

# İnsan Mast Hücrelerinin İnsan Tümör Hücrelerine Sitotoksitesisi ve Mekanizmaları

*HUMAN MAST CELL CYTOTOXICITY AGAINST HUMAN TUMOR CELLS AND MECHANISMS: MEDICAL EDUCATION*

Dr. Öner ÖZDEMİR<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Allerji, İmmünoloji BD, Pediatri AD, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, University of Cincinnati, College of Medicine, Cincinnati, OH, ABD

## Özet

İnsan mast hücresi (MH) allerjide bilinen rolleri yanında doğal bağışıklıkta efektör hücre olarak rol oynayabilir. İlk gözlemler 1950'lerde yapılmasına rağmen insan MH'nin muhtemel anti-tümör etkisiyle ilgili literatür verileri çok çelişkilidir. Ve insan MH'nin insan tümör hücrelerine sitotoksitesisini gösteren pek veri yoktur. Patolojik preparatlarda yapılan in vivo gözlemler de net değildir. Son zamanlarda artan veriler de MH'nin ortamdaki şartlara göre tümör inhibe edici ya da geliştirici olabileceğini göstermektedir. Zamanımızda MH'nin tümör gelişmesini inhibe ettiğine inananlar görüşlerini MH'nin nekroz ve apoptoza yol açan mediyatörlerinin varlığına dayandırmışlardır. Aslında MH'nin uzun süredir TNF- $\alpha$ 'ya bağlı ya da bağımsız yollarla TNF- $\alpha$ 'ya duyarlı tümör hücrelerine uzun koinkübasyonlarda doğal sitotoksitesiyeye sahip olduğu bilinmektedir. Kimaz gibi mediyatörler de TNF- $\alpha$ 'dan bağımsız yollarla MH sitotoksitesisine katkıda bulunurlar. Buna rağmen hala bazı araştırmacılar MH'nin tümör gelişimine yeni damar oluşumunu (anjyogenenezis) arttırarak katkıda bulunduğuna inanırlar. Onlar da teorilerini patoloji preparatlarında gözlemlenen artmış MH yoğunluğunun genelde kötü prognozla giden tümörlerde (serviks kanseri vb.) bulunmasına dayandırmışlardır. Burada insan MH'sinin insan myeloid lösemi ve lenfoma tümör hücrelerine sitotoksitesisini gösteren önceki çalışmamız da irdelenecektir. TNF- $\alpha$  ve kimaz, MH'nin başlıca en önemli sitotoksitesiyeye yol açan mediyatörleri olmasına rağmen diğer faktörlere de değinilecektir. MH'nin tümör hücresi ile olan ilişkilerinin detaylı ve iyi şekilde çalışılıp anlaşılması ileride kanser tedavisinde bize yeni tedavi seçeneklerini verecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Mast hücresi; tümör; yeni damar oluşumu; immünolojik sitotoksitesite

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:99-106

## Abstract

Human mast cells (MC) can act as effectors of the human innate immune system in addition to their known roles in allergic disorders. Reported data on human MC's possible role as anti-tumor cells are very controversial even though first observations were reported in 1950s. Moreover, there is no reported data on in vivo human MC cytotoxicity (MCC) against human tumor cells. In vivo observations from human pathological specimens are also very debatable. Mounting evidence also indicates that MCs could either promote or inhibit tumor growth probably depending on environmental conditions. Currently, those that believe in the inhibitory role of MCs assume them as inhibitors of tumor development through their cytotoxic pro-necrolytic/apoptotic granules. In fact, MC has been also long believed to have either TNF- $\alpha$ -dependent or independent natural cytotoxicity against murine TNF- $\alpha$  sensitive tumor cells in the long term incubations. TNF- $\alpha$  independent pathways such as chymase were also assumed to contribute to MCC. Nonetheless, some still consider MCs as enhancers of tumor development through their angiogenic effects. Their theories were based on pathological specimen observations showing an association between increased MC counts and the poor prognosis in some cancers such as cervical cancer. Here, the implications of our earlier study showing human MCC against human myeloid leukemia and lymphoma cells are also discussed. Although TNF- $\alpha$  and chymase seem to be the most important components of MCC; the other mechanisms are also mentioned. Comprehensive study and understanding of human MC interactions with tumor cells hopefully give us new treatment options in cancer treatment.

**Key Words:** Mast cell neoplasms; angiogenesis; cytotoxicity; immunologic

Geliş Tarihi/Received: 30.12.2005 Kabul Tarihi/Accepted: 30.06.2006

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr. Öner ÖZDEMİR  
Cincinnati Children's Hospital Medical Center,  
University of Cincinnati, College of Medicine,  
Pediatri AD, Allerji, İmmünoloji BD, OH, ABD  
oner.ozdemir.md@gmail.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27

**A**llerjide anafilaksideki rolleri ile bildiğimiz çok işlevsel MH'nin insan doğal bağışıklığındaki yeri de son yıllarda aydınlanmaya başlamıştır.<sup>1-4</sup> Bu roller antijenin sunulumundan onların anti-tümör etkilerine kadar uzanmaktadır.<sup>4-9</sup> Fare MH'lerinin diğer sitotoksik

hücreler gibi (NK/sitotoksik T lenfositleri vb.) lizise duyarlı fare tümör hücrelerine karşı sitotoksik (anti-tümör) etkisi olabileceği son 20 yıldır bilinmektedir. Aslında bu gözlemler ilk defa 1950'lerde MH'nin değişik tümör dokusu etrafında görülmesi ile başlamıştır.<sup>6,7</sup> Fakat 1981'de in vitro fare MH sitotoksitesisi fare tümör hücrelerine karşı ilk defa tarif edilmiştir.<sup>8</sup> Buna rağmen insan MH'lerinin insan tümör hücrelerine etkisini araştıran in vitro bir çalışma yakın zamanlara kadar bildirilmemiştir. İnsan MH kültürlerinde geçmişte yaşanan zorluklar bu çalışmaları engellemiş ve son zamanlarda metilsellüloz ortamı kullanılarak bu problem aşılmıştır.<sup>10</sup>

Son zamanlarda artmaya başlayan çalışmalarla özellikle MH mediyatör içeriğinin tümör hücre biyolojisinin değişik yönlerinde etkili olabileceği daha iyi anlaşılmıştır.<sup>11</sup> MH'nin çevre ile devamlı etkileşim içinde olduğu, yani MH'nin çevreyi etkilediği ve de çevrenin de MH'nin işlevlerinde etkili olduğu bilinmektedir. MH'nin fenotipini belirleyen mediyatör içeriğinin de çevreden etkilendiği ve ona göre biçimlendiği sanılmaktadır. İleride mekanizmalar altında detaylı irdeleneceği gibi MH granül içeriğinin sitotoksik hücrelere benzer şekilde TNF- $\alpha$ , granzim niteliğinde kimaz, katepsin G vb. proapoptotik/-nekrotik mediyatörlerle yüklü olduğu ve degranülasyon ile bunları saldırdığı da bilinmektedir. Özellikle burada MH sitotoksitesisinde önemi büyük olan serin proteaz tabiatındaki mediyatörler, kimaz ve triptaz önemlidir. Basitçe kimazın hedef hücredeki apoptotik etkisi, triptazın da mitojenik/anjiyogenik özellikleri bizim için çok önemlidir.<sup>12,13</sup> Biz de birkaç makalemizde kimaz ve triptazın rollerini genel olarak detaylıca tartıştık.<sup>14,15</sup> Triptaz içeren MH (MH<sub>T</sub>)/kimaz + triptaz içeren MH (MH<sub>KT</sub>) alt-tipleri ve birbirlerine oranı o dokudaki homeostazisin fizyolojik bir göstergesidir. MH<sub>T</sub> ve MH<sub>KT</sub> alt-tiplerinin tümör dokusundaki yoğunluğu ya da oranlarının değişmesi de ayrıca önemli olup bazı tümörlerde bildirilmiştir. Bazı tümörlerde MH<sub>T</sub>'nin artması (serviks, over, uterus, meme kanserleri vb.) dikkati çekerken bazılarında da MH<sub>KT</sub> alt-tipinin arttığı (renal ve kolo-rektal tümörler) gözlemlenmiştir.<sup>15-17</sup>

MH'nin anti-tümör etkisi son zamanlarda başarıyla tartışılabilir olup araştırmacıları 2 büyük gruba bölmüştür:

**Birinci grup;** MH'nin tümör gelişimine katkıda bulunduğuna özellikle triptaz vb. MH mediyatörlerinin anjiyogenez üzerine olan etkisinden dolayı iddia etmekte ve buna delillerini de patolojik preparatlardan gelen gözlemlerine dayandırmaktadırlar. Mesela, artmış MH yoğunluğu (MHY) serviks ve cilt kanserlerinde kötü bir gösterge olarak saptanmış ve bu etki MH mediyatörü triptazın anjiyogenez etkisine bağlanmıştır.<sup>13,16,18</sup> MHY ile mikrodamar yoğunluğu arasında bağ kurulmakta ve bunun kötü prognostik olduğu kabul edilmektedir.<sup>11,18-22</sup> Fakat bunun her tümörde böyle olmadığı da iyi bilinmektedir (oral skuamöz, osteosarkom, küçük hücreli olmayan akciğer ve over kanserlerinde olduğu gibi).<sup>23-25</sup> İlaveten; yumuşak doku sarkomu, meme, mide, kolo-rektal kanserlerinde artmış MHY iyi prognostik markır olarak bildirilmiştir.<sup>26-28</sup>

Fakat, bu bulgular da sadece çelişkili gözlemlerden öteye gitmemektedir. Çünkü, MH'ni artmış oranda prognozu iyi veya kötü bir tümör dokusunda görmek ve oradaki MHY ile sağkalım/prognozla alakasına bakma indirekt bir gösterge olsa gerek. Ayrıca anjiyogenezde birçok değişik hücre tipi [progenitor endotel hücresi, tümör hücresinin kendisi, tümör stroması, fibroblastlar, makrofajlar vb.] ve mediyatörler [kimaz, SCF, b-FGF, TGF- $\beta$ , histamin, anjiyopoetin-1/-2 vb.] suçlanmıştır ki bunlara her geçen gün yenileri eklenmektedir.<sup>29-33</sup> İlaveten, MH'nin tümör stromasındaki varlığı basitçe o anda vücutta meydana gelen yaygın inflamasyonun melanomada olduğu gibi bir göstergesi olabilir. Ayrıca, MH diğer tümörü infiltre eden hücreler gibi (lenfositler, makrofajlar vb.) vücut savunma sisteminin bir parçası olarak da tümör dokusunda bulunabilir (meme ve mide kanseri vb.).<sup>34,35</sup> Zaten MH'nin bu tür aktif çoğalan dokularda fizyolojik olarak (yara iyileşmesinde olduğu gibi) toplandığı da iyi bilinmektedir.<sup>19</sup> Tabii bu da hemen MH'nin gerçekten bu ortamda aktif bir rolü olup olmadığını düşündürmektedir. Bu konuda detaylı bilgi ve son zamanlarda literatürde bu konudaki tartışmalar için

MHY ve MH'nin tümör dokusu ile ilişkilerini irdeleyen makalelerimize bakılabilir.<sup>36-38</sup>

Yukarıda bahsedilen literatürdeki bu çelişkili sonuçlar; MH, damar yapısı ve inflamatuvar hücreleri göstermek için kullanılan metotlardan, çalışılan tümör tipi-evresine, biyopsinin yapıldığı zaman vs. birçok değişik faktörlerden kaynaklanmaktadır. Örneğin tümör dokusundaki damar yoğunluğunu incelemek için hala bir standart metot olmayıp çok değişik metotlar bildirilmiştir; von Willebrand faktör, pan-endothelial hücre markırları CD31/CD34 ve proliferatif endotelial hücreyi gösteren CD105 markırı vb. Yine bazıları MHY'yi tümör doku-normal doku sınırında ve tümör merkezinde değerlendirirken son zamanda bazıları da tümör adacıklarındaki MHY'yi incelemeye başlamışlardır.<sup>39,40</sup> Tabii, sonuç olarak da literatürde bazen aynı tümörler (meme, akciğer, kolo-rektal vb.) için bile onların MH ile ilişkisini sorgulayan farklı sonuçlar vardır.<sup>27,41</sup>

**İkinci grup;** MH'nin tümör dokusunu inhibe edici özelliğine inanırlar ve delillerini geçmiş yıllardaki fare MH ve fare tümör hücreleri ile yapılan MH sitotoksitesini gösteren in vitro deneylere dayandırırılar. Ayrıca son yıllarda MH'nin nekrotik mediyatörleri içeren granülleri dışında pro-apoptotik mediyatörler de içerdiği (kimaz, granzim-B vb.) ortaya konmuş ve hedef dokularda apoptotik etkisi gösterilmiştir.<sup>42-47</sup> İnsan MH'nin değişik insan tümör hücrelerindeki apoptotik/nekrotik etkisi tarafımızdan da gösterilmiştir.<sup>4,36</sup> Bu makalede tümör inhibe edici özelliğine inandığımızdan kendi deneylerimiz ve son literatür bilgilerinin ışığı altında insan MH sitotoksitesini (anti-tümör etkisi) ve mekanizmaları değerlendirilecektir.

İki dekat kadar önce fare bağ dokusu MH'lerinin TNF- $\alpha$ 'ya bağımlı veya bağımsız mekanizmalarla bazı duyarlı fare tümör hücrelerinde sitotoksitesine yol açarak anti-tümör etki gösterdiği ilk defa bildirilmiştir.<sup>8,48-50</sup> İlk zamanlarda daha çok pro-nekrotik mediyatörleri (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, katepsin G, NO, lökotrienler vb.) bu sitotoksiteden sorumlu tutulmuştur.<sup>8,51</sup> Son 10-20 yılda ise MH'nin proapoptotik özellikleri (granzim-B ve FasL eksprese ettiği) açığa konmuştur.<sup>42-47</sup> Biz de kendi laboratuvarımızda kemik iliğinden geliştirdiğimiz insan MH ile değişik lösemi ve lenfoma tümör

hücrelerinin ölümünü hasta örnekleri ve hücre dizilerinde gösterdik.<sup>4,36</sup> Bu çalışmalarda, altı değişik myeloid lösemi hücre dizisi (CMK, U937, Dami, HL-60, K562, Meg-01) ve 6 değişik hasta örneği değerlendirildi. 2-12-18-24 saatlik MH-tümör hücre koinkübasyonu sonunda insan MH sitotoksitesini incelendi. 2 saatlik koinkübasyon sonrasında ilginç olarak ilk defa lenfokinle aktive edilmiş hücreler (LAK)'e -dirençli olan myeloid lösemi (Dami) hücrelerinde istatistiksel anlamlı [%37] apoptotik ölümü gördük. 12. saatte; LAK-duyarlı lenfoma (Daudi ve Raji) hücrelerinde ağırlıklı olarak nekrotik biraz da [%57, %26; sırasıyla] apoptotik ölüm saptandı. 18. saatte ise LAK-dirençli olan myeloid lösemi (Meg-01) hücrelerinde [%38] ölüm görüldü. 24. saatte; Raji hücrelerindeki ölüm biraz daha artmakla beraber esas olarak anlamlı olmasa da LAK-dirençli hasta örneklerinde [%30] ölüm saptandı. 48. saatte ise; halen NK-duyarlı K562'deki [%18] ölüm, literatürle uyumlu olarak, anlamlı hale gelmedi, fakat Meg-01'deki apoptotik ölüm %85'lere kadar arttı.

Dami hücrelerinde çok erken inkübasyonla görülen ve istatistiksel olarak anlamlı olan erken apoptotik ölüm çok ilginçti. Çünkü erken dönemde oluşan hücresel sitotoksitesinin erken apoptotik olduğu bilindiğinden, bu açık şekilde MH'nin pro-apoptotik granülleri/mediyatörleri olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca Meg-01'de görülen ağırlıklı erken apoptotik ve kısmi apoptotik Daudi ve Raji hücre ölümleri de bunu desteklemektedir. İlginç olarak K562 hücrelerinde 48 saat sonunda bile anlamlı görülmeyen ölüme rağmen; Meg-01 ve hasta örneklerinde saptanan ölüm de önemlidir. Hatta Wright/Giemsa tekniği ile yaptığımız boyamalarda mast-tümör hücre arasındaki konjugat oluşumunu da gördük.

Bu laboratuvar çalışmalarıyla literatürde ilk defa;

- i-) İn vitro kültür ortamında çoğaltılıp idame edilmiş insan MH'nin insan tümör hücrelerine etkisini;
- ii-) Kısa ve uzun süreli koinkübasyonlarla,
- iii) LAK/NK-dirençli (Dami, Meg-01 ve hasta örnekleri),
- iv-) LAK-duyarlı (lenfoma hücreleri, Daudi ve Raji) ve NK-duyarlı (K562) hücrelerde

v-) Geç apoptoz (nekroz) kadar erken apoptoza yol açtığını

vi-) Fizyolojik efektör/hedef hücre oranları kullanarak gösterdik. Bu sonuçlar literatür ile uyumlu olarak MH'sinin açıkca insan doğal bağışıklık sisteminde anti-tümör cevaba ve de immünsürveyalansa katkıda bulunduğuna işaret etmektedir.<sup>27,48,52,53</sup> İlginç olarak, MH'nin LAK-dirençli hücrelere (Meg-01, Dami ve de bazı hasta örnekleri) bile etkili olabildiğini ilk defa göstererek belki de MH'nin bu işlevine de ışık tuttuk.<sup>4,36</sup> Bu çalışmamızda sitotoksiste (anti-tümör) mekanizmalarını çalışmayı hedeflemediğimizden, muhtemel mekanizmalar literatür eşliğinde aşağıda anlatılacaktır.

İnsan MH'nin sitotoksitesi NK ve diğer öldürücü hücrelerden biraz farklıdır ve bu ayrıcalıkları kısaca şöyle özetleyebilirim:

a-) **NK-duyarlı hücrelerin MH'ne dirençli olmaları:** NK-duyarlı olan K562 ve YAC-1 gibi hücreleri önemli derecede öldürmediği bilinir.

b-) **Farklı hedef hücrelere etkisi:** NK-duyarlı değil de doğal sitotoksisteye-lizise hassas olan tümör hücrelerini (WEHI-164, L929 vb.) öldürmesi.

c-) **Daha uzun inkübasyon zorunluluğu:** Bizim çalışmalarımızda kısa koinkübasyonlarda ölüm saptanmasına rağmen, genel olarak sitotoksiste duyarlı hücrelerde (WEHI-164 or L929) bile ölümün uzun inkübasyonlarda görülmesi.

d-) **Sitotoksiste için değişik mediyatörleri kullanması:** Kimaz, katepsin G, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, vb.

e-) **Perforin içermemeleri:** Kısa dönem hücrel sitotoksistede çok önemli olan perforini içermemeleri. Özet olarak; MH aslında perforin dışındaki esas olarak bilinen tüm hücrel sitotoksiste komponentlerini içermektedir.

### **MH'nin Anti-Tümör Etki (Sitotoksiste) Mekanizmaları**

• **TNF- $\alpha$ 'ya bağımlı olan MH sitotoksitesi:**

**Hücrel temas (membranöz TNF- $\alpha$ ) yoluyla tabii sitotoksiste**

Tabii hücrel sitotoksiste [Natural cell-mediated cytotoxicity] enfeksiyon ve kansere karşı

temel doğal hücrel savunma mekanizması olup, doğal öldürücü (natural killer, NK) ve sitotoksik (natural cytotoxic) hücreler tarafından sağlanmaktadır. MH'lerinin tabii sitotoksitesinin hücrel temas ile meydana geldiği uzun süredir sanılmakta olup bunun nedenleri araştırılmış ve en çok zarsal (membranöz) TNF- $\alpha$ 'ya bağlanmaya çalışılmıştır.<sup>48-50</sup> Fakat başka zarsal sitotoksiste reseptörlerinin de sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Kültür ve taze fare MH'nin WEHI-164 ve YAC-1 hücrelerine 18-saatlik testlerde sitotoksik bulunması burada etkili faktörün membranöz TNF- $\alpha$  olduğunu düşündürmüştür. Buna ek olarak; sitotoksitenin TNF-dirençli hücre dizilerini etkilememesi ve poliklonal TNF antisera ile nötralize edilebilmesi, tümör ile MH arasında temasın önemi ve zarsal TNF- $\alpha$  hipotezini desteklemektedir. Bu sitotoksik etkinin MH'nin degranülasyonundan bağımsız olarak meydana geldiği ve MH-tümör arasında konjugat oluşumu da gösterilmiştir.<sup>48,54</sup> Bizim deneylerimizde de insan MH-tümör hücre konjugatları görmemiz de önceki fare deneyleri gözlemleri ile uyusmaktadır.

### **Fas ligand (FasL)**

FasL (FasL, CD95L, Apo-1L), TNF ailesine mensup bir Tip 2 membran proteini olup Fas taşıyan hücrelerde (tümör vb.) apoptoza yol açar. MH'nin FasL eksprese ettiği de gösterilmiştir.<sup>43</sup>

### **Solubl TNF- $\alpha$ aracılığıyla sitotoksiste**

MH sitotoksitesinde hücrel kontakın dışında özellikle önceden sentezlenip depolanan TNF- $\alpha$  solubl bir mediyatör olarak özellikle kısa dönemde meydana gelen sitotoksistede esas bir unsurdur. Hayvanlardaki bakteriyel peritonit, parazitozlarda ve son zamanlarda *Mycoplasma* enfeksiyonuna karşı korunmada TNF'nin sitotoksik rolü fare serozal MH'leri ile yapılan deneylerde gösterilmiştir.<sup>55</sup> Yine, tabii sitotoksiste duyarlı WEHI-164 ve L929 hücreleriyle farelerde yapılan çalışmada kemik iliğinden elde edilen IL-3 bağımlı MH ve bazofilik lösemi hücreleri (RBL-1) bu tümör hücrelerini öldürebildiği görülmüş ve bu etki preforme TNF'ye bağlanmıştır.<sup>49</sup> Fare peritonu MH lizatının stimüle edilmeden WEHI tümör hücrelerini öldürmesi ve fare serozal MH'nin kardiyak endotel hü-

relere apoptotik etkisinin preforme (solubl) TNF'ye bağlanması bu tezi güçlendirmektedir.<sup>45,54</sup>

### Katepsin G

Katepsin G'nin bakterisidal olduğu kadar bazı memeli hücrelerine sitotoksik olduğu da bilinmekte olup; bu etki diğer serin proteazların (kimaz vb.) etkisine benzetilmiştir.<sup>56</sup> Ayrıca Katepsin G indirekt olarak lenfosit ve makrofajları da aktive ederek MH'nin sitotoksitesine katkıda bulunabilir.<sup>57</sup> TNF-aracılığıyla oluşan apoptozda katepsin G'nin rolü transfekte edilmiş HeLa hücrelerinde gösterilmiştir.<sup>58</sup>

### Nitrik Oksit (NO)

NO'nun değişik fonksiyonları olduğu kadar fagositik hücrelerin sitotoksitesini arttırdığı da bilinmektedir.<sup>59</sup> MH'ne bağımlı TNF- $\alpha$  aracılığıyla gerçekleşen sitotoksitede NO'nun rolü, fare peritoneal MH ve intestinal mukozal MH'lerinin WEHI-164 üzerine etkisi ile araştırılmıştır. L-arginin ortamda bulunması ile sitotoksitede artmış, fakat NO kompetitif inhibitörleri olan N omega-nitro-L-arginin ve NG-methyl-L-arginin ile azaldığı görülmüştür.<sup>60,61</sup>

### • TNF- $\alpha$ 'dan bağımsız olan MH sitotoksitesisi:

#### Kimaz

Yine fare MH<sub>KT</sub> hücreleriyle yapılan çalışmalarda bunların TNF'ye duyarlı [WEHI-164], TNF'ye az duyarlı 5C25 ve insan böbrek hücre tümörü [Currie] ve TNF'ye duyarlı olmayan YAC-1 hücrelerine etkisi incelenmiştir. 16 saatte pik yapan bu lizis ile sensitif ilk 3 hücre tipinde önemli oranda sitotoksitede saptanmasına rağmen YAC hücreleriyle konjugat yaptığı görüldüğü halde lizis saptanmamıştır. TNF'ye karşı antikorla blok sonrasında ise WEHI'de büyük oranda, 5C25'te kısmen, Currie'de ise hiç inhibisyon görülmemiş ve buradan da sitotoksitenin TNF'ye kısmen bağımlı olduğu veya bağımsız olarak da gerçekleşebildiği düşünülmüştür.<sup>48,51</sup> Bu çalışmalarla lizise dirençli, TNF duyarlı olmayan hücreler üzerine olan etki ve daha çok bu sitotoksitenin kimaz da içeren MH<sub>KT</sub> tipleriyle olması bize TNF dışındaki faktörlerin rol alabileceğini (kimaz ve/veya FasL, ayrıca yeni

tanımlanan doğal sitotoksitede reseptörleri vb.) önemle düşündürmektedir.

Yukarıda anlatıldığı gibi son zamanlarda bir serin proteaz olan MH kimazının diğer bir serin proteaz olan granzim-B gibi işlevi olduğu ve değişik hücre tiplerinde (kardiyomyosit, damar düz kas ve endotel hücreleri dahil) apoptozu indüklediği bildirilmiştir.<sup>44-47</sup> Kimazın ayrıca tümör infiltrate eden makrofajları stimüle edip indirekt olarak da MH sitotoksitesine katkıda bulunabileceği de bildirilmiştir.<sup>62</sup> Bizim yaptığımız laboratuvar çalışmalarında da MH'nin uzun süreli süspansiyon kültürlerinde idamesiyle artan MH kimaz içeriğinin oluşan in vitro sitotoksitede rolü olduğu görülmüştür (yayınlanmamış veri). Ayrıca kimazın tümör stromasında varlığı ya da kimaz içeren MH oranının fazla olmasının (MH<sub>KT</sub>/MH<sub>T</sub>) bazı kanserlerde (renal ve kolo-rektal kanser) daha iyi sağ kalıma yol açtığı iddia edilmiştir.<sup>17,27</sup> Literatür sonuçlarına topluca bakıldığında MHY'nin tümör gelişmesine katkısını iddia eden çalışmalarda genelde MH<sub>T</sub> alt tipinin artmış olması da bu hipotezi destekler yöndedir.

### Granzim-B

Granzim B, perforinle beraber kısa süreli hücrel sitotoksitede etkisi çok iyi bilinen bir serin proteazdır. Kültür ile elde edilmiş MH'nin sitotoksitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, sitotoksik aktivitenin hücredeki granzim B düzeyi ile yakından alakalı olduğu görülmüştür.<sup>42</sup>

### Lökotrienler

Önceleri *Toxoplasma gondii*'ye karşı gelişen MH sitotoksitesinde bildirilmekle beraber, özellikle prostaglandin D2 ve lökotrien C4'nin antijen presentasyonundan bağışıklık sistemi hücrelerinin aktivasyonuna kadar değişik rolleri son zamanda ortaya konmuştur.<sup>63,64</sup>

### Peroksidaz, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksid (O<sub>2</sub>-) anyonları

Literatürde ilk defa MH sitotoksitesisi tanımlanırken peroksidazın önemi vurgulanmıştır.<sup>8</sup> İnflamatuar ortamda çevrede oluşan veya çevre/MH endojen peroksidazlarının etkisiyle meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin MH'sini degranüle edip, granül-

lerin ortama salınmasına ve memeli tümör hücrelerine sitotoksik olduğu hatta helminti (*Schistosoma mansoni*) bile öldürebildiği iddia edilmiştir. Deri MH'nin peroksidaz içerdiği ayrıca fare serozal MH'nin de önemli miktarlarda O<sub>2</sub>-anyonları üretebildiği gösterilmiştir.<sup>65</sup>

Ayrıca geçmiş tip hipersensitivite ve antikora bağımlı hücrel sitotoksitenin de rolü üzerinde geçmişte durulmuştur.<sup>5,66,67</sup>

Özetle; MH sitotoksitesi diğer hücrel sitotoksite örneklerinde olduğu gibi hem sekretuar hem de non-sekretuar yollarla gerçekleşebilmektedir. 'Sekretuar yol' granüllerin ekzositozu sonucu başlıca kimaz, granzimler, katepsin G ve solubl TNF- $\alpha$  salınımı ile gerçekleşen ölüme yol açar. 'Non-sekretuar yol' ise zarsal ölüm reseptörleri olan zarsal TNF- $\alpha$  ve FasL vb. üzerinden sitotoksiteye neden olur.

### Sonuç ve Beklentiler

MH'nin tümör hücresi ile ilişkisi birçok faktöre yani tümör tipi, MH alt-tipi ve bulunduğu stromadaki değişiklikler vb. bağlı olup biz daha çok inhibe edici özelliğine inanmaktayız. Tümörün tedavisinde her geçen gün yeni yöntem ve tedavi metotları araştırılırken, MH'yi sadece tümör dokusunda gözleyip onun prognoz/survi ile ilişkisine/korrelasyonlarına bakmak onun dokudaki gerçek işlevini açıklamaktan ve anlamaktan çok uzaktır. Bu konuda ileride yapılacak daha detaylı in vivo/vitro çalışmalar MH'nin immünoşüveyalanstaki gerçek rolünün ortaya konulmasına katkıda bulunacaktır.

### KAYNAKLAR

1. Marshall JS, Jawdat DM. Mast cells in innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:21-7.
2. Edelson BT, Stricker TP, Li Z, Dickeson SK, Shepherd VL, Santoro SA, Zutter MM. Novel collectin/C1q receptor mediates mast cell activation and innate immunity. *Blood* 2006;107:143-50.
3. Ebmeyer J, Furukawa M, Pak K, et al. Role of mast cells in otitis media. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1129-35.
4. Özdemir Ö, Savaşan S. Return of an ignored cell: Mast cells and their defined new roles in hematology-oncology and immunology. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005;48:85-92.
5. Nikol'skii IS, Ovsienko VV. Mast cells and antitumor resistance. *Eksp Onkol* 1988;10:15-9.
6. Lascano EF. Mast cells in human tumors. *Cancer* 1958;11:1110-4.
7. Prior C, Sesenna R. Mast cells and their relation to the tumors of the bladder. *Riv Anat Patol Oncol* 1953;7:809-38.
8. Henderson WR, Chi EY, Jong EC, Klebanoff SJ. Mast cell-mediated tumor-cell cytotoxicity. Role of the peroxidase system. *J Exp Med* 1981;153:520-33.
9. Bissonnette EY, Befus AD. Inhibition of mast cell-mediated cytotoxicity by IFN-alpha/beta and -gamma. *J Immunol* 1990;145:3385-90.
10. Saito H, Kempuraj D, Tomikawa M, Tomita H, Ahn K, Iikura Y. Human mast cell colony-forming cells in culture. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;124:301-3.
11. Theoharides TC, Conti P. Mast cells: The Jekyll and Hyde of tumor growth. *Trends Immunol* 2004;25:235-41.
12. Leskinen MJ, Lindstedt KA, Wang Y, Kovanen PT. Mast cell chymase induces smooth muscle cell apoptosis by a mechanism involving fibronectin degradation and disruption of focal adhesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:238-43.
13. Benitez-Bribiesca L, Wong A, Utrera D, Castellanos E. The role of mast cell tryptase in neoangiogenesis of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. *J Histochem Cytochem* 2001;49:1061-2.
14. Ozdemir O, Savasan S. The role of mast cells in bone marrow diseases. *J Clin Pathol* 2004;57:108-9.
15. Ozdemir O. The role of mast cell and mast cell subtypes (MC(T) and MC(CT)) in tumor angiogenesis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;29:638-9.
16. Cabanillas-Saez A, Schalper JA, Nicovani SM, Rudolph MI. Characterization of mast cells according to their content of tryptase and chymase in normal and neoplastic human uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12:92-8.
17. Beil WJ, Fureder W, Wiener H, et al. Phenotypic and functional characterization of mast cells derived from renal tumor tissues. *Exp Hematol* 1998;26:158-69.
18. Ribatti D, Ennas MG, Vacca A, et al. Tumor vascularity and tryptase-positive mast cells correlate with a poor prognosis in melanoma. *Eur J Clin Invest* 2003;33:420-5.
19. Hiromatsu Y, Toda S. Mast cells and angiogenesis. *Microsc Res Tech* 2003;60:64-9.
20. Feoktistov I, Ryzhov S, Goldstein AE, Biaggioni I. Mast cell-mediated stimulation of angiogenesis: cooperative interaction between A2B and A3 adenosine receptors. *Circ Res* 2003;92:485-92.
21. Roche WR. Mast cells and tumour angiogenesis: The tumor-mediated release of an endothelial growth factor from mast cells. *Int J Cancer* 1985;36:721-8.
22. Imada A, Shijubo N, Kojima H, Abe S. Mast cells correlate with angiogenesis and poor outcome in stage I lung adenocarcinoma. *Eur Respir J* 2000;15:1087-93.
23. Chan JK, Magistris A, Loizzi V, et al. Mast cell density, angiogenesis, blood clotting, and prognosis in women with advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2005;99:20-5.

24. Ranieri G, Labriola A, Achille G, et al. Microvessel density, mast cell density and thymidine phosphorylase expression in oral squamous carcinoma. *Int J Oncol* 2002;21:1317-23.
25. Chandrachud LM, Pendleton N, Chisholm DM, Horan MA, Schor AM. Relationship between vascularity, age and survival in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 1997;76:1367-75.
26. Ueda T, Aozasa K, Tsujimoto M, et al. Prognostic significance of mast cells in soft tissue sarcoma. *Cancer* 1988;62:2416-9.
27. Tan SY, Fan Y, Luo HS, Shen ZX, Guo Y, Zhao LJ. Prognostic significance of cell infiltrations of immunosurveillance in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11:1210-4.
28. Fisher ER, Sass R, Watkins G, Johal J, Fisher B. Tissue mast cells in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1985;5:285-91.
29. Ribatti D, Vacca A, Ria R, et al. Neovascularisation, expression of fibroblast growth factor-2, and mast cells with tryptase activity increase simultaneously with pathological progression in human malignant melanoma. *Eur J Cancer* 2003;39:666-74.
30. Ono M, Torisu H, Fukushi J, Nishie A, Kuwano M. Biological implications of macrophage infiltration in human tumor angiogenesis. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999; 43 Suppl:S69-71.
31. Hilbe W, Dirnhofer S, Oberwasserlechner F, et al. CD133 positive endothelial progenitor cells contribute to the tumour vasculature in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2004;57:965-9.
32. Oka N, Yamamoto Y, Takahashi M, Nishitani M, Kanayama HO, Kagawa S. Expression of angiopoietin-1 and -2, and its clinical significance in human bladder cancer. *BJU Int* 2005;95:660-3.
33. Ozdemir O. Mast cells and the tumor-associated neoangiogenesis. *Med Sci Monit* 2006;12:LE9-11.
34. Caruso RA, Fedele F, Rigoli L, Inferrera C. Mast cell interaction with tumor cells in small early gastric cancer: Ultrastructural observations. *Ultrastruct Pathol* 1997;21: 173-81.
35. Kamate C, Baloul S, Grootenboer S, et al. Inflammation and cancer, the mastocytoma P815 tumor model revisited: triggering of macrophage activation in vivo with pro-tumorigenic consequences. *Int J Cancer* 2002;100:571-9.
36. Özdemir Ö. Mast cell and cancer: Mast cell density in tumor tissue, predisposing factors and mast cell-tumor interactions. *Kocatepe Medical Journal* 2004;5:1-8.
37. Ozdemir O. Mast cell density, angiogenesis, and their significance in tumor development. *Gynecol Oncol* 2006;100:628-9.
38. Ozdemir O. Mast cell density, neoplastic angiogenesis and their prognostic importance. *Dig Liver Dis* 2006;38:356.
39. Tanaka F, Otake Y, Yanagihara K, et al. Evaluation of angiogenesis in non-small cell lung cancer: comparison between anti-CD34 antibody and anti-CD105 antibody. *Clin Cancer Res* 2001;7:3410-5.
40. Welsh TJ, Green RH, Richardson D, Waller DA, O'Byrne KJ, Bradding P. Macrophage and mast-cell invasion of tumor cell islets confers a marked survival advantage in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:8959-67.
41. Acikalin MF, Oner U, Topcu I, Yasar B, Kiper H, Colak E. Tumour angiogenesis and mast cell density in the prognostic assessment of colorectal carcinomas. *Dig Liver Dis* 2005;37:162-9.
42. Kataoka TR, Morii E, Oboki K, Kitamura Y. Strain-dependent inhibitory effect of mutant mi-MITF on cytotoxic activities of cultured mast cells and natural killer cells of mice. *Lab Invest* 2004;84:376-84.
43. Wagelie-Steffen AL, Hartmann K, Vliagoftis H, Metcalfe DD. Fas ligand (FasL, CD95L, APO-1L) expression in murine mast cells. *Immunology* 1998;94:569-74.
44. Hara M, Matsumori A, Ono K, et al. Mast cells cause apoptosis of cardiomyocytes and proliferation of other intramyocardial cells in vitro. *Circulation* 1999;100:1443-9.
45. Latti S, Leskinen M, Shiota N, Wang Y, Kovanen PT, Lindstedt KA. Mast cell-mediated apoptosis of endothelial cells in vitro: a paracrine mechanism involving TNF-alpha-mediated down-regulation of bcl-2 expression. *J Cell Physiol* 2003;195:130-8.
46. Gallagher SJ, Marshall JS, Hoskin DW. Human mast cells induce caspase-independent DNA fragmentation in leukemic T cells. *Oncol Rep.* 2003;10:1019-23.
47. Ebihara N, Takai S, Miyazaki M, Murakami A. Mast cell chymase induces conjunctival epithelial cell apoptosis by a mechanism involving degradation of fibronectin. *Curr Eye Res* 2005;30:429-35.
48. Tharp MD, Kasper C, Thiele D, Charley MR, Kennerly DA, Sullivan TJ. Studies of connective tissue mast cell-mediated cytotoxicity. *J Invest Dermatol* 1989;93:423-8.
49. Richards AL, Okuno T, Takagaki Y, Djeu JY. Natural cytotoxic cell-specific cytotoxic factor produced by IL-3-dependent basophilic/mast cells. Relationship to TNF. *J Immunol* 1988;141:3061-6.
50. Young JD, Liu CC, Butler G, Cohn ZA, Galli SJ. Identification, purification, and characterization of a mast cell-associated cytolytic factor related to tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:9175-9.
51. Clarke GR, Shirzadeh H, Pang G, Beagley KW, Burton RC, Smart YC. TNF-alpha is not the sole mediator of WEHI-164 tumour cell killing in natural cytotoxicity. *Cytokine* 1997;9:254-62.
52. Ghiara P, Boraschi D, Villa L, Scapigliati G, Taddei C, Tagliabue A. In vitro generated mast cells express natural cytotoxicity against tumour cells. *Immunology* 1985;55: 317-24.
53. Ozdemir O. Immunosurveillance function of human mast cell? *World J Gastroenterol* 2005;11:7054-6.
54. Benyon RC, Bissonnette EY, Befus AD. Tumor necrosis factor-alpha dependent cytotoxicity of human skin mast cells is enhanced by anti-IgE antibodies. *J Immunol* 1991;147:2253-8.
55. Sasaki Y, Yoshimoto T, Maruyama H, et al. IL-18 with IL-2 protects against *Strongyloides venezuelensis* infection by activating mucosal mast cell-dependent type 2 innate immunity. *J Exp Med* 2005;202:607-16.
56. Schick C, Kamachi Y, Bartuski AJ, et al. Squamous cell carcinoma antigen 2 is a novel serpin that inhibits the chymotrypsin-like proteinases cathepsin G and mast cell chymase. *J Biol Chem* 1997;272:1849-55.

57. Rodgers K, Xiong S. Contributions of inflammatory mast cell mediators to alterations in macrophage function after malathion administration. *Int J Immunopharmacol* 1997;19:149-56.
58. McGettrick AF, Barnes RC, Worrall DM. SCCA2 inhibits TNF-mediated apoptosis in transfected HeLa cells. The reactive centre loop sequence is essential for this function and TNF-induced cathepsin G is a candidate target. *Eur J Biochem* 2001;268:5868-75.
59. Lavnikova N, Drapier JC, Laskin DL. A single exogenous stimulus activates resident rat macrophages for nitric oxide production and tumor cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 1993;54:322-8.
60. Choi SC, Oh HM, Park JS. et al. Soluble factor from murine bladder tumor-2 cell elevates nitric oxide production in macrophages and enhances the taxol-mediated macrophage cytotoxicity on tumor cells. *Cancer Invest* 2003;21:708-19.
61. Bissonnette EY, Hogaboam CM, Wallace JL, Befus AD. Potentiation of tumor necrosis factor-alpha-mediated cytotoxicity of mast cells by their production of nitric oxide. *J Immunol* 1991;147:3060-5.
62. He S, Walls AF. Human mast cell chymase induces the accumulation of neutrophils, eosinophils and other inflammatory cells in vivo. *Br J Pharmacol* 1998;125:1491-500.
63. Henderson WR Jr, Chi EY. The importance of leukotrienes in mast cell-mediated *Toxoplasma gondii* cytotoxicity. *J Infect Dis* 1998;177:1437-43.
64. Boyce JA. Eicosanoid mediators of mast cells: receptors, regulation of synthesis, and pathobiologic implications. *Chem Immunol Allergy* 2005;87:59-79.
65. Mannaioni PF, Masini E, Pistelli A, Salvemini D, Vane JR. Mast cells as a source of superoxide anions and nitric oxide-like factor: Relevance to histamine release. *Int J Tissue React* 1991;13:271-8.
66. Van Loveren H, Den Otter W, Meade R, Terheggen PM, Askenase PW. A role for mast cells and the vasoactive amine serotonin in T cell-dependent immunity to tumors. *J Immunol* 1985;134:1292-9.
67. Tambourgi DV, Kipnis TL, Dias da Silva W. Trypanosoma cruzi: Antibody-dependent killing of bloodstream trypomastigotes by mouse bone marrow-derived mast cells and by mastocytoma cells. *Exp Parasitol* 1989;68:192-201.