

İnterlökin 12 ve Kanser Tedavisindeki Yeri

IL 12 AND ITS ROLE IN TREATMENT OF CANCER

Yavuz BAYKAL*, Gülsüm ÖZET**, Fikri KOCABALKAN***

* Doç.Dr., GATA İç Hastalıkları AD,

** Dr., Ankara Numune Hastanesi,

*** Prof.Dr., GATA İç Hastalıkları AD, ANKARA

Özet

İnterlökin 12 (IL-12) spesifik ve doğal immünite üzerine etkili heterodimerik bir sitokindir. IL-12, T hücreleri ve natural killer (NK) hücreleri aracılığı ile interferon (INF) gama sekresyonunu uyarır. NK hücreler ve aktive edilmiş T hücrelerin proliferasyonunu, sitotoksik T hücrelerin ve NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesini artırır. İnterlökin 12, Th1 efektör hücrelerinin farklılaşmasına da etkilidir. İnterlökin 12, in vitro olarak kanserli hasta lenfositlerinin ve in vivo olarak ta bir çok fare tümör modellerinin anti tümör aktivitelerini uyarır.

Mevcut bilgiler CD4 ve CD8 T hücrelerin, NK hücrelerin ve INF gamanın İnterlökin 12'nin antitümör etkisine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bununla beraber İnterlökin 12'nin antitümör aktivitesindeki esas mekanizmaları ortaya çıkarmak için daha geniş araştırmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnterlökin 12, Kanser

T Klin Tıp Bilimleri 1999, 19:344-351

Summary

Interleukin 12 (IL-12) is a heterodimeric cytokine that has potent effects on innate and adaptive immunity. IL-12 induces interferon gamma secretion by T cell and natural killer cells, enhances the proliferation of activated T cell and natural killer cells, augments the cytolytic activity of cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells, and support the differentiation of Th 1 effector cells. IL-12 stimulates in vitro antitumor activity of lymphocytes from patients with cancer and in vivo antitumor activity in many murine tumor models.

Current data indicate that CD4 cells, CD8 T cells, natural killer cells and interferon gamma may contribute to the antitumor effects of IL-12 therapy. However, further investigation is required to elucidate the precise mechanisms involved in the antitumor activity of IL-12.

Key Words: Interleukin 12, Cancer

T Klin J Med Sci 1999, 19:344-351

IL-12 bağımsız iki grup tarafından tanımlanmış bir heterodimerik sitokindir. Başlangıçta B lenfoblastoid hücre serisi supernatantından izole edildiği için bu sitokine NK hücre stimule edici faktör (NKSF) ismi de verilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalarla bu sitokinin cDNA'sı klonlanmış ve sitokini kodlayan cDNA izole edilmiştir. Başlangıçta bu sitokine sitotoksik lenfosit matürasyon faktörü (CLMF) de denilmiştir. NKSF ve CLMF yi oluşturan yapıların aminoasitlerinin aynı olduğunun gösterilmesinden sonra bu sitokin IL-12 olarak adlandırılmıştır. IL-12 sitotoksik T lenfosit

(CTL) ve NK hücreler üzerine olduğu gibi T helper hücreler üzerine de güçlü immünstimülatör etki göstermektedir. Klinik çalışmalar IL-12'nin atopik ve allerjik durumlar, HIV enfeksiyonu ve kanser tedavisi gibi birçok hastalığın tedavisinde yararlı olabileceğini göstermektedir (1,2).

IL-12 ve Reseptörünün Yapısı

IL-12, moleküler ağırlığı 70 kD olan disülfid bağlı heterodimerik bir yapıdır. Moleküler ağırlığı 40-35 olan iki alt gruptan oluşur. P40 zinciri, IL-6 ve silier nörotrofik faktör (CNF) reseptörleri gibi bir çok sitokin reseptörleri ile homologdur. P35 ise IL-6, G-CSF ve tavuk myelomonositik büyüme faktörü gibi diğer sitokinlerin homologudur. Hem p40'ın hem de p35'in tek başlarına biyolojik aktiviteleri yoktur. IL-12 reseptörleri (IL-12R), istira-

Geliş Tarihi: 05.05.1999

Yazışma Adresi: Dr.Yavuz BAYKAL
GATA İç Hastalıkları AD
Etlik, ANKARA

hat ve aktif durumdaki NK hücreleri, aktif CD4 ve CD8 T hücreleri üzerinde gösterilmesine rağmen istirahat halindeki T hücreleri, monositler ve B hücreleri üzerinde gösterilememiştir. Radyonüklid incelemeler sonucu IL-12'nin aktive edilmiş T hücreleri üzerinde yüksek, orta ve düşük afinitelerde 3 farklı bağlantı bölgesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (3).

IL-12R'ün moleküler yapısının tanımlanmasından sonra bunun bir alt grubunun hemopoetik sitokin reseptör süper ailesinin bir üyesi olan gp130'a çok benzer olduğu görülmüştür. Reseptörlerin bu komponenti IL-6, IL-11, lösemi inhibitör faktör (LIF) ve onkostatin-M için ortaktır. Yüksek afiniteli IL-12R birden fazla alt grup içerir. IL-12, aktive edilmiş T hücrelerdeki mitojen aktive edici protein kinaza (MAP) ait tirozinin fosforilasyonunu hızla uyarırsa da, IL-12 ile uyarılmış istirahat halinde T hücreleri ve NK hücrelerinde MAP kinaz fosforilasyonu gösterilememiştir (4,5). IL-12, aktif T hücre ve NK hücrelerde spesifik Janus protein kinazların (JAK) ve bazı CD4 hücre klonlarında STAT 3 (signal transducer and activator transcription) ve STAT 4'ün tirozin fosforilasyonunu da uyarır (6,7). Ayrıca, IL-12 istirahat halindeki NK hücrelerde src ailesi tirozin kinazların hızlı tirozin fosforilasyonuna da neden olmaktadır (9).

IL-12'nin Üretimi

IL-12'nin üretimi, heterodimerik çoğalmayı sağlayan hücrelerin ekspresyonu ile sınırlı iken, p35 alt grubunun mRNA'sı bir çok farklı hücre grupları tarafından eksprese edilebilmektedir. Biyolojik olarak aktif ve heterodimerik p40/p35 sekrete eden hücreler genellikle 10 kat daha fazla serbest p40 zinciri salgılar (9). P40 yokluğunda p35 salınımı da olmamaktadır. İn vitro deneylerde p40/p40 homodimerik yapı, p40/p35 heterodimerik yapının IL-12R'üne bağlanmasını bloke ederek değişik biyolojik ortamlarda IL-12R'ün kompetitif antagonizması gibi hareket etmektedir (10). Antagonist etkili p40 homodimerik yapının hangi fizyolojik mekanizma ile sekrete edildiği belli değildir. Bazı Epstein Barr virüsleri transforme B hücre serilerinde IL-12 üretimine neden olabilmektedir. Forbol esterleri B lenfoblastoid hücre serisinde IL 12 üretimini güçlü bir şekilde uyarmaktadır (11). Bazı myeloid lösemi ve epider-

moid karsinoma hücre serileri aktivasyon sonrası IL 12 üretebilirler. IL 12'nin en büyük fizyolojik kaynağının antijen sunan hücreler olan monosit, makrofaj, B hücreleri ve dentrik hücrelerdir (12). Deneysel şartlarda nötrofillerin, mast hücrelerin ve keratinositlerin IL-12 ürettikleri gösterilmişse de T hücreleri ve NK hücreler vasıtasıyla IL-12 üretimi gösterilememiştir. Forbol esterlere cevap olarak B lenfoblastoid hücreler ve normal hematopoetik hücreler az miktarda IL-12 üretebilirler (13). Normal hücrelerde IL-12 üretimi mikroorganizmaların güçlü bir şekilde uyarılması ile oluşmaktadır. Endotoksin diğer bakteriyel ürünlerden daha fazla IL-12 üretimine neden olmakta ise de bunun IL-12 uyarıcı etkisi tam olarak belirlenememiştir. Ekzotoksin ve diğer uyarılara cevap olarak, IFN gama, IL-12 üretimini artırırken, IL-10 ile bu üretim inhibe edilmektedir (9).

IL-12'nin Sitokin Üretimi ve Lenfosit Proliferasyonuna Etkisi

IL-12, lenfositler tarafından IFN gama üretilmesinde en güçlü uyarıcı olduğu kabul edilmektedir. IL-12, sitotoksik ve aktive edilmiş T hücreleri ve NK hücreleri tarafından IFN gama yapımını uyarır. TNF α , IL-1, IL-2 ve IL-5 gibi bazı sitokinler IL-12 ile sinerjistik olarak IFN gama sekresyonunu uyarırlar. Ko-stimülatör reseptörler olan CD28 veya CD2'nin IL-12 ye bağlanması T lenfositler tarafından IFN gama üretiminde sinerjistik etki göstermektedir(14). IL-12 deneysel olarak enfekte edilen, sağlıklı ve tümörlü farelerde in vivo olarak INF gama üretimini de uyarmaktadır(15). IL 12 zorunlu hücre içi patojenlerle enfekte edildikten sonra aktive olan monositler ve NK hücreler vasıtasıyla doğal immün cevap uyarılabilir ve antijen spesifik T hücrelerin maturasyonunu ve B hücre cevabı artırılabilir. IL-12, hücrel immünitede ve aktive olmuş CD4 ve CD8 T hücrelerin farklılaşmasında da etkilidir. IL-12'nin T hücreleri veya NK hücrelerini uyarılmasından sonra TNF α , IL-3, GM-CSF, M-CSF ve IL-5 gibi diğer sitokinlerin üretimi artar. IL 12, in vitro ve in vivo ortamlarda IL-2 ile karşılaştırıldığında TNF üretimini daha az uyarmaktadır (16). IL-12, istirahat halindeki T hücrelerin proliferasyonunu etkilemese de spesifik antijen veya mitojen ile aktive edilmiş T hücrelerinin çoğalmasında etkili olur. IL-12, aktif CD4, CD8 a/b hücreleri ve aynı zamanda a/b T

hücrelerin proliferasyonunu da artırır. INF gama üretiminde olduğu gibi, IL-12'nin CD2 ve CD28 ko-stimülatör yüzey antijen reseptörleri ile T hücre proliferasyonu üzerinde etkisi karmaşıktır. IL-12, istirahat halindeki NK hücre proliferasyonunu uyarmaz ve IL-2 den farklı olarak in vitro olarak NK hücrelerinin çoğalmasını da etkilemez. IL-2'ye cevap olarak IL-12, NK hücre proliferasyonunu optimal düzeyde inhibe edebilir. IL-12, NK hücre üzerindeki IL-2 reseptörü ve NK hücre proliferasyon cevabını da arttırmaktadır. B7 ko-stimülatör molekülleri antitümör immünitede IL-12 ile birlikte sinerjistik etki göstermekte ve tedavide yararlı olmaktadır (17,18).

IL-12'nin Sitotoksik Lenfositler Üzerindeki Etkisi

Sitotoksik lenfositler diğer hücreleri öldürme kabiliyetleri olan hücreler olup CTL ve NK hücreler olarak iki büyük gruba ayrılmıştır. NK hücreler spontan olarak malign ve virüsle enfekte hücreleri lizise uğratabilir. Antikora bağlı olmadan yapılan bu öldürme olayı "natural killing" olarak bilinir. Antikor bağımlı sitotoksikite (ADCC) ile antikor ile kaplanmış hedef hücreler lizise uğrattılır. NK hücrelerin ADCC reseptörleri CD16'nın oligomerik kompleksinden oluşur ve bunlar IgG'nin Fc kısmına bağlanırlar (19). Birçok NK hücre reseptörleri kesin olarak belirlenememiştir. MHC sınıf I molekülü için NK hücreler birçok farklı reseptörü ekspres ederler ve bu reseptörler vasıtasıyla uyarı azaltılır ve lizis inhibe edilir (20,21).

Sitotoksik T lenfositler ve NK hücreler, hücre içi enfekte hücreleri ve malign hücreleri ortadan kaldırmak için birlikte hareket edebilirler (22). CTL ve NK hücreler IL-12 tarafından güçlü bir şekilde uyarılırlar. IL-12, in vivo ve in vitro olarak viral antijenler ve alloantijenlerine karşı spesifik CTL oluşumunu artırması yanında aktif CD8 T hücrelerinin CTL'ye farklılaşmasını, proliferasyonunu ve CTL'in aktivitesini de uyarır. IL-12 ile CTL cevabının artırılması, CTL sayısının ve hücrel sitotoksitesinin artırılması ile olur. IL-12, in vivo ve in vitro olarak NK hücrelerinin sitolitik antikor kaplı hedef hücrelerin ve virüs ile enfekte hücrelerin lizisini de artırır. IL-12, hem CTL hem de NK hücrelerin hedef hücrelere bağlan-

masını sağlayan bazı adezyon moleküllerinin regülasyonunu da sağlar. Uygun konsantrasyondaki IL-2, NK hücrelerin sitotoksik etkisini optimal konsantrasyondaki IL-12'den daha çok artırır da optimal etki için gerekli IL-12 konsantrasyonu molar bazda IL-2 konsantrasyonundan yaklaşık olarak 100 kat daha düşüktür (18). Malign plevral effüzyonlarda Th ve NK hücre sayımında artış olmasına rağmen IL-12 hem plevral mayi, hem de periferik kanda gösterilememiştir (23). Hem CD2 hem de bunun primer ligandı olan CD58'in adezyon ilmiğine karşı oluşan spesifik antikorlar T hücrelerinin IL-12'ye cevabını, IL-2'ye olan cevabı etkilemeksizin, inhibe etmektedir(24). IL-12, IL-2 ile birlikte sinerjistik olarak kanserli hastaların bölgesel lenf bezlerindeki lenfositlerde sitotoksik aktiviteyi arttırdığından bu lenfositler kullanılarak kansere karşı adoptif immünoterapi artırılabilir (25).

IL-12'nin T Helper Hücreleri Üzerindeki Etkisi

Aktif CD4 T hücreleri Th1 ve Th2 olarak iki büyük hücre grubuna farklılaşır. Th1 hücreleri, IL-2, IFN gama, TNF sekresyonu yanında monositlerin makrofajlara ve aktif CD8 T hücrelerinin CTL'e farklılaşmasını sağlar (26). Th1 sitokinleri NK hücrelerin sitolitik aktivitesini uyarırken, ADCC'yi NK ve makrofajların aracılığı ile aktif B hücrelerin izotipik antikor üretimini artırarak sağlar. Th1 hücreleri malign tümör, allograft hücreleri ve hücre içi patojenlere karşı hücrel immüniteyi de sağlar. Th2 hücreleri monositlerin ve NK hücrelerin aktivasyonunda etkili olan IL-4, IL-5 ve IL-10 üretirken aynı zamanda CD8 T hücrelerinin sitotoksik olmayan süpresör hücrelere farklılaşmasını da sağlar. Th2, hücrel immüniteyi inhibe ederken aynı zamanda helmintlerin ve allerjenlerin karakteristik immün cevabı olan IgE ve eozinofilleri de arttırmaktadır. IL-12 aktif CD4 T hücrelerin Th1 efektör hücrelere farklılaşmasını sağlar (27). IL-12'nin hem aktif CD4 T hücreleri üzerindeki direk etkisi hem de IFN gama sekresyonunu uyararak indirek olarak Th1 gelişimini uyardığı görülür. IL-12, aktif CD4, CD8 ve NK hücrelerinin farklılaşması ve fonksiyonları üzerine etki ile hücrel immüniteyi artırılabilir (28).

IL-12'nin Hematopoetik Hücreler Üzerindeki Etkisi

IL-12 tek başına immatür hematopoetik öncül hücrelerin gelişimini etkilemediği görülürse de in vitro şartlarda IL-3, "stem cell factor" (SCF) ve eritropoetine cevap olarak insan ve fare hematopoetik öncü hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasını arttırabilir. IL-12 ile birlikte sinerjistik etki gösteren diğer hematopoetik sitokinlerin immatür hematopoetik hücreler üzerine direkt olarak etkili oldukları görülür (29). İn vitro olarak insan öncül hücre kültürlerine NK hücreler ilave edildiğinde IL-12'nin miyeloid ve eritroid koloni formasyonunu inhibe ettiği görülür. Bu etkinin aktif NK hücrelerden IL-12'nin etkisi ile üretilen ve inhibitör sitokinler olan IFN gama ve TNF α ile ilgili olduğu görülür. IL-12 nin in vivo olarak hematopoez üzerindeki etkisi karmaşıktır. Sağlıklı farelere uzun süreli IL-12 uygulanmasının lenfopeni ve kemik iliği hipoplazisine neden olduğu, bazı çalışmalarda da doza bağlı anemi, trombositopeni ve granüsitopeni oluşturduğu görülmüştür. IL-12'nin in vitro olarak IFN gama uyarımı ile fare hematopoezisini inhibe ettiği gösterilmiştir (30). Ayrıca primatlara IL-12 uygulanması ile lenfopeni, anemi, trombosit sayısında azalma olduğu gösterilmiştir (31). Bununla beraber IL-12, maymunlarda periferik kanda lenfositozu ve kemik iliği hiperplazisini uyarmaktadır. Hem farelerde hem de maymunlarda IL-12 ile splenomegali ve dalakta ekstramedüller hematopoezis oluşturulmuştur. IL-12'nin in vitro şartlarda oluşturduğu bu hematolojik etkiler geri dönüşümlüdür (32).

IL-12'nin Lenfositler Üzerindeki Antitümör Aktivitesi

IL-12 kanserli hasta lenfositlerinin sitolitik aktivitesini arttırabilir. Kanserli hastaların periferik kan lenfositlerinin bir gece picomolar konsantrasyonunda IL-12 içinde inkübasyonundan sonra hem lösemik, hem de tümör hücrelerini lizise uğratabildiği gösterilmiştir (33). IL-12, melanoma ve over kanserli hastalarda tümör infiltre eden lenfositler (TIL) vasıtasıyla otolog tümör hücrelerin lizisini arttırmaktadır. IL-12, allojenik kemik iliği transplantasyonu yapılan hematolojik malignensili ve uzun süre düşük doz IL-2 infüzyonu yapılan solid tümörlü hastalarda NK hücrelerinin antitümör

aktivitelerini arttırmaktadır. İn vitro olarak yapılan deneysel çalışmalarda, kanserli hastaların çoğunda IL-2 ile IL-12 arasında sinerjistik bir etkinin olduğu gözlenmiştir (34).

Matür T ve B hücre yetmezliği olan ağır kombine immün yetmezlikli (SCID) farelere normal insan hematopoetik hücreleri ve insan tümör hücreleri transplante edildiğinde graft reddi gelişmez. SCID'li fareler insan hematopoezisi ve insan kanser immünoterapisi için in vitro çalışmalarda kullanılmıştır. İnsan melanoma hücrelerinin SCID'li farelere IV enjekte edilmesinden sonra pulmoner metastazların büyümesi poliklonal aktive edilmiş NK hücre enjeksiyonu ile inhibe edilmiştir. Bu uygulama ile NK hücrelerin antitümör etkileri IL-2 ve IL-12'nin kombine uygulanması ile güçlü bir şekilde arttırılmıştır. İnsan tümör hücre serisi U937, SCID'li farelere enjekte edildiğinde akut lösemiye benzer şekilde hızlı yayılım gözlenmiştir. İnsan sitotoksik T hücre dizisi içine IL-12'nin adoptif transferi ile farelerin ömrü uzatılmıştır. IL-12 ile uyarılan insan sitotoksik lenfositleri in vivo tümör hücrelerini tahrip edebilir ve antitümör aktivite arttırılabilir (35). T ve NK hücrelerinin IL-12 ile uyarılması bcl-2, egr-1, c-fos ve jun B gibi erken aktivasyon gen ailesi üyeleri ile bağlantılı değildir ve dolayısıyla IL-12 ve IL-2 ile uyarılmış hücrelerde gözlenen fonksiyonel değişiklikler kısmen gen regülasyonundaki farklılıklarla izah edilmektedir (36).

Sistemik veya Lokal IL 12 Uygulamasının Antitümör Etkinliği

IL 12'nin fare modellerinde melanoma, sarkoma, renal hücre, akciğer, kolon ve over kanserlerinde güçlü antitümör etkinliği olduğu gösterilmiştir (37-39). IL 12'nin sistemik ve peritümoral enjeksiyonunun tanı konulan tümörlerde gerilemeye neden olduğu, uzak metastaz oluşumunu inhibe ettiği ve ömrü önemli oranda uzattığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar toksisiteye neden olmaksızın etkin tümör cevabı oluşturabilen IL 12 dozlarının belirlenmesini sağlamıştır. Bazı tümör modellerinde IL 12 tedavisinden sonra cevapsızlık görülen farelerin, sonradan implante edilen aynı tümörleri reddettiğinin gösterilmesi bu durumun spesifik antitümör immünitisi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Kolon, over, akciğer, renal hücreli kanser ve

melanoma modellerinde IL 12'nin çok etkili ve IL 2 den daha az toksik olduğu görülmüştür (40).

Primer veya metastatik renal hücreli kanser modellerinde IL-2 ve IL-12 kombinasyonlarının bu iki sitokinin ayrı uygulamalarından daha etkili olduğu gösterilmiştir. IL-12 kemik iliği graft versus tümör transplantasyon etkinliğini, graft versus host hastalığı oluşturmadan arttırabilir (41,42). IL-12'nin antitümör etkinliğinin mekanizması tam anlaşılammış olmakla birlikte karmaşık olmadığı kabul edilmektedir. IL-12'nin in vitro malign hücrelerin gelişimini direk olarak inhibe ettiği gösterilmemiş olmakla birlikte in vivo tümör etkinliğini konakçı immün sistemi üzerindeki etkisi ile sağlaması muhtemeldir. Birçok tümör modellerinde IL-12'nin optimal etkinliği için T hücrelerinin gerekli olduğu gösterilmiştir (43). Bazı tümör modellerinde ise IL-12, antitümör etkinliği azalmış olan CD8 hücrelerini kısmen inhibe ederken, hem CD4 hem de CD8 hücrelerinin azaldığı durumlarda bu etkinlik tamamen inhibe edilmektedir. Bu sonuçlar IL-12 tedavisinden sonra CD4 ve CD8 T hücrelerinin tümör gelişimini inhibe ettiklerini göstermektedir. T hücreleri sadece IL-12'nin antitümör etkisinden sorumlu değildir. Bazı tümörlerde IL-12 tedavisi süresince NK hücreleri antitümör etkinlik göstermektedir. Bütün bu bilgilerin ışığında in vitro olarak IL-12'nin antitümör aktivitesi için sadece bir efektör hücre etkili olmamaktadır. IL-12'nin uyardığı antitümör etkinlik uygulanan deneysel modele bağlıdır. Bu etkinliğe CD4, CD8, NK hücreler, makrofajlar veya diğer tip hücreler katkıda bulunabilir. IL-12'nin tümör hücre gelişimini inhibe eden efektör hücreleri nasıl uyardığı da tam olarak anlaşılammıştır. İn vivo olarak aktif T hücreleri veya NK hücreleri tümör hücrelerini direk olarak lizise uğratabilirler, tümör hücrelerin proliferasyonunu inhibe eden sitokinleri sekrete edebilirler veya diğer antitümör etkili hücreleri uyarabilirler (40).

Neoplastik hücrelerin ölümünü sağlayan sitotoksik granüllerin IL-12'nin antitümör aktivitesi için tam olarak gerekli olmadığı görülür. Çünkü B16F10 melanomalı farelerde IL-12 tedavisi etkili olmaktadır. Beige fareleri relatif olarak normal sayıda NK hücreleri ve T lenfositlere sahipse de lenfositlerin ve miyeloid hücrelerin sitotoksik granüllerinde defekt vardır. IL-12'nin T ve NK

hücrelerinden IFN gama sekresyonunu uyardığı bilinmektedir. IL-12'nin IFN gama ile olan muhtemel antitümör etkinliği araştırılmaktadır. Sarkoma, melanoma ve renal adenokarsinoma fare modellerinde IFN gama nörolizasyonun IL-12'nin antitümör etkinliğini güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (38). IL-12 tedavisinden sonra, IFN gama tümör hücreleri üzerine direk antiproliferatif veya kendi immünmodulator etkisi ile tümörün gerilemesine katkıda bulunabilir (44). IFN gama in vivo neovaskularizasyonu da inhibe ettiğinden tümör antianjiyojenik etkinin de IFN gama ile sağlandığı görülür. IFN gamanın in vivo antitümör aktivitesi IL-12'nin etkilerinden biridir. IFN gama üretimi IL-12'nin antitümör etkinliği için gerekli olabilir, fakat yeterli değildir (15). NK hücrelerin IL-2R ve IL-12R'leri vasıtasıyla ko-stimülasyonu IFN gama üretimini önemli oranda arttırır ve bilahare NK hücreleri ile apoptozis ve IFN gama üretiminde azalma meydana gelir (45).

IL-12 Gen Transferi Uygulanmış Hücrelerin Antitümör Etkileri

Farelerde IL-12'yi kodlayan cDNA ile transfekte edilmiş sinjenik veya allojenik fibroblastlar etkili bir şekilde biyoaktif IL-12 oluşturan tümör yüklü farelerde kullanılmıştır. Tümör hücreleri içine IL-12 genlerinin geçirilmesi bunların proliferasyonunu etkilememişse de, immün bozukluğu olmayan farelerde gelişmelerini inhibe etmiştir (46). IL-12 ilave edilmiş tümör hücrelerinin enjeksiyonu in vivo olarak spesifik ve dayanıklı antitümör immüniteyi uyarabilir (47). T ve NK hücrelerin her ikisi de IL-12 sekrete eden tümörün immün cevabına katkıda bulunurlar. İnsan p35 ve p40 genlerini içeren polisistronik retroviral vektörlerin kullanılması IL-12 gen tedavisinin klinik çalışmalarda kullanımını için uygun olabileceği gösterilmiştir (48). IL-12 gen tedavisi uygulaması sırasında oluşturulan antitümoral immün cevap, B7 moleküllerine sahip tüm hücreler ile kombine edildiğinde daha etkili olmaktadır (49).

Kanserli Hastalarda IL-12'nin Klinik Çalışmaları

IL-12'nin klinik çalışmalarına, rekombinant IL-12'nin IV bolus verildiği deney hayvanlarında

belirgin toksik etkisinin olmaması ve IL-12'nin hayvan tümör modellerindeki tedavi sonuçlarını ümit verici olması nedeniyle başlanmıştır(32). "Cohort" yapılan bir çalışmada 6 hastanın 4'ünde tek bir doz IV IL-12 enjeksiyonunu takiben 2 hafta sonra aynı dozda IL-12 5 gün süre ile her gün verilmiştir. Tümör progresyonu veya doza bağlı toksisite göstermeyen hastalara IL 12, 3 haftada bir, beş gün süre ile altı siklus şeklinde verilmiştir. Bu çalışmada 20 renal hücre kanserli ve 12 melanomalı 32 hasta tedavi edilmiştir. IL-12 ayaktan takip edilen hastalara kabul edilebilir toksik doz olan 500 ng/kg düzeyinde verilmiştir. İn vivo şarlarında, IL-12 tedavisi immünmodulatör etkisine ilave olarak IFN gama üretimini de arttırmıştır. Sık görülen yan etkiler ateş, iştahsızlık, bulantı ve baş ağrısıdır. Sıklıkla geçici anemi, lökopeni, trombositopeni, hiperglisemi ve serum transaminaz seviyesinde yükselme görülmüştür. Stomatit ve anormal karaciğer fonksiyon testleri ile ilişkili toksisite doz sınırı 1000 ng/kg ile tedavi edilen 4 hastanın 3'ünde görülmüştür. Objektif tümör cevabının renal hücreli kanser ve melanomalı hastalarda oluştuğu görülmüştür (50,51). IL-12'nin M-CSF ile kombinasyonu radyoterapi gören tümörlü hastalarda tedavinin etkinliğini arttırmaktadır(52). Birinci fazda 14 hasta yukarıda açıklandığı gibi IL-12'nin 500 ng/kg dozları ile tedavi edilmiştir. Doza bağlı toksisite oluşmaksızın 5 günlük tedavi siklusları 24 hastanın onunda tamamlanmıştır. Daha sonra yapılan faz II çalışmasında ilerlemiş renal hücre kanserli hastalara 500 ng/kg/gün beş gün süre ile IV IL-12 uygulanması sırasında sık ve tolere edilemeyen yan etkiler görülmüştür. Bu ciddi toksisite IL-12 uygulanması sürecinde ufak değişikliklerin yapılması gerektiğini gösterir. Başlangıçtaki faz I çalışmasındaki hastalardan farklı olarak, Faz II çalışmasında ilk 5 günlük tedavi siklusundan iki hafta önce tek bir doz IL-12 verilmemiştir. Farelerde ve primatlarda yapılan daha sonraki incelemeler göstermiştir ki IL-12'nin IV tek bir doz olarak verilmesi daha sonra verilen multipl uygulamaları tolerabl hale getirmektedir. Bu umulmayan ve olağan dışı oluşumdan sorumlu etken araştırma halindedir. IL-12'nin cilt altı uygulama ile verildiği faz I çalışması kanser ve AIDS'li hastalarda halen sürmektedir. Ümit edilmektedir ki bu çalışmaların başarı ile tamamlanması, IL-12'nin anti tümör et-

kisi ile ilgili olarak gelecekte faz II çalışmalara imkan sağlayacaktır (53).

Sonuç

IL-12 doğal ve adoptif immünite üzerinde güçlü bir etki gösteren heterodimerik bir sitokindir. IL-12, T hücreleri ve NK hücreleri ile IFN gama sekresyonunu uyarır, NK hücreler ve aktif T hücrelerin proliferasyonunu artırır, NK hücreleri ve CTL'lerin sitolitik aktivitelerini yükseltir ve da Th1 efektör hücrelerin farklılaşmasını destekler. IL-12 kanserli hastaların lenfositlerinin anti tümör aktivitesini uyarır ve in vivo bir çok fare tümör modellerinde anti tümör aktiviteyi artırır (54). Mevcut veriler göstermektedir ki, CD4, CD8, NK hücreler ve IFN gama IL-12 tedavisinin anti tümör etkisine katkıda bulunabilir. IL-12'nin anti tümör aktivitesindeki esas mekanizmanın aydınlatılması için ileri araştırmalara gerek vardır. Preklinik çalışma sonuçları IL12'nin kanser tedavisinde bir çok stratejilerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. IL-12 uygulaması fare tümör kitlesinde gerilemeyi uyabilirse de preklinik modellerin çoğunda IL-12'nin esas olarak daha küçük kanseri olan hayvanlarda çok daha etkili olduğunu göstermiştir. İlerlemiş kanserli hastalarda IL-12'nin güvenli kullanımını faz I çalışmalarda gösterilmiş olmasına rağmen minimal rezidüel hastalıklarda IL-12 çok daha etkili olabilir. IL-12'nin adjuvan terapi olarak uygulanması, primer solid tümörlerin cerrahi rezeksiyonundan sonra ve induksiyon kemoterapisinden sonra tam remisyonda olan hematolojik malignensili hastalarda ve hastalığın tekrarlama riski yüksek olanlarda araştırma halindedir. Aynı şekilde otolog veya allojenik kemik iliği transplantasyonundan sonra minimal rezidüel hastalığı olan veya periferik stem hücre transplantasyonlu hastalar da IL-12 klinik çalışmaları için uygun aday olabilirler. Preklinik veriler IL 12'nin, immünmodulatör sitokinler, immünkompetan hücrelerin adoptif transferi veya sitokin sekrete eden ve de kostimulatör molekülleri eksprese olan tümör hücreleri ile aşılama gibi diğer immün manipulasyonlar ile birlikte kullanımını desteklemektedir. Uygun bir şekilde düzenlenecek olan faz II, faz III klinik çalışmaları IL 12'nin kanser immünoterapisindeki kullanımının etkililiğini belirlemede mutlaka gerekli olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Stem AS, Magram J, Presyky DH. IL-12 an integral cytokine in the immune response. *Life-Sci* 1996;58(8):639-54.
2. Brunda MJ, Gately MK. Interleukin-12: potential role in cancer therapy. In: Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, ed. *Important Advances in Oncology* 1995. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1995:3-18.
3. Merberg DM, Wolf SF, Clark SC. Sequence similarity between NKSF and the IL-6/G-CSF family. *Immunol Today* 1992;13:77-8.
4. Pignata C, Prasad KV, Hallek M, et al. Phosphorylation of src-family lck tyrosine kinase following interleukin-12 activation of human natural killer cells. *Cell Immunol* 1995;165:211-6.
5. Ihle JN. Cytokine receptor signalling. *Nature* 1995;377:591-4.
6. Bacon CM, McVicar DW, Ortaldo JR, et al. Interleukin-12 (IL-12) induces tyrosine phosphorylation of JAK2 and TYK2: differential use of Janus family tyrosine kinases by IL-2 and IL-12. *J Exp Med* 1995;181:399-404.
7. Jacobson NG, Szabo SJ, Weber KM, et al. Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activation of transcription (Stat) 3 and Stat 4. *J Exp Med* 1995;181:1755-62.
8. Pignata C, Prasad KVS, Robertson MÖ, et al. FcγRIII-mediated signaling involves src-family lack in human natural killer cells. *J Immunol* 1993;151:6794-800.
9. Kubin M, Chow JM, Trinchieri G. Differential regulation of interleukin-12, TNF alpha, and IL-1 beta production in human myeloid leukemia cell lines and peripheral blood mononuclear cells. *Blood* 1994;83:1847-55.
10. Ling P, Gately MK, Gubier U, et al. Human IL-12 p40 homodimer binds to the IL-12 receptor but does not mediate biologic activity. *J Immunol* 1994;154:116-27.
11. Aragane Y, Riemann H, Bhardwaj RS, et al. IL-12 is expressed and released by human keratinocytes and epidermoid carcinoma cell lines. *J Immunol* 1994;153:5366-72.
12. Macatonia SE, Hosken NA, Littion M, et al. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *J Immunol* 1995;154:5071-9.
13. Cassatella MA, meda LM, Gasperini S, et al. Interleukin-12 production by human polymorphonuclear leukocytes. *Eur J Immunol* 1995;25:1-5.
14. Gollob JA, Li J, Reinherz EL, et al. CD2 regulates responsiveness activated T cells to IL-12. *J Exp Med* 1995;182:721-31.
15. Brunda MJ, Luistro L, Hentzrak JA, et al. Role of interferon-gamma in mediating the antitumor efficacy of interleukin-12. *J Immunother* 1995;17:71-7.
16. Zitvogel L, Mayardoma J, Deleo AB, et al. Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cell. *J. Exp. Med* 1996;183(1):87-97.
17. Coughlin CM, Wysocka M, Kurzawa HL, et al. B7-1 and IL-12 synergistically induce effective antitumor immunity. *Cancer Res* 1995;55(21):4980-7.
18. Gajewski TF. B7-1 but not B7-2 efficiently costimulates CD8 T lymphocytes in the P815 tumor system in vitro. *J Immunol* 1996;156(2):465-72.
19. Robertson MJ, Rits J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. *Blood* 1990;76:2421-38.
20. Gumpartz JE, Parham P. The enigma of the natural killer cell. *Nature* 1995;378:245-8.
21. Trinchieri G. Recognition of major histocompatibility complex class I antigens by natural killer cells. *J Exp Med* 1994;180:417-21.
22. Chouaib S, Chehimi J, Bani L, et al. IL-12 induces the differentiation of major histocompatibility complex class I-primed cytotoxic T lymphocyte precursors into allospecific cytotoxic effectors. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994; 91:12659-63.
23. Chen YM, Peng J, Yang WK, et al. Lack of NK cell and related cytokine in pleural effusion. *Chung Hua Taipei* 1996;58(3):156-62.
24. Gallop JA, Ritz J. CD-CD58 interaction and control of T cell IL 12 responsiveness. *Ann Acad Sci.* 1996;725:71-81.
25. Hanagiri T, Takenoyama M, Yoshimatsu T, et al. Effect of IL 12 on in vitro culture with IL 2 of regional lymph node lymphocytes from lung cancer patients. *Cancer Immunol* 1996;43(2):87-93.
26. Paul WG, Seder Ra. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell* 1994;76:241-51.
27. Trinchieri G. IL-12 and its role in the generation of Th1 cell. *Immunol Today* 1993;14:335-8.
28. Kaido TJ, Maury C, Gresser I. Host CD4 T lymphocytes are required for the synergistic action of IFN. *Cancer Res* 1995;55(24):6133-9.
29. Hiaro A, Takaue Y, Kawano Y, et al. Synergism of interleukin 12, interleukin 3, and serum factor on primitive human hematopoietic progenitor cells. *Stem Cell* 1995;12:47-53.
30. Jackson JD, Yan Y, Brunta MJ, et al. IL-12 enhances peripheral hematopoiesis in vivo. *Blood* 1995;85:2371-6.
31. Eng VM, Car BD, Schnyder B, et al. The stimulatory effects of IL-12 on hematopoiesis are antagonized by IL-12-induced interferon in vivo. *J Exp Med* 1995;85:1893-8.
32. Bree AG, Schlerman FJ, Kaviani MD, et al. Multiple effects on peripheral hematology following administration of recombinant human IL-12 to non human primates. *Biochem Biopsy Res* 1994;204:1150-70.
33. Rook AH, Kubin M, Cassin M, et al. IL 12 reverses cytokine and immune abnormalities in Sezary syndrome. *J Immunol* 1995;154:1491-8.
34. Calliguri MA, Murray C, Robertson MJ, et al. Selective modulation of human NK cells in vivo after prolonged infusion of low dose recombinant IL-12. *J Clin Invest* 1993;91:123-32.

35. Hill L, Perussia B, McCue PA, et al. Effect of human NK cells on the metastatic growth of human melanoma xenografts in mice with SCID. *Cancer Res* 1994;54:763-70.
36. Azzoni L, Kanakaraj P, Perussia B. IL12 induced activation of NK and T cell occurs in the absence of immediate-early activation gene expression. *J Immunol* 1996;157(8):3235-41.
37. Mu J, Zou J-P, Yamamoto N, et al. Administration of rIL-12 prevents outgrowth of tumor cells metastasing spontaneously to lung and lymph nodes. *Cancer Res* 1995; 55:4404-8.
38. Zou J-p, Yamamoto N, Fuji T, et al. Systemic administration of rIL-12 induces complete tumor regression and protective immunity: response is correlated with a striking reversal of suppressed IFN gama production by antitumor T cell. *Int Immunol* 1995;7:1135-45.
39. Neguchi Y, richards EC, Chen YT, et al. Influence of IL-12 on p53 peptide of IL-12 on p53 eptide vaccination aganist established Meth A sarcoma. *Proc Natl Acat Sci USA* 1995;92:2219-23.
40. Coughlin CM, Wysocka M, Kurzawa HL, et al. B7-1 and IL-12 synergistically induce effective antitumor immunity. *Cancer Res* 1995;55:4980-7.
41. Sykes M, Szot GL, Nguyen PL, et al. IL-12 inhibits murine growth-versus-host disease. *Blood* 1995-86:2429-38.
42. Verbik DJ, Stinson W, Brunda MJ, et al. Therapeutic effects of in vivo administration of IL-12 aganist residual lymphoma. *Cancer Res* 1995;36:480-7.
43. Martinotti A, Stoppacciaro A, Vagliani M, et al. CD4 T cells inhibit in vivo the CD8-mediated immune response aganist murine colon carcinoma cells transduced with IL-12 genes. *Eur J Immuno* 1995;25:137-46.
44. Voest EE, Kenyon BM, O'Reilly MS, et al. Inhibition of angiogenesis in vivo by IL-12. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:581-6.
45. Ross ME, Çalıgueri MA. Cytokine induced apoptosis of human NK cell identified a novel mechanism to regulate the innate immune responce. *Blood* 1997;89(3):910-8.
46. Citvogel L, Tahara H, Robbins PD, et al. Cancer immunotherapy of established tumors with IL-12: effective deliveryby genetically engineerede fibroblasts. *J Immunol* 1995;55:1393-403.
47. Pappo I, Tahara H, Robbins PD, et al. Administration of systemic or local IL-12 enhances the anti-tumor effects of IL-12 gene therapy. *J Surg Res* 1995;58:218-26.
48. Dahara H, Lotze MT. Antitumor effects of IL-12 applications for the immunotherapy and gene therapy of cancer. *Gene Therapy* 1995;2:96-106.
49. Tahara H, Zitvogel L, Starkus WJ, et al. Murine models of cancer cytokine gene therapy using IL 12 .*Ann Acad Sci* 1996;795:275-83.
50. Atkins MB, Robertson M, Gordon MS, et al. Phase I evaluation of intravenous rhIL-12 in patients with advanced malignancies. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996;34:112-7.
51. Cohen J. IL-12 deaths: explanation and a puzzle. *Science* 1995;270:908-9.
52. Teicher BA, Ara G, Menon K. In vivo studies with IL-12 alone and combination with M-CSF. *Int J Cancer* 1996; 65(1):80-4.
53. Fallarino F, Boon T, Gajewski TF. Endogenous IL-12 is necessary for rejection of tumor variants in vivo. *J Immunol* 1996;156(3):1095-100.
54. Vagliani M, Rodolfo M, Cavallo F, et al. IL-12 potentiates the curative effect of a vaccine based on IL-2-transduced tumor cells. *Cancer Res* 1996;56:467-70.