



Review article

Doğal Öldürücü (Natural Killer: NK) Hücreler ve Kanser İmmünoterapisi

Natural Killer (NK) Cells and Cancer Immunotherapy

Ayfer Karlıtepe^a & Mehtap Kılıç Eren^{a,*}

^aDepartment of Medical Biology, Faculty of Medicine, Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Turkey.

Özet

Doğal öldürücü hücreler (Natural Killer: NK) birçok aktivatör ve inhibitör reseptörlere sahip olan CD3 - CD56+ lenfositlerdir. NK hücrelerinin kanser tedavisine yönelik olarak otolog ve allojenik kullanımları söz konusudur. Bunun yanı sıra ticari olarak elde edilen NK hücreleri ve bazı kaynaklardan (kordon kanı ve kemik iliği hematopoietik kök hücreleri, embriyonik ve indüklenmiş pluripotent kök hücreler (IPS) farklılaştırılarak elde edilen NK hücreleri de kanser tedavisinde kullanılmaktadır. NK hücre bazı immünoterapinin, kanser tedavisine yönelik etkin bir tedavi yaklaşımı oluşturabileceği yapılan çalışmalar ile desteklenmektedir. Derlemede pankreas, over, prostat, akciğer, kolon ve meme kanserleri yanı sıra glioma ile ilgili NK hücre bazlı immünoterapi çalışmalarına yer verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Doğal Öldürücü Hücreler, Kanser

Abstract

Natural Killer (NK) cells are CD3 - CD56 + lymphocytes with many activators and inhibitory receptors. NK cells efficiently recognize and kill tumor cells via several mechanisms such as the expression of ligands for NK cell-activating receptors on target cell or execution of cytotoxic activity on target cell. Mainly, autologous and allogenic NK cells are utilized for adoptive cellular therapy for cancer treatment. NK cells for adoptive cellular therapy can be derived from multiple sources including bone marrow (BM), peripheral blood (PB), umbilical cord blood (CB), various cells lines, such as the NK-92, or human embryonic stem cells (hESCs) and induced pluripotent stem cells (iPSC)s. They are also available commercially.

NK cell-based immunotherapy is supported by studies that establish an effective treatment approach for cancer treatment. In this review several NK cell-based immunotherapy studies in pancreatic, over, prostate lung, colon and breast cancers as well as glioma have been summarized.

Keywords: Natural Killer Cells, cancer treatment, immunotherapy

Received: 20 December 2018 * **Accepted:** 21 December 2018 * **DOI:** <https://doi.org/10.29329/ijiasr.2018.173.4>

* **Corresponding author:**

Mehtap Kılıç Eren, Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Turkey.
Email: mkiliceren@gmail.com

GİRİŞ

Günümüzde kanser ölüme en fazla yol açan hastalıklar arasında hala en ön sıralarda yer almaktadır. Ancak buna rağmen, cerrahi tedavi, radyoterapi ve kemoterapi gibi standart kanser tedavileri hastalara genellikle çoklu yan etkileri getirmektedirler. Bununla birlikte, hücresel terapilerin keşfi özellikle kanser tedavisinde yeni ufuklar açmıştır. Bu yaklaşım, hastaların, hem bağışıklık hücrelerinin özellikle kanser hücrelerini öldürmek üzere uyarılmasını hem de bağışıklık hücrelerinin yeteri kadar sağlanması yoluyla bağışıklık yetmezliğinin de engellenmesini sağlayabilmektedir. Birçok farklı kanser için hücresel terapi bazlı tedavi yöntemleri halen takip edilmektedir. Aslında, hücre terapisi için kullanılan birçok tip bağışıklık hücresi vardır: Doğal öldürücü (Natural Killer: NK) hücreler, sitotoksik T hücreleri (CTL), dendritik hücreler (DC), $\gamma\delta$ T hücreleri ve aT hücreleri (1). Doğal öldürücü hücreler, doğal immün yanıtta önemli roller oynayan tip 1 doğal lenfoid hücreler'in (ILC: innate lymphoid cells) bir alt tipi olup, sağlıklı insanlarda lenfositlerin yaklaşık % 10'unu oluşturur (2).

NK hücreleri olog ve allojenik kullanım potansiyeli ile tümör hücrelerini hedefleyebilen ve bu nedenle hücresel terapide önemli yer tutan immün sistem hücreleridir. Bu derlemede pankreas, over, prostat, akciğer, kolon ve meme kanserleri yanısıra glioma ile ilgili NK hücre bazlı immünoterapi konusundaki çalışmalara yer verilmiştir.

Doğal Öldürücü Hücreler

Doğal öldürücü (bundan sonra "NK hücreler" olarak refere edileceklerdir) hücreler kemik iliğinde üretilir, lenfoid ve lenfoid olmayan dokulara yerleşir ve periferal kanda %5-15 oranında bulunurlar. Genel olarak, NK hücreler CD56 yüzey ekspresyonunun yoğunluğu ile ayırt edilen iki alt kümeye ayrılabilir (CD56, Nöral Hücre Yapışma Molekülü veya NCAM olarak bilinen bir yapışma molekülüdür). CD56bright alt kümesi, öncelikle lenf düğümleri ve ikincil lenfoid dokuda lokalizedir ve dolaşımdaki NK hücrelerin sadece % 10'unu oluşturur. Bu alt-grup proliferatif ve sitokin uyarımına yanıt olarak bol miktarda sitokin salgılar. CD56dim alt kümesi, ağırlıklı olarak kan, kemik iliği ve dalakta bulunur ve dolaşımdaki NK hücrelerin % 90'ını oluşturur. Bu alt-grup; Fc γ RIIIa reseptörlerini (CD16) eksprese eder ve antikora bağlı hücresel sitotoksositeye aracılık eder (ADCC), sınırlı proliferatif kapasiteye sahiptir ve hedef hücre tanımaya yönelik olarak sitokinleri salgılar (3).

CD56dim alt kümesinde bulunan dinlenme halindeki NK hücreler CD56bright NK hücrelere kıyasla NK-duyarlı hedeflere karşı daha sitotoksiktir. Bununla birlikte, CD56bright NK hücreleri, İnterlökin-2 (IL2) ile uyardıktan sonra benzer sitotoksik özellik kazanır. CD56bright hücreler, CD16 ve killer-hücre immünooglobulin benzeri reseptörlerin (KIR) düşük veya eksik ifadesine sahiptir, oysa CD56dim hücreler hem CD16 hem de KIR eksprese eder (4).

NK hücre fonksiyonu, aktive edici reseptörler ve inhibitör reseptörler arasındaki etkileşimle düzenlenir (4). İnsanda aktive edici NK hücre reseptörleri dört ana gruba ayrılır:

- a) NKG2A ve NKG2B gibi inhibitör reseptörleri de içeren NKG2 ailesine ait olan NK grup 2 üyesi D (NKG2D).
- b) Koaktivasyon / adhezyon DNAX aktive edici molekül (DNAM) -1
- c) Doğal sitotoksiste reseptörü (NCRs) ailesi, yani NKp30, NKp44 ve NKp46
- d) KIR ailesi (killer-hücre immünoglobulin benzeri reseptörler), kısa bir intra-sitoplazmik kuyruk taşıyan aktive edici KIR ve uzun bir intra-sitoplazmik kuyruk taşıyan inhibe edici KIR'ler ile karakterize edilir.

İlave olarak ölüm reseptörü (Death Receptor) ailesine ait olan reseptörler, apoptoz uyarıcı fragman (Fas) ve Tümör Nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand (TRAIL) gibi aktive edici sinyallerin tetiklenmesine katkıda bulunurlar (5).

NK hücrelerin yüzeyinde bulunan inhibitör KIR reseptörü ve hedef hücre yüzeyinde bulunan MHC-I arasındaki kombinasyon eksikliği, aktive edici reseptörlerin uyarılmasına yol açar ve böylece NK hücrelerinin hedef hücreleri öldürmesi sağlanmış olur. KIR uyumsuzluğu NK hücrelerinin daha çok öldürme aktivitesi göstermesine yardımcı olmaktadır. Bu aynı zamanda, kanser immünoterapisi için allojenik NK hücrelerinin kullanıldığı adaptif hücre transferinin (ACT), daha etkili olmasının da temel nedenidir. T hücrelerinin aksine, NK hücrelerinin sitotoksisteyi indüklemesi için önceden antijen duyarlılığı gerekmez ve allojeneik ortamda graft-versus-host hastalığına (GVHD) neden olmaz. Hatta bir dizi prelinik çalışma alıcının dendritik hücrelerini hedefleyerek GVHD'ye karşı koruma sağlayabileceği göstermektedir. Bunlar, diğer avantajlarla birlikte, NK hücrelerini hücresele tedavi için çekici ve etkili bir aday haline getirmektedir. Bu nedenle bir dizi immünoterapi stratejisinde malign hücreleri öldürmek üzere NK hücrelerin efektör fonksiyonları kullanılmaktadır. (5-7).

NK hücreleri, T hücre fonksiyonunu ve dendritik hücre (DC) olgunlaşmasını etkileyen sitokinlerin ve kemokinlerin salgılanması yoluyla adaptif bağışıklık sisteminin fonksiyonu üzerinde etkilidirler. NK hücreleri uyarı üzerine interferon- γ (IFN- γ), TNF- α , Granülosit-Makrofaj Koloni-Uyarıcı Faktör (GM-CSF), İnterlökin-10 (IL-10), İnterlökin-13 gibi sitokinleri (IL-13) Makrofaj Enflamatuvar Protein-1a (MIP-1a), Makrofaj Enflamatuvar Protein-1 β (MIP-1 β) ve RANTES (Regulated on Activation Normal T Cell Express and Secreted) ve kemokinleri salgırlar. TNF- α , GM-CSF ve IFN- γ salgılanması ile NK hücreleri DC olgunlaşmasını düzenlerler. IFN- γ sekresyonunun, makrofajların aktivasyonu, antijen sunan hücreler (APC) ile sınıf I MHC ekspresyonunun artışının regülasyonu, Tip 1 T-yardımcı hücre (Th1) polarizasyonu ve tümör hücrelerinde doğrudan anti-proliferatif etki dahil olmak üzere bir dizi etkisi vardır. Bu nedenle NK hücreleri, tümör hücresi proliferasyonunu doğrudan inhibe edebilir ve sitokin salgılanması yoluyla tümörlere karşı adaptif immün yanıtı artırabilir. İlave olarak, IFN- γ gibi immün uyarıcı sitokinleri salgılama yeteneklerine

bağlı olarak, NK hücreleri sadece tümör büyümesini değil aynı zamanda metastazı da manipüle edebilmektedirler (8).

NK hücreleri viral olarak enfekte olmuş, hasar görmüş veya transforme edilmiş malign hücrelerin yok edilmesinde esas olarak sitotoksik aktivite uygulayarak rol oynar. NK hücreleri, sitotoksik aktivitelerini iki farklı mekanizma ile yürütür. Birincisi litik granül içeriğinin (perforin ve granzim B gibi) salgılanmasını içerir ve hedefin birkaç saat içinde tahrip edilmesini sağlar. İkincisi ise, NK hücreleri üzerinde ifade edilen ölüm reseptör ligandlarının, transforme veya hasar görmüş hücrelerin üzerindeki yüzey ölüm reseptörleri ile etkileşimini içerir ve takiben hedef hücrenin apoptoz aracılığıyla ölümünü tetikler (9).

Bu nedenle, NK hücreleri kanser tedavisinde hücre terapileri için umut verici araçlar olarak bilinir. İlk klinik denemeler, NK hücrelerinin hastalara infüzyonunun güvenli, ve hiçbir yan etkisi olmaksızın minimal toksisiteyle tamamen mümkün olduğunu göstermiştir (10).

Kanser tedavisinde hastanın kendisinden elde edilen (otolog) NK hücreleri kullanılmaktadır. Ancak tümör hücreleri NK hücrelerinden kaçmak için MHC sınıf I yüzey antijenini eksprese etme yönünde bir adaptasyon geliştirdiklerinden dolayı otolog NK hücreleri kanser tedavisinde yetersiz kalmaktadır (11). Sağlıklı donörlerden elde edilen (allojenik) NK hücreleri de kanser tedavisinde kullanım potansiyeline sahip hücrelerdir. Sağlıklı donörlerden alınan allojenik NK hücrelerinde bulunan KIR reseptörü ile alıcı hücrelerinin MHC sınıf I yüzey belirteci arasında bir yanlış eşleşme (mismatch) olur ve bu sayede tümör hücreleri allojenik NK hücrelerinden kaçamaz. Bu durum allojenik NK hücrelerinin kanser tedavisinde kullanım potansiyelini arttırmaktadır (12).

Günümüzde hücresel terapi için benimsenen NK hücreleri çeşitli kaynaklardan elde edilebilmektedir. NK hücreleri periferik kanın yanı sıra kordon kanından, kordon kanı ve kemik iliği hematopoietik kök hücrelerinden ve ayrıca embriyonik ve indüklenmiş pluripotent kök hücreler (IPS)'den diferansiye edilerek kullanılabilir. Bunun yanı sıra ticari olarak elde edilebilen NK hücre dizileri de (NK-92, YT, NKL, HANK-1, KHYG-1, NK-YS ve NKG) allojenik NK hücre kaynağı olarak kanser immünolojisi araştırmalarında kullanılmaktadır (13).

NK Hücreleri ve Kanser İmmünoterapi Yaklaşımları

NK hücre bazlı immünoterapinin, kanser tedavisine yönelik etkin bir tedavi yaklaşımı oluşturduğu yapılan çalışmalar ile desteklenmektedir. Amerika'da yapılan bir çalışmada, NK hücrelerini elde etmek için adipojenik mezankimal kök hücreler (AD-MKH) kullanılmıştır. Bu çalışma kapsamında, AD-MKH'e hematopoietik indüksiyon yapılmış ardından bu hücreler NK hücrelerine diferansiye edilmiştir. NK hücrelerinin sitotoksitesini arttırmak için NK hücrelerine özgü bir transkripsiyon faktörü olan E4BP4'ün, diferansiye edilmiş NK hücrelerine lentivirüs aracılı transfeksiyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda, hematopoietik indüksiyonun ve NK hücre diferansiyasyonunun başarılı bir şekilde

gerçekleştiği ve sitotoksisiteyi arttırmak için yapılan E4BP4 transfeksiyonunun da NK hücrelerinde etkinliğini arttırmak adına etkili olduğu yapılan akım sitometri ve RT-PCR değerlendirmeleri ile belirlenmiştir. Elde edilen etkin NK hücreleri *in vivo* tümör modellerinde (prostat ca ve meme ca) kullanılmış ve uygulandığı kanser tiplerinde apoptozu indükleyerek başarılı sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir (14).

Spanholdtz ve arkadaşları tarafından geliştirilen 3 farklı kültür sisteminde taze ve dondurulmuş kordon kanı hematopoietik kök hücrelerinden (KK-HKH) elde edilen NK hücreleri kıyaslamalı olarak kanser hücre hatları üzerinde denenmiştir. Yeni doğandan elde edilen taze ve kordon kanı bankasından elde edilen dondurulmuş KK-HKH üç farklı besi vasatı (StemSpan H3000, StemlineI/II, Glycostem Basal Growth Medium) içerisinde gerekli supplementler ve sitokinler eklenerek kültüre edilmiştir. *Glycostem Basal Growth Medium* içerisinde KK-HKH'ni kültüre etmenin diğerlerine göre daha etkili olduğunun belirlenmesinin ardından belirtilen ortamda kültüre edilen KK-HKH NK hücrelerine diferansiyasyon edilmiştir. NKG2A, NKG2C, NKG2D, NKp30, NKp44, NKp46, CD56 gibi NK hücrelerine özgü reseptörlerin ifadelerinin arttığı yapılan akım sitometri analizleri ile belirlenerek başarılı bir diferansiyasyon işlemi gerçekleştiği belirtilmiştir. Elde edilen NK hücreleri lösemi ve melanoma hücre hatları üzerinde denince apoptozu indüklediği ve NK hücrelerinden INF- γ sekresyonu gerçekleştiği saptanmıştır. Sonuç olarak, dondurulmuş KK-HKH'den efektif NK hücreleri elde edilebileceği ve bu hücrelerin kanser tedavisinde kullanılabilmesi belirtilmiştir (15). İngiltere'de Leuvano ve ekibi tarafından yapılan bir çalışma bu sonuçları desteklemektedir (16).

Terunuma ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada, NK hücrelerinin diğer immün sistem hücreleri ve pankreas kanseri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. *In vitro* şartlarda çoğaltılan NK hücreleri sağlıklı gönüllülere enjekte edilmiş ve kanda hem NK hücreleri hem de T ve B lenfositlerin sayılarında artış saptanmıştır ve NK hücrelerindeki artış hiçbir yan etki oluşturmaksızın meydana gelmiştir. NK hücrelerindeki reseptörlerin aktive edilmesiyle INF γ ve TNF α üretiminin arttığı, bu hücrelerin kanser kök hücreleri ile muamele edilmesinin ardından kanser kök hücrelerinin önemli miktarda azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmanın bir bölümünü pankreas kanseri ile ilgili klinik bir uygulama oluşturmaktadır ve bu uygulama sırasında NK hücrelerinin T ve dentritik hücrelerle kombine edilerek 63 hastaya verilmesi sonrası hastaların %50' sinde iyileşme gözlemlendiği bildirilmiştir (17).

Over kanserinde NK hücrelerinin etkisinin araştırıldığı klinik bir çalışmada over kanseri tanısı konmuş hastalardan alınan kan örneklerinden izole edilen NK hücreleri *in vitro* ortamda IL2 ve anti CD3 antikoru ile farklı kültür ortamlarında muamele edilerek sitotoksik reseptörleri (NKp30, NKp44) güçlendirilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda anti-CD3 antikoru ile muamele edilen NK hücrelerinin hedeflediği over kanseri hücrelerinde daha fazla apoptozun indüklendiği görülmüştür (18).

Sağlıklı donörlerden elde edilen NK hücrelerinin kullanıldığı bir *in vivo* çalışmada periferal kandan izole edilen NK hücreleri IL2 ile güçlendirilerek intraperitoneal yolla over kanser modeli

oluşturulan farelere enjekte edilmiştir. NK hücrelerinin over kanseri hücrelerini yok edebildiği ve over kanserinde intraperitoneal enjeksiyonun intravenöz enjeksiyona göre daha başarılı olduğu bildirilmiştir (19).

Over kanserinde kök hücrelerden NK hücresi eldesine yönelik diğer bir çalışmada ise IPS hücreler kullanılmıştır. Üç farklı deney grubu oluşturulan *in vivo* çalışmada; kandan izole edilen allojenik NK hücreleri, IL2 ile güçlendirilen NK hücreleri ve IPS hücrelerden diferansiye edilen NK hücreleri kullanılmıştır. Üç farklı deney grubuna da NK hücreleri intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Çalışma sonucunda over kanserinde IPS hücrelerden elde edilen NK hücrelerinin en az kandan izole edilen NK hücreleri kadar etkili olduğu rapor edilmiştir (20).

Castriconi ve ark. yaptığı bir çalışmada 9 GBM hastasından izole edilen tümör örnekleri NeuroBasal Medium içerisinde kültüre edildikten sonra kanser kök hücresi belirteçlerine (CD155 ve CD112) bakılarak NOD/SCID immün baskılı farelere ortotopik olarak yerleştirilmiştir. Tümör kök hücrelerinde HLA-I molekül ekspresyonunun düşük ve NK hücrelerini aktive eden ligand ekspresyonları yüksek bulunmuştur. Tümör hücreleri taze izole NK hücrelerine dirençli olsa da IL-15 ve/veya IL-12 ile muamele edilmiş allojenik ve otolog NK hücreleri tarafından lizise uğratıldıkları gösterilmiştir (21).

Bir diğer araştırmada BALB/c-nude ve NSG farelerle yapılan ortotopik ksenograft *in vivo* glioblastoma modeli kullanılmıştır. NSG fareler doğal immun sistem ve bu sistemin elemanı olan NK hücrelerinden yoksunken BALB/c-nude fareler yalnızca kazanılmış immunité elemanı olan T ve B hücrelerden yoksundur. NK hücresine sahip olmayan NSG farelerde akciğer metastazı görülürken BALB/c-nude farelerde metastaz görülmemiştir. Ayrıca BALB/c farelere NK hücreleri intravenöz ve intratumoral olarak verilmiş glioblastoma hücrelerinde apoptozu indüklediği TUNEL testi ile gösterilmiştir (22).

KK-NK hücrelerinin glioblastoma üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, KK-NK hücrelerine TGF β üzerine etkili olan negatif TGF β reseptör II (DNRII) geni virus aracılı transfekte edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda DNRII reseptörüne sahip KK-NK hücrelerinin tümör mikroçevresinin immünsupresif etkisinden korunduğu gözlenmiştir. İmmünsupresyondan korunan KK-NK hücrelerinin glioblastoma üzeride terapötik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (23).

Çin'de yapılan bir çalışmada otolog NK hücrelerinin prostat kanseri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışma kapsamında prostat kanseri tanısı almış hastalardan izole edilen NK hücreleri *in vitro* şartlarda IL2 ile muamele edilerek güçlendirilmiştir. Bu işlemin ardından NK hücreleri prostat kanseri hücre hattı (PC3) ile ko-kültüre edilerek NK hücrelerinin prostat kanseri üzerindeki *in vitro* etkinliği değerlendirilmiştir. *In vivo* aşamada ise NK hücreleri hastalara intravenöz olarak uygulanmış

ve yapılan incelemeler sonucunda metastatik etkili prostat kanseri üzerinde NK hücre bazlı immünoterapi yaklaşımının etkili olabileceği görülmüştür (24).

Prostat kanseri ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada; prostat kanseri hücrelerinde over eksprese olan lektin benzeri transkript-1 reseptörünün NK hücrelerinde bulunan CD161 reseptörü ile olan etkileşimi incelenmiştir. Lektin benzeri transkript-1 reseptörü over eksprese olduğunda CD161 ekspresyonu inhibe olmakta ve NK hücreleri kanser hücresi üzerinde sitolitik aktivite gösterememektedir. Yapılan çalışmada anti- lektin benzeri transkript-1 monoklonal antikoru kullanılarak lektin benzeri transkript-1 reseptör ekspresyonu inhibe edilmiştir. Bu sayede CD161 ile etkileşimin engellenmesi ile NK hücrelerinin prostat kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterebildiği belirlenmiştir (25).

Okita ve arkadaşları küçük hücreli akciğer karsinomunda sitotoksik etkili ilaçlar ve inhibitör kullanımı ile NKG2D ligandının ekspresyonunun inhibisyonu ve aktivasyonuna yönelik bir çalışma yapmışlardır. Sitotoksik ilaç olarak kullanılan gemcitabin'in tümör hücrelerinde NKG2D ligandını up-regule ettiği ancak endotelial büyüme faktörü reseptörü inhibitörünün (EGFR-TKI) NKG2D ligandını (MICA/B) down-regule ettiği bulunmuştur. Gemcitabin'in tümör hücrelerinde bulunan NK hücre ligandını DNA hasarı ile indüklenen ATM ve ATR yolları aracılığı ile up-regule ettiği bildirilmiştir. NKG2D ligandlarının down-regulasyonunun ise PI3K/AKT yolağının inhibisyonu sonucu meydana geldiği görülmüştür. Kullanılan sitotoksik ilaç ve inhibitörün NKG2D ligandlarını farklı yollar üzerinden aktive ve inhibe etmesi nedeniyle NK bazlı hücresel terapi ile kombin ilaç yada inhibitör kullanımının önemi vurgulanmıştır (26).

Sitotoksik ilaçların NK hücreleri üzerindeki etkisi kolon kanserinde de in vitro ve in vivo olarak değerlendirilmiştir. Sitotoksik ilaç olarak rosuvastatin and difluoromethylornithine (DFMO) kullanılmıştır. Düşük doz rosuvastatin ve DFMO kullanımının %76 oranında, düşük doz rosuvastatin %29 oranında ve DFMO'nun ise %46 oranında kolon kanseri üzerinde sitotoksik etkili olduğu saptanmıştır. Kullanılan ilaçların NK hücrelerinden salınan perforin ve INF γ seviyelerini arttırdığı görülmüştür. Kemoterapötik ilaçların sadece kanser hücrelerinde sitotoksik etki oluşturmadığı aynı zamanda NK hücresinin fonksiyonunu da arttırdığı bildirilmiştir (27).

Kanada'da meme kanseri ile ilgili NK hücre bazlı immünoterapi çalışmasında allojenik ve otolog NK hücrelerinin meme kanseri modeli üzerinde in vivo etkisi incelenmiştir. İlk aşama olarak sağlıklı vericilerden ve kanser hastalarından NK hücreleri izole edilmiş, in vitro şartlarda ekspansiyonu artırılmış ve meme kanseri hücreleri ile muamele edilerek in vitro sitotoksik etkisi belirlenmiştir. İkinci aşama olarak meme kanser modeli geliştirilmiş farelere NK hücreleri intravenöz olarak enjekte edilmiştir. Çalışma sonucunda hem otolog hem de allojenik NK hücrelerinin meme kanseri üzerinde etkili olduğu saptanmıştır (28).

Nham ve ark. dondurulmuş KK-NK hücrelerinin triple negatif meme kanseri üzerindeki etkisini araştıran bir çalışma yayınlamışlardır. Çalışma kapsamında; dondurulmuş KK-NK hücrelerini ekspansiyon için iradiye edilmiş antijen sunan hücreler ve ardından bazı sitokinlerden (IL2, IL15, vb.) yararlanılmıştır. Triple negatif meme kanseri hücre hattı (MDA-MB-231) ile KK-NK hücreleri ile yapılan ko-kültürün ardından KK-NK hücrelerinin meme kanseri üzerindeki sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda hem dondurulmuş hem taze KK örneklerinden elde edilen NK hücrelerinin secrete ettiği sitokinlerin, sitotoksik reseptörlerinin önemli oranda benzerlik gösterdiği ve triple negatif meme kanserini inhibe edici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (29).

Sonuç

Yapılan araştırmalar, allojenik NK hücreleriyle immünoterapi stratejisinin çeşitli kanserlerin tedavisinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Gelecekte *in vivo* olarak NK hücrelerinin kalıcılığı ve çoğalmasını sağlayacak olan tekniklerin daha da geliştirilmesiyle NK hücre bazlı immünoterapinin klinik etkinliğinin daha da arttıracağı ve böylece daha geniş kapsamlı olarak kanser tedavisinde kullanılacağı umut edilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Grossenbacher S K, Aguilar E G, Murphy W J, 2017, Leveraging natural killer cells for cancer immunotherapy. *Immunotherapy*. 9 (6): 487–497.
2. Cheng M, Chen Y, Xiao W, Sun R, Tian Z, 2013, NK cell-based immunotherapy for malignant diseases. *Cell Mol Immunol*, 10(3): 230–252.
3. Mehta R, Randolph B, Daher M, Rezvani K, 2018, NK cell therapy for hematologic malignancies. *International Journal of Hematology*. 107:262–270.
4. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA, 2001, The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol*. 22: 633–640.
5. Anfossi N, Andre P, Guia S, Falk CS, Roetynck S, Stewart CA et al. 2006, Human NK cell education by inhibitory receptors for MHC class. I. *Immunity*. 25: 331–342.
6. Smyth MJ, Cretney E, Kershaw MH, Hayakawa Y, 2004, Cytokines in cancer immunity and immunotherapy. *Immunol Rev*. 202: 275–293.
7. McDowell K. A, Hank J. A, DeSantes K. B, Capitini C. M, Otto M, Sondel P.M, 2015, NK Cell-based Immunotherapies in Pediatric Oncology. *J Pediatr Hematol Oncol*. 37(2): 79–93.
8. Mehta R, Shpall E, Rezvani K, 2016, Cord Blood as a Source of Natural Killer Cells. *Front Med (Lausanne)*. 2: 93.
9. Cifaldi L, Locatelli F, Marasco E, Moretta L, Pistoia V, 2017, Boosting Natural Killer Cell-Based Immunotherapy with Anticancer Drugs: a Perspective. *Trends in Molecular Medicine*. 12:1156-1175
10. Shailaja Kasibhatla, Thomas Brunner, Laurent Genestier, Fernando Echeverri, Artin Mahboubi, and Douglas R. Greenç, 1998, DNA Damaging Agents Induce Expression of Fas Ligand and Subsequent Apoptosis in T Lymphocytes via the Activation of NF-kB and AP-1. *Molecular Cell*. 1: 543–551.

11. Ishikawa E, Tsuboi K, Saijo K, Harada H, Takano S, Nose T et al. 2004, Autologous natural killer cell therapy for human recurrent malignant glioma. *Anticancer Res.* 24: 1861–1871.
12. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A et al. 2002, Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science.* 295:2097–2100.
13. Childs R, Carlsten M, 2015, Therapeutic approaches to enhance natural killer cell cytotoxicity against cancer: the force awakens. *Nat Rev Drug Discov.* 14(7):487-98.
14. Ning H, Lei H, Xu Y, Guan R, Venstrom J, Lin G, Lue T, Xin Z, Lin C, 2014, Conversion of Adipose-Derived Stem Cells into Natural Killer-Like Cells with Anti-Tumor Activities in Nude Mice. *PLoS ONE.* 9(8):e106246
15. Spanholtz J, Tordoir M, Eissens D, Preijers P, Meer A, Joosten I, Schaap N, Witte M, Dolstra E, 2010, High Log-Scale Expansion of Functional Human Natural Killer Cells from Umbilical Cord Blood CD34-Positive Cells for Adoptive Cancer Immunotherapy. *PLoS ONE.* 15;5(2):e9221
16. Luevano M, Domogala A, Blundell M, Jackson N, Pedroza I, Derniame S, et al. 2014, Frozen Cord Blood Hematopoietic Stem Cells Differentiate into Higher Numbers of Functional Natural Killer Cells In Vitro than Mobilized Hematopoietic Stem Cells or Freshly Isolated Cord Blood Hematopoietic Stem Cell. *PLoS ONE.* 9(1):e87086
17. Terunuma H, Deng X, Nishino K, 2013, NK cell-based autologous immune enhancement therapy (AIET) for cancer. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine.* 9(1): 9–13.
18. Petta CA, Derchain SF, Alici E, Guimarães F, 2014, Up-regulation of DNAM-1 and NKp30, associated with improvement of NK cells activation after long-term culture of mononuclear cells from patients with ovarian neoplasia. *Human Immunology.* 75(8):777-84.
19. Geller MA, Knorr DA, Hermanson DA, Pribyl L, 2013, Intraperitoneal delivery of human natural killer cells for treatment of ovarian cancer in a mouse xenograft model. *Cytotherapy.* 15(10):1297-1306.
20. Hermanson DL, Bendzick L, Pribyl L, McCullar V, Vogel RI, 2016, Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Natural Killer Cells for Treatment of Ovarian Cancer. *Stem Cells.* Jan; 34(1):93-101.
21. Castriconi R, A, Daga A, Dondero G, Zona P, L, Poliani A, Melotti F, Griffiero D, Marubbi R, Spaziante et al. 2009, NK Cells Recognize and Kill Human Glioblastoma Cells with Stem Cell-Like Properties. *The Journal of Immunology.* 182(6):3530-539.
22. Lee S, Kang W, Yoon Y, Jin J, Song H, Her J, Kang S, Hwang Y, et al. 2015, Natural killer (NK) cells inhibit systemic metastasis of glioblastoma cells and have therapeutic effects against glioblastomas in the brain. *BMC Cancer.* 15:1011-
23. Yvon E, Burga R, Fernandes R, Barese C, Nguyent T, Bollerd C, 2017, Cord blood natural killer cells expressing a dominant negative TGF- β receptor: Implications for adoptive immunotherapy for glioblastoma. *Cytotherapy.* 19: 408–418.
24. Gao P, Zhang A, Sun Z, Shan Y, 2016, Autologous natural killer cells have a therapeutic effect in advanced prostate cancer patients and can mediate cytotoxicity in vitro. *Int J Clin Exp Med.* 9(2):2399-2406.

25. Mathew S, Chaudhary P, Powers S, Vishwanatha J, Mathew P, 2016, Overexpression of LLT1 (OCIL, CLEC2D) on prostate cancer cells inhibits NK cell-mediated killing through LLT1-NKRP1A (CD161) interaction. *Oncotarget*. 7(42):68650-68661
26. Okita R, Wolf D, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Saisho S, Yamaguchi K, et al. 2014, Contrasting Effects of the Cytotoxic Anticancer Drug Gemcitabine and the EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Gefitinib on NK Cell- Mediated Cytotoxicity via Regulation of NKG2D Ligand in Non-Small-Cell Lung Cancer Cells. *PLoS ONE*. 10(10): e0139809.
27. Janakiram N, Mohammed A, Bryant T, Zhang Y, Brewer M, Duff A, et al. 2016, Potentiating NK cell activity by combination of Rosuvastatin and Difluoromethylornithine for effective chemopreventive efficacy against Colon Cancer. *Scientific Reports*. 6:37046
28. Shenouda M, Gillgrass A, Nham T, Aarts C, Lee D, Hassell J, et al. 2017, Ex vivo expanded natural killer cells from breast cancer patients and healthy donors are highly cytotoxic against breast cancer cell lines and patient-derived tumours. *Breast Cancer Research*. 19(1):76
29. Nham T, Poznanski S, Fan I, Vahedi F, Shenouda M, Hogg R, Lee D, Ashkar A, 2017, Ex Vivo-expanded Natural Killer Cells Derived From Longterm Cryopreserved Cord Blood are Cytotoxic Against Primary Breast Cancer Cells. *J Immunotherapy*. 41(2):64-72