e ilgin hale gelen di er bir sitokinde gran losit makrofajHeatshock proteinleri stim le edici fakt r olan GM-CSF tir. lk Haerendiamer t rl strese kar salg lad he endikasyonu otolog transplantasyon ard ndanpmiyeloidri h cre i inde shaperon olarak rekonstit syon sonras kullan m d r. Sitoksik kemoterapi protein yap lar n sitozolden memb sonras olu an miyelosupresyonun giderilmesimadetrlar. Ayn ekilde t m r antijenli miyelodisplazi tedavisindeki kullan m anutlmannda da bu peptidlerin rol oynad k konusudur. Ancak yukar da dendritik h crelerden imtedir. Heat shock protein lerle t m edilirken belirtildi i gibi GM-CSF, in vitro kullandpeptidlerin birlikte verilmesi ve bu t mononukleer monositler h crelerden dendritik geli tirilmesi zerinde al lan di er bir ko geli imimi sa layan en nemli sitokinlepehinkir ve erken klinik al malarda olumlu so tanesidir. Bu etkisi ile in vivo al mada retildir. kullan lmaya ba lanm , zellikle dendritik h cre bazl a programlar n n standart sitokini olmu DendriAidaH cre A lar dendritik h cre uyar lmas n sa layacak doz Denkilak m crelerin (DC) immun cevapta oynad k ekli konusunda g r birli i hen z yoktur. rd kten sonra, bu bilgilerin klinik d uygulanmas n ara t rabiliriz.A lmas gereken engel, terap tik bir yakla m m mk n k labil yeterli miktarda DC nin nas l izole edilece i retilece idir. DC ler dokuda, lenf d mlerinde

KANSER A ILARI

Yukar da de inilen temel prensipler do rudgenulada ve dola an kanda bulunur. Ancak, tota t m r h crelerine kar h cresel sitotoksisitetyusuyamak k k bir b l m n olu tururlar (< amac yla e itli t m r a lar geli tirderitDC. ler periferik kan monositlerinden edilir. Makrofajlar, monositler ve DC lerin d progenit re sahip olduklar bilinmekte idi. Mon naktive edilmi b t n kanser h cresindenparperik kandan g rece kolay ula labilir ve a lar ba lang ta kanser h cresinde beliktillen kaglar na yap arak izole edilebilir. Bu t MHC ve ko-stimalatuvar molek l ekspresyonu netemaysonra GM-CSF, TNF, IL-4, SCF gibi e it ba ar s z olmu tur. Geli en molek ler biyoloşikoklenilre maruz b rak l r. Ayr ca kemik ili in sayesinde inaktive edilmi t m r h cresi ko-stimulatikvadan elde edilen hematopoetik progen molek lleri ya da baz sitokinleri (rne de GM-CSF) sitokinlerle DC lere d n ebilirle salg layacak ekilde modifiye edildi inde bñtcreatopama sistemlerinin ve k k h crelerin hayvan al malar nda y ksek ba ar oranlar idiladklana periferik kana ta nma yetene inin g sterilmi ve insan al malar ba latlmar t r.in vitro b y k miktarlarda DC retilme

olarak mümkün olabilmektedir. Çeşitli sitokin kokteyllerinin kullanıldığı yöntemler geliştirilmekte ve optimal karışımı bulmak için rafine edilmektedir. Yeni deneysel büyüme faktörleri (c-kit ligandı, Flk-3 ligandı ve kimerik Flk-3 ligandı) çeşitli öncülerden DC'lerin ekspansiyonunda ex vivo yararlılık göstermişlerdir. Dahası, DC'lerin in vivo mobilizasyon çalışmaları başlatılmıştır.

Diğer bir konu, DC tarafından antijen işlenmesinin nasıl optimize edileceğidir. Antijenlerin içeri alınma, işlenme ve prezentasyonu ile ilgili çeşitli stratejiler vardır. Ekstraselüler sıvıdaki küçük veya nativ peptidler boş MHC moleküllerini DC yüzeyine yükleyebilir veya kolayca hücre membranını geçerek hücre içine girer. Eğer antijenik epitop biliniyorsa, sentetik peptid oluşturularak DC'ler prime edilebilir. Sentetik peptidlerle ilgili bir diğer problem, bunların gerekli immun yanıtı başlatmada yeterince etkin olamayabileceğidir. Bütün proteinlerin kullanımı da sorun yaratır, çünkü bunlar genellikle çok büyüktür ve işlenmek üzere DC içine girişleri zor olabilir. Tümörlerin büyük çoğunluğu için tümör isid cevap oluşturan spesifik antijenler ortaya konmamıştır. Çeşitli araştırmacılar otolog tümör lizatlarının DC'ye antijen sağlamada kullanımı üzerinde çalışmaktadır. Bir diğer strateji, tümör hücrelerinin DC'lere bağlanması ve DC'nin tümör proteinlerini antijen olarak sunmasının sağlanmasıdır. Son olarak, moleküler tekniklerin kullanımına bağlı olarak tümör proteinlerini kodlayan DNA ve RNA klullanımı geliştirilmiştir. Nukleik asit materyeli DC içine verildiğinde, DC'nin genomu içine katılır ve tümör proteini hücrel bir protein olarak eksprese edilerek uygun işlenme sonrası T hücresine sunulur. Kanser aşılmasında iki önemli konu vardır. Birincisi, antijenin tek başına injeksiyonu nadiren bir immun reaksiyona yol açar; antijenin cevap oluşturma için adjuvan adı verilen bazı bileşenlerle karıştırılarak verilmesi gerekir. Giderek netleşen şudur ki, bu adjuvanlar gerek tümör hücresinden gelsin gerekse infekte hücreden gelsin, bu antijenleri naiv DC'lere kanalize ederek iş görürler. Aşıllarda DC'lerin kullanılmasındaki hipotez antijenin tümör hücresinden DC'ye transferinin bağlantı sağlayıcı faktör olmasıdır. Bizim yapmaya çalıştığımız ise, tümör antijenlerinin izole edilmesi ve doğrudan dendritik hücrelere yüklenmesinin geliştirilmesi ve hastanın bununla aşılmasıdır.

İkinci sorun, dendritik hücrelere yüklenecek antijenlerin hangileri olduğudur. Burada belirlenmiş bir antijen veya tümör kaynaklı bir madde antijen kaynağı olarak kullanılabilir.

Bu yaklaşımın sorunu, öncelikle iki antijenin belirlendiği çok az kanser vardır. Aslında kanser

hastalarının % 95'ten fazlası hangi tümör antijenine karşı aşılama yapacağımızı bilmediğimiz gruba girer. İkincisi ise T hücre yanıtı oluşturma kabiliyeti gösterilmiş bir antijenin kansere karşı da etkin bir immunité geliştirip geliştirmeyeceğinin belirsiz olmasıdır.

Özetle, DC'leri tümör hücrelerinden elde edilen antijenlerle inkübe edersek, bazı hayvan modellerinde çok etkin bir tümör immunitesi indükleyebiliriz. Ancak gerçek olmaktan çok teorik bir immun yanıt vardır ki, karışım içinde çoğunlukta olacak self antijenler dolayısı ile, self toleransının kırılması ve bir otoimmun reaksiyon indüklenmesi olasıdır. Ancak hayvan modelleri bu olasılığı desteklememektedir. Yani hayvanlarda çok etkin bir tümör immunitesi indüklerken hiç otoimmunite gözlenmemiştir. Bu da olumlu etkilerin istenmeyen etkilerden çok daha kuvvetli olduğunu gösterir. İkinci ciddi sorun, aşının elde edilmesi için gerekli tümör materyelinin nereden elde edileceğidir. Yani, DC'ler ile birlikte fraksiyone edilmemiş tümör materyeli etkin olacak bile olsa, hastaların pek çoğunda sadece gerekli antijeni oluşturacak yeterli tümör materyeli bulunmadığından hastalara yararlı olamayacaktır. Burada RNA fikri gündeme gelir. RNA'nın kullanılması durumunda hem her hasta bundan yararlanabilir, hem de etkin bir aşılama yöntemi olacaktır.

A) hastada hangi antijenlerin eksprese edildiğini bilmemiz gerekmediğinden ve tümör hücresinin RNA'sı ile aşılacağımızdan,

B) RNA ampfliye edici B hücre ile her kanser hastasından birkaç hücre bile alınsa yeterli miktarda antijen üretebileceğimizden dolayı bu konu son yıllarda gözdedir. Bu yolla RNA'yı alarak ve belirli bir antijeni kodlayarak murine DC'lerini transfekte ediyoruz ve deney ortamında çok etkin bir T hücre yanıtı oluşturuyoruz. Daha önemlisi, önceden metastazı varolan hayvan modellerinde bu yolla elde edilen DC'lerin güçlü bir tümör immunitesi oluşturduğunu gösterdik. Bundan sonraki soru, hayvan modelindeki bulguları insan modeline aktarabilecek miyiz sorusudur.

CEA'yı kodlayan RNA ile transfekte edilen DC'ler, in vitro olarak CD4 ve CD8 T hücre cevaplarını uyarmakta çok başarılı olmuştur. CEA eksprese eden kolon kanserinden RNA alınabilir ve hastanın DC'leri bununla transfekte edilir. Bunlar in vitro ortamda gerçekleştirilir. Böylece hastanın tümör hücrelerini tanıyacak etkin bir poliklonal CTL yanıtı oluşur.

RNA kullanımının altında yatan rasyonel, etkinliğin artmasından çok, antijen hazırlanabilmesi için yetersiz miktarda çok düşük tümör hacmine sahip hastalar ile, hangi tümör antijenlerinin hedeflenmesi gerektiğinin

bilinmediği hastaları da kapsayacak şekilde kapsamın genişletilmesidir.

Hem hayvan çalışmaları hem insan modellerinden anlaşılmaktadır ki tümör hücrelerinden RNA izole edilebilir, biyolojik aktivitesini etkilemeksizin amplifiye edilir, ve faredeki immunoterapi modellerinde veya insanda CTL cevabı oluşturmada kullanılır. Hastalardan veya normal vericilerden alınan DC'ler genetik olarak manipule edilerek tümör antijenlerini kodlaması sağlanır. Bunun dışında da istediğimiz her türlü geni bu hücreler içine sokabiliriz. Bunlar infeksiyon ajanına karşı aşılar yapmak istiyorsak viral veya bakteriyel genler olabilir. Ancak bizim durumumuzda, tümörlere odaklanıyoruz, özellikle melanomlara. Çünkü bunlar oldukça geniş bir hasta tabanı oluşturmaktadır. Bu teknik başlıca bir tümör antijenini kodlayan cDNA ile güçlü bir viral promoterin verilmesine izin verir. Plasmid yaklaşımı ile ilgili diğer bir iyi yan ise genlerin karıştırılması ve eşleştirilmesine olanak tanıyarak bir hücre içine birden fazla çeşitte gen sokulmasını sağlamasıdır. Bunlar birden fazla tümör antijeni olabileceği gibi, bir tümör antijeni yanında bir sitokin geni de verilebilir. Sitokin genleri de bu tümör antijenlerine karşı spesifik olan T hücrelerinin ekspansiyonunda majör bir rol oynarlar. Bu T hücrelerinin de DC'lerin kullanıldığı genetik aşılarla uyarılması hedeflenmektedir.

Bir süredir, DC'lerin CD8 sitolitik T hücrelerini etkin bir şekilde ortaya çıkardığı bilinmektedir. Aynı zamanda tümör spesifik CD4 cevabı da çok etkin bir şekilde ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Transfekte gen sistemini kullanarak belli bir genden hangi peptid epitoplarnın

tanındığını belirlemek mümkündür.

DC'leri tümör hücreleri ile besleme sonucunda bağışıklık sisteminde olacak olan otoantijenler de dahil olmak üzere antijenlerin toplanacağıdır. Ancak T hücrelerinin hiçbiri veya çok azı bu otoantijenlere yönelecektir. Orada bulunan T hücreleri yeni antijenleri tanıyacaktır.

Başlıca iki ana yol vardır. Birincisi CD 34 progenitorların kullanılmasıdır. Bunların proliferatif kapasitesi vardır. Makrofajlar gibi post-mitotik değildirler. Hücre sayısının önemli ölçüde arttırılabilmesi mümkündür. Ayrıca makrofajlara oranla daha kolay manipule edilebilirler. Diğeri, bizim de yaptığımız gibi CD 34 seçme araçlarıdır. CD 34'leri bir lökaferez ürününden ayırmamızı sağlar. Periferik kandaki CD34'lerin sayısı sınırlıdır ve kanser tedavisi açısından, bunların mobilizasyonunu sağlayan bir sitokin kullanılması mantıklı olacaktır. Bir diğeri ve basit yol ise, plastiğe yapışma sonrasında makrofajı ayırma ve uygun sitokin ortamında kültür yapmadır. Bu durumda GM-CSF ve IL-4 tercih edilir.

KAYNAKLAR

1. Rosenberg SA. Biologic Therapy of Cancer. 3rd edition, Lippincot Williams&Wilkins, Philadelphia, 2000.
2. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principle and Practice of Oncology, 6th edition, Lippincot Williams&Wilkins, Philadelphia, 2001.
3. Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE. Clinical Oncology, 2nd edition, Churchill Livingstone, New York, 2000.