

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

GLİAL TÜMÖRLERDE KAN VE TÜMÖR
MİKROÇEVRESİNDEKİ İNNATE LENFOİD HÜCRELERİN (ILC)
KARAKTERİZE EDİLMESİ

Hazırlayan
Şerife ERDEM

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ahmet EKEN

Doktora Tezi

EKİM 2021
KAYSERİ

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GLİAL TÜMÖRLERDE KAN VE TÜMÖR
MİKROÇEVRESİNDEKİ İNNATE LENFOİD HÜCRELERİN (ILC)
KARAKTERİZE EDİLMESİ
(Doktora Tezi)

Hazırlayan
Şerife ERDEM

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ahmet EKEN

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TDK-2019-9220 nolu proje ile desteklenmiştir.
(YÖK 100/2000 Tümör immünolojisi doktoraprogramı kapsamında burs almıştır)

EKİM 2021
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Şerife ERDEM

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Glial Tümörlerde Kan Ve Tümör Mikroçevresindeki İnate Lenfoid Hücrelerin (ILC) Karakterize Edilmesi” adlı Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Şerife ERDEM

Danışman

Doç. Dr. Ahmet EKEN

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Hamiyet ALTUNTAŞ

KABUL VE ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Ahmet EKEN danışmanlığında Şerife ERDEM tarafından hazırlanan **“Gliyal Tümörlerde Kan Ve Tümör Mikroçevresindeki İnnate Lenfoid Hücrelerin (ILC) Karakterize Edilmesi”** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji** Anabilim Dalı’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

/ /2021

İmza**JÜRİ:**

Danışman: Doç. Dr. Ahmet EKEN

Üye: Prof. Dr. Hamiyet ALTUNTAŞ

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Halil ULUTABANCA

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Aysun ADAN

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet YABAŞ

ONAY: Bu tezin kabulü Fakülte Anabilim Dalının tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

Prof. Dr. Bilal AAKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez projesinin planlanması, yürütülmesi ve yazılması hususlarında göstermiş olduğu destek ve yardımlarından ötürü, akademik hayatı bana öğreten yolumu aydınlatan örnek aldığım, tez danışmanım Erciyes Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Ahmet EKEN'e,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım yardımlarını asla esirgemeyen değerli Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı hocalarıma,

Bu tez projesinin tüm deney aşamalarını gerçekleştirmeme vesile olan GENKÖK yönetimine ve müdürü Prof. Dr. Yusuf Özkul'a,

YÖK 100/2000 doktora programı Tümör immünolojisi alanında doktora eğitimi almama vesile olan ve burs veren YÖK 100/2000 proje yetkilileri ve kurumuna, bursiyeri olduğum BİDEB 2211A destek programı için TÜBİTAK'a ve TDK-2019-9220 nolu proje kodu ile tez projemi destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tez çalışmalarımda yardımcı olan ekip arkadaşım Yeşim Haliloğlu'na ve tezde kullanılan insan dokularının sağlanmasında yardımcı olan beyin ve sinir cerrahı Dr. Öğr. Üyesi Halil Ulutabanca ve kulak burun boğaz ve baş boyun cerrahı Doç.Dr. Alperen Vural'a,

Bana duydukları güveni her daim hissettiren ve hep yanımda olan canım annem ve babam'a,

Doktoraya başlamama vesile olan beni her zaman yüreklendiren hayattaki en büyük şansım biricik eşim Hakan Erdem'e tüm içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte hep bana anlayış gösterip yaşından çok olgun davranarak hiç işimi zorlaştırmadığı, oyun saatlerinde benimle çalışmayı tercih ettiği için güzel kızım Nehir Erdem'e ithafen...

Şerife Erdem

Kayseri, Ekim 2021

GLİAL TÜMÖRLERDE KAN VE TÜMÖR MİKROÇEVRESİNDEKİ İNNATE LENFOİD HÜCRELERİN (ILC) KARAKTERİZE EDİLMESİ

Şerife ERDEM

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Ekim 2021

Doç.Dr. Ahmet EKEN

KISA ÖZET

Gliomalar, merkezi sinir sisteminin glia adı verilen destek hücrelerinden kaynaklanan en yaygın birincil beyin tümörleridir. IDH1 R132H mutasyonu, çeşitli hastalık evrelerindeki hastalarda önemli bir tanısal belirteç olan gliomadaki en yaygın mutasyonlardan biridir ve daha iyi prognoza işaret eder. ILC'ler yardımcı T hücrelerine benzer işlevlere ve fenotiplere sahiptir ve üç ayrı alt sınıfa ayrılır: ILC1, ILC2 ve ILC3.

Çalışmamızda donörlerden glial tümör ve tonsil biyopsileri (kontrol dokusu) (IDH1WT=9, IDH1MT=3, Tonsil=14) ve periferik kan (IDH1WT=12, IDH1MT=10, SK=20) alındı. Glial tümörü dokuları ve periferik kandaki ILC fenotipi karakterize edildi. ILC'ler insan tonsillerinden FACS AriaIII aracılığı ile izole edildi ve sitokinlerin varlığında ve yokluğunda WT/IDH1R132H mutant U-87MG hücre hatları veya süpernatantları ile birlikte kültürlenip ILC yüzey CTLA-4, KLRG-1, PD-1 ekspresyon seviyeleri, sitokin üretme kapasiteleri, hücre proliferasyonu analiz edildi.

IDH1MT insan glial tümör dokularındaki ILC1 düşük aynı zamanda kanlarında ve tümördeki ILC3 frekansının yüksek olduğu bulundu. İnsan IDH1WT ILC2 ve IDH1 MT ILC3'te yüksek PD-1 ifadesi varken IDH1WT ILC3'te artmış KLRG1 ifadesi ayrıca IDH1MT glial tümörü olan hastaların kan ILC1'lerinde azalmış CTLA-4 ifadesi vardı. IDH1 WT GBM hücreleri ile kültürlenen ILClerin yüzey PD-1, KLRG1 ve CTLA-4'ü IDH1 MT ile kültürlenenden önemli ölçüde daha yüksekti. ILC'ler, IDH1MT ile birlikte kültürlerde IDH1WT hücre hattından daha iyi proliferasyon gösterdiği bulundu. Son olarak IDH1WT veya IDH1MT GBM hücre hattı süpernatantlarına maruz kalan ILC'ler

tarafından IFN γ , IL-2, IL-17, TNF α üretiminin ko-kültür yapılmayan ILC'lere kıyasla arttığı gösterildi.

Bu çalışmada verilerimiz, hem birincil tümörlerde hem de kültür koşullarında IDH1 MT glial tümör mikro ortamının IDH1WT tümör mikro ortamına göre daha az bağışıklık baskılayıcı olduğunu göstermiştir ve IDH1 mutant GBM hastalarının daha iyi prognozunu açıklamaya yardımcı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Glial tümör; innate lenfoid hücre; U87MG/IDH1 MT GBM hücre hattı



CHARACTERIZATION OF INNATE LYMPHOID CELLS (ILC) IN THE BLOOD AND TUMOR MICROENVIRONMENT IN GLIAL TUMORS

Şerife ERDEM

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Medical Biology

Doctoral Thesis, October 2021

Supervisor Associate Professor Ahmet EKEN

ABSTRACT

Gliomas are the most common primary brain tumors that arise from supporting cells of the central nervous system called glia. The IDH1 R132H mutation is one of the most common mutations in glioma, an important diagnostic marker in patients at various disease stages, and indicates a better prognosis. ILCs have functions and phenotypes similar to helper T cells and are divided into three distinct subclasses: ILC1, ILC2, and ILC3.

In our study, glial tumor and tonsillar biopsies (control tissue) (IDH1WT=9, IDH1MT=3, Tonsil=14) and peripheral blood (IDH1WT=12, IDH1MT= 10, HC=20) were obtained from donors. The ILC phenotype was characterized in glial tumor tissues and peripheral blood. ILCs were isolated human tonsils by FACS Aria III and cultured together with WT/IDH1R132H mutant U-87MG cell lines or their supernatants in the presence and absence of cytokines to express ILC surface CTLA-4, KLRG-1, PD-1. levels, cytokine production capacity, cell proliferation were analyzed.

IDH1 MT human glial tumor tissues were found to have less ILC1 but also high frequency of ILC3 in their blood and tumor. There was increased PD-1 expression in human IDH1WT ILC2 and IDH1MT ILC3, while increased KLRG1 expression in IDH1WT ILC3 and decreased CTLA-4 expression in blood ILC1 of patients with IDH1 MT glial tumor. Surface PD-1, KLRG1 and CTLA-4 of ILCs cultured with IDH1WT GBM cells were significantly higher than those cultured with IDH1MT. ILCs proliferated better than the IDH1WT cell line in co-cultures with IDH1 MT. Finally the production of IFN γ , IL-2, IL-17, TNF α by ILCs exposed to IDH1WT or IDH1MT GBM cell line supernatants was increased compared to non-co-cultured ILCs.

In this study, our data showed that the IDH1MT glial tumor microenvironment was less immunosuppressive than the IDH1WT tumor microenvironment in both primary tumors and culture conditions, and may help explain the better prognosis of IDH1 mutant GBM patients.

Keywords: Glial tumor; innate lymphoid cell; U87MG/IDH1 MT GBM cell line



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
KISA ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xiv
TABLolar LİSTESİ.....	xvi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvii
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Innate Lenfoit Hücreler (Innate lymphoid cell: ILC)	4
2.1.1.Tanımlanması, Gelişimi ve Sıklığı	4
2.1.2. ILC1	7
2.1.3. ILC2	8
2.1.4. ILC3	10
2.1.5. ILC Platisitesi.....	11
2.1.6. ILC Platisitesitesinin Tümör immünitesi ve immünoterapisindeki rolü	13
2.1.7. ILC’lerin diğer hastalıklarla ilişkisi	15
2.1.7.1. Astım ve ILC	15
2.1.7.2. Multipl skleroz (MS) ve ILC.....	16
2.1.7.3. İltihaplı bağırsak hastalıkları (IBD; Inflammatory bowel diseases) ve ILC	17
2.1.7.4. Sedef hastalığı ve ILC	18
2.1.7.5. Viral ve bakteriyel enfeksiyonlar ve ILC	19

2.1.7.6. Kanser ve ILC	20
2.1.8. ILC'lerin terapötik kullanımı	23
2.2. Merkezi sinir sistemi hücreleri	25
2.2.1. Merkezi sinir sistemi tümörlerinin sınıflaması	26
2.2.2. Gliomların Epidemiyolojisi	30
2.2.4. Moleküler belirteçler ve patogeneze.....	32
2.2.5. İzositrat Dehidrogenaz Enzimi 1 ve 2 (IDH1/IDH2).....	33
2.2.6. Glial Tümörler İçin Güncel Tedavi Yöntemleri	35
2.2.6.1. Cerrahi rezeksiyon	35
2.2.6.2. Radyoterapi.....	35
2.2.6.3. Kemoterapi.....	36
2.2.6.4. İmmunoterapi.....	36
2.2.2. Kanserde İmmün Gözetim	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. GEREÇLER	40
3.1.1. Kullanılan Demirbaşlar	40
3.1.2. Sarf Malzemeler.....	41
3.1.3. Kimyasal Malzemeler	41
3.2. YÖNTEM.....	42
3.2.1. Hastaların seçimi.....	42
3.2.2.1 Glial tümör dokularından lenfosit elde edilmesi	44
3.2.2.2 Periferik kandan lenfosit elde edilmesi	45
3.2.2.3 Tripan blue boyamasıyla canlı hücre sayısının belirlenmesi	45
3.2.2.4 Elde edilen lenfositlerin dondurulması	45
3.2.2.5. Dondurulmuş lenfositlerin çözündürülmesi	46

3.2.2.6. Tümör mikroçevresi ve periferik kandan elde edilen lenfositlerin içerisindeki ILC popülasyonunun total yüzdesinin ve mutlak sayılarının (absolute number) belirlenmesi	46
3.2.2.7. Tümör mikroçevresi ve periferik kandan elde edilen lenfositlerin içerisindeki ILC'lerin işlevselliğini sitokin üretme kapasitesine göre belirlenmesi	46
3.2.2.8. PD-1, CTLA-4 ve KLRG1 gibi kontrol noktası moleküllerin ILC'lerde yüzey boyaması yapılarak kantifiye edilmesi	48
3.2.3.1. U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatlarının çoğaltılması	48
3.2.3.2. U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatları ile ILC'lerin ko-kültürü	50
3.2.3.3. U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatları süpernatantları ile ILC'lerin ko-kültürü	51
3.2.3.4. Hücre içi boyama ile sitokin üretim kapasitesinin tayini	52
3.2.3.5. PD-1, CTLA-4 ve KLRG1 gibi kontrol noktası molekülleri ex-vivo ILC'lerde yüzey boyaması yapılarak kantifiye edilmesi	52
3.2.3.3. nolu bölümde yazılan GBM hücre hattı ile ko-kültür yapılan ILC'ler 3 günün sonunda yeniden PD-1, CTLA-4 ve KLRG1 antikorları ile yüzey boyaması gerçekleştirilerek analizleri flow sitometri ile yapıldı.	52
3.2.4. İstatistik analiz	52
4. BULGULAR.....	53
4.1. IDH1 MT ve WT insan glial tümör dokularında ILC'lerin frekansı.....	53
4.2. IDH1 mutant/wt insan glial tümörlü hastaların kanlarındaki ILC'lerin frekansı .	55
4.3. İnsan glial tümör doku ILC'lerinin kontrol noktası ifadesi	57
4.4. Glial tümörlü hastaların periferik kan ILC'lerinin kontrol noktası ifadesi	59
4.5. ILC-IDH1 MT veya -IDH1 WT hücre hattı ko-kültürlerinde ILC kontrol noktası inhibitörlerinin ifadesi	61
4.6. IDH1 MT veya IDH1 WT hücre hattı süpernatantlarına maruz kaldıktan sonra ILC kontrol noktası inhibitörü ifadesi	63

4.7. GBM Hücre hattı süpernatantı ile ko-kültür yapılan ILC'lerin sitokin üretim kapasitesi	65
4.10. ILC- IDH1 MT veya IDH1 WT hücre hattı ko-kültürlerinde ILC proliferasyon yeteneğinin belirlenmesi.....	68
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	70
6. KAYNAKLAR	79

EKLER

ÖZGEÇMİŞ



KISALTMALAR ve SİMGELER

ILC	: Innate Lymphoid Cells
NK	: Natural Killer
IDH1	: İzositraz dehidrogenaz 1
MT	: Mutant
WT	: Wild type/Yabanıl tip
CD	: Cluster of Differentiation
FBS	: Fetal Bovin Serum
IBD	: Inflammatory Bowel Hastalığı
IFN- γ	: Interferon γ
IL	: Interlökin
IRF4	: Interferon Regulator Factor 4
JAK	: Janus Kinaz
MFI	: Median Fluorescence Intensity
ml	: Mililitre
μ l	: Mikrolitre
SSS	: Santral Sinir Sistemi
PI3K	: Phosphoinositide 3-Kinas
RA	: Romatoid Artrit
ROR γ t	: RAR-related Orphan Reseptor γ
TGF- β	: Transforming Growth Factor β
CLP	: Common Lymphoid Progenitors
LTI	: Lymphoid tissue-inducer cells

NFIL3 : Nuclear Factor IL-3 Induced

ID2 : Inhibitor of DNA Binding 2

TOX : Thymocyte Selection-Associated High Mobility Group Box Protein

AHR : Aryl Hydrocarbon Receptor

GATA-3 : GATA binding protein 3

ROR γ T : RAR-related orphan receptor gt

Tbet : T-box transcription factor



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. İnsan ILC alt kümelerinin fenotipik belirteçleri.....	5
Tablo 2.2. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflaması	28
Tablo 2.3. Gliomlar, DSÖ kılavuzlarında gösterdikleri kötü prognoz derecesine göre sınıflandırılması ve özellikleri	32
Tablo 3.1. Hastaların demografik özellikleri.....	44



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	ILC'lerin Gelişimi.....	6
Şekil 2.2.	ILC1'lerin özellikleri.....	8
Şekil 2.3.	ILC2'lerin özellikleri.....	12
Şekil 2.4.	ILC3'lerin özellikleri.....	11
Şekil 2.5.	ILC'lerde plastisite	13
Şekil 2.6.	ILC2'lerin astımda patojenik ve koruyucu işlevleri	16
Şekil 2.7.	Farklı tümörlerde ILC'lerin dinamik davranışının ve bunların TME ile etkileşimlerinin şematik gösterimi	22
Şekil 2.8.	Periferik ve merkezi sinir sisteminde glial hücre tipleri.....	25
Şekil 2.9.	Diffüz gliomaların histolojik ve genetik özelliklere dayalı olarak sınıflandırılması için basitleştirilmiş bir algoritma	30
Şekil 2.10.	IDH mutant gliomalarında 2HG üretiminin şematik gösterimi: 2HG birikimi, mutant IDH1'in sitoplazmasında ve mutant IDH2 gliomalarının mitokondrilerinde görülür. 2HG ayrıca mutant IDH gliomalarında glutaminden türetilir.....	33
Şekil 2.11.	Kanserde immün gözetim ve immün düzenleme	39
Şekil 3.1.	Hastaların grade-cinsiyet ve grade-yaş grafikler.....	43
Şekil 3.2.	Deney Tasarımı	50
Şekil 4.1.	IDH1MT insan glial tümör dokularında IDH1WT grubuna kıyasla ILC1'i frekansı az ve ILC3 frekansı yüksek bulundu.....	54
Şekil 4.2.	IDH1MT glial tümörü olan hasta kanı IDH1WT grubuna kıyasla yüksek ILC3 içeriyordu.....	56
Şekil 4.3.	İnsan IDH1 WT ILC2 ve IDH1 MT ILC3'te artmış PD-1 ifadesi varken IDH1 WT ILC3'te ise KLRG1 ifadesinin arttığı bulundu.....	58
Şekil 4.4.	IDH1 MT glial tümör hastalarının kan ILC1'lerinde azalmış CTLA-4 ifadesi bulundu.	60
Şekil 4.5.	IDH1 WT GBM hücreleri ile tonsil ILC'lerin ko-kültürü, yüzey PD-1, KLRG1 ve CTLA-4'ü IDH MT'den önemli ölçüde daha fazla artırdı.	62
Şekil 4.6.	IDH1 MT GBM hücre hattının süpernatantında ILC'lerin kültürlenmesi,...	64

- Şekil 4.7.** IDH1 WT veya IDH1 MT GBM hücre hattı süpernatantlarına maruz kalan ILC'ler tarafından TNF- α ve IL-2 üretimi artmıştır.....66
- Şekil 4.8.** IDH1 WT veya IDH1 MT GBM hücre hattı süpernatantlarına maruz kalan ILC'ler tarafından IL-17 ve IFN γ üretimi artmıştır.67
- Şekil 4.9.** IDH1 WT veya IDH1 MT GBM hücre hattı süpernatantlarına maruz kalan ILC'ler tarafından GM-CSF üretimi aynı kalmıştır.68
- Şekil 4.10.** ILC'ler, IDH1 MT ile birlikte kültürlerde IDH1 WT hücre hattından daha iyi çoğalır..69



1.GİRİŞ ve AMAÇ

Gliomlar, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kılavuzlarında gösterdikleri kötü prognoz derecesine göre evre I'den evre IV'e kadar sınıflandırılırlar, fenotipik ve moleküler olarak farklı birkaç tümör tipinden oluşur ve en sık teşhis edilen primer beyin neoplazmaları grubudur (Louis ve ark., 2016). Sınıflandırmada 1, 2 düşük dereceli; 3, 4 malignitesi fazla yüksek dereceli glial tümör olarak sınıflandırıldı. En sık görülen gliom türleri şunları içerir: astrositom (DSÖ derece I-IV), oligodendroglioma (DSÖ derece II-III) ve oligoastrositomlar (DSÖ derece II-II). Gliomalar tipik olarak malign olmasına rağmen, tüm tipler sürekli olarak malign bir şekilde davranmaz. Düşük dereceli olan hastalarda sağkalım süreleri verilen tedaviye yanıtları, klinik özellikleri ve görüntülemelerde farklılıklar gösterirler. Derece 1 ve 2'deki glial tümörler beyin dokusundan kaynaklananların %15'ini oluşturur ve hastaların 10 yıllık sağkalım %50'nin altındadır. Cerrahi işlemle çıkarılan tümör dokusuna rağmen yaşam süresindeki bu oran glial tümörlerin çevre dokuya yayılmasıyla ilgilidir. Tüm gliomaların yaklaşık %55'i evre IV glioblastoma (GBM) olarak sınıflandırılır (Verdecchia ve ark., 2002). GBM iki farklı şekilde gelişebilir. Bunlardan ilki daha çok yaşlı insanlarda gözükür ve klinik tablosu daha kısa olan primer GBM'dir. İkincisi ise düşük derece glial tümörlerin ek malign olaylardan sonra dönüşen hücrelerden oluşan genç erişkinlerde görünen sekonder GBM'dir. DSÖ sınıflamasında primer GBM en malign seyirli olan türdür ve tedavi uygulanmadığı durumda sağkalım beklentisi sadece birkaç aydır (Louis ve ark., 2016).

Glial tümörler kendi içerisinde farklı tipler göstermekle birlikte patogeneizde moleküler genetik, epigenetik ve immünolojik mekanizma bozuklukları görev alır. Bu değişikliklerin aşağı yönlü etkileri, tümörijenезi, proliferasyonu, invazyonu ve apoptozu düzenleyen karmaşık sinyal yollarını ve protein-protein etkileşimlerini modüle eder. Yıllar içerisinde yapılan çeşitli araştırmalar izositrat dehidrojenaz (IDH1/2) , 1p19q ortak delesyonu, Telomeras revers transkriptaz (TERT) ve O(6)-metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) promotör metilasyonu, Glioma CpG adacıkları metilatör

fenotip (G-CIMP) metilasyonu, Epidermal growth faktör reseptör (EGFR) değişimleri, BRAF V600E mutasyonları ve histon mutasyonları gibi çeşitli moleküler belirteçlerin gliomada prognostik öneme sahip olduğunu ortaya koymuştur (Hambardzumyan, 2015).

IDH1 VE IDH2 genleri tarafından kodlanan İzositrat dehidrogenaz enzimi metabolik birçok farklı işleve sahiptir. IDH1 ve IDH2 hücreyi çeşitli hasarlara karşı korur. IDH1 ve IDH2 mutasyonlarının akut miyeloid lösemi, kondrosarkom, tiroid kanserleri, malign gliomlarda bulunduğu tespit edilmiştir. IDH1 geninde en sık görülen mutasyon 132. arjinin değişimleridir. Hem grade 2 ve 3 gliomlarda hem de sekonder glioblastomlarda sık sık görülen bu değişim, primer glioblastom ve diğer kanserlerde daha az görülmektedir.

Burnet ve Thomas 1950’li yıllarda immün gözetim (immunosurveillance) teorisi ile immün hücrelerin oluşmaya başlayan transforme hücreleri tanınması ve ortadan kaldırması fikrini ortaya çıkarmıştır. Bu yılları takip eden çalışmalar bu immün gözetim teorisinin aslında hikâyenin sadece bir parçası olduğunu ve “kanser immünoediting” olarak bilinen kavramsal bir modelin olayı daha iyi tanımlayacağını düşündüler. Bu modele göre hem doğal hem de adaptif immünitinin tümörü yok etme ve tümör immünojenitesini şekillendirmede çok yönlü rol oynadığı görüşüne güçlü destek sağlamaktadır (Mittal ve ark., 2014; Vesely, 2013).

2008 yılında birbirinden bağımsız birkaç laboratuvar daha önce bilinmeyen Naturel Killer (NK) hücrelerden farklı ve aranjmanı tamamlanmış T ve B hücre reseptörlerini yüzeyinde taşımayan lenfoid kökenli hücre alt kümelerini tanımladılar ve doğal lenfoid hücre (innate lymphoid cell: ILC) olarak adlandırdılar (Barrow ve ark., 2018; Luci ve ark., 2009; Sanos ve ark., 2009; Hoorweg ve ark., 2012; Moro ve ark., 2010; Buonocore ve ark., 2010; Neill ve ark., 2010). Kısa sürede ILC’ler NK hücrelerini de içine alan heterojen bir doğal bağışıklık hücre grubu olarak tanımlandı. NK dışındaki sitotoksik özelliği olmayan popülasyon yardımcı ILC’ler olarak sınıflandırıldı. ILC’ler, ortak lenfoid progenitörden (CLP) türetildikleri için ‘lenfoid’ hücreler olarak kabul edilir. Üç ana ILC grubu, imza sitokinleri, gelişim gereksinimleri ve fenotipik belirteçlerin üretimindeki benzerlik temelinde tanımlanmıştır (Panda, 2019). Salgıladıkları özel sitokinlere, benzersiz hücre yüzeyi belirteç dizilerine ve kendilerine özel transkripsiyon faktörlerine bağlı olarak yardımcı ILC’ler genel olarak 3 türe ayrılmıştır: ILC1 grubuna hem sitotoksik NK hücreleri hem de sitotoksik özelliği olmayan Th1’in benzerleri olarak kabul edilen yardımcı ILC1’ler dâhil edilmiştir. Th2’nin benzerleri olarak kabul edilen hücreler ILC2’leri ve Th17 benzerleri olan ILC’ler ILC3’leri oluşturur. Doğal

öldürücü hücreler (NK) doğuştan gelen lenfositlerdir ve bu nedenle CD8⁺ T hücrelerinin doğuştan gelen benzerleri olarak kabul edilirken (Trabanelli ve ark., 2011) sitotoksik olmayan ILC'ler de yardımcı CD4⁺ T hücrelerinin innate karşılığı olarak düşünülmüştür. Genel olarak yardımcı ILC'ler, IL-7 reseptörünün α -zinciri CD127'yi ifade eder ve tipik olarak sitotoksik değildir (Jiao ve ark., 2016).

İnsan ILC'lerinin tümör mikroçevresine nasıl katkıda bulunduğu ve potansiyel antikanser tedavileri için ne gibi etkileri olabileceği hala önemli bilinmezler arasındadır. Bu bilinmezlerin sebepleri arasında; henüz yeni keşfedilmiş bir hücre grubu olması, hetorejen bir hücre grubu oluşu (birden fazla farklı fonksiyona sahip alt tipi oluşu), alt gruplarının farklı çevresel ortamlarda birbirine dönüşme yeteneklerinin olması (plastisite), son olarakta kanser kapsamında çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç olması sayılabilir.

Tüm bunlara ek olarak yaptığımız çalışma literatürde incelediğimiz kadarıyla ilkti, insan glial tümörler ile ILC ilişkisini konu alan bir çalışma bulunamadı. Biz hem insan glial tümörlerde (IDH1 MT/IDH1 WT) hem de insan GBM hücre hatlarında (IDH1 MT/IDH1 WT) ILC'leri karakterize etmeyi amaçlayarak literatürdeki bu açığa katkıda bulunmayı hedefledik. Bu hedefi gerçekleştirmek üzere çalışmamızda donörlerden glial tümör ve tonsil doku biyopsileri (IDH1 WT=9, IDH1 MT= 3, Tonsil=14) ve periferik kan (IDH1 WT=12, IDH1 MT= 10, sağlıklı kontrol=20) alındı. Tümör infiltrate edici lenfositler izole edildi. Glial tümörü olan hasta dokularındaki ILC fenotipi karakterize edildi. ILC'ler, cerrahi rezeksiyon ile alınan insan tonsillerinden FACS Aria III aracılığı ile izole edildi ve sitokinlerin (IL-7, IL-2, IL1 β , IL-23) varlığında ve yokluğunda WT veya IDH1 R132H mutant U-87MG hücre hatları ile birlikte kültürlendi. Aynı zamanda bu iki hücre hatlarından üretilen süpernatantlar da ILC'leri kültürlemek için kullanıldı. Ardından CTLA-4, KLRG-1, PD-1'in ILC'ler üzerindeki ekspresyon seviyeleri, sitokin üretme kapasiteleri ve hücre proliferasyonu analiz edildi.

Bu çalışmada verilerimiz, hem birincil tümörlerde hem de kültür koşullarında IDH1 MT glial tümör mikro ortamının IDH1 WT tümör mikro ortamına göre daha az bağışıklık baskılayıcı gibi görüldüğünü ortaya koymaktadır. Glial tümörlerle ilgili yapılan ilk çalışma olarak verilerimiz, IDH1 mutant GBM hastalarının daha iyi prognozunu açıklamaya yardımcı olabilir. Mekanizmayı tanımlamak için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Innate Lenfoit Hücreler (Innate lymphoid cell: ILC)

2.1.1. Tanımlanması, Gelişimi ve Sıklığı

Doğal öldürücü (Natural Killer: NK) hücreler 1975’de keşfedildi ve uzun yıllar boyunca adaptif B ve T hücrelerinin aksine, doğuştan gelen lenfosit dalının tek temsilcisi olarak kabul edildi (Kiessling ve ark., 1975). Virüslere karşı erken bağışıklık yanıtı aracılık etmekle birlikte kanser hücrelerine karşı bağışıklık cevabı da fonksiyonları arasındaydı. Ardından 1997’de keşfedilen ve embriyogenez sırasında lenf nodlarının oluşumu için gerekli olduğu bulunan, daha sonra doğumdan sonra da var olduğu ve bağışıklık düzenleyici özelliklere sahip olduğu hızla ortaya çıkan lenfoid doku indükleyici (Lymphoid Tissue Inducer: LTİ) hücreler de hızla kapsamlıca çalışıldı (Mebius ve Rennert, 1997; Cupedo ve ark., 2009). 2008 yılında birkaç birbirinden bağımsız laboratuvar daha önce bilinmeyen lenfoid kökenli hücre alt kümelerini tanımladılar ve doğal lenfoid hücre (innate lymphoid cell: ILC) olarak adlandırdılar (Barrow ve ark., 2018; Luci ve ark., 2009; Sanos ve ark., 2009; Hoorweg ve ark., 2012; Moro ve ark., 2010; Buonocore ve ark., 2010; Neill ve ark., 2010). Böylece ILC’ler NK hücrelerini ve sitotoksik olmayan yardımcı ILC’leri kapsayan doğal bağışıklık hücreleri olarak adlandırılıp sınıflandırıldılar. ILC’ler, ortak lenfoid progenitörden (CLP) türetildikleri için ‘lenfoid’ hücreler olarak kabul edilirler. Üç ana ILC grubu, imza sitokinleri, gelişim gereksinimleri ve fenotipik belirteçlerin üretimindeki benzerlik temelinde tanımlanmıştır (Panda, 2019). ILC alanındaki ilk tanımlanmaları esnasındaki önemli bir komplikasyon, bu hücreleri karakterize etmek için kullanılan şaşırtıcı sayıda farklı isimlerdir. Örneğin, mukozal dokularda tanımlanan IL-22 üreten ILC’ler, NK22 hücreleri, NKR-LTi hücreleri, NCR22 ve ILC22 hücreleri olarak adlandırılmıştır. Benzer şekilde, Th2 hücresi ile ilişkili sitokinler üreten ILC’ler, doğal yardımcı hücreler, nuositler ve doğuştan gelen yardımcı 2 (I_H2) hücreler olarak belirtilmiştir (Cella ve ark., 2009; Satoh-Takayama ve ark., 2010; Neill ve ark., 2010; Spits, 2011). Tablo 2.1

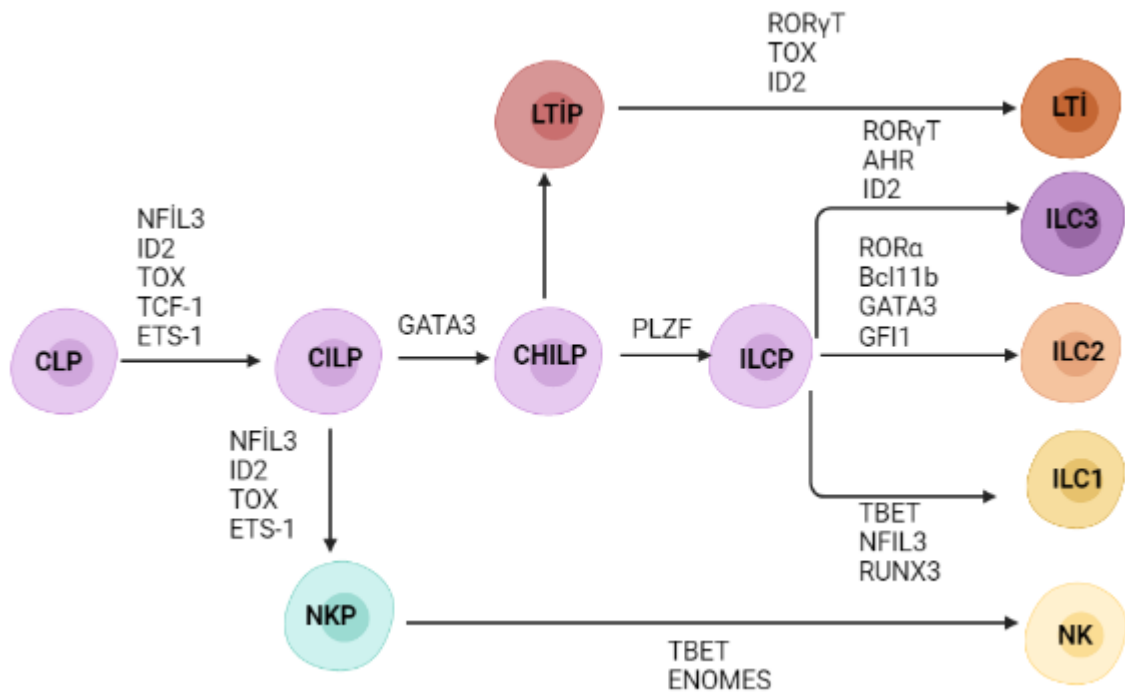
insanlarda şimdiye kadar bildirilen ILC popülasyonlarına ve bunları tanımlamak için kullanılmış olan hücresel belirteçlere genel bakış sağlar.

Tablo 2.1. İnsan ILC alt kümelerinin fenotipik belirteçleri (Spits ve ark., 2013) CRTH2: Th2 hücrelerinde ifade edilen (chemoattractant receptor-homologous molecule), ICOS: inducible T cell kostimulator, IL:interleukin, ILC: innate lymphoid cell, LTi: lymphoid tissue-inducer, NCR: natural cytotoxicity triggering receptor, ‡CD56hi CD16– hücreler CD25'i ifade eder. §:Tüm hücrelerde değil. ||: NKp44, aktive edilmiş ancak rest edilmemiş NK hücreleri tarafından eksprese edilir.

Belirteç (markır)	Grup 1 ILC'ler		Grup 2 ILC'ler		Grup 3 ILC'ler
	NK NCR+ILC3	ILC1	ILC2		LTİ
CD4	-	-	-	-	-
CD25	-/+‡	Düşük	Düşük	Bilinmiyor	Düşük
CD56	+	-	Bilinmiyor	-	%50
CD117(KIT)	-	-	+/-	+	+
CD127(IL7Ra)	-/+§	+	+	+	+
CD161	-/+§	+/-	+	+/-	+
NKP44(NCR2)	-/+	-	-	-	+
ICOS	Düşük	+	+	Bilinmiyor	+
NKp46(NCR1)	+	-	-	-	+
CRTH2	-	-	+	-	-
IL-1R	-	+	+	+	+
IL-23R	-	-	Bilinmiyor	+	+
IL-12Rb2	+	+	-	-	-
ST2(IL33R alt ünitisi)	-	-	+	-	-
IL-17RB (IL25R alt ünitisi)	-	-	+	-	-

Tanımlanan bu yeni ILC'lerin belirgin bazı özellikleri diğer hücrelerden ayırt etmede yardımcı olur: T ve B hücrelerinin aksine rekombinasyon aktive edici gen (RAG) -bağımlı yeniden düzenlenmiş antijen reseptörleri yoktur (Cortez, 2016), diğer lenfoid, miyeloid ve dendritik hücre fenotipik belirteçleri ifade etmez yani lineage negatiftir (Spits ve ark., 2013). ILC'ler ortak lenfoid progenitörlerinden (CLP) farklılaşırlar (Şekil 2.1). Bu progenitör (CLP) NFIL3, ID2, TOX, TCF-1, ETS1 transkripsiyon faktörlerinin ifadesi ile ortak doğuştan lenfoid progenitörlere (CILP) farklılaşır. Bu progenitör hem

NK hem de ILC yapabilir. NFIL3, ID2, TOX, ETS1 ile daha sonra Eomes ve/veya Tbet ifadesiyle NK hücre progenitörleri (NKP); GATA3'ün ifadesiyle ise ortak yardımcı doğuştan lenfoid progenitörlere (CHILP) farklılaşırlar. CHILP, NK dışında bütün ILC altitiplerinin köken alabildiği progenitördür. CHILP daha sonra PLZF ifadesiyle doğuştan lenfoid hücre progenitörlerine (ILCP) veya PLZF'den bağımsız olarak lenfoid doku indükleyici progenitörlere (LTiP) dönüşebilir. LTiP'ler, ROR γ T, TOX, ID2 transkripsiyon faktörlerinin ifadesiyle LTi'e ve ILCP'ler Tbet, NFIL3, RUNX3'ün ifadesiyle ILC1, ROR α , Bcl11b, GATA3 ifadesiyle ILC2 ve ROR γ T, AHR, ID2 ifadesiyle ILC3'e farklılaşır (Vivier ve ark., 2018; Eken ve Altuntas, 2017).



Şekil 2.1. ILC'lerin Gelişimi

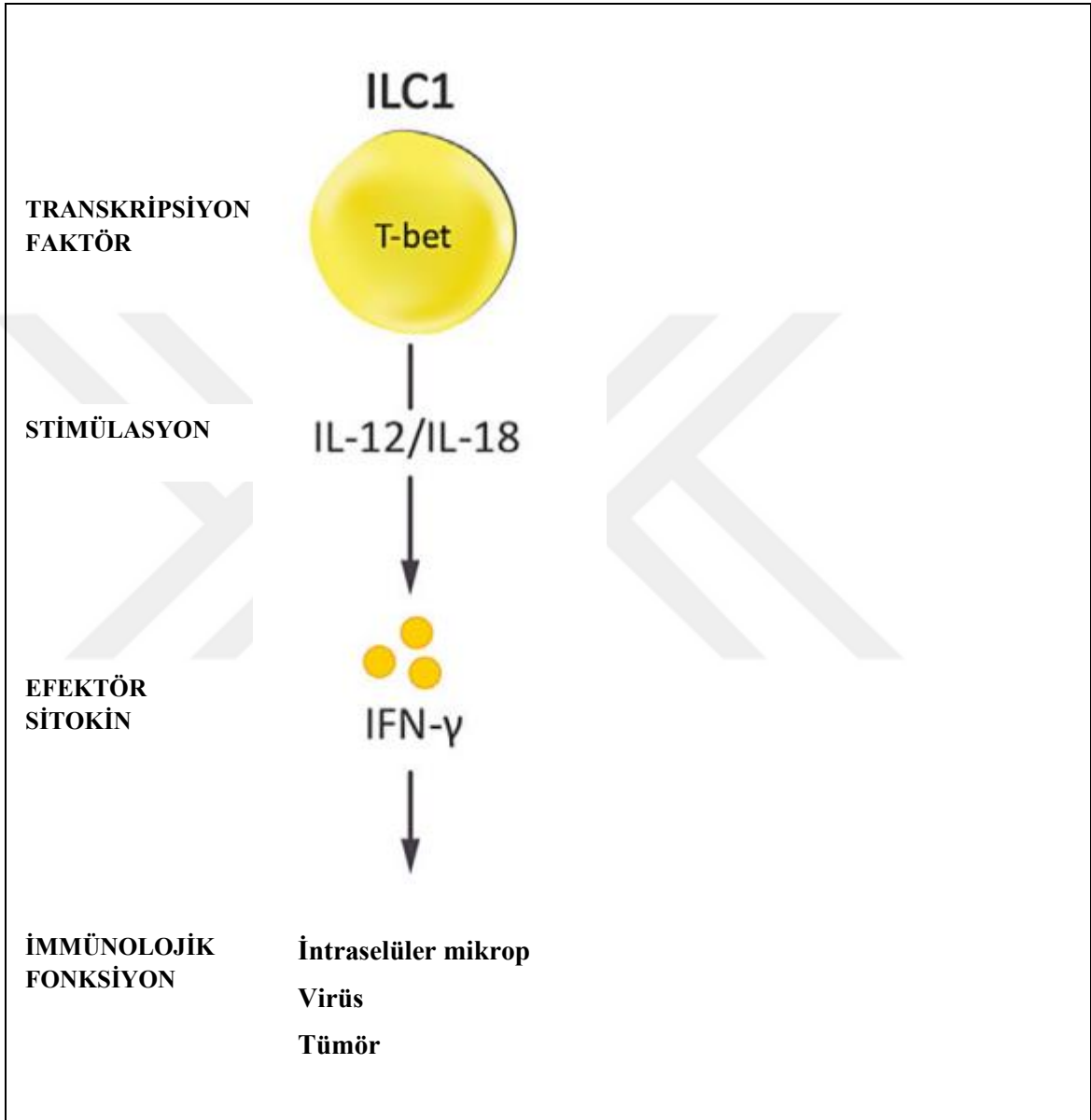
Salgıladıkları özel sitokinlere, benzersiz hücre yüzeyi belirteç dizilerine ve kendilerine özel transkripsiyon faktörlerine bağlı olarak yardımcı ILC'ler genel olarak 3 tipe ayrılmıştır: Th1'in benzerleri olarak kabul edilen ILC1'ler, Th2'nin benzerleri olarak kabul edilen ILC2'ler ve Th17 benzerleri olan ILC3'ler. Doğal öldürücü hücreler doğuştan gelen lenfositlerdir ve bu nedenle CD8⁺ T hücrelerinin doğuştan gelen benzerleri olarak kabul edilir (Trabanelli ve ark., 2011). Genel olarak yardımcı ILC'ler, IL-7 reseptörünün α -zinciri CD127'yi ifade eder ve tipik olarak sitotoksik değildir (Jiao et al., 2016).

ILC'ler, nispeten nadir görülen bir lenfosit türüdür. Dolaşım içinde, insan ILC'leri insan göbek kordonu kanında CD45+ hücrelerinin <%1'i veya toplam lenfositlerin <%0.5'ini oluşturur. Gastrointestinal dokular içinde, insan ILC'leri CD45+ hücrelerinin %1'ini oluşturabilir. Dikkat çekici bir şekilde, düşük frekanslara, antijen reseptörlerinin olmamasına ve (NK haricindeki ILC'lerin) sitotoksik fonksiyonun olmamasına rağmen, insan ILC'lerinin sağlığımız üzerinde büyük bir etkisi vardır (Vély ve ark., 2016; Krämer ve ark., 2017)

2.1.2. ILC1

NK hücreleri ve yardımcı ILC1'ler ILC1'lerin alt sınıfı olarak benzer ve farklı özellikleri olan iki ayrı hücre grubudur. Her iki hücre tipi de IL-12, IL-18 ve IL-15 sitokinlere yanıt olarak IFN- γ üretir (Şekil 2.2) (Aust ve ark., 2009). Bununla birlikte, bazı açılardan farklılık gösterirler, örneğin, yardımcı ILC1'ler ve NK hücreleri farklı yerlerde bulunur. NK hücreleri, kan ve dokular arasında yeniden dolaşırken çok sayıda bölgede bulunur. Yardımcı ILC1, dokuda yerleşik hücrelerdir (ve bu nedenle dokuda yerleşik NK hücreleri olarak da adlandırılır) ve karaciğer, bağırsak, dalak, deri, periton, rahim ve tükürük bezlerinde bulunur (Gao ve ark., 2017; Fuchs, 2016; Crotta ve ark., 2014). ILC1'leri, özellikle farelerde NK hücrelerinden ayırmak için sıklıkla kullanılan bir başka kriter, gelişimlerini yönlendiren transkripsiyon faktörlerine dayanmaktadır. Hobit (Mackay ve ark., 2016) ve T-bet (Klose ve ark., 2014), ILC1 gelişimini yönetirken, NK hücreleri EOMES ve T-bet'e (Robinette ve ark., 2015; Gordon ve ark., 2012; Daussy ve ark., 2014) bağlıdır. Farelerde grup 1 ILC'ler, NKp46 ve NK1.1 reseptörlerinin ekspresyonu ile diğer ILC'lerden fenotipik olarak ayırt edilir (Cortez, 2016). İkisini ayırt etmek için üçüncü bir kriter, farklı sitolitik potansiyellerine dayanmaktadır; NK hücreleri, ILC1'lerden daha fazla perforin ve granzimler gibi sitolitik aracı oluşturur (Bernink ve ark., 2013). Son olarak, ILC1'ler ve NK hücreleri çok benzer bir yüzey markörleri yelpazesi ifade etmelerine rağmen, CD49a, CD73 ve CD61'in farklı ekspresyonu iki hücre tipinin ayrılmasına yardımcı olabilir (Klose ve ark., 2014; Cortez et al., 2016). Hem ILC1'ler hem de NK hücreleri, IFN- γ salgılanması yoluyla hücre içi patojenlerle mücadelede önemli roller oynar. ILC1'ler, enfeksiyon sırasında, NK hücrelerinin kandan dokuya göçü ile sürdürülen acil bir doku IFN- γ kaynağı sağlar (Sun, 2011). NK hücreleri ayrıca viral olarak enfekte olmuş hücreleri ve tümör hücrelerini de lize eder, oysa yardımcı ILC1'lerin litik fonksiyonunun sınırlı olduğu düşünülse de bu konsept deneysel olarak gösterilmemiştir. İnsan ILC1'leri başlangıçta sağlıklı tonsil ve gastrointestinal sistemde Lin⁻CD127⁺CD117⁻CRTH2⁻

NKP44⁻, Tbet ekspresyonu olan ve IL-12 ve IL-18 aktivasyonunu takiben IFN- γ sekrete eden hücreler olarak tanımlandılar ayrıca intraepitelyal ILC1'ler CD103⁺NKP44⁺CD56⁺ olarak bilinirler (Bernink ve ark., 2013; Fuchs ve ark., 2013). İnsan sitotoksik olmayan ILC1'in fenotipik tanımı, c-Kit (CD117) ve CTRH2 (CD194) ifade etmeyen Lin⁻CD127⁺ hücreler olacaktır (Fuchs, 2013).

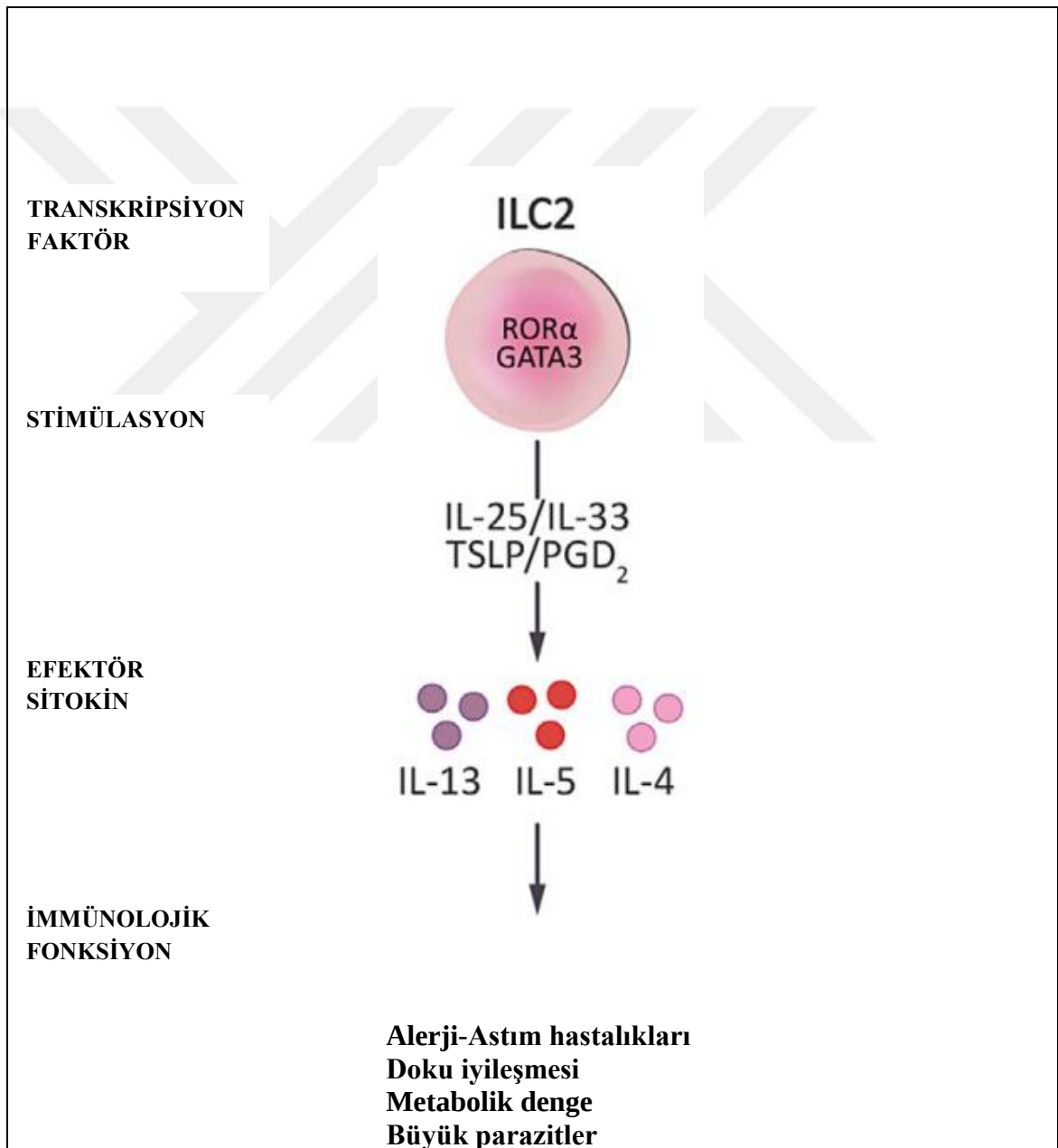


Şekil 2.2. ILC1'lerin özellikleri

2.1.3. ILC2

Th2 hücrelerinin doğal immünitede paralelinde yer alan ILC2'ler Lin⁻CD127⁺CRTH2⁺ olarak ifade edilen ve ilk olarak periferik kan ile nazal pulpalarda tanımlan dokuda yerleşik hücrelerdir (Şekil 2.3). GATA3 ve ROR α transkripsiyon faktörlerine bağlı gelişen bu hücrelerin imza sitokinleri tip 2 sitokinler olan IL-4, IL-5 ve IL-13'dür (Moro ve ark., 2010; Neill ve ark., 2010). IL-25, TSLP ve IL-33 sitokinlerine yanıt verirler (Moro ve ark., 2010; Vonarbourg ve ark., 2010). GATA3'ün yokluğu, bu

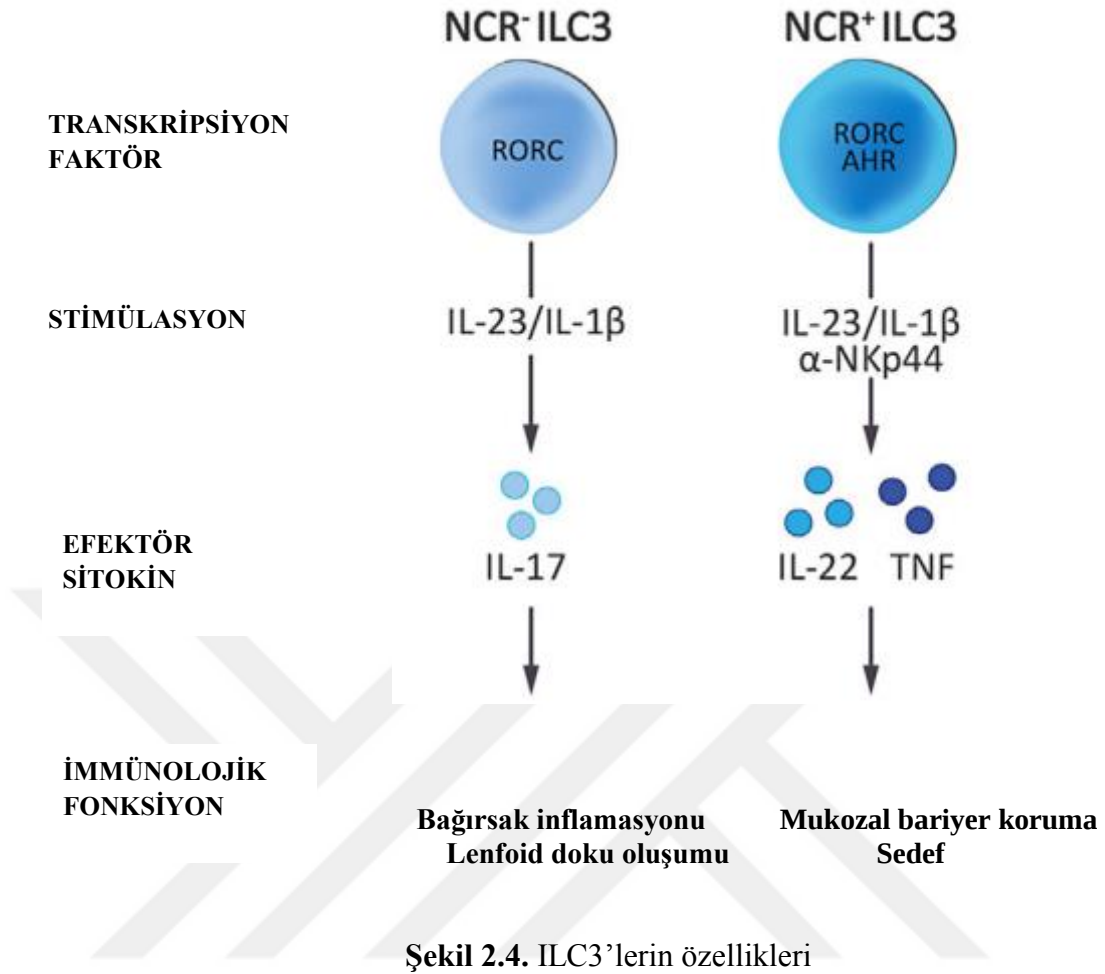
hücrelerin gelişimini ve işlevini engeller. ILC2'ler, helmint *Nippostrongylus brasiliensis* gibi parazitlere karşı doğal bağışıklık tepkisinde rol oynar (Vivier ve ark., 2018). Enfeksiyonu çözdükten sonra, ILC2'ler amphiregulin (AREG) üreterek hasarlı dokuları onarmaya yardımcı olur (Vallentin ve ark., 2015). Farelerde dokuda yerleşik ILC2'ler için klasik bir işaretçi, IL-33 reseptörünün bir bileşeni olan ST2 olmasına rağmen, insan periferik kanında bulunan ILC2'ler ST2'den yoksundur (Bal ve ark., 2016). ILC2'lerin, fare bağırsağında (Moro ve ark., 2010; Neill ve ark., 2010; Price ve ark., 2010) ve insan bağırsağında (Mjösberg ve ark., 2011), akciğerinde (Monticelli ve ark., 2011) ve derisinde (Kim ve ark., 2013; Salimi ve ark., 2013) olduğu gösterildi.



Şekil 2.3. ILC2'lerin özellikleri

2.1.4. ILC3

Üçüncü ILC alt grubu olan ILC3'ler, tipik olarak Th17/Th22 hücreleri tarafından üretilen sitokinleri, yani IL-17 ve IL-22'yi üretir. ILC3 $\text{Lin}^- \text{CD127}^+ \text{CD117}^+$ (ckit)⁺ olarak tanımlanır (Şekil 2.4). ILC3'ler doğal sitotoksikite reseptörlerinin (NCR) hücre yüzeyi ekspresyonu temelinde tanımlanan iki hücre alt grubunu içerir. NCR ailesi üç molekülden oluşur: insanlarda NKp30 (NCR3, CD337) ve NKp44 (NCR2, CD336) ve tüm memelilerde korunan tek NCR olan NKp46 (NCR1, CD335) (Vivier ve ark., 2011). ILC3, LT_i hücreler/NCR-ILC3ler/CCR6⁺ ILC3'ler ve NCR⁺ ILC3 hücrelerini içerir (De Grove ve ark., 2016). Fetüste, CCR6⁺NKp46⁻ ILC3'ler, gelişim sırasında lenfoid doku oluşumunu sağlayan lenfoid doku indükleyici (LT_i) hücrelere karşılık gelir. CCR6⁺NKp46⁺ ILC3'ler, IL-22'den daha fazla IL-17 üretir ve MHC sınıf II'yi eksprese eder, bu da bağırsak homeostazını destekleyen kommensal mikroplara karşı tolerojenik bir CD4⁺ T hücresi tepkisinin oluşumunu indükler (Robinette ve ark., 2015). CCR6⁻NKp46⁺ ILC3'ler ve bunların anlık CCR6⁻NKp46⁻ öncüleri IL-22 üretiminde uzmanlaşmıştır. Nükleer hormon reseptörü ROR γ t ekspresyonu, IL-17 ve IL-22 salgılayan ILC3'ün üretimi ve işlevi için gereklidir. ILC3'ler, IL-23 ve IL-1 β 'ya yanıt olarak IL-22 ve IL-17, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) üretir, bunlar doku homeostazı, onarım ve inflamasyonda rol oynar ve bu nedenle Th17'nin doğuştan gelen karşılıkları olarak kabul edilir. IL-22 epitelyal hücre antimikrobiyal ve onarım mekanizmalarını uyarırken (Bao ve ark., 2008), IL-17 granülopoezi ve nötrofillerin toplanmasını teşvik eder (Conti ve ark., 2009; Stark ve ark., 2005) . Farelerdeki ilk deneyler, ILC3'ün, IL-22 salgılaması yoluyla kommensal ve patojenik bakterileri kontrol etmede kritik bir rol oynadığını göstermiştir (Satoh-Takayama ve ark., 2008). İnsan çalışmaları, sedef hastalarının cildinde sağlıklı kontrollere göre daha yüksek oranda NCR⁺ ILC3 olduğunu ortaya çıkarmıştır (Villanova ve ark., 2014).



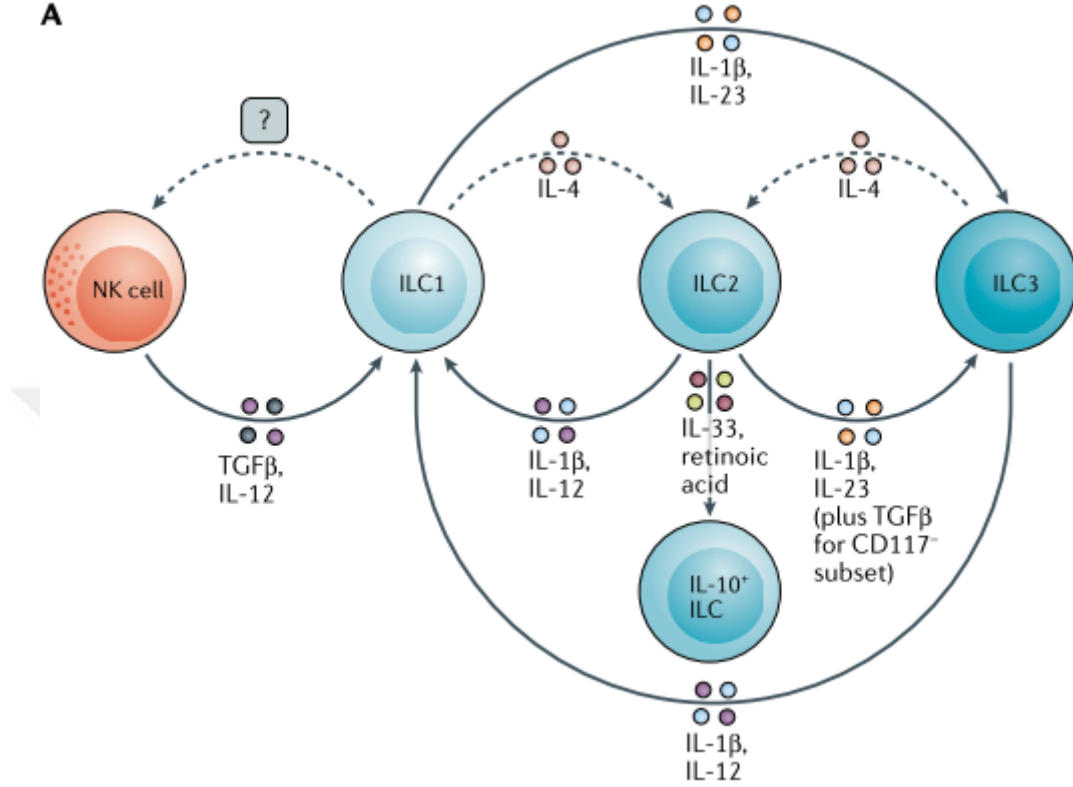
2.1.5. ILC Plastisitesi

T yardımcı hücre alt kümeleri gibi, ILC alt kümelerinin de belirli bir derecede plastisite sergilediğini gösteren kanıtlar artmaktadır. Plastisitenin meydana geldiği dokuda polarize edici sinyaller olarak sitokinler ILC'lerin plastikliğini düzenleyen kilit düzenleyiciler olarak görev yapar ve ILC'lerdeki anahtar transkripsiyon faktör değişiklikleri ILC alt kümeleri fenotipleri ve fonksiyonel kapasitelerinde farklılaşmaya neden olabilir (Şekil 2.5). (Vonarbourg ve ark., 2010). 2010 yılında farelerde yapılan fate-map ve adoptiv transfer çalışmaları bağırsak CCR6–NKp46– ILC3'lerinin, bir CCR6–NKp46⁺ ara ürünü aracılığıyla IFN-γ üreten NK1.1⁺NKp46⁺ ILC1'lere dönüşebileceğini göstermiştir. Bu süreç RORγt ifadesinde bir azalma (Vonarbourg ve ark., 2010), buna paralel bir T-bet artışı ve Notch sinyali gerektirir (Sciumé ve ark., 2012). Ayrıca dönüşüm için IL-1β, IL-15 ve IL-12 muhtemelen kritik faktörlerdir çünkü insan IL-22 üreten ILC3'leri, bu sitokinlerle *in vitro* kültürlenirse IFN-γ üreten ILC1 benzeri hücrelere dönüştürülebilir (Cella ve Otero, 2010). ILC2'lerin hem *in vitro* hem de *in vivo* IFN-γ üreten ILC1'lere dönüşebileceği gösterilmiş ve bu dönüşümün

gerçekleşmesi için T-bet ve IL-12 reseptörü (IL-12R) uyarılması gerektiği yine yapılan çalışmalar ile ispatlanmıştır (Lim ve ark., 2016). Ayrıca, farelerde ILC2'nin IL-25 ve IL-33 sitokinlerine *in vivo* maruz bırakılmasının, farklı fonksiyonel tepkiler ortaya çıkardığı görülmektedir. IL-25'in sistemik enjeksiyonları, tip 2 sitokinlere ek olarak IL-17 üreten ve inflamatuvar ILC2'ler olarak adlandırılan ILC2'lerin oluşumunu teşvik eder (Huang ve ark., 2015). Bu dönüşüm, Notch sinyaline ve ROR γ t ifadesine bağlıdır (Zhang ve ark., 2017). Dokuda yerleşik olan IL-33'e duyarlı ILC2'lerin aksine (Gasteiger ve ark., 2015) IL-25'e duyarlı ILC2'ler kan dolaşımında dolaşırlar ve enfeksiyon sonrası korumaya yardımcı oldukları efektör bölgelere göç edebilirler (Huang ve ark., 2015). Bu ILC2'lerin aynı plastik hücre tipinin iki farklı alt kümesini mi yoksa farklı aktivasyon durumlarını mı oluşturduğu belirsizliğini korumaktadır. Bu doğrultuda, IL-10 üreten ILC'lerin bir alt kümesi, düzenleyici ILC'ler (ILCreg'ler) olarak tanımlanmıştır (Wang ve ark., 2017). Bu hücrelerin, ID3'e bağlı bir şekilde ILCp'den ziyade doğrudan CHILP'den geliştiği ve diğer ILC alt kümelerinden farklı olduğu iddia edilmektedir. ILC2'ler, IL-10 üreten hücrelere dönüşebildiğinden (Gury-BenAri ve ark., 2016) ILCreg'lerin doğasını ve potansiyel önemini tam olarak anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Son olarak, insan ve fare sitotoksik NK hücreleri, TGF- β sinyaline yanıt olarak ILC1 benzeri özellikler de kazanır (Gao ve ark., 2017). Son çalışmalar, insan ve fare ILC'lerinde kromatin durumunu araştırmış ve elde edilen sonuçları bu hücrelerin CD4⁺ T yardımcı hücre karşılıkları için yayınlanmış bulgularla karşılaştırmıştır (Koues ve ark., 2016). Erişilebilir kromatin bölgeleri, ATAC-seq ile değerlendirilmiştir. Daha sonra histon H3-K27 asetilasyonunu veya düzenleyici faktör p300'ün bağlanmasını değerlendirerek bu bölgelerin aktif mi yoksa basitçe aktivasyon için hazır mı olduğu belirlenmiştir. ILC regulomunun ayırt edici bir özelliği, imza sitokin genlerinin ekspresyonunu kontrol eden düzenleyici bölgelerin, ILC'lerde zaten hazır veya aktifken, CD4⁺ T yardımcı hücrelerindeki özdeş düzenleyici bölgelere, ancak sitokin sinyalleri veya enfeksiyon tarafından aktivasyondan sonra erişilebilir hale gelmesidir (Shih ve ark., 2016). Bu sonuçlar, ILC regulomlarının mikroçevreye yanıt olarak dinamik değişikliklere daha yatkın olduğunu göstermektedir. Son zamanlarda, IL-1 β ve IL-12 ile ILC2'lerin ILC1'lere geçişinin, IFN- γ 'yı kodlayan lokus ile IL-5 ve IL-13'ü kodlayan lokusun aynı anda erişilebilir olduğu atipik bir kromozomal manzara ile işaretlendiği gösterilmiştir (Ohne ve ark., 2016).

ILC'lerin esnekliği dokulardaki bu hücrelerin heterojenliğini yönlendirdiği ve bunun etkili bağışıklık tepkileri için önemli olabileceği ve ayrıca Crohn hastalığı (Bal ve ark.,

2016) ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (Silver ve ark., 2016) gibi enflamatuar hastalıklarda rol oynayabileceği açık hale geliyor. Bununla birlikte, ILC plastisitesinin tam işlevsel etkisi hala tam olarak anlaşılmamıştır ve aktif bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir (Vivier ve ark., 2018).



Şekil 2.5. ILC’lerde plastisite (Bal ve Golebski, 2020)

2.1.6. ILC Plastisitesitesinin Tümör immünitesi ve immünoterapisindeki rolü

Yapılan bir çalışmada normal meme dokusundaki ve meme tümöründeki bir CD49a’yı yüksek ifade eden ILC1 popülasyonunun kanser immün-gözetimi potansiyel olarak aracılık edebileceğini bildirmiştir (Dadi ve ark., 2016). Bununla birlikte, TGF- β açısından zengin ortamda ILC1’in karsinogenezi kontrol etmede etkisiz olduğunu ve potansiyel olarak metastazı teşvik edebileceğini gözlemlendi (Gao ve ark., 2017). Bu durum NK hücrelerinin ILC1’e önemli bir fenotipik değişimi ile eşlik etti. Bu veriler, TGF aracılı ILC1 plastisitesinin, ILC1’in immüno-gözetimindeki rolünü iptal ettiğini göstermiştir. İlginç bir şekilde, araştırma, TGF- β tarafından indüklenen plastisitenin bir sonucu olarak, NK hücrelerinden türetilen tümör yerleşik ILC1’in, potansiyel olarak kanser büyümesini destekleyebilecek pro-anjiyogenik fonksiyonlar kazandığını ileri sürdü. (Bruno ve ark., 2013). NK hücrelerinden türetilen ILC1 benzeri hücrelerin, immün sistemin tümör toleransı lehine şekillenmesinde büyük olasılıkla yer aldığı

düşünülmektedir. Bu süreç kısmen tümör mikroçevresinde TGF- β , tarafından yönlendirilir, ancak yapılan bir başka çalışma da aynı sinyal yolunu paylaşan diğer faktörlerin olası katılımını önermiştir (Wang ve ark., 2018). İmmün baskılayıcı miyeloid hücrelerin ve ILC1'in her ikisi de metastatik akciğerlere sızmıştır (Sceneay ve ark., 2012), grup 1 ILC plastisitesinin, ön metastatik nişlerin katkısında yer alıp almadığı henüz belirlenmemiştir.

Crohn hastalığı olan hastaların bağırsaklarından izole edilen bazı ILC2 klonları hem IL-13 hem de IFN- γ ifade ettiğinden, insanda ILC2 plastisitesinin kanıtı rapor edilmiştir (Lim ve ark., 2016). "Araf" durumundaki bu ex-ILC2'nin muhtemelen IL-12 maruziyetinin bir sonucu olduğu ve enflamatuvar hastalığın şiddetine katkıda bulunduğuna inanılıyordu. Bu nedenle, ILC2'nin ILC1 benzeri hücrelere fonksiyonel dönüşümünün, inflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastalarda kanser riskini artırabileceği düşünülmüştür.

İmmünoterapinin kanser tedavi yöntemlerinden biri haline gelmesi ILC plastisitesinin kanser immünoterapisi üzerindeki etkisini ve kanser immünoterapisinin ILC plastisitesinden faydalanıp faydalanmayacağını bilmek zorunlu hale gelir. Grup 1 ILC alt grupları arasındaki plastisite belirlendiğinden, NK hücre bazlı immünoterapiler için en büyük endişelerden biri, kanser hastalarına aktarılan NK hücreleri, ILC1 benzeri, tümör teşvik eden hücrelere dönüşebileceğidir. Gerçekten de dalak NK hücrelerinin tümöre doğrudan enjeksiyonla ILC1 benzeri hücrelere dönüştüğü gösterildi (Gao ve ark., 2017). Primer NK hücrelerine dayanan çoğu immünoterapinin TGF- β ile indüklenen plastisiteye tabi olduğu göz önüne alındığında, tümörde lokalize olan bu transfer edilmiş NK hücrelerinin pro-tümör fonksiyonları sergileyip sergilemeyeceği henüz belirlenmemiştir. Neyse ki, gen düzenleme teknolojilerinin hızlı ilerlemesiyle, TGF- β sinyaline duyarsız genetiği değiştirilmiş NK hücreleri üretmek mümkündür ve mevcut NK hücre tabanlı immünoterapileri geliştirmek için rasyonel bir strateji olarak kabul edilebilir. Ek olarak, küçük molekül inhibitörleri veya TGF- β bloke edici antikolar, adoptif NK hücre tedavileri ile birleştirilebilir (Akhurst ve Hata, 2012).

Ek olarak, mevcut kanıtlar ILC plastisitesinin çoğunlukla sitokinler tarafından yönetildiğini gösterdiğinden, belirli bir sitokini modüle eden tedaviler potansiyel olarak ILC plastisitesini ve homeostazını değiştirebilir. Örneğin, ImmunoPulse IL-12 (OncoSec Immunotherapies), anti-tümör immün yanıtlarını iyileştirmek için IL-12 kodlayan DNA'nın tümör içi dağıtımına dayanır. IL-12, ILC2 ve ILC3'ün ILC1'e dönüştürülmesinde kritik bir rol oynadığından, ImmunoPulse IL-12'nin katı tümörlerde

ILC1 sayılarını potansiyel olarak zenginleştirebileceği öngörülmektedir. Bununla birlikte, ex-ILC2 ve ex-ILC3'ün anti-tümör rolleri belirlenmediği için bu ILC plastisitesinin fonksiyonel sonucu belirsizdir. Miyeloid hücreler, ILC plastisitesi (IL-1 β , IL-12, IL-23 ve TGF- β) ile ilişkili sitokinlerin ana kaynağı olduğundan, miyeloid hücreleri hedefleyen terapötik stratejilerin de ILC plastisitesi üzerinde derin bir etkisi olabilir. Örneğin, STAT3 inhibitörlerinin myeloid-derived supressor cells (MDSCs)'ler üzerindeki anti-immünosupresif etkileri şu anda klinik deneylerde değerlendirilmektedir (Fleming ve ark., 2018). STAT3, tümör infiltre eden miyeloid hücrelerde IL-12 üretimini inhibe ederken IL-23 üretimini desteklediğinden (Kortylewski ve ark., 2009) STAT3 inhibitörlerinin kullanımının ILC1'lerin sayısını artırması muhtemeldir.

2.1.7. ILC'lerin diğer hastalıklarla ilişkisi

2.1.7.1. Astım ve ILC

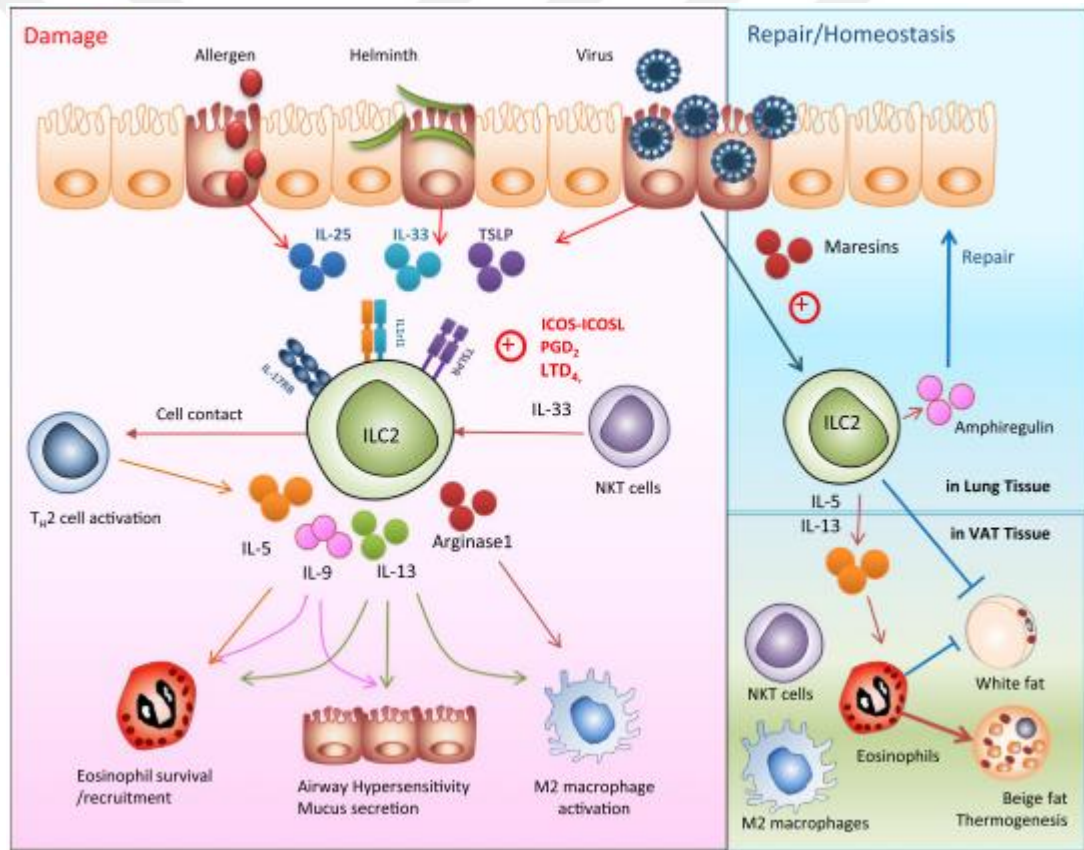
Astım, dünya çapında yaklaşık 300 milyon insanı etkileyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve hava yolu aşırı duyarlılığı (AHR; airway hyperresponsiveness), aşırı mukus üretimi ve hava yolunun yeniden şekillenmesinin neden olduğu nefes almada zorluk, öksürük ve hırıltı ile karakterizedir (Lambrecht, 2015). Alerjik tepkiler, eozinofil ve mast hücre degranülasyonuna, goblet hücre hiperplazisine, mukus üretimine, artmış serum IgE seviyelerine ve düz kas kasılmasına yol açan tip 2 sitokinlerin üretimi ile karakterize edilir. Bu tür tepkiler, mukozal bariyerlerde bakteri ürünleri, gıda maddeleri, bitki polenleri veya mantar sporları gibi normalde zararsız alerjenlere tekrar tekrar düşük doz maruziyetin ardından gelişebilir (Walker ve Barlow, 2013) (Şekil 2.6).

Farelerde, ILC2'ler, sırasıyla tip 2 sitokinler ve amphiregulin üreterek virüs veya alerjen kaynaklı alerjik bağışıklık tepkilerinde hem patolojik hem de koruyucu işlevler gösterir. Ayrıca, ILC2'ler alerjik hava yolu iltihabının gelişimini ve kalıcılığını desteklemek için CD4⁺ T hücreleri, makrofajlar, eozinofiller, NKT hücreleri ve epitel hücreleri gibi diğer birçok bağışıklık hücresiyle birlikte çalışır (Kim ve Umetsu, 2016).

Hem ILC2'ler hem de ILC3'ler, obez farelerde alerjik astım ile ilişkilendirilmiştir (Everaere ve ark., 2016). Astım heterojen bir hastalıktır; Th2 hücrelerinin düşük seviyeleri ile daha şiddetli, genellikle alerjik olmayan astım formları olan hastalarda, inflamasyon nötrofilik veya karışık nötrofilik ve eozinofilik yanıt ile karakterize edilir. Bu, hem IL-5 hem de IL-13 üreten ILC2'lerin ve IL-17 üreten ILC3'lerin veya IL-17'yi üretmeye başlayan ILC2'lerin katılımını içerir (Orimo ve ark., 2021). Alerjik astım modelleri ve hastalarında büyük miktarlarda tip 2 sitokin üreten pulmoner ILC2'lere sahip olduğu tespit edildiğinde; bu sitokinlerin, klasik astım endotipinde önemli

patojenik roller oynadığı belirtilmiştir (Kim ve Umetsu, 2016). Artık pulmoner ILC2'lerin patojenik rolünün, bu hücrelerin alerjenler tarafından akciğerlerde hızlıca yukarı regüle edilen çeşitli faktörler tarafından aktive edildiğinde başladığı düşünülmektedir: bunlar epitelyal sitokinler IL-33, IL-25 ve timik stromal lenfopoietin (TSLP), mast hücre faktörleri sisteinil lökotrienler ve prostaglandinler içerir (Doherty, 2019). Aktive edilmiş ILC2'ler daha sonra eozinofiller ve alternatif olarak aktive edilmiş (M2) makrofajlar dahil diğer bağışıklık hücrelerini çağırır veya aktive eder; bu hücreler AHR ve hava yolu inflamasyonunu indükler (Halim ve ark., 2014).

ILC alt kümelerinin katkılarının ve bunların aktivasyonunun altında yatan moleküler mekanizmaların astım ve diğer atopik hastalıklarda daha iyi anlaşılması, bu önemli sağlık sorunu için yeni tedavilere yol açabilir.



Şekil 2.6. ILC2'lerin astımda patojenik ve koruyucu işlevleri (Kim ve Umetsu, 2016)

2.1.7.2. Multipl skleroz (MS) ve ILC

MS, SSS'nin demiyelinizasyonuna yol açan otoimmün bir hastalıktır, etiyolojisi henüz aydınlatılamamış olsa da otoreaktif T hücrelerinin aksonları çevreleyen miyelin kılıfının yıkımında önemli bir rolü vardır (Suzuki ve ark., 2011). MS, Th17 hücre aracılı bir hastalık olarak kabul edildiğinden, MS'deki ILC'ler üzerine yapılan araştırmaların çoğu,

ILC3 alt kümelerine odaklanmıştır. Buna göre, MS'li hastaların kontrol deneklerine kıyasla, beyin omurilik sıvılarında ve kanlarında LT α hücreleri de dahil olmak üzere daha yüksek sayıda ILC3'e sahip oldukları gösterilmiştir (Degen ve ark., 2016). Bununla birlikte, MS hastaları, IL-2 reseptör alfa bloke eden ve daha önce tekrarlayan MS tedavisinde kullanılan Daclizumab ile tedavi edildiğinde, beyni çevreleyen beyin omurilik sıvısında azalmış inflamasyon belirtileri gösterdi. Ayrıca, daclizumab'ın ILC3'leri inhibe ederken NK hücreleri üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu bulundu. Özellikle, aktive edilmiş T hücrelerinin frekansları üzerinde önemli tedavi etkileri gözlenmedi (Perry ve ark., 2012). Bu bulgular, ILC3'lerin MS patogenezinde katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

c-Kit, deneysel otoimmün ensefalomyelitte (EAE, multipl sklerozun bir fare modeli) duyarlılıkta çok önemlidir ve MS'de ILC3'ler ve c-Kit⁺ ILC2'lerin rol oynama olasılığını yükseltir. Ayrıca, c-Kit sinyallemede bir kusuru olan ve EAE geliştirmeyen farelerde, ILC3'lerin birikimi olmadı (Safavi ve ark., 2015; Hatfield, 2015).

MS tedavisi için ilk oral hap olarak 2010 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylanmış fingolimod ile yaptığımız 2019'da yayınlanan çalışmamızda bizde ILC'lerin MS ile ilişkisini ortaya koymayı hedefleyerek; insan ve murin ILC'lerinin, ikincil lenfoid organlardan çıkış için S1P reseptörlerini kullandığını ve ILC'lerin hem insanlarda hem de farelerde S1P analogları tarafından hedeflenebileceğini ortaya koyduk (Eken ve ark., 2019).

ILC2'ler ise, EAE'a dirençli farelerin beyin ve drene lenf düğümlerinde tespit edilmiştir. c-Kit ekspresyonuna ek olarak, birkaç çalışma, ILC2'lerin güçlü bir indükleyicisi olan IL-33'ün uygulanmasının EAE'de koruyucu olduğunu göstermiştir (Russi ve ark., 2015; Milovanovic ve ark., 2012; Jiang ve ark., 2012). Bununla birlikte, ILC2'lerin MS'de yer alıp almadığı tam olarak belirlenmemiştir. Bu sonuçlar, ILC'lerin SSS'de küçük bir popülasyon olmasına rağmen, EAE'de inflamasyonun başlamasını kontrol edebildiklerini göstermektedir.

2.1.7.3. İltihaplı bağırsak hastalıkları (IBD; Inflammatory bowel diseases) ve ILC

Crohn hastalığı (CD) ve ülseratif kolit gibi inflamatuvar bağırsak hastalıkları, gastrointestinal sistemin kronik inflamatuvar bozukluklarıdır. Çevresel etkenler, kişinin genetik yatkınlığı ve mikrobiyotanın hepsinin IBD'li hastaların bağırsak homeostazını

bozduğuna inanılmaktadır. IBD'nin patogenezinin altında kommensal bakterilere karşı inflamatuvar CD4⁺ T hücresi tepkileri yatmaktadır (Maloy, 2011).

Bir GWAS'da (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları: Genome-wide association study) IBD için potansiyel neden olarak birçok IL23R ve NOD2 varyantı tanımladı ve bu, ILC1'lerin ve ILC3'lerin bu sinyal yolları aracılığıyla patofizyolojiye dahil olduğunu düşündürdü (Moschen ve ark., 2019). IFN- γ üreten CD127⁺ILC1'ler ve ieILC1'ler, kontrollere kıyasla Crohn hastalarının bağırsağında arttı, oysa IL-22 üreten NCR⁺ ILC3'ler azaldı (Bernink ve ark., 2013; Fuchs ve ark., 2013; Takayama ve ark., 2010).

Bir grup, *Rag2*^{-/-} farelerinde *Helicobacter hepaticus* enfeksiyonuna yanıt olarak ortaya çıkan ve IL-23'e yanıt olarak IL-17A, IL-22 ve IFN- γ salgılayan bir CD11b⁻B220⁻GR1⁻THY1⁺ ILC popülasyonunun varlığını bildirdi. Bu hücreler için işlevsel bir rol, *H. hepaticus* ile enfekte olmuş *Rag2*^{-/-} farelerde antikor aracılı THY1⁺ hücrelerinin tükenmesinin hastalık gelişimini iyileştirdiğini gösterdi, ancak THY1'in ILC'ler tarafından spesifik olarak eksprese edilmediği belirtmekte fayda görüyoruz (Buonocore ve ark., 2010).

2.1.7.4. Sedef hastalığı ve ILC

Sedef hastalığı, çoklu genetik risk odakları, çevresel risk faktörleri ve aşırı immünolojik anormallikler arasındaki dinamik etkileşimin neden olduğu karmaşık bir kronik inflamatuvar deri hastalığıdır ve dünya çapında nüfusun yaklaşık %2'sini etkiler (Yamanaka ve Yamamoto, 2021). Deri, mekanik strese, patojenlere ve kimyasal saldırılara karşı korunmak için çok önemli bir bariyer oluşturur. Bağışıklık hücreleri açısından, epidermis öncelikle dokuda yerleşik hücrelere ev sahipliği yapar. Tersine, epidermin altında bulunan dermis, göç eden bağışıklık hücreleri tarafından zengin bir şekilde doldurulur. İlginç bir şekilde, insan ILC'leri sadece dermiste bulunur ayrıca dolaşımdaki insan ILC'lerinin önemli bir popülasyonu, kutanöz lökosit antijenini ve CCR10'u ifade eder (Polese ve ark., 2020; Richmond, 2014; Teunissen ve ark., 2014).

IL-17 ve IL-22 üretiminin yanı sıra ROR γ t'ye bağlı ILC3'lerin düzensizliği sedef hastalığına bağlanmıştır. Sedef hastalığı olan hastaların deri ve kanındaki IL-22 üreten NKp44⁺ ILC3'lerin sayısı, sağlıklı bireylerdeki sayılara göre artmıştır. Bir çalışmada ayrıca sedef hastalığı olan hastaların derisinde IL-17 üreten ILC'lerin sayısında artış bulundu, ancak IL-17, NKp44⁺ ILC3'ler tarafından üretilmedi; bu nedenle, bu IL-17 üreten ILC'lerin doğası bilinmemektedir. Bununla birlikte, deri lezyonlarındaki ILC3'lerin sıklığı, sedef hastalığının ciddiyeti ile koreledir. İlginç bir şekilde, TNF'ye

özgü bir antikorla tedavi edilen sedef hastalığı olan bir hastada, terapötik yanıt, NKp44⁺ILC3'lerin kandan kaybolması ile bağıntılıdır. Bunun ILC'lerin, özellikle ILC3'lerin hastalık sürecine dahil olduğu anlamına gelip gelmediği henüz belirlenmemiştir (De ve ark., 2016; Villanova ve ark., 2014; Ward, 2014).

Sağlıklı ciltte nispeten yüksek ILC bolluğu göz önüne alındığında (CD45'in yaklaşık %1'i Lin⁻CD127⁺) (Teunissen ve ark., 2014) bunlar homeostaz ve doku onarımında rol oynayabilirler. Gerçekten de, yakın zamanda onarılan insan derisi, yaralanmadan 10 gün önceki ilk sağlam deriye kıyasla, yara sınırına yakın önemli ölçüde daha fazla ILC2 içeriyordu (Rak ve ark., 2016)

Dokuda iltihabın olup olmaması oradaki lokal mikroçevreyi değiştirir ve buda ILC'lerin fenotiplerini ve işlevlerini hem faydalı hem de patojenik yöne doğru değiştirmesine neden olabilir.

2.1.7.5. Viral ve bakteriyel enfeksiyonlar ve ILC

Mevcut SARS-CoV-2 pandemi durumu sırasında, son derece bulaşıcı bir virüsün günlük yaşamımızı nasıl etkileyebileceğini ve en yüksek standartlarda bile sağlık sistemlerini bunaltmakla tehdit edebileceğini kolayca anlıyoruz. COVID-19 pandemisinde bağışıklık sisteminin rolü son derece karmaşık görünüyor: Bir yandan, başarılı SARS-CoV-2'ye özgü koruyucu bağışıklık, nüfusun çoğunluğunda kurulurken, diğer yandan aşırı bağışıklık reaksiyonları özellikle yaşlı nüfusta büyük bir tehlike oluşturuyor. ILC'lerin bu bağlamdaki rolü heyecan verici yeni bir araştırma alanı oluşturmaktadır. İlginç bir şekilde, yeni SARS-CoV-2'nin insanda dolaşan ILC'ler üzerindeki etkisini analiz eden çok yakın tarihli bir çalışma, sağlıklı kontrollere kıyasla hastalarda üç ILC alt grubunun mutlak sayılarının önemli ölçüde azaldığını bildirdi. Aynı çalışma şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastalarda, ILC2 sıklığı doku hasarının ayırt edici özelliklerini temsil eden miyogloblin, troponin T ve LDH ile ters orantılı olduğunu gösterdi (Bennstein , 2021; García ve ark., 2020).

ILC2'lerin, Th2 hücrelerinin doğuştan gelen karşılığı olarak tarif edilmiştir ve parazit enfeksiyonlarının kontrolünde yer alır. Bununla birlikte, bir Afrika kohortlu yakın tarihli insan ILC2'lerinin parazitik solucanlara karşı savunmada ne ölçüde rol oynadığını sorgulayan bir çalışmada, ILC2 frekansı ile helmint enfeksiyonu veya serum IgE titreleri korele değildi (Darboe ve ark., 2020).

ILC1'lerin IFN- γ üretiminin viral enfeksiyonun kontrolü üzerindeki ek etkisi, mukozal dokulardaki spesifik konumlarından kaynaklanıyor olabilir. Gerçektende, murin

çalışmaları, ILC1'lerin murin sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonlarına karşı ilk IFN- γ üreticileri olduğunu göstermektedir. ILC1'in etkisi, herpes ile enfekte olmuş farelerin hayatta kalmasının ILC1'in varlığına bağlı olduğu bir murin herpes simpleks virüs modelinde ayrıca gösterilmiştir (Weizman ve ark., 2017; Weizman ve ark., 2019; Hirose ve ark., Wang, 2019). Özellikle, insanlarda viral enfeksiyonlar sırasında ILC1'in net bir rolü henüz belirlenmemiştir. İnsan ILC'leri de yakın zamanda HIV'e karşı bağışıklık tepkisine dahil edildi. HIV+ bireyleri ve sağlıklı kontroller arasında NK hücreleri, CD103⁺ ielc1 ve ILC2 için hiçbir frekans farkı saptanamazken, kombine antiretroviral tedavi gören HIV+ hastalarında NKp44⁺ ILC3 ve ILC1, GI yolu içindeki farklı bölgelerde önemli ölçüde azalmıştır (Krämer ve ark., 2017).

2.1.7.6. Kanser ve ILC

ILC'lerin tümör gelişimi, büyümesi ve metastazı sırasında immün mikroçevre üzerindeki etkisi son yıllarda araştırılmıştır. Farklı ILC alt kümelerinin ya pro- ya da antitümör rolleri sergilediği daha açık hale gelmiştir. Bu roller, doğrudan ILC-tümör hücre etkileşimlerinin yanı sıra vaskülatör, stroma ve ekstraselüler matriks'in ILC aracılı modülasyonu, doğuştan-adaptif lenfosit karşılaşması ve ILC üyelerinin kendi aralarında transdiferansiyasyonu dahil olmak üzere, ILC'ler ve TME arasındaki kapsamlı iletişime bağlıdır (Yuan ve ark., 2021). Yeni tanımlanan ILC'lerin alt kümeleriyle ilgili çoğu çalışma, fareler üzerinde odaklanmıştır. ILC araştırmasındaki bir sonraki büyük adım, ILC'lerin insanlardaki rolünü incelemek ve bu hücrelerin ne ölçüde manipüle edilebileceğini belirlemek olacaktır (Vallentin ve ark., 2015). Öte yandan farelerde bireysel ILC alt kümelerini tanımlamak ve modüle etmek için belirteçlerin ve araçların eksikliği nedeniyle ILC'leri incelemek hala zordur. Ayrıca ILC'lerin plastisite potansiyeli, belirli fenotipleri belirli bir ILC grubuna atfetmeyi zorlaştırır. Buna ek olarak insan hastalardaki bireysel ILC alt kümelerini spesifik olarak tanımlayan güvenilir bir belirteç yoktur. Bu nedenle, insan hasta numunelerinde ILC alt kümelerini ve işlevini saptamak için standartlaştırılmış reaktifler ve protokoller geliştirilmelidir (Bald ve ark., 2019) .

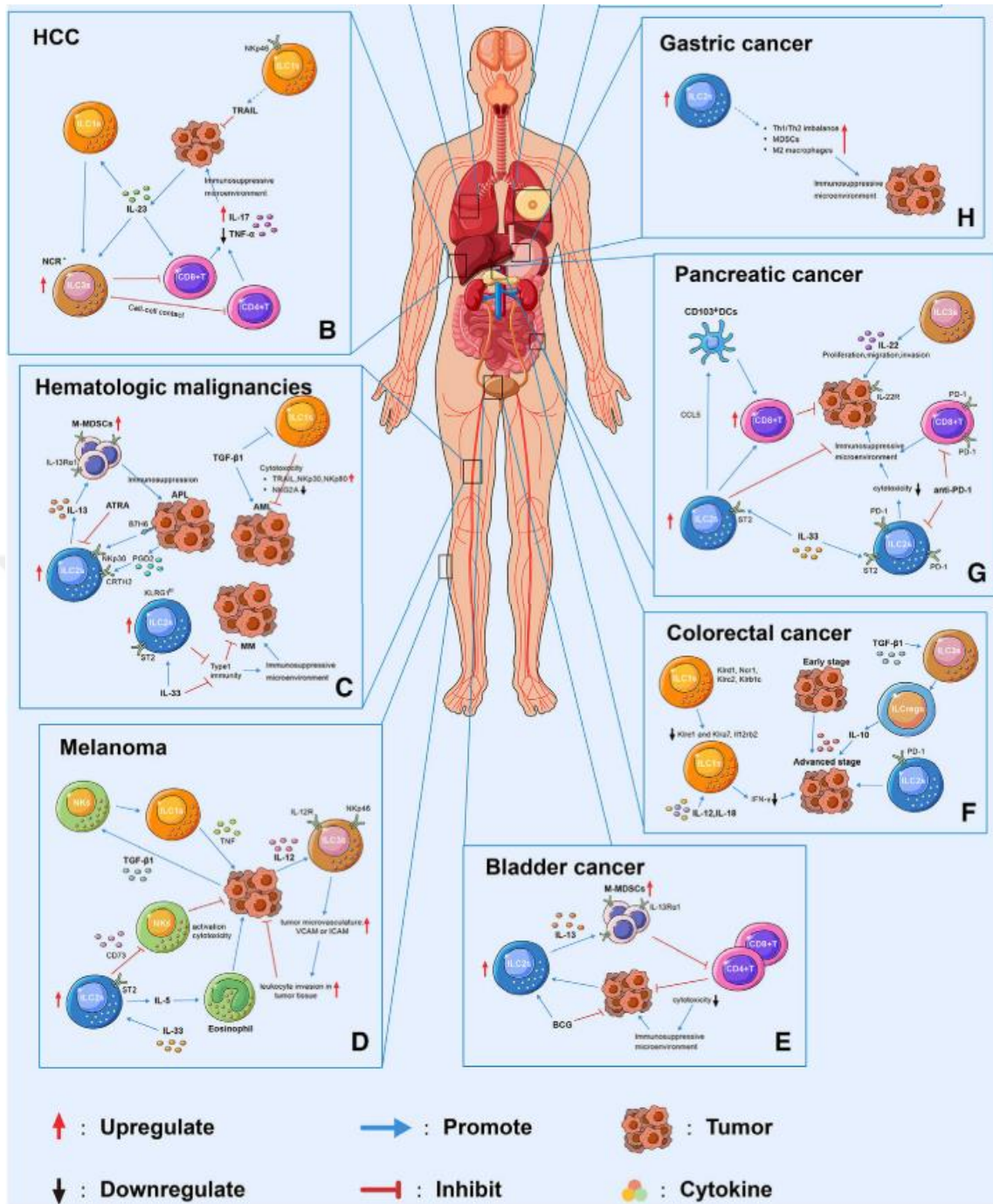
Kanser karmaşık bir hastalık olsa da son yıllarda yapılan çalışmalar ILC'lerin tümör gelişimindeki rollerini aydınlatmaya başlamıştır. Yapılan bir çalışmada farelerde meme kanseri kendiliğinden ortaya çıktığı modellerde, meme bezleri, NK hücre özellikleri (IFN γ ve granzim B üretimi) taşıyan ve tümör hücreleri için sitotoksik olan yüksek ILC1 frekansları içerir ve bu durum ILC1'lerin anti-tümör etkileri olabileceğini göstermiştir (Dadi ve ark., 2016). Buna karşılık, MCA1956 kanserojen kaynaklı sarkom

ile yapılan bir çalışma, TGF- β eksprese ederek tümörlerin, sitotoksik NK hücrelerini tümör büyümesini ve metastazı kontrol edemeyen ILC1'lere dönüştürerek NK hücre aracılı tümör kontrolünden kaçabileceğini göstermektedir (Gao ve ark., 2017).

Benzer şekilde ILC2'lerin de kanser immün yanıtındaki rolleri de tartışmalıdır. Akut promiyelositik lösemi hayvan modelinde ILC2'lerin, monositik miyeloid türevli baskılayıcı hücreleri (M-MDSC'ler) aktive eden ve böylece tümör ilerlemesini artıran IL-13 ürettiği bulundu (Trabanelli ve ark., 2017). Bununla birlikte, birkaç başka çalışma, ILC2'lerin ayrıca anti-tümör etkileri olabileceğini gözlemlemektedir. Bu nedenle, farelerde ILC2'lerin genetik olarak silinmesi, artan tümör büyümesi ve metastaz ile ilişkilidir (Saranchova ve ark., 2018).

Benzer şekilde, ILC3'ler için farklı roller gözlemlendi. Örneğin, klinik öncesi meme kanseri ve invaziv kolon kanseri modellerinde ILC3'ler, IL-22 üreterek tümör büyümesini ve metastazı destekler (Kirchberger ve ark., 2013; Irshad ve ark., 2017) Buna karşılık, B16 melanom modelinde NKp46⁺ ILC3'ler, IL-12 üreterek ve ICAM-1 ve VCAM-1'i yukarı doğru düzenleyerek lökosit istilasını ve tümör baskılanmasını artırır (Eisenring ve ark., 2010).

Son birkaç yıldaki çalışmalar, ILC'lerin anti-tümör immün yanıtlarındaki rolüne ilişkin kritik bilgiler sağlasa da keşfedilmeyi bekleyen birçok yön bulunmaktadır (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Farklı tümörlerde ILC'lerin dinamik davranışının ve bunların TME ile etkileşimlerinin şematik gösterimi (Yuan ve ark., 2021)

2.1.8. ILC'lerin terapötik kullanımı

ILC'lerin keşfinin ardından gelişimi ve biyolojisinin anlaşılmasında önemli ilerleme kaydedilmiştir ancak şu anda hastalıkta ILC işlevine ilişkin kavrayışımızı sınırlayan ve dolayısıyla bu hücreleri terapötik olarak manipüle etme yeteneğini kısıtlayan çeşitli zorlukların olduğu birçok ILC yayınında halen vurgulanmaktadır.

Murin çalışmalarından elde edilen kanıtlar, hastalık modellerinde ILC1 aracılı rollerin araştırılmasına izin vererek, ayrı bir ILC1 popülasyonunun varlığını doğrulamaktadır. Öte yandan insan ILC1'lerini ayırt etmek için kesin olarak hiçbir belirteç tanımlanmamıştır, ILC1'lerin insan hastalığındaki rolünü anlamak için ele alınması gereken kritik derecede önemli bir alanı vurgulamaktadır (Riggen ve ark., 2019). Ayrıca, ILC'lerin bulundukları dokudaki mikroçevreye göre farklı fonksiyon kazanması ve plastisitesi gerçeği olayı daha karmaşık hale getirmektedir. Örneğin, yakın zamanda yapılan bir çalışma, ince bağırsaktan izole edilen ILC2'lerin aslında adoptif transferinde obeziteyi indüklediğini, bunun sonucunda adipozdan türetilen ILC2'lerin sağladığı korumanın tam tersi etkileri olduğunu buldu (Cobb, 2021; Nussbaum ve ark., 2017; Sasaki ve ark., 2019).

Temel ILC araştırmalarının kliniğe çevrilmesindeki başka bir zorluk da ILC'lerin insanlarda adoptif hücresel tedavinin ana kaynağı olan periferik kanda son derece nadir olmasıdır. Bu nedenle, ILC2 aracılı tip II immün reaksiyonları bloke etmek için alerji alanında hali hazırda keşfedilmiş olan farmakolojik müdahalenin yanı sıra, ILC tabanlı hücresel tedavi alanı, *in vitro* olarak yeterli sayıda tanımlanmış ILC alt kümesinin oluşturulmasına dayanacaktır. Bu bağlamda, dolaşımdaki ILC'lerin, büyük ölçüde olgunlaşmamış öncül oldukları ve bu nedenle hücre bazlı tedaviler için efektör hücre kaynağı olarak uygun olmadıkları için doku muadillerine fonksiyonel olarak karşılık gelmediğinden bahsedilmelidir (Lim ve ark., 2017; Bennstein ve ark., 2020). Bu nedenle, belki de en umut verici yaklaşım, hematopoietik kök hücrelerden tanımlanmış ILC alt kümelerinin *in vitro* üretimi olacaktır. Bir yandan istenen işlevleri uygulayan ve diğer yandan olumsuz etkileri kontrol eden oldukça saf ILC popülasyonlarının nasıl oluşturulacağını öğrenirsek, bu noktadan sonra ILC'lerin diğer oldukça değerli özelliklerinden yararlanılabilir (Bennstein ve ark., 2021; Bennstein, 2021).

Reseptörlerin ekspresyonu ve beklenen işlevi göz önüne alındığında, bazı TNFRSF molekülleri ve hava yolundaki IL-27 ile derideki IL-18 ve CCR6 potansiyel hedefler olabilir. İnflamatuvar hastalıklar için daha etkili tedavilerin geliştirilmesi, ILC'lerin

dokuya özgü ve hastalığa özgü özelliklerini ve ayrıca bu heterojen hastalıkları sınıflandırmak için biyobelirteçleri netleştirmek için daha fazla analiz gerektirecektir. Ek olarak, dokuda yerleşik ILC'lerin kökeni ve yaşam süresi göz önüne alındığında, yenidoğan-bebeklik dönemi, inflamatuvar hastalıklar için ILC'yi hedefleyen önleyici stratejiler için kritik bir pencere olabilir (Orimo ve ark., 2021).

ILC'lerin aktivitesini kullanarak, immünoterapi ve aşıları iyileştirebiliriz. Araştırma programları, özellikle mukozadaki ILC3 gibi ILC alt kümelerinin benzersiz tropizmini dikkate alarak bu yeni bağışıklık yollarını deşifre edecek şekilde tasarlanmalıdır. Dolayısıyla ILC'ler, kansere yeni terapötik müdahale yolları için bir hedef sağlayabilir. Dahası tüm akut lösemi vakalarının yaklaşık %4'ü belirsiz bir kökene sahiptir (Owaidah ve ark., 2006), bunlara soy spesifik belirteçler ifade etmeyen akut farklılaşmamış lösemi ve miyeloid ve lenfoid soyların antijenlerini birlikte ifade eden karışık fenotip lösemi dahildir (Cazzola ve ark., 2016). ILC kanserleri mevcut olabilir ve bu kötü tanımlanmış lösemi kategorilerine ait olabilir. İnsan kanı ve doku örneklerinde ILC'lerin varlığını ve işlevini izlemek için standartlaştırılmış reaktiflerin ve protokollerin geliştirilmesi bu nedenle bu soruları ele almak için acilen gereklidir (Lordo ve ark., 2021; Vallentin ve ark., 2015).

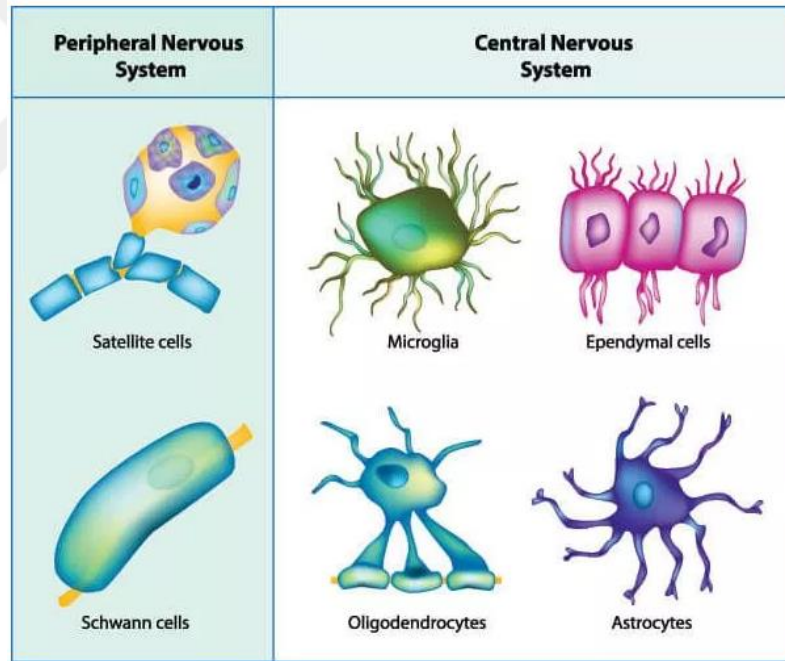
ILC'ler ve kanser, mikrobiyota ve kanser, ILC'ler ve mikrobiyota arasındaki ilişkiler oluşturulmuştur. Bu çalışmalar, ILC'ler, mikrobiyota ve kanser arasında daha fazla araştırılması gereken karmaşık etkileşimler olasılığını artırmaktadır. Birkaç senaryo düşünülebilir. Homeostatik ortamlarda, ILC'ler pro- ve anti-tümörijenik kommensal bakteriler arasında bir dengeyi korumak için çok önemli olabilir; ILC tarafından salgılanan sitokinler, normal bir mikroflorayı destekleyerek kronik inflamasyonu ve kanseri önleyebilir (Panda, 2019). Eşzamanlı olarak, ILC'ler, kanser gelişimini desteklediği gösterilmiş olan *E. coli* ve *H. pylori* gibi kommensal bakterilerin nişini sınırlayabilir (Arthur ve ark., 2012; Murata-Kamiya ve ark., 2007). ILC tarafından salgılanan sitokinler ayrıca kanser tedavilerini iyileştirdiği gösterilen *E. hirae*, *B. intestinihominis*, *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. breve* ve *B. longum* gibi belirli bakterileri de destekleyebilir (Vétizou ve ark., 2015; Sivan ve ark., 2015). Patolojik ortamlarda, antibiyotik tedavisinin veya diğer faktörlerin neden olduğu disbiyoz, ILC'ler, özellikle IL-17 ve IL-22 tarafından uygun olmayan sitokin salınımını indükleyebilir ve bu da kronik inflamasyona katkıda bulunabilir ve kansere yatkınlık oluşturabilir (Aparicio-Domingo ve ark., 2015). Ek olarak, ILC'lerin bağışıklık hücrelerini toplamadaki ve adaptif bağışıklık yanıtlarını şekillendirmedeki rolü göz

önüne alındığında, disbiyozaya karşı anormal ILC yanıtları da T hücresi yanıtlarını etkileyerek kronik inflamasyona ve kansere daha fazla katkıda bulunabilir. Terapötik ortamlarda, epitel hücrelerinde kemoterapinin neden olduğu hasar, sırayla bakteriyel translokasyon ve kemoterapi etkinliğini etkileyen ILC yanıtlarını indükleyebilir (Panda, 2019).

2.2. Merkezi sinir sistemi hücreleri

Merkezi sinir sistemi hücreleri tipik olarak iki ana kategoriye ayrılır: 1. Nöroektodermal kökenli hücreler: nöronlar, astrositler, oligodendrositler, ependimositlerdir. 2. Mezenkimal kökenli hücreler: meninksler, kan damarları, yağ dokusu, mikroglia'dır (Garman, 2011).

SSS'de glial hücreler, oligodendrositlerden, astrositlerden ve mikroglia'dan oluşur. Bu hücreler nöronal değildir ve ana işlevleri, SSS'de destek ve koruma sağlamak ve homeostazı düzenlemektir (Goodenberger, 2012).



Şekil 2.8. Periferik ve merkezi sinir sisteminde glial hücre tipleri (Glial Cells - The Definitive Guide | Biology Dictionary n.d.)

Glial hücrenin spesifik orijini, oluşan gliom tipini belirler. Üç farklı glioma tipi vardır: beyin ve omuriliğin epitel astarındaki glial hücrelerden kaynaklanan ependimomlar, oligodendrositlerden kaynaklanan oligodendrogliomlar ve astrositlerden gelişen astrositomlar (Bradl, 2009; Wu ve Armstrong, 2016).

2.2.1. Merkezi sinir sistemi tümörlerinin sınıflaması

Öncelerde beyin tümörlerinin sınıflandırılması, tümörlerin varsayılan farklı orijinli hücrelerle mikroskopik benzerliklerine ve farklılaşma seviyelerine göre sınıflandırılabileceği histogeneze kavramlarına dayanmaktaydı ve bu tür histolojik benzerliklerin karakterizasyonu hematoxilen ve eozin boyalı kesitlerdeki ışık mikroskopik özelliklere, soy ile ilişkili proteinlerin immünohistokimyasal ekspresyonuna ve ultrastrüktürel karakterizasyona bağlıydı (Kumthekar ve Raizer, 2015).

1926 yılında ilk sistemik sınıflandırma kabul görmüş sonrasında farklı araştırmacılar farklı yaklaşımları ele alarak farklı sınıflandırma girişimlerinde bulunmuştur. DSÖ tümörleri 6 gruba bölen sınıflamasını 1979 yılında yayınlamıştır (Scheithauer, 1993). Bu zamana kadarki sınıflandırma sistemlerindeki tutarsızlıklar ortak histomorfolojik özellikler kullanılarak oluşturulmuş ve 1993, 2000 ve 2007’de artan bilgi birikiminin ışığında yenilenmiştir (Kleihues ve ark., 2002; Louis ve ark., 2007). DSÖ 2007 sınıflamasına göre merkezi sinir sistemi kaynaklı tümörler 7 gruba ayrılır. Hastaların patoloğlar tarafından değerlendirilmesinde ortaya çıkan farklılıklar 2016 güncellemesi ihtiyacını doğurmuştur. 2016 sınıflandırma sistemi ile hem histopatolojik bulgular hem de moleküler veriler kullanılarak yeni bir yaklaşım sunulmuştur. Bu modelin oluşmasında ilk kez 2008 yılında tanımlanan IDH mutasyonu önemli bir basamak olmuştur. Buna ek olarak O6 Metil guanin DNA metiltransferaz (MGMT) enzimini kodlayan genlerde, telomeraz reverse transkriptaz (TERT) promotorunda, 1p ve 19q kromozomlarında gerçekleşen moleküler değişikliklerde önemlidir. Bu sınıflandırmaya göre oligoastrositomlar artık ayrı bir grup değildir, astrositer ve oligodendrogial tümörlerin bütününe birden diffüz gliomlar başlığında değinilmektedir (Louis ve ark., 2016). SSS tümörlerinin 2016 DSÖ sınıflandırmasında farklı seviyelerde moleküler bilgi kullanılır; ilk olarak kanser hücresi oluşumunu sağlayan TP53, BRAF mutasyonu gibi moleküler değişiklikler, IDH1/2 mutasyonları gibi tümör türüne spesifik mutasyonlar, delesyon/duplikasyon ya da translokasyonlar gibi kromozomal anomalilerdir. İkinci olarak EGFR, PDGF-R/A overekspresyonları vb. gibi gen ifadesi seviyesindeki değişikliklerdir. Son olarak ise gen ifade profilinin yanında kromozom stabilitesinde etkileyen epigenetik değişiklikler incelenerek bu sayede hastaya özel mekanizmalar analiz edilmektedir (Timuçin, 2017).

2021’de yayınlanan DSÖ SSS tümörleri sınıflandırmasının beşinci baskısı, beyin ve omurilik tümörlerinin sınıflandırılması için uluslararası standardın altıncı versiyonudur.

2016 güncellenmiş dördüncü baskıya ve SSS Tümör Taksonomisine Moleküler ve Pratik Yaklaşımları Bilgilendirme Konsorsiyumu'nun çalışmasına dayanan 2021 beşinci baskısı, SSS tümör sınıflandırmasında moleküler teşhisin rolünü ilerleten büyük değişiklikleri tanıttı. Aynı zamanda, histoloji ve immünohistokimya gibi tümör teşhisine yönelik diğer yerleşik yaklaşımlara bağlı kaldı. Bunu yaparken, beşinci baskı, hem SSS tümör isimlendirmesine hem de derecelendirmesine bazı farklı yaklaşımlar getirdi (Louis ve ark., 2021).

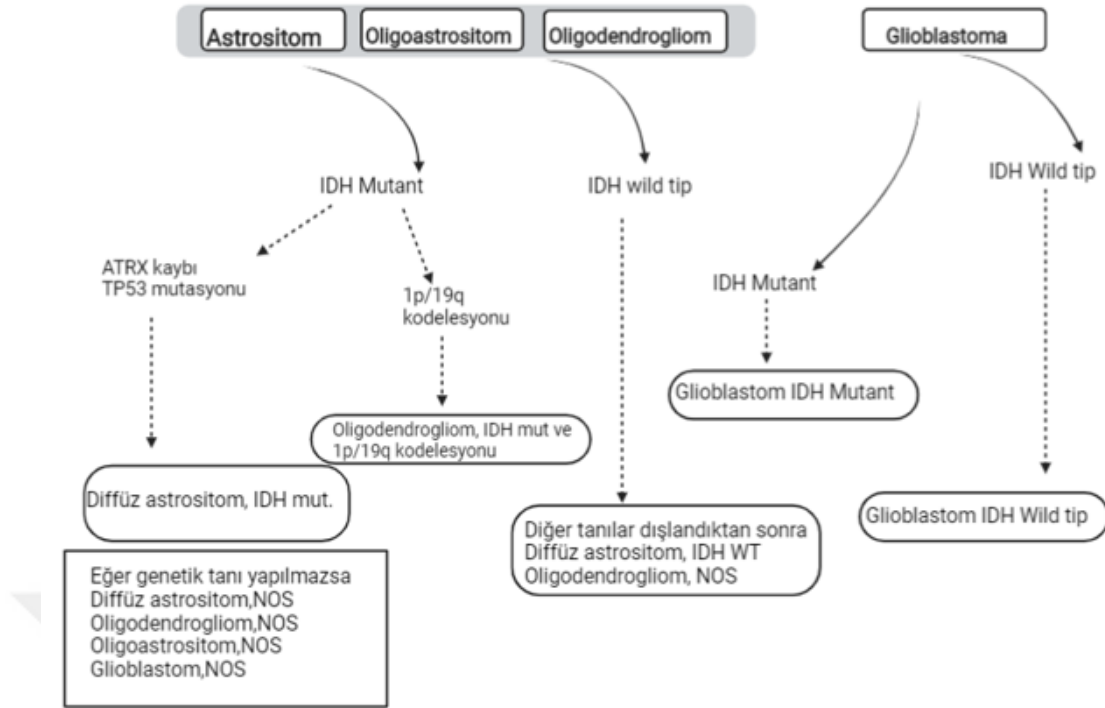
2016 erişkin beyin tümörlerinin DSÖ sınıflaması Tablo 2.2'de verilmiştir.



Tablo 2.2. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflaması (Louis DN, Perry A, Wesseling P, 2016).

1. Diffüz astrositik ve oligodendrogial tümörler - Diffüz astrositom, IDH-mutant - Gemistositik astrositom, IDH-mutant - Diffüz astrositom, IDH-wild tip - Diffüz astrositom, NOS - Anaplastik astrositom, IDH-mutant - Anaplastik astrositom, IDH-wild tip - Anaplastik astrositom, NOS - Glioblastom, IDH-wild tip - Dev hücreli glioblastom - Gliosarkom - Epiteloid glioblastom - Glioblastom, IDH-mutant - Glioblastom, NOS - Diffüz orta hat gliomu, H3 K27M-mutant - Oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyonu - Oligodendrogliom, NOS - Anaplastik oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyonu - Anaplastik oligodendrogliom, NOS - Oligoastrositom, NOS - Anaplastik Oligoastrositom, NOS 2. Diğer astrositik tümörler - Pilositik astrositom - Pilomiksoid astrositoma - Subependimal dev hücreli astrositom - Pleomorfik ksantroastrositom - Anaplastik pleomorfik ksantroastrositom 3. Ependimal tümörler - Subependimom - Miksopapiller ependimom - Ependimom - Papiller - Clear cell - Tanositik - Ependimom, RELA füzyon-pozitif - Anaplastik ependimom 4. Diğer gliomlar - Üçüncü ventrikül kordoid gliomu - Angiosentrik gliom - Astroblastom 5. Koroid plexus tümörleri - Koroid pleksus papillomu - Atipik koroid pleksus papillomu - Koroid pleksus karsinomu 6. Nöronal ve mixt nöroglial tümörler - Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör - Gangliositoma - Hibrit sinir kılıfı tümörü - Malign periferik sinir kılıfı tümörü (MPSKT) - Epiteloid MPSKT - Perinöral diferansiyasyon gösteren MPSKT 10. Menengiomer - Meningiomer - Meningotelyal menengiomer - Fibröz menengiomer	- Anaplastik gangliogliom - Serebellumun displastik gangliositomu - Desmoplastik infantil astrositom / gangliogliom - Papiller glionöral tümör - Rozet formasyonlu glionöral tümörü - Diffüz leptomeningeal glionöral tümör - Santral nörositom - Ekstraventriküler nörositom - Serebellar liponörositom - Paraganglioma 7. Pineal bölgenin tümörleri - Pineositom - Orta derecede diferansiyasyon gösteren pineal parenkimal tümör - Pineoblastom - Pineal bölgenin papiller tümörü 8. Embriyonal tümörler - Medulloblastom, genetik sınıflama - Medulloblastom, WNT- aktive - Medulloblastom, SHH-aktive ve TP53-mutant tip - Medulloblastom, SHH-aktive ve TP53-wild tip - Medulloblastom, non-WNT / non-SHH - Medulloblastom, grup 3 - Medulloblastom, grup 4 - Medulloblastom, histolojik sınıflama - Medulloblastom, klasik - Medulloblastom, desmoplastik/nodüler - Medulloblastom, ekstensif nodülerite - Büyük hücreli/ anaplastik medulloblastom - Medulloblastom, NOS - Çok tabakalı rozet formasyonu oluşturmuş C19MC-alterasyonu içeren embriyonal tümör - Çok tabakalı rozet formasyonu oluşturmuş embriyonal tümör, NOS - Medullaepitelyom - SSS Ganglionöroblastomu - SSS embriyonal tümör, NOS - Atipik teratoid/rabdoid tümör - Rabdoid özellikler gösteren SSS embriyonal tümörü 9. Kranial ve paraspinal sinir tümörleri - Schwannom - Selluler - Pleksiform - Melanotik - Nörofibrom - Atipik nörofibrom - Pleksiform nörofibrom - Perinörom 12. Melanositik tümörler - Meningeal melanositozis - Meningeal melanositoma - Meningeal melanoma - Meningeal melanomatozis 13. Lenfomalar - SSS diffüz büyük B hücreli lenfoma - İmmündefisit ilişkili SSS lenfomaları - AIDS ilişkili DBBHL - EBV-pozitif DBBHL - Lenfomatoid granulomatozis - İnvaziv büyük B hücreli lenfoma
--	--

- Transizyonel menenjiom - Psammomatöz menenjiom - Angiomatöz menenjiom - Mikrokistik menenjiom - Sekretuar menenjiom - Lenfoplazmasitten zengin menenjiom - Metaplastik menenjiom - Kordoid menenjiom - Berrak hücreli menenjiom - Atipik menenjiom - Papiller menenjiom - Rabdoid menenjiom - Anaplastik (malign) menenjiom 11.Mezenkimal,non-meningotelyal tümörler -Soliter fibröz tümör / Hemangioperisitoma Grade 1 Grade 2 Grade 3 - Hemangioblastom - Hemangioma - Epiteloid hemangioendotelyoma - Angiosarkom - Kaposi sarkomu - Ewing sarkom/ PNET - Lipom - Angiolipom - Hibernoma - Liposarkom - Desmoid tip fibromatozis - Myofibroblastom - İnflamatuvar myofibroblastik tümör - Benign fibröz histiositom - Fibrosarkom - Andifferansiye pleomorfik sarkom/ malign fibröz histiositom - Leiomyom - Leiomyosarkom - Rabdomyom - Rabdomyosarkom - Kondroma - Kondrosarkom - Osteom - Osteokondrom - Osteosarkom	- SSS' nin düşük- grade B hücreli lenfoması - SSS'nin T ve NK/T hücreli lenfoması - Anaplastik büyük hücreli lenfoma, ALK-pozitif - Anaplastik büyük hücreli lenfoma, ALK-negatif - Duranın MALT lenfoması 14. Histiositik tümörler - Langerhans hücreli histiositoz - Erdheim- Chester hastalığı - Rosai- Dorfman hastalığı - Juvenil Ksantogranülom - Histiositik sarkom 15. Germ hücreli tümörler - Germinom - Embriyonel karsinom - Yolk sac tümörü - Koryokarsinom - Teratom Matür İmmatür -Malign transformasyon gösteren teratom - Mikst germ hücreli tümör 16. Sellar bölge tümörleri - Kraniofaringioma Adamantinomatoz kraniofaringioma Papiller kraniofaringioma - Granüler hücreli tümör - Pituisitoma - İğsi hücreli onkositom 17. Metastatik tümörler
---	---



Şekil 2.9. Diffüz gliomaların histolojik ve genetik özelliklere dayalı olarak sınıflandırılması için basitleştirilmiş bir algoritma (Louis ve ark., 2016).

2.2.2. Gliomların Epidemiyolojisi

Gliomlar, DSÖ kılavuzlarında gösterdikleri kötü prognoz derecesine göre evre I'den evre IV'e kadar sınıflandırılırlar, fenotipik ve moleküler olarak farklı birkaç tümör tipinden oluşur ve en sık teşhis edilen primer beyin neoplazmaları grubudur (Louis ve ark., 2016). Sınıflandırmada 1,2: düşük dereceli; 3,4: malignitesi fazla yüksek dereceli glial tümör olarak sınıflandırıldı (Tablo 2.3). En sık görülen gliom türleri şunları içerir: astrositom (DSÖ derece I-IV), oligodendroglioma (DSÖ derece II-III) ve oligoastrocitomlar (DSÖ derece II-II). Gliomalar tipik olarak malign olmasına rağmen, tüm tipler sürekli olarak malign bir şekilde davranmaz. Düşük dereceli olan hastalarda sağkalım süreleri verilen tedaviye yanıtları, klinik özellikleri ve görüntülemelerde farklılıklar gösterirler. Derece 1 ve 2'deki glial tümörler beyin dokusundan kaynaklıların %15'ini oluşturur ve hastaların 10 yıllık sağkalım %50'nin altındadır. Cerrahi işlemle çıkarılan tümör dokusuna rağmen yaşam süresinde ki bu oran glial tümörlerin çevre dokuya yayılmasıyla ilgilidir. Tüm gliomaların yaklaşık %55'i evre IV GBM olarak sınıflandırılır (Verdecchia ve ark., 2002).

Astrositik soyun en agresif ve en malign tümörü olan ve genellikle yaşlı hastalarda teşhis edilen GBM (tanı anındaki medyan yaş ≥ 65 yıl) yaygın tümör invazyonu,

infiltrasyonu, mikrovasküler proliferasyon ve yüksek genomik instabilite ile karakterizedir (Wrensch ve ark., 2002; Prager ve ark., 2020).

GBM iki farklı şekilde gelişebilir. Bunlardan ilki daha çok yaşlı insanlarda gözükür ve klinik tablosu daha kısa olan primer GBM'dir. İkincisi ise düşük derece glial tümörlerin ek malign olaylardan sonra dönüşen hücrelerden oluşan genç erişkinlerde görülen sekonder GBM'dir. DSÖ sınıflamasında primer glioblastom en malign seyirli olan türdür ve tedavi uygulanmadığı durumda sağkalım beklentisi sadece birkaç aydır. Ayrıca glioblastomun *de nova* oluştuğu durumda sağkalım yaş bağımlıdır. Glioma insidans oranları, histolojik tip, teşhis yaşı, cinsiyet, ırk, etnik köken ve coğrafi konuma göre önemli ölçüde değişir. Genel olarak, gliomalar artan yaş, erkek cinsiyet, beyaz ırk ve Hispanik olmayan etnik köken ile daha sık görülür (Ostrom ve ark., 2014). Astrositomlar pediatrik, adolesan ve erişkin hastalarda en sık görülen gliomadır. Erişkinlerde, astrositom derece IV veya GBM, beyin tümörlerinin yaklaşık %15.6'sını ve primer malign beyin tümörlerinin %45.2'sini oluşturur. Ayrıca anaplastik astrositom (DSÖ derece III) ve GBM, 75-84 yaşındakiler arasında en yüksek insidanstır, ancak oligodendroglioma ve oligoastrositomlar en sık 35-44 yaşındakilerde görülür (Ostrom ve ark., 2017). GBM, bilinen birkaç risk faktörüne bağlı olarak, ailesel kalıtım için çok az etki gösteren (<%1) ve 5 yıllık sağkalım oranı <%5 olan hızlı ve kendiliğinden gelişen bir tümördür (Verdecchia ve ark., 2002; Weller ve ark., 2013). En sık 50 yaşın üzerindeki beyaz ırktan yetişkinlerde görülmesine rağmen, GBM bebeklerde, çocuklarda ve genç erişkinlerde de ortaya çıkabilir (Jones ve ark., 2017). Beyin kanseri insidansı Avrupa'da en yüksektir (Yaşa standardize edilmiş insidans oranı [ASR]: 100.000 kişide 5.5), Kuzey Amerika (ASR: 100.000 kişide 5.3), Avustralya/Yeni Zelanda (ASR: 100.000 kişide 5.3), Batı Asya (ASR: 100.000 kişi başına 5.2) ve kuzey Afrika (ASR: 100.000 kişi başına 5.0), Güney-Orta Asya'da (ASR: 100.000 kişi başına 1.8), Sahra altı Afrika'da (ASR: 100.000 kişi başına 0.8) ve Okyanusya'da (Avustralya ve Yeni Zelanda hariç, ASR: 100.000 kişi başına 0.5) (Kumthekar ve Raizer, 2015).

Tablo 2.3. Gliomlar, DSÖ kılavuzlarında gösterdikleri kötü prognoz derecesine göre sınıflandırılması ve özellikleri

Derece Özellikleri

- I** Hücrelerin proliferasyonu azdır ancak mikroskopta görünüşleri normale benzer, uzun sağkalım ve düşük malignite gösterir, cerrahi rezeksiyon kür sağlanmasında yeterli olabilir
- II** Hücreler görece daha yavaş büyür, komşu dokulara invazyonu vardır, proliferasyonları düşüktür, yüksek grade ilerleme görülebilir.
- III** Komşu dokulara invazyonu ve aktif anormal hücre yapımı gözlenir, histolojik malignite bulguları vardır.
- IV** Mitotik olarak aktif, anormal mikroskop bulguları olan hücrelerdir. Neovaskülarizasyon, nekroz, sıklıkla fatal

2.2.4. Moleküler belirteçler ve patogenez

Glial tümörler kendi içerisinde farklı tipler göstermekle birlikte patogeneizde moleküler, genetik, epigenetik, immünolojik mekanizma bozuklukları görev alır. Bu değişikliklerin aşağı yönlü etkileri, tümörijenizi, proliferasyonu, invazyonu ve apoptozu düzenleyen karmaşık sinyal yollarını ve protein-protein etkileşimlerini modüle eder (Kumthekar ve Raizer, 2015).

Tümör içi heterojenliği ve sinyal yollarının sapmasını destekleyen sürücü mutasyonlar içeren kanser kök hücreleri, tümör progresyonuna, terapötik dirence ve tümör nüksetmesine katkıda bulunan tümörjenik özellikler içerir bu durum tümörün hayatta kalmasını, çoğalmasını ve metastazı destekler. GBM'de düzensiz olan birkaç anahtar sinyal yolu, (1) tümör proteini p53 (p53) yolu, (2) mitojenle aktive olan protein kinaz/hücre dışı sinyalle ilişkili kinaz (MAPK/ERK; mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-related kinase) yolu ve retinoblastoma protein yoludur (RB) (Olar, 2014). Bu moleküler ekspresyon paternleri, prognozu ve tedaviye yanıtı belirleyen büyük bir klinik öneme sahiptir.

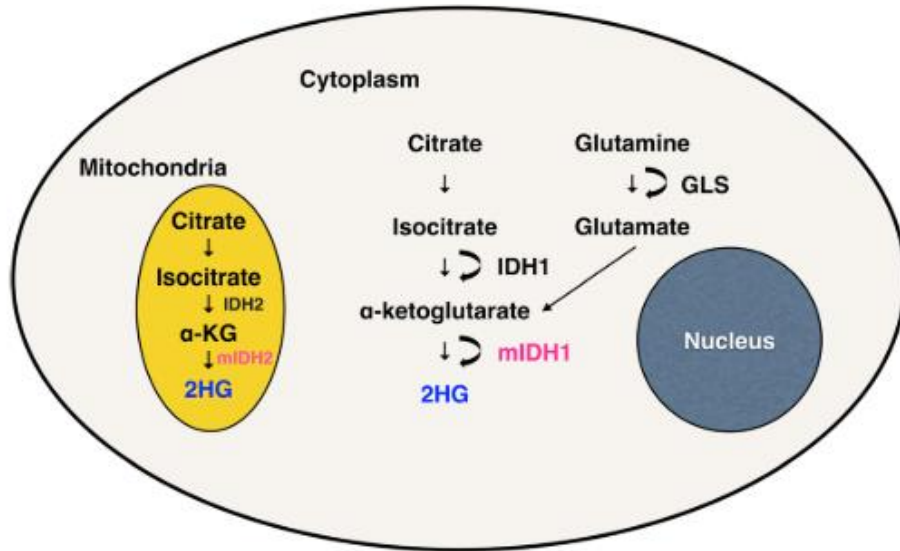
Yıllar içerisinde yapılan çeşitli araştırmalar IDH1/2, 1p19q ortak delesyonu, TERT ve MGMT promotör metilasyonu, G-CIMP metilasyonu, EGFR değişimleri, BRAF V600E mutasyonları ve histon mutasyonları gibi çeşitli moleküler belirteçlerin gliomada prognostik öneme sahip olduğunu ortaya koymuştur. Primer GBM'ler genetik olarak epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) amplifikasyonu, fosfatase ve tensin homolog (PTEN; phosphatase and tensin homolog) mutasyonu ve IDH mutasyonlarının

yokluğu ile karakterize edilir ayrıca *TP53* mutasyonları, sekonder GBM'lerde gözlenen en sık genetik değişikliktir (Hambardzumyan, 2015).

Yeni istatistiksel yaklaşımlar sayesinde hem 1p19q (Hira ve ark., 2017) hem de MGMT (Hira ve ark., 2020), glioma hayatta kalma tahminine yönelik hesaplama yaklaşımlarına aktif olarak dahil edilen önemli moleküler özellikler olmuşlardır.

2.2.5. İzositrat Dehidrogenaz Enzimi 1 ve 2 (IDH1/IDH2)

IDH1 ve 2, hücresel metabolizma, epigenetik düzenleme, redoks durumları ve DNA onarımının bir kavşağında işlev gören anahtar enzimlerdir. Canlı hücrelerin besinlerden enerji elde etmesini sağlayan krebs döngüsü bunlardan en önemlileridir. Yabani tip IDH1 ve IDH2, a-ketoglutarat (aKG) ve CO₂ üretmek için izositratın oksidatif dekarboksilasyonunu katalize eden önemli metabolik enzimlerdir (Şekil 2.10) (Su ve Phan, 2018). IDH1 ve IDH2 insanlarda %70 benzer dizilime sahiptir ayrıca NADP⁺ bağımlıdır. IDH1 birçok dokuda ifade edilse de önemli bir miktarı memeli karaciğerinde sentezlenir. IDH1 enzimi memeli ve maya hücrelerinde sitoplazmadan peroksizoma kadar lokalize olurken IDH2 enzimi mitokondride bulunur. Buna ek olarak IDH2 kalp, kas, lenfosit gibi birçok yerde ifade edilir (Waitkus ve ark., 2018).



Şekil 2.10. IDH mutant gliomalarında 2HG üretiminin şematik gösterimi: 2HG birikimi, mutant IDH1'in sitoplazmasında ve mutant IDH2 gliomalarının mitokondrilerinde görülür. 2HG ayrıca mutant IDH gliomalarında glutaminden türetilir.

IDH1 ve IDH2 hücreyi çeşitli hasarlara karşı korur. Bu enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar çeşitli malignite tiplerinde farklı görülme sıklıkları ile meydana gelebilir; düşük dereceli gliomların ve sekonder glioblastomların %80'inden fazlası (Molenaar ve

ark., 2014; Parsons ve ark., 2008; Yan ve ark., 2009), kondrosarkomların yaklaşık %60'ı (Pansuriya ve ark., 2011), intrahepatik kolanjiokarsinomların %20'si (Borger ve ark., 2012) ve akut miyeloid lösemilerin (AML) yaklaşık %10' ununda (Figuerola ve ark., 2010) meydana gelir. Bu mutasyonlar genel olarak enzimin aktif bölgesinde yer alan arjinin rezidüsünde meydana gelir. Bu bölgedeki mutasyon normalde oluşan α keto glutaratın D2-hidroksiglutarata dönüşmesine neden olur. Vücut da normal düzeyin üzerine çıkan bu metabolit hasta serumunda tespit edilebilir. Ortaya çıkan D-2HG birikimi, a-ketoglutarat (α KG) bağımlı enzimleri rekabetçi bir şekilde inhibe ederek, yukarıda belirtilen hücresel metabolizma, epigenetik düzenleme, redoks durumları ve DNA onarımında hücresel değişikliklere neden olur ve bunların tümü, kanser oluşumuna katkıda bulunabilir (M Gagné ve ark., 2017). Histon ve DNA'nın demetilasyonunu sağlayan demetilaz enzimini durdurmakta bu yüzden hücre farklılaşma döngüsü bozulmaktadır. Normal hücre farklılaşmasının inhibisyonu kök hücre benzeri progenitör hücrelerin malign transformasyonuna neden olur. Buna ek olarak DNA onarım mekanizmasını bloke ederek tümör oluşumuna katkı sağlanmış olur (Dang ve ark., 2009).

132. arjinin değişimi IDH1 geninde en sık görülen mutasyon olup hem grade 2 ve 3 gliomlarda hem de sekonder glioblastomlarda sık sık görülen bu değişim primer glioblastom ve diğer kanserlerde de daha az görülmektedir. Aynı zamanda sistein, serin, glisin, lösin veya izolösine olmak üzere tek bir amino asit ikamesinde meydana gelen değişiklikler arasındadır (Kang ve ark., 2009). IDH2 Arg140 veya Arg172 kodonundaki yanlış anlamlı mutasyonlar IDH1 R132 ile homoloji gösterir ve ağırlıklı olarak IDH2 R140Q veya IDH2 R172K değişiklikleri olarak ortaya çıkar (Medeiros ve ark., 2016; Waitkus ve Diplas, 2016).

Fizyolojik koşullar altında, hücresel D2HG birikimi, D2HG'nin α KG'ye dönüşümünü katalize eden endojen D2HG dehidrojenaz enziminin faaliyetleri nedeniyle sınırlıdır. Bununla birlikte, mutant IDH'nin neo-morfik aktivitesi, D2HG'nin hücreler içinde suprafizyolojik seviyelere birikmesine neden olur (Dang ve ark., 2009; DiNardo ve ark., 2013).

IDH mutasyonu bulunan gliom hastalarının yaşam süresi daha uzundur. IDH1 mutasyonunun pozitif prognostik faktör olduğunu birçok araştırma göstermiştir.

2.2.6. Glial Tümörler İçin Güncel Tedavi Yöntemleri

2.2.6.1. Cerrahi rezeksiyon

Kan-beyin bariyerinin varlığı, diğer sistemik kanserlere kıyasla terapötik ajanların başarılı penetrasyonu için zorluklar yaratır. GBM'ler ve anaplastik gliomların çoğu, maksimum cerrahi rezeksiyonla tedavi edilir, ardından kalan tümöre ve çevreleyen beyin dokusuna eş zamanlı ve adjuvan kemoterapi ile radyoterapi uygulanır. Bu agresif yaklaşıma rağmen, yüksek dereceli glioması olan çoğu hasta için uzun süreli sağkalım sınırlı kalır ve hatta düşük dereceli glioması olanlar bile sıklıkla hastalıklarının önemli nörolojik komplikasyonlarından muzdariptir (Nayak ve ark., 2015; Stupp ve ark., 2009; van den Bent ve ark., 2006).

GBM'nin kötü prognozu göz önüne alındığında, tümör yükünü azaltmak ve sağkalım faydasını artırmak için genellikle tümör kütlelerinin cerrahi olarak çıkarılması yapılır. Beyin cerrahları, tümörün boyutunu ve yerini ve hastanın fonksiyonel durumunu değerlendirdikten sonra hastanın genel sağkalımını uzatan, yaşam kalitesini iyileştiren ve nörolojik fonksiyonu koruyan rezeksiyonun derecesini belirler (Young ve ark., 2015). Yeterli bir rezeksiyonun önemi, hastada nörolojik bir kusura neden olmadan mümkün olduğu kadar güvenli bir şekilde tümör dokusunun çıkarılmasının önemi uzun zamandır bilinmektedir (Brown ve ark., 2016) .

GBM için beyin cerrahisi seçenekleri biyopsi, brüt total rezeksiyon veya subtotal rezeksiyon içerir. Brüt total rezeksiyon, manyetik rezonans görüntüleme ile gözlemlenen tümörün maksimum düzeyde çıkarılması olarak tanımlanırken subtotal rezeksiyon, tümörün bir kısmının çıkarılması olarak tanımlanır. Yapılan çalışmalarda brüt total rezeksiyonun GBM hastaları için progresyonsuz sağkalımı ve genel sağkalımı önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir (Han ve ark., 2020). İntraoperatif nöro-izleme ve traktografi gibi yeni teknolojik gelişmeler sayesinde artık güvenli cerrahi rezeksiyonun sınırlarını genişletebilmektedir (Sanai, 2010; Henderson ve ark., 2020)

2.2.6.2. Radyoterapi

1970'den beri radyoterapi (RT) glioma için rutin bir tedavi olarak klinik uygulamada kullanılmaktadır ve 2005 NCCN (National Comprehensive Cancer Network) Glioma Tedavi Kılavuzları, RT'yi glioma standart tedavi yöntemlerinden biri olarak önermektedir (Keime-Guibert ve ark., 2009). RT, rezeksiyon boşluğunda kalan kanserli lezyonları hedeflemek için tümör dokusunun cerrahi olarak çıkarılmasını takiben uygulanır ve DNA hasarına neden olarak kanserli hücreleri yok etmek için yüksek

enerjili ışınlar kullanır, böylece hücre döngüsü ilerlemesini engeller. 70 yaşın altındaki postoperatif GBM hastalarında, konvansiyonel fraksiyone RT genellikle 6 hafta boyunca 2 Gy fraksiyonlarda 60 Gy'lik konvansiyonel dozda reçete edilir bununla birlikte, yaşlı hastalarda (≥ 70 yaş), konvansiyonel radyasyon tedavisine göre hipofraksiyone kısa süreli RT tercih edilebilir. (Mann ve ark., 2018). Son zamanlarda, RT hızla geliştirildi ve geleneksel RT, üç boyutlu konformal RT, yoğunluk ayarlı radyasyon tedavisi ve stereotaktik RT dahil olmak üzere glioma tedavisinde giderek daha belirgin bir rol ve pozisyon aldı (Karunamuni ve ark., 2016). Görüntü kılavuzluğunu birleştirmenin avantajı, radyasyon tedavisinin iletimini ve doğruluğunu iyileştirmek için her radyasyon dozu öncesinde ve sırasında görüntülemeye izin verir. Bu teknolojik ilerleme, radyasyonun yerini, şeklini ve hedef dozunu optimize eder, dozu bitişik normal doku hacimlerine düşürür ve hedef hacim içindeki doz heterojenliğini sınırlar (MacDonald ve ark., 2007; Ding ve ark., 2009). GBM'nin radyolojik tedavisindeki gelişmeler cesaret verici olsa da, bu daha iyi sağkalıma dönüşmedi ve radyorezistansın üstesinden geldiği gösterilmedi (Xie ve ark., 2021; King, 2021).

2.2.6.3. Kemoterapi

Glioblastomalı yeni tanı almış hastalar için birinci basamak adjuvan kemoterapi temozolomid (TMZ). TMZ, sitotoksik etkilerini DNA'daki guaninin O6 pozisyonunu metilleyerek gösteren bir DNA-alkilleyici ajandır ve bu, DNA yapısında bir bozulmaya ve hücre döngüsü durmasının indüklenmesine neden olur, bu da sonuçta kanser hücrelerinin apoptozisine yol açar (Stupp ve ark., 2017). GBM hastalarında TMZ'nin etkinliği, hücre içi O6-metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) protein seviyeleri ile ilişkilidir.

Bir DNA proteini olan MGMT, O6 guanin kalıntısını demetile ederek alkilleyici ajanların etkilerini tersine çevirir, böylece TMZ'nin glioma hücrelerine duyarlılığını azaltır. GBM hastalarında TMZ'nin etkilerini güçlendirmek için, çalışmalar TMZ'nin antianjiyogenik ajanlar, tümör tedavi alanları ve immünoterapi ile kombinasyonunu değerlendirmiştir (Stupp ve ark., 2017) .

2.2.6.4. İmmünoterapi

Şuanki imkanlarla diffüz gliomlar için immünoterapi yaklaşımlarının başarısı sınırlıdır, çünkü diffüz gliomlar düşük mutasyon yükü ve immünosupresif mikroçevreye sahiptir. Antijen sunan hücrelerin yokluğu, majör histo-uyumluluk kompleksinin aşağı regülasyonu ve kan-beyin bariyerinin varlığı, antitümör immün yanıtlarını azaltmış,

çoğu diffüz glial tümörünü immünolojik olarak düşük ve tek başına mevcut immünoterapilerin kullanımına tepkisiz hale getirmiştir. Buna ek olarak diffüz gliomlar gibi agresif beyin tümörü alt tiplerinin yüksek miyeloid imzalara, düşük immün modülatör faktörlerin ekspresyonuna ve tümör eliminasyonundan sorumlu lenfositlerin ve NK hücrelerinin minimal infiltrasyonuna sahip olduğunu ortaya koymuştur (Kim ve ark., 2018). Çoğu immün hedefli terapi, kanserlerin büyük çoğunluğunda tümör hücresi sitotoksitesinin ana efektörlerini temsil ettikleri için T hücresini modüle etmeye odaklanmıştır. Bununla birlikte, glioma mikroçevresindeki bağışıklık popülasyonunun küçük bir bölümünü oluştururlar çünkü gliomanın immün mikroçevresi, immünosupresif fenotipleri ifade eden makrofajlar/mikroglia gibi miyeloid türevli hücrelerle baskın olarak infiltredir ve tümör ilerlemesini arttırdığı ve zayıf sağkalım oranları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Goswami ve ark., 2019; Wei ve ark., 2020). Bugüne kadar tanımlanmış tümöre özgü bir antijen olan epidermal büyüme faktörü varyantı III'ü (EGFRvIII) hedefleyen CAR (chimeric antigen receptor) tedavisi glioblastomada kalıcı tepkilerle sonuçlanmadı ve EGFRvIII'e özgü peptit aşılarının önceki klinik denemelerine benzer şekilde sonuçlandı (O'Rourke ve ark., 2017; Sampson ve ark., 2010; Najem ve ark., 2021).

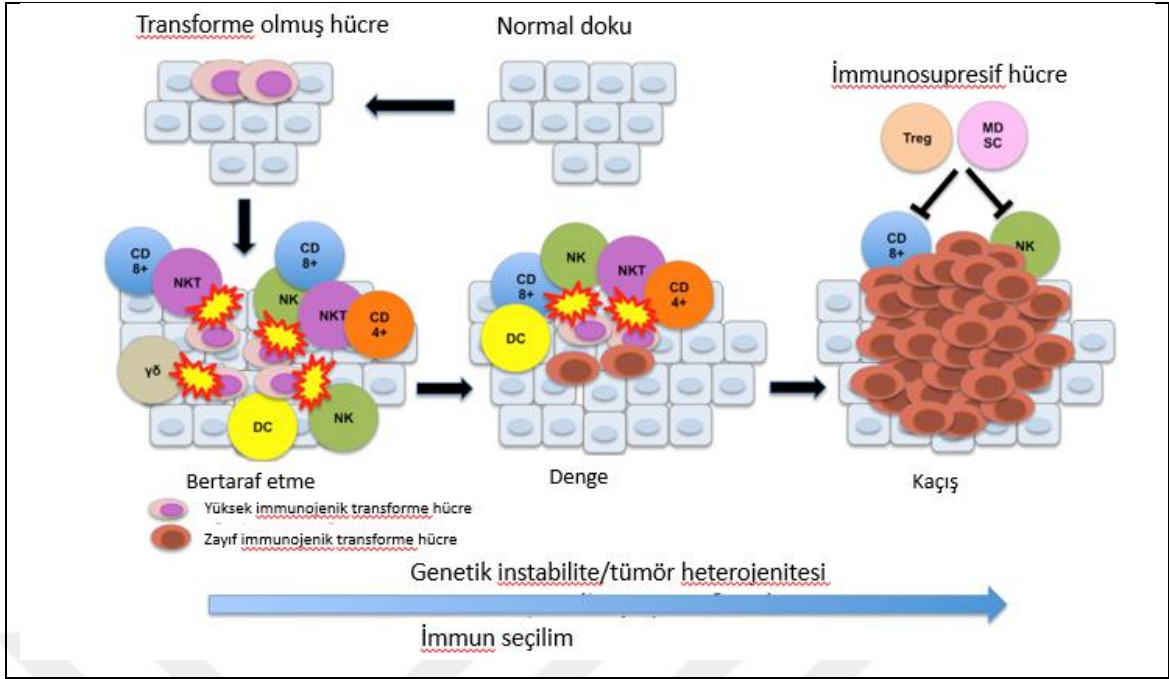
IDH-mutant gliomalar, beyin metastazlarına kıyasla aktive edilmiş ve tükenmiş T hücreleri olan TIL'lerden yoksundur (Friebel ve ark., 2020). Gliomalarda, özellikle IDH-mutant alt tipinde, T hücrelerinin bu düşük infiltrasyon durumu, immün kontrol noktası inhibitörlerine direnç için olası bir neden sağlayan, düşük immün kontrol noktası hedefleri ekspresyonuna sahip bir ortam yaratır. Öte yandan, IDH-mutant tümörler, periferden kaynaklanan monosit türevli makrofajlarla infiltre olan IDH vahşi tip ve beyin metastazının aksine, tümörde yerleşik mikroglia ile zenginleştirilmiştir (Klemm ve ark., 2020). Beyin metastazının aksine, glioblastomdaki toplam immün hücre popülasyonlarının %40 ila %70'i miyeloid türevli hücrelerdir ve tipik olarak immün baskılayıcı bir fenotipe sahip olan bu tümörlere sızan en bol immün hücre tipini temsil eder (Hussain ve ark., 2006).

Çalışmalar toplu olarak ele alındığında; adjuvan tedavilerle birleştirildiğinde, immünoterapiler, bir antitümör yanıtı ortaya çıkarma potansiyeline sahiptir. Bir neoadjuvan tedavi ile kombinasyon halinde immünoterapi, beyindeki kritik yapıları korurken kanser hücrelerini potansiyel olarak ortadan kaldırabilir (Price ve ark., 2021).

2.2.2. Kanserde İmmün Gözetim

Burnet ve Thomas 1950’li yıllarda ‘immün gözetim (immunosurveillance)’ teorisi ile immün hücrelerin oluşmaya başlayan transforme hücreleri tanınması ve ortadan kaldırması fikrini ortaya çıkarmıştır. Bu yılları takip eden çalışmalar bu immün gözetim teorisinin aslında hikayenin sadece bir parçası olduğunu ve “kanser immünoediting” olarak bilinen kavramsal bir modelin olayı daha iyi tanımlayacağını düşündüler. Bu modele göre hem doğal hem de adaptif immünitinin tümör yok etme ve tümör immünojenitesini şekillendirmede çok yönlü rol oynadığı görüşüne güçlü destek sağlamaktadır (Mittal ve ark., 2014; Vesely, 2013).

Kanser immün editing modeli üç aşamadan oluşur: eliminasyon (eleme), equilibrium (denge) ve escape (kaçış) (Şekil 2.11). İmmün sürveyans kavramının karşılığı eleme aşamasıdır. Hem doğuştan gelen hem de adaptif bağışıklık, klinik olarak görünür hale gelmeden önce tümörlere karşı tanıma ve mücadele etmede rol oynar. Ana efektörler, T hücre reseptörleri (TCR) aracılığıyla tümörle ilişkili antijenleri (TAA) tanıyan CD8⁺ T hücreleridir (Vesely, 2013). Sitotoksikite, antijen sunan hücreler (APC) tarafından MHC sınıf I molekülleri aracılığıyla sunulan antijen parçalarının bağlanması üzerine tetiklenir. Diğer önemli ve ilk cevabı veren oyuncular, hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik ligandları tanıyan çeşitli aktive edici ve inhibe edici reseptörler aracılığıyla sitotoksik aktiviteyi tanıyan ve uygulayan doğal öldürücü (NK) hücrelerdir. Çoğu tümör hücresi, eliminasyon aşamasında yok edilir; Bununla birlikte, bazı varyantlar hayatta kalmak için adapte olurlar ve bir sonraki aşamaya girebilirler. “Denge fazı”, tümör hücrelerini immün aracılı bir uyku hali durumunda koruyan düzenleyici yollar ile ilişkilidir (Möller, 1973) ve bu, bir bireyin ömrü boyunca sürebilir. Bu fazın süresi, endojen antitümör immünitinin gücü ve tümör hücrelerinin immün toleransı arasındaki dengeye bağlıdır çünkü ilk fazdan kaçan tümör hücreleri immün sistem hücreleri ile bir denge içerisinde. Bu süreç, epigenetik değişikliklerin ve genomik instabilitenin bir sonucu olarak indirgenmiş immünojenisiteye sahip tümör hücre varyantlarının ortaya çıkmasına neden olur (Kim ve ark., 2007). Lenfositler ve sitokinler tarafından uygulanan sürekli seçim baskısı altında, dirençli tümör varyantları, immünolojik kısıtlamalar olmaksızın progresif bir şekilde büyümeye başladıkları, bir immünosupresif tümör mikroçevresi oluşturdıkları ve klinik olarak agresif tümörlere yol açtıkları “kaçış fazına” girerler (Vanichapol ve ark., 2018). Bu tümör varyantları geleneksel terapilere dirençlidir ve kanser hastalarında mortalitenin ana sebebidir.



Şekil 2.11. Kanserde immün gözetim ve immün düzenleme (Bremnes ve ark., 2016)
MDSC: Myeloid derived suppressor cell; DC: dendritic cell; NK: Natural Killer Cell;

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Demirbaşlar

1. +4 °C soğutucu (Siemens)
2. -20 °C Soğutucu (Siemens)
3. -80 °C Soğutucu (Siemens)
4. CO₂'li İnkübatör (SANYO)
5. Otoklav (ALP CL-40M)
6. Pipet Tabancası (Isolab)
7. Vorteksler (Heidolph)
8. İnvirt Mikroskop (Leica)
9. Soğutmalı Santrifüj (Nüve Es 120)
10. Laminer flow (Telstar Clean Air)
11. Flow sitometri cihazı (BD FACS Aria III)
12. Su banyosu (Thermal)
13. Distile su cihazı
14. Buz makinesi (Scotman AF 103)
15. Magnetik karıştırıcı (Heidolph)
16. Otomatik pipet (1000, 200, 10ul)

3.1.2. Sarf Malzemeler

1. 96 kuyucuk round bottom plate (sigma)
2. 96 kuyucuk flat bottom plate (sigma)
3. Falcon tüp (15 ve 50 ml) (Sarstedt)
4. Ependorf tüp (Axygen)
5. Serolojik pipet (5ml, 10ml)
6. 10, 200, 1000ul pipet ucu (izolab)
7. BD falcon Cell Strainer (BD-100um)

3.1.3. Kimyasal Malzemeler

1. Distile su
2. Alkol
3. RPMI 1640 (hyclone/SH30027.02)
4. DMEM (SIGMA/D5796)
5. Fetal bovine serum (gibco/A3840001)
6. Penicillin-Streptomycin (BI/03-031-1B)
7. DMSO (Sigma)
8. PMA(Biotium)
9. Ionomycin (Sigma)
10. Golgi stop (Biolegend)
11. hIL-2 (eBioscience # BMS334)
12. hIL-7 (eBioscience #RIL75)
13. hIL-12 (eBioscience #RP-75617)
14. hIL-1b (eBioscience #RIL1BI)
15. hIL-23 (eBioscience #PHC9321)
16. True-Phos™ Perm Buffer (Biolegend)
17. Trypsin EDTA (BI/03-050-1A)
18. FITC anti-human CD14 Antibody (Biolegend) (HCD14 # 325603)
19. FITC anti-human CD5 Antibody (Biolegend) (L17F12 # 364021)
20. FITC anti-human CD11c Antibody (Biolegend) (Bu15 # 337213)
21. FITC anti-human CD19 Antibody (Biolegend) (HIB19 # 302256)
22. FITC anti-human CD94 Antibody (Biolegend) (DX22 # 305504)
23. FITC anti-human CD56 (NCAM) Antibody (Biolegend) (QA17A16 # 392413)
24. FITC anti-human FcεRIα Antibody (Biolegend) (AER-37 (CRA-1) # 334607)
25. PE anti-human CD161 Antibody (Biolegend) (W18070C # 307503)

26. PE/Cy7 anti-human CD294 (CRTH2) Antibody (Biolegend) (BM16 # 350117)
27. Alexa Fluor® 700 anti-human CD3 Antibody (Biolegend) (OKT3 # 317339)
28. Brilliant Violet 421™ anti-human CD117 (c-kit) Antibody (Biolegend) (104D2 #313215)
29. APC anti-human CD336 (NKp44) Antibody (Biolegend) (P44-8 # 325109)
30. Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7R α) Antibody (Biolegend) (A019D5 # 351343)
31. PerCP/Cyanine5.5 anti-human CD152 (CTLA-4) Antibody (Biolegend) (L3D10 # 349927)
32. APC/Cyanine7 anti-human CD279 (PD-1) Antibody (Biolegend) (EH12.2H7 # 329921)
33. Brilliant Violet 785™ anti-mouse/human KLRG1 (MAFA) Antibody (Biolegend) (2F1/KLRG1 # 138429)
34. PerCP anti-human CD69 Antibody (Biolegend) (FN50 # 310927)
35. PerCP/Cyanine5.5 anti-human CD44 Antibody (Biolegend) (C44Mab-5 # 397519)

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hastaların seçimi

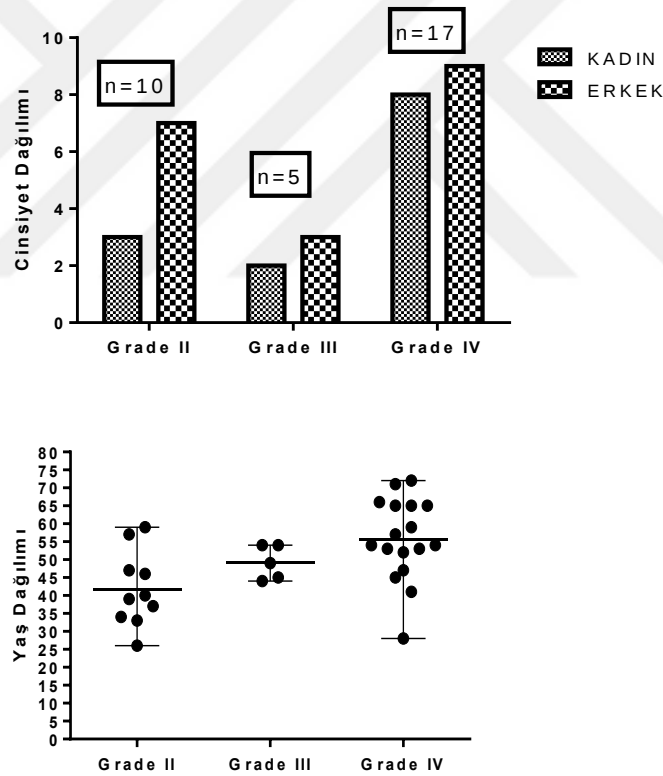
Bu çalışma için Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'ndan 23.01.2019 tarihinde 96681246 sayılı onay alınmıştır.

Çalışmamıza, rutin olarak Erciyes Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi ABD'de glial tümörlü 32 hastanın ameliyatla çıkarılmış tümör dokusu ile periferik kan örneğini ve yapılan kontroller sonucunda da herhangi bir tümör tespit edilmeyen 20 sağlıklı kontrolden kan, doku örnekleri için ise 14 tonsil dokusu aldığımız gönüllüleri dahil ettik. 18 yaşın altında olan, glial tümör haricinde herhangi bir beyin tümörüne sahip olan bireyler ve bilinen bir otoimmün hastalığı ve immün yetmezliği olan, bireyler çalışmaya dahil edilmedi.

Araştırmaya dahil edilecek hasta ve kontrol grubundaki bireylerin sayısı istatistiksel güç analizi yapılarak belirlendi. Gönüllülerin tümüne çalışma öncesi “bilgilendirilmiş gönüllü olur formu (BGOF)” okutularak, çalışma hakkında bilgi verildi ve bu belgeyi imzalayanlar çalışmaya dâhil edildi.

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi ABD, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD ve Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde gerçekleştirildi.

32 glial tümörü olan hasta klinik, histolojik özellikleri ve patoloji rapor sonucuna göre DSÖ kılavuzlarına bağlı olarak farklı gradelere ayrıldı. Şekil 3.1’de yer aldığı gibi 10 grade II, 5 grade III ve 17 grade IV hastanın tümör ve kan dokularını topladık. Bu hastaların dondurup çözdürdüğümüz lenfositlerinden yeterli hücre sayısına sahip olmayanları çalışmaya dahil edemedik. Bu yüzden tümör dokuları ile yapılan deneylerde 12 hasta (IDH1 WT=9, IDH1 MT= 3, Tonsil(kontrol grubu)=14) ve periferik kan ile yapılan deneylerde 22 hasta (IDH1 WT=12, IDH1 MT= 10, sağlıklı kontrol=20) çalışmaya dahil edildi. Grade II hastalarını 3 kadın 7 erkek, Grade III hastalarını 2 kadın 3 erkek, Grade IV hastalarını 8 kadın 9 erkek oluşturunuyordu. Hastaların yaş ortalamaları sırasıyla Grade II; 39,5, Grade III;49, Grade IV;54 idi. Hastaların tümör lokalizasyonu tek lobda idi ve cerrahi rezeksiyon ile tüm hastalarda tümör tamamen çıkarılmıştı. Şekil 3.1 ve Tablo 3.1.de hastaların demografik özellikleri özetlenmiştir.



Şekil 3.1. Hastaların grade-cinsiyet ve grade-yaş grafikler

Tablo 3.1. Hastaların demografik özellikleri

	Grade II(n=10)	Grade III(n=5)	Grade IV(n=17)
Yaş			
Ortanca	39,5	49	54
Alt-Üst			
Liimit	26-59	44-54	28-72
Cinsiyet			
Kadın	3	2	8
Erkek	7	3	9
Tümör lokasyon			
Frontal	4	1	2
Temporal	4	3	7
Oksipital/Parietal	2	1	8
IDH1 durumu			
Wild tip	4	3	15
Mutasyon	4	1	1
Ki 67 durumu			
<%10	8	1	1
≥%10	1	4	16
Nüks durumu			
Var	4	2	6
Yok	6	3	11

3.2.2.1 Glial tümör dokularından lenfosit elde edilmesi

Merkezimize 5 mL 1xPBS içerisinde gelen glioblastoma tümör dokuları 10 cm petri kabına aktarılıp, ardından skalpel ile parçalara ayrıldı. 1cc'lik şırınga içlerinin arka ucuyla 70 µm porlu Falcon strainer/süzgeç içinde 1 x PBS ile ezilip 50 mL'lik Falcon tüp içerisine tek hücre süspansiyonu haline getirilecek şekilde süzüldü, 1500 rpm'de 5dk santrifüj edilip pellet % 40'lik 3 mL Percoll içinde çözülerek ve 90 %'lik 5mL Percoll ile doldurulan 15mL falcon tüpe aktarıldı. Oda sıcaklığında 20 dk 1500 rpm'de frensiz olarak döndürülüp, orta kısımda oluşan haleden lenfositler toplandı. Hücreler kullanılacağı zaman su banyosu 37 °C'ye ısıtıldı, cryovial tüpdeki hücreler su banyosunda biraz çözündürülüp 37 °C'ye ısıtılmış komplete medyum (% 10 FBS, 1x antibiyotik, 1x L-glutamin) üzerine eklenerek 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilip, süpernatant uzaklaştırılarak hücreler deneyde kullanıldı.

3.2.2.2 Periferik kandan lenfosit elde edilmesi

Steril EDTA'lı hemogram tüplerine 3 mL kan alındı, periferik kandan mononükleer hücre izolasyonu (peripheral blood mononuclear cell=PBMC) taze tam kan örneklerinden bekletilmeden Ficoll-Hypaque (GE17-1440-03) yoğunluk gradyanı üreticinin talimatına göre yapıldı. Kısaca venöz kanın PBS ile 1:1 oranında dilüe edilmesinin ardından 3mL fikol üzerine dilüe edilen kan aktarıldı, oda sıcaklığında 30 dk 400 g'de frensiz olarak döndürülüp, orta kısımda oluşan haleden PBMC'ler toplandı. % 10 DMSO içeren hastanın kendi serumunda dondurulup -80 °C'de kullanılacağı güne kadar bekletildi. Hücreler kullanılacağı zaman su banyosu 37 °C'ye ısıtıldı, cryovial tüpdeki hücreler su banyosunda biraz çözündürülüp 37 °C'de ısıtılmış komplete medyum üzerine eklenerek 1500rpm'de 5 dk santrifüj edilip, süpernatant uzaklaştırılarak hücreler deneyde kullanıldı.

İnsan doku ve kan ile olan tüm deneylerde elde edilen lenfositler kullanıldı.

3.2.2.3 Tripan blue boyamasıyla canlı hücre sayısının belirlenmesi

Negatif yüklü olan Tripan Blue boyası canlı ve ölü hücrelerin ayırt edilmesi ve sayılmasında kullanılır. Hücre zar bütünlüğü zarar görmemiş yani canlı ise, boya hücre içine girmez fakat canlı olmayan hücreler zar bütünlüğünü yitirdiği için boyayı absorbe eder ve mikroskop altında mavi görünürler. Lenfosit izolasyonu sonucu elde edilen hücrelerden temiz bir tüpe 10 µL hücre süspansiyonu koyulur. Hücre süspansiyonu üzerine 90µL tripan blue boyası eklenir. Bu karışımın içinden 10µl alınarak thoma lamına konulur. Canlı hücreler sayılır.

Canlı hücreler sayısı aşağıdaki gibi hesaplanır: $A \cdot D \cdot S \cdot 10^4$

A: 16 karede toplam hücre sayısı

D.S: Yapılan toplam dilüsyon sayısı

3.2.2.4 Elde edilen lenfositlerin dondurulması

Kandan elde edilen lenfositler deneyin yapılacağı güne kadar uygun koşullarda saklanması -hücre ölümünü en aza indirmek- amacıyla % 10 DMSO ve 1500 µl hastanın kendi serumu dondurma ortamında süspande edilir ve cryovial tüplere konulur ve -80 °C'de bir gece bekletilir. Ertesi gün sıvı azot tankına transfer edilir.

Glial tümörlerden elde edilen lenfositler ise % 20 FBS, % 10 DMSO ve 1500µl komplete RPMI medyum içeren dondurma ortamında süspande edilir ve cryovial

tüplere konulur ve -80°C 'de bir gece bekletilir. Ertesi gün sıvı azot tankına transfer edilir.

3.2.2.5. Dondurulmuş lenfositlerin çözündürülmesi

Hücreler kullanılacağı zaman su banyosu 37°C 'ye ısıtılacak, cryovial tüpdeki hücreler su banyosunda biraz çözündürülüp (1-2 dk) 37°C 'ye ısıtılmış 5 mL komplete medyum üzerine eklenerek 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilip, süpernatant uzaklaştırılarak hücreler deneyde kullanıldı.

3.2.2.6. Tümör mikroçevresi ve periferik kandan elde edilen lenfositlerin içerisindeki ILC popülasyonunun total yüzdesinin ve mutlak sayılarının (absolute number) belirlenmesi

Sayılan PBMC'ler 1×10^6 hücre/well olacak şekilde 96-well round bottom plate içine 100µl volüm içinde olacak şekilde dağıtıldı. Hücreler 1500rpm'de 5 dk santrifüj edilip süpernatant uzaklaştırılıp PBMC'ler Stain Buffer (PBS, % 2 FBS) içerisinde çözöldü, 1µl Fc-block kullanılarak 5dk bloklama yapıldı ardından ILC hücreleri Lineage kokteyli (hepsi FITC konjuge TCRA/b, TCRg/d, CD34, CD123, CD94, CD14, CD303, FcεRIα, CD1a, CD11c, CD19, B220) Pe-CD161, AlexaFlour700 CD3, APCCy7 CD127, Pacific Blue ckit, Pe Cy7 CRTH2 ile 30dk +4 derecede karanlıkta boyandı. Hücreler Stain Buffer ile 2 kez yıkanır. 400g'de 3dk santrifüj yapıp süpernatant dökülerek flow sitometride FACS Aria III (BD Accuri™ C6) incelendi.

3.2.2.7. Tümör mikroçevresi ve periferik kandan elde edilen lenfositlerin içerisindeki ILC'lerin işlevselliğini sitokin üretme kapasitesine göre belirlenmesi

Hücre içi sitokin boyaması için 10^6 hücre/well PMA/Ionomycin/Golgi Plug ile 4 saat muamele edilip, santrifüj (1500 rpm, 3 dk) ile çöktürülüp süpernatant atılıp, Fixation/Permeabilizasyon Buffer fiksasyon işlemi yapıldı (BD Cat No: 554714). Fiksasyon için her kuyucuğa 100µl fiksatif eklenip, $+4^{\circ}\text{C}$ derecede karanlık ortamda 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sürecinden sonra, santrifüj (1500 rpm, 3dk) ile fiksatif uzaklaştırılıp 150µl permeabilization buffer 1x kullanılarak iki kez yıkama (1500rpm, 3dk) işlemi uygulandı. Sonrasında her kuyucuğa 25µl permeabilizasyon buffer ve antikor kokteyl karışımı eklendi ve 30 dakika $+4^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyon sağlandı. Son olarak elde edilen preparatlar 200µl Staining Buffer'da çözödürülerek flow sitometri cihazında ölçüm yapıldı. Boyama mixleri aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Bu uygulama ile ILC'lerce ifade edilen IFN- γ , TNF, IL-5, IL-13, IL-17A, IL-22 sitokinlerinin düzeyi belirlendi.

ILC1 SITOKİN MIX:

FITC anti-human CD3 Antibody
FITC anti-human CD14 Antibody
FITC anti-human CD19 Antibody
FITC anti-human CD20 Antibody
FITC anti-human CD56 Antibody
APC anti-human CD336 (NKp44) Antibody
Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7R α) Antibody
Brilliant Violet 421™ anti-human CD117 (c-kit)
Antibody
PE/Cy7 anti-human CD294 (CRTH2) Antibody
PE anti-human CD161 Antibody
PerCP/Cyanine5.5 anti-human CD44 Antibody
APC/Cyanine7 anti-human IFN- γ Antibody

ILC2 SITOKİN MIX:

FITC anti-human CD3 Antibody
FITC anti-human CD14 Antibody
FITC anti-human CD19 Antibody
FITC anti-human CD20 Antibody
FITC anti-human CD56 Antibody
APC anti-human CD336 (NKp44) Antibody
Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7R α) Antibody
PE/Cy7 anti-human CD294 (CRTH2) Antibody
PE anti-human CD161 Antibody
PerCP/Cy5.5 anti-human IL-13
Brilliant Violet 421™ anti-mouse/human IL-5
Amphiregulin Monoclonal Antibody (AREG559), APC,
eBioscience™

ILC3 SITOKİN MIX:

FITC anti-human CD3 Antibody
FITC anti-human CD14 Antibody
FITC anti-human CD19 Antibody
FITC anti-human CD20 Antibody
FITC anti-human CD56 Antibody

Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7R α) Antibody

Brilliant Violet 421™ anti-human CD117 (c-kit)

Antibody

PE anti-human CD161 Antibody

APC/Cyanine7 anti-human IL-17A

PE/Cy7 anti-human IL-22 Antibody

PerCP/Cyanine5.5 anti-human GM-CSF

3.2.2.8. PD-1, CTLA-4 ve KLRG1 gibi kontrol noktası moleküllerin ILC’lerde yüzey boyaması yapılarak kantifiye edilmesi

Hücreler yüzey boyaması (2. Protokol) uygulanarak ilgili moleküllerin antikorları ile boyanmanın ardından flow sitometri cihazında analiz yapıldı.

İNİBİTÖR PROTEİNLER İÇİN YÜZEY BOYAMA MİXİ:

FITC anti-human CD3 Antibody

FITC anti-human CD14 Antibody

FITC anti-human CD19 Antibody

FITC anti-human CD20 Antibody

FITC anti-human CD56 Antibody

APC anti-human CD336 (NKp44) Antibody

Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7R α) Antibody

Brilliant Violet 421™ anti-human CD117 (c-kit) Antibody

PE/Cy7 anti-human CD294 (CRTH2) Antibody

PE anti-human CD161 Antibody

PerCP/Cyanine5.5 anti-human CD152 (CTLA-4) Antibody

APC/Cyanine7 anti-human CD279 (PD-1) Antibody

Brilliant Violet 785™ anti-mouse/human KLRG1 (MAFA) Antibody

3.2.3.1. U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatlarının çoğaltılması

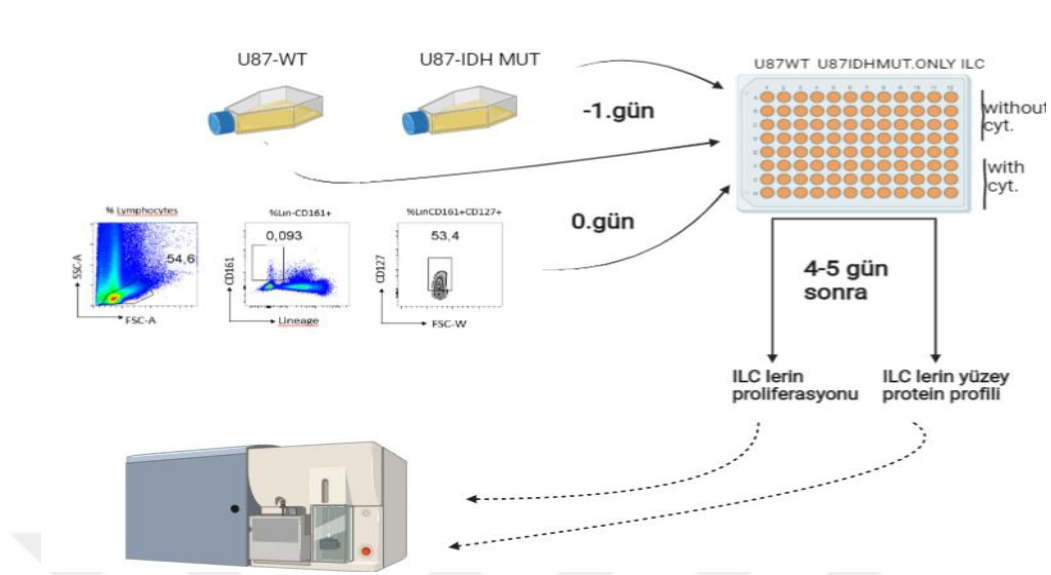
Çalışmamızın ex vivo deneylerini gerçekleştirmekte kullandığımız U-87 MG ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatları Erciyes Üniversitesinden Prof. Dr. Zuhale Hamurcu’nun hediyesidir. U-87 MG hücre hattı 1966’dan 1969’a kadar J. Ponten ve arkadaşları tarafından malign gliomalardan (ATCC® HTB-15™ ve HTB-16™) türetilen bir dizi hücre dizisinden biridir (Allen, 2016). IDH1 mutant-U-87 hücre hattı U-87MG

(ATCC® HTB-14) hücre hattından türetilen bir glioma IDH1 R132H mutant izojenik hattır. IDH1 R132H protein ekspresyonunu kodlayan c.395G>A knock-in mutasyonu, CRISPR/Cas9 gen düzenleme teknolojisi kullanılarak ATCC'de oluşturuldu. Bu, c.395G>A mutant aleli ifade eden heterozigot bir mutasyondur. Hücre hatlarının kültürü için 25cm²'lik flasklar kullanıldı ve üretici firmanın tavsiye ettiği protokol uygulanarak hücrelerin çoğaltılması, pasajlanması, dondurulup-çözülmesi gerçekleştirildi. Adherent hücre oldukları için Tripsin enzimi kullanılarak kaldırma işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemler sırayla aşağıda sıralanan basamaklar izlenerek yapıldı;

- 1- Kültür medyumunu atıldı.
- 2- Tripsin inhibitörü içeren tüm serum kalıntılarını uzaklaştırmak hücre katmanı Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ içermeyen Dulbecco fosfat tamponlu salin (D-PBS) ile kısaca yıkandı.
- 3- Flaska 2mL Tripsin-EDTA çözeltisi eklenip ve hücre tabakası dağılıncaya kadar (inkübatörde genellikle 3dk içinde) hücreleri ters mikroskop altında incelendi.
- 4- 2 ila 3mL medyum eklendi ve hücreler yavaşça pipetleyerek aspire edildi.
- 5- Hücre pelletini taze besi yeri ekleyerek süspanse edildi. Yeni kültür kaplarına hücre ekimi yapıldı.
- 6- Kültürler 37 °C'de inkübe edildi.

Hücre stoğu bu şekilde elde edilerek takip eden deneylerde kullanıldı.

3.2.3.2. U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatları ile ILC'lerin ko-kültürü



Şekil 3.2. Deney Tasarımı

Kronik başka bir hastalığı ve kanser olmayan rekürren tonsillit tanısı almış insanlardan aldığımız 10 tonsillerden ILC'leri aşağıdaki boyama protokolünü uygulayarak FACSARIAIII cihazı ile sort ettik.

TONSİL DOKUSUNDAN ILC İZOLASYONU İÇİN GEREKLİ YÜZEY BOYAMA MİXİ:

- FITC anti-human CD14 Antibody
- FITC anti-human CD5 Antibody
- FITC anti-human CD11c Antibody
- FITC anti-human CD19 Antibody
- FITC anti-human CD56 (NCAM) Antibody
- FITC anti-human FcεRIα Antibody
- Alexa fluor 488 anti-human TCRα/β
- FITC anti-human-CD3
- Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7Rα) Antibody
- Brilliant Violet 421™ anti-human CD117 (c-kit) Antibody
- PE/Cy7 anti-human CD294 (CRTH2) Antibody
- PE anti-human CD161 Antibody

Deney kurgusunda -1.

Gün GBM hücre hatları flasktan kaldırıldı ve 96-well plate 2000 hücre/well olacak

şekilde ekildi. Bu sayede 1 gece boyunca yapışmaları sağlandı. 0. Gün tonsilden elde edilen 10^4 hücre/well olacak şekilde ILC'ler ile ko-kültür yapıldı. Bu deney kurgusunda 2 farklı kondisyon kullanıldı; ILC hücrelerinin gereksinim duydukları sitokin kokteylerinin oldukları ve olmadıkları şeklinde. Bu kondisyon aşağıda belirtildi.

ILC ONLY	ILC+IDHMT	ILC+IDHWT
IL2 (10U/ml)	IL2 (10U/ml)	IL2 (10U/ml)
IL1b (50ng/ml)	IL1b(50ng/ml)	IL1b(50ng/ml)
IL23 (50ng/ml)	IL23(50ng/ml)	IL23(50ng/ml)
IL7 (50ng/ml)	IL7 (50ng/ml)	IL7 (50ng/ml)

Kültür 4 gün sonra sonlandırıldı. Süpernatantdan 100µl ELISA için toplandı ardından ILC hücreleri PerCP/Cyanine5.5 anti-human CD152 (CTLA-4) AntibodyAPC/Cyanine7 anti-human CD279 (PD-1) Antibody, APC anti-human KLRG1 (MAFA) Antibody boyalar ile yüzey boyaması yapıldı, flow sitometri ile analizleri yapıldı.

Aynı deney kurgulanarak bu sefer ILC'ler kültüre konulmadan önce CFSE boyası ile boyandı. İzlenilen protokol kısaca; sort edilen ILC'ler 5 µM CFSE olacak şekilde %5 FBS içeren PBS içerisinde 2dk oda ısısında karanlıkta boyanan hücreler medyum ile yıkanıp yeni besi yeri içerisinde yukarda bahsi geçen kondisyonlar da ko-kültüre konuldu, 4 gün sonra flow sitometri cihazında ILC'lerin proliferasyon yüzdeleri ölçüldü.

3.2.3.3. U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatları süpernatantları ile ILC'lerin ko-kültürü

U-87 MG ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatları 2 gece kültür edildikten sonra üzerlerinden süpernatantlar toplandı. FBS, antibiyotik ile süpernatantlar tazelandı ve gentamisin ilavesi yapıldı. Bölüm 3.2.3.2'de yazılan protokole göre insan tonsillerinden ILC izolasyonu gerçekleştirildi. Sitokin olduğu/olmadığı süpernatantlarla ILC'ler 3 gün ko-kültür yapıldı. Ardından ILC'lerin PD1, CTLA-4, KLRG-1 ekspresyon miktarları ayrıca ürettikleri sitokin miktarları analiz edildi.

3.2.3.4. Hücre içi boyama ile sitokin üretim kapasitesinin tayini

Sitokin miktarı intraselüler boyama ile tayin edildi. Bunun için hücreler PMA (50ng/mL), ionomycin (1µg/mL) ve golgi stop (1µL/mL) ile 37 °C'de 3-5saat inkübatörde uyarıldı. Ardından 96-kuyucuklu kaptaki hücreler çöktürülerek 100µL fiksatif ilave edildi, (karanlıkta 20dk 4 °C'de) fikse edilen hücreler 400g'de 3dk santrifüj edilip supernatant uzaklaştırıldı, pellet üzerine 150µl 1xPerm Buffer ilave edildi ve santrifüj ile yeniden supernatant uzaklaştırıldı permabilize işlemi 2 kez tekrar edildi ve Perm buffer içinde hazırlanan APC/Cyanine7 anti-human IFN γ , PE anti-human TNF α , PerCP/Cyanine5.5 anti-human IL-2, PB anti-human GM-CSF, APC anti-human IL-17 sitokin antikörlerinin ilavesini takiben buz üzerinde karanlıkta 30dk hücrelerin boyanması sağlandı. Yıkama tamponu ile bir kez yıkanan hücreler flow sitometri cihazı ile analiz edildi.

3.2.3.5. PD-1, CTLA-4 ve KLRG1 gibi kontrol noktası molekülleri *ex-vivo* ILC'lerde yüzey boyaması yapılarak kantifiye edilmesi

3.2.3.3. nolu bölümde yazılan GBM hücre hattı ile ko-kültür yapılan ILC'ler 3 günün sonunda yeniden PD-1, CTLA-4 ve KLRG1 antikörleri ile yüzey boyaması gerçekleştirilerek analizleri flow sitometri ile yapıldı.

3.2.4. İstatistik analiz

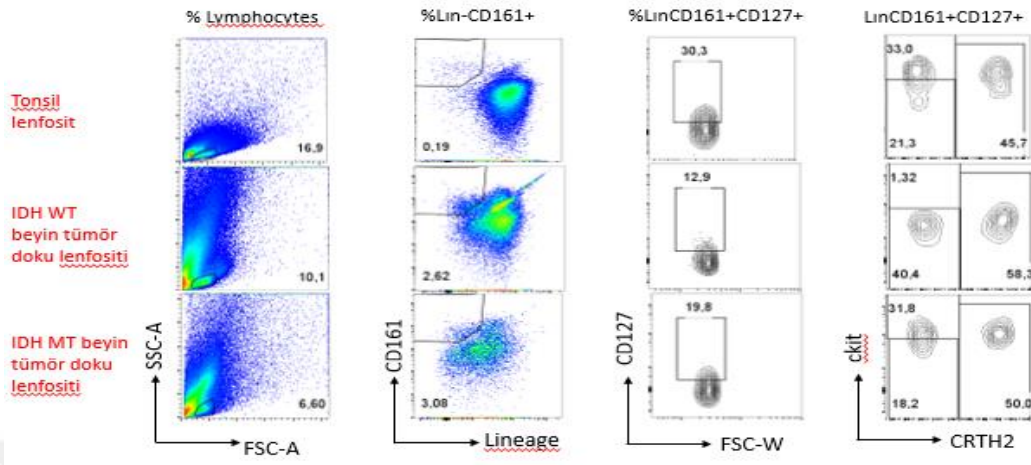
Kontrol ve hasta grubu arasındaki ikili karşılaştırmalarda Student's *t*-test, ANOVA ve non-parametrik testler uygulandı. ANOVA multiple comparison test sonrası Tukey's düzeltmesi ile uygulanmıştır. Non-parametrik test ise multiple comparison test sonrası Dunn's düzeltmesi yapılarak kullanılmıştır. Bütün durumlarda $p \leq 0.05$ anlamlı kabul edildi (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$). Flow sitometri datalarının analizi için Flowjo (10.0.6) programı, ve istatistiksel analiz için GraphPad Prism 6 yazılımı kullanıldı.

4. BULGULAR

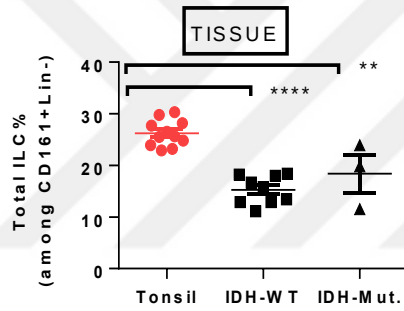
4.1. IDH1 MT ve WT insan glial tümör dokularında ILC'lerin frekansı

Glial tümörleri olan hastaların ameliyatları sırasında çıkarılan beyin doku örneklerinde ILC'lerin yüzdelerini araştırdık. Aldığımız tümör dokularından materyal metot kısmında anlatıldığı gibi lenfosit izolasyonu gerçekleştirildi. Aynı zamanda kontrol amacı ile kullanılmak üzere rekürren tonsillit tanısı ile ameliyata alınan insanların tonsil dokuları da toplanarak aynı protokolle lenfosit izolasyonları gerçekleştirildi. Elde edilen lenfositler deneyde eşit koşulları sağlamak amacıyla uygun dondurma protokolleri ile deneyin yapılacağı güne kadar azot tankında saklandı. Çözdürülen lenfositler sayılarak ILC'leri tanımlayacak uygun yüzey boyamaları floresan işaretli antikorlar ile boyandı ve FACS AriaIII cihazında total ILC ve ILC alt grupları olan ILC1, ILC2, ILC3 için analizler gerçekleştirildi. Şekil 4.1A ILC'lerin kapılama stratejisi gösterilmiştir. 3 farklı grup örneğimiz vardı. 1. Grup: insan tonsil ILC'leri 2.grup: IDH mutasyonu olmayan insan tümör ILC'leri ve 3. grup: IDH mutasyonu olan insan tümör ILC'leri idi. ILC alt grupları kıyaslandığında IDH mutasyonu olan tümör dokusundaki ILC1'lerin anlamlı olarak azaldığını gözlemledik, aynı zamanda bu azalma tonsil ILC1'lerine göre de anlamlı idi. ILC2 yüzdeleri her 3 grup içinde benzerdi. ILC3'lerin sıklığı kıyaslandığında ise IDH mutasyonu olanlarda olmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksekti, (Şekil 4.1).

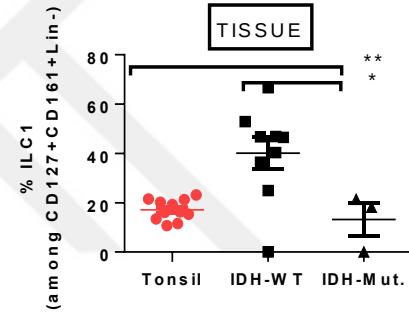
A



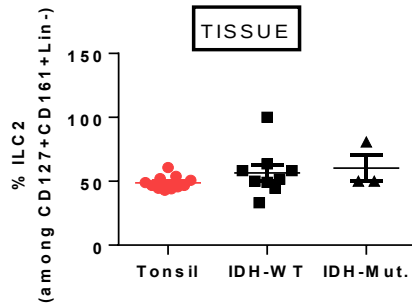
B



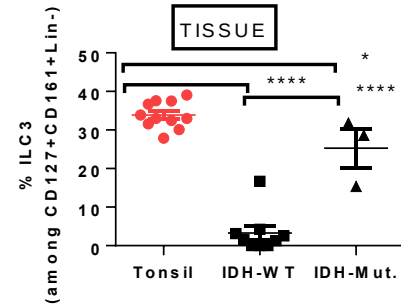
C



D



E

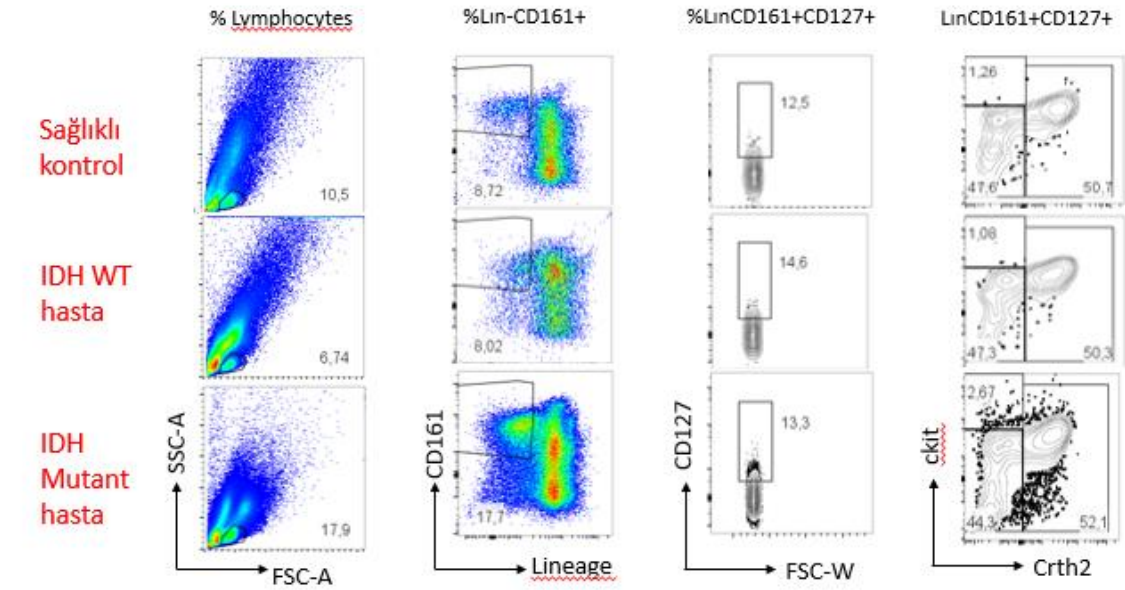


Şekil 4.1. IDH1MT insan glial tümör dokularında IDH1WT grubuna kıyasla ILC1'i frekansı az ve ILC3 frekansı yüksek bulundu. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$) **(A)** İnsan tonsil (kontrol) dokusu, IDH mutasyonu olan ve olmayan glial tümörlerden elde edilen lenfositlerin FITC anti-human CD3, FITC anti-human CD14, FITC anti-human CD19, FITC anti-human CD20, FITC anti-human CD56, Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7R α), PE anti-human CD161 antikolları ile boyanması ile elde edilen ILC'lerin flow sitometri kapılama stratejilerinin gösterilmesi (FSC-A: Forward scatter area, SSC-A: Side scatter area). **(B)** Kontrol, IDH MT, IDH WT hasta dokularında total ILC yüzdelерinin karşılaştırılması. **(C)** Kontrol, IDH1 MT, IDH1 WT hasta dokularında total ILC1 yüzdelерinin karşılaştırılması. **(D)** Kontrol, IDH1 MT, IDH1 WT hasta dokularında total ILC2 yüzdelерinin karşılaştırılması. **(E)** Kontrol, IDH1 MT, IDH1 WT hasta dokularında total ILC3 yüzdelерinin karşılaştırılması.

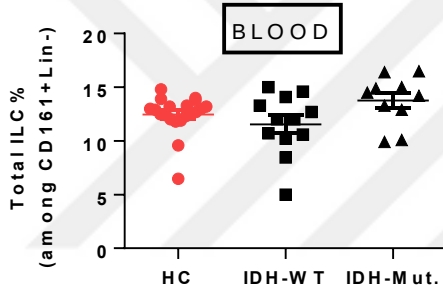
4.2. IDH1 mutant/wt insan glial tümörlü hastaların kanlarındaki ILC'lerin frekansı

Glial tümörü olan hastalardan tümör rezeksiyonu için ameliyata girdikleri esnada kan örnekleri de alındı. Aynı zamanda yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı gönüllülerden de kan aldık. Periferik kandan lenfosit izolasyonu fikol kullanılarak gradient farkı ayırımına göre yapıldı, ayrıntılı protokol materyal metod kısmında yazıldı. Tümör dokularından elde edilen lenfositler gibi kandan elde edilenler de donduruldu ve kullanılacağı gün çözündürme protokolü uygulanıp sayılarak eşit sayıda hücre kullanıldı. Ardından yine ILC'lere spesifik yüzey boyamaları yapılarak analizler gerçekleştirildi. Şekil 4.2'de kan ILC'lerinin kapılama stratejisi gösterilmiştir. Sonuçlarda tümör dokusuyla tutarlı olarak IDH mutasyonu olanlarda olmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek ILC3 yüzdesi vardı. Aynı zamanda IDH1 wild tip olanların kanında sağlıklı kontrollere göre daha az ILC3 popülasyonu gözlemlendi (Şekil 4.2).

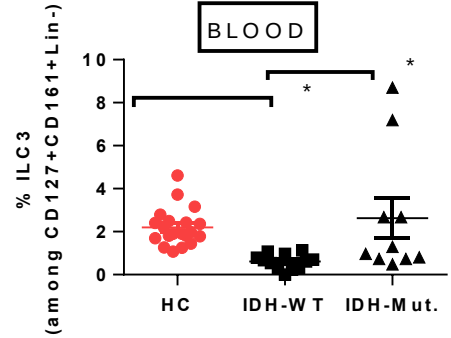
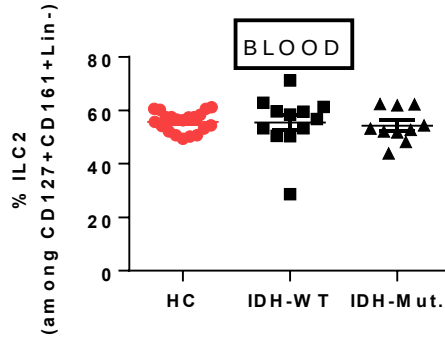
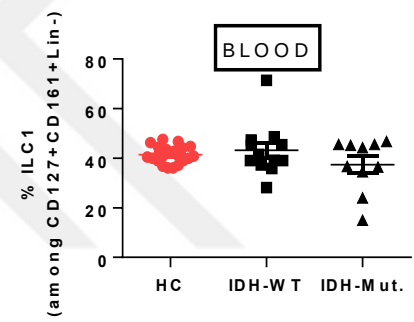
A



B



C



D

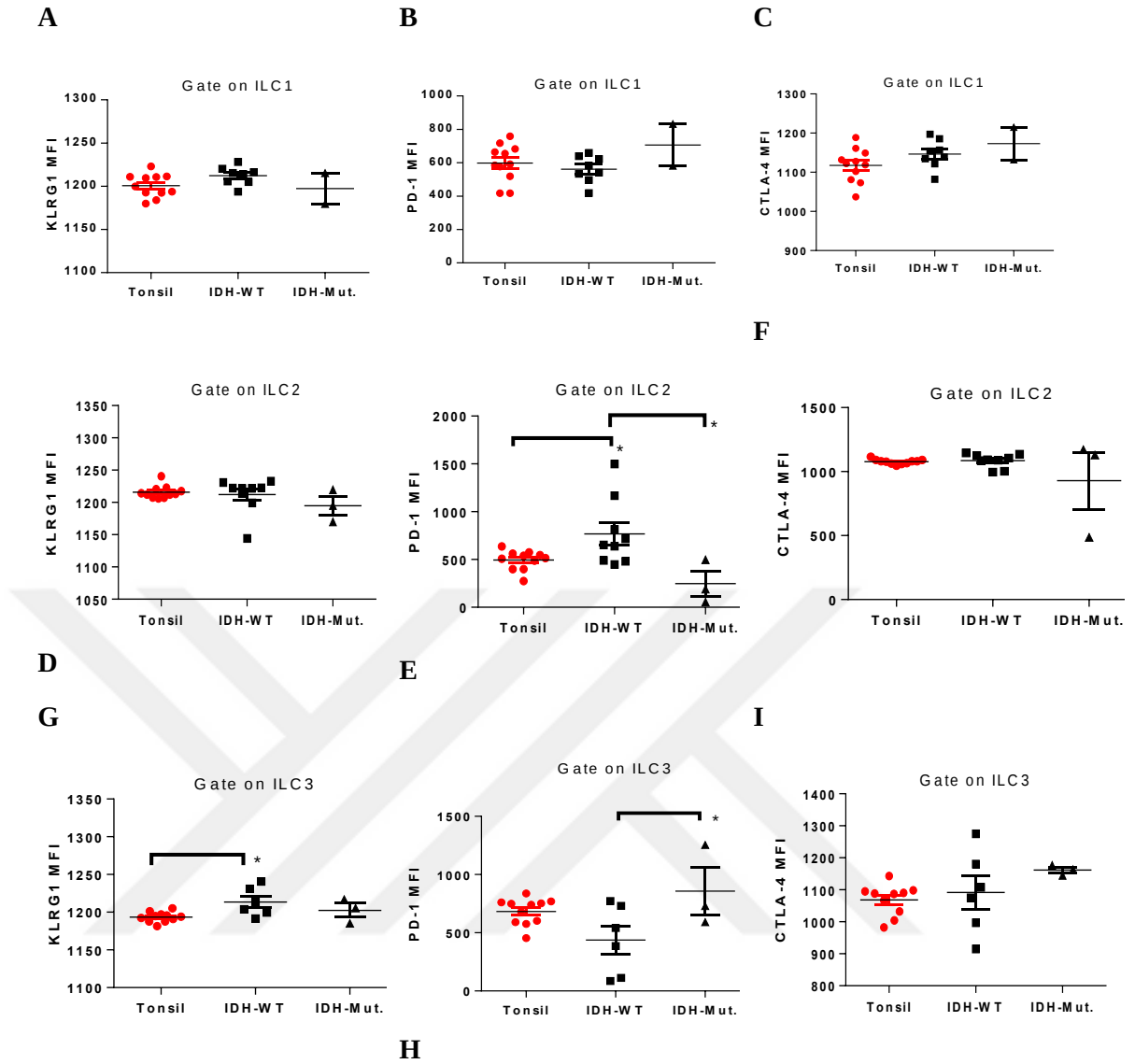
E

Şekil 4.2. IDH1MT glial tümörü olan hasta kanı IDH1WT grubuna kıyasla yüksek ILC3 içeriyordu. (* $p \leq 0.05$) **(A)** Sağlıklı kontrol ve IDH mutasyonu olan ve olmayan glial tümürlü hastaların kanından elde edilen lenfositlerin FITC anti-human CD3, FITC anti-human CD14, FITC anti-human CD19, FITC anti-human CD20, FITC anti-human CD56, Alexa Fluor® 700 anti-human CD127 (IL-7R α), PE anti-human CD161 antikorları ile boyanması ile elde edilen ILC'lerin flow sitometri kapılama stratejilerinin gösterilmesi (FSC-A: Forward scatter area, SSC-A: Side scatter area). **(B)** Total ILC yüzdelерinin Kontrol, IDH1 MT, IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(C)** ILC1 yüzdelерinin Kontrol, IDH1 MT, IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(D)** ILC2 yüzdelерinin Kontrol, IDH1 MT, IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(E)** ILC3 yüzdelерinin Kontrol, IDH1 MT, IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması.

4.3. İnsan glial tümör doku ILC'lerinin kontrol noktası ifadesi

Hasta ve sağlıklı kontrol olarak kullandığımız tonsil örneklerindeki ILC hücre alt gruplarında kontrol noktası proteinleri olan KLRG1, PD1, CTLA4 ifadelerini flow sitometri ile analiz etmek istedik. Bu yüzden dokudan elde edilen ILC hücre alt gruplarına bu proteinler için spesifik yüzey boyaması yapıldı ve analiz edildi. IDH1 WT ILC2'lerin PD1 ifadesi hem tonsil ILC2'si hem de IDH1 MT tümör ILC2'leri ile kıyaslandığında anlamlı olarak artmıştı. Bunun yanında KLRG1 ifadesinin IDH1 WT ILC3'lerin tonsil ILC3'lerine kıyasla anlamlı artışını, PD1 ifadesinin ise IDH1 MT ILC3'lere kıyasla anlamlı azalışını gözlemledik. Ancak her üç grup ILC1'lerin KLRG1, PD1, CTLA4 ifadeleri benzerdi (Şekil 4.3).

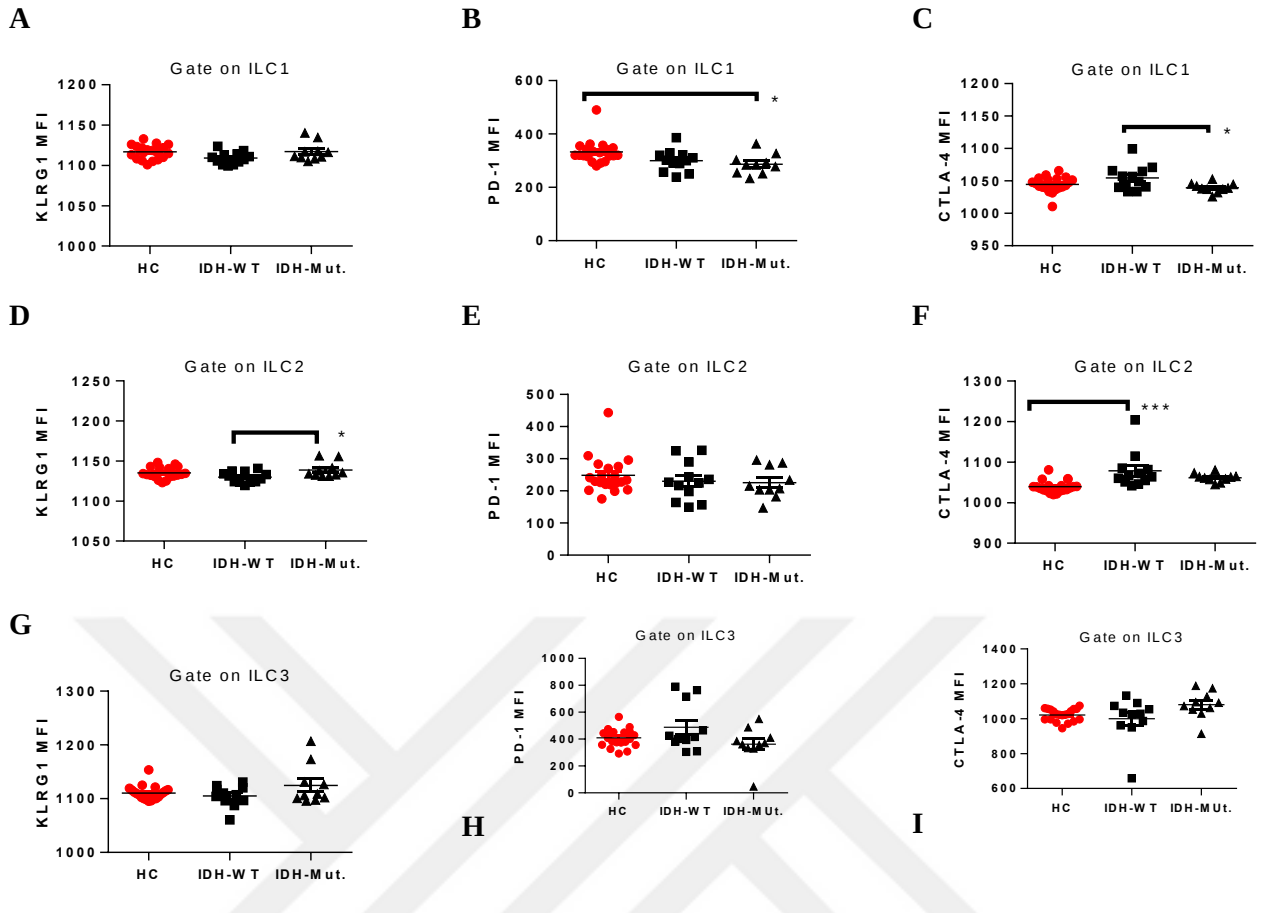




Şekil 4.3. İnsan IDH1 WT ILC2 ve IDH1 MT ILC3'te artmış PD-1 ifadesi varken IDH1 WT ILC3'te ise KLRG1 ifadesinin arttığı bulundu. (* $p \leq 0.05$) **(A)** ILC1'lerin ifade ettiği KLRG1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(B)** ILC1'lerin ifade ettiği PD1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(C)** ILC1'lerin ifade ettiği CTLA-4 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(D)** ILC2'lerin ifade ettiği KLRG1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(E)** ILC2'lerin ifade ettiği PD1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(F)** ILC2'lerin ifade ettiği CTLA-4 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(G)** ILC3'lerin ifade ettiği KLRG1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(H)** ILC3'lerin ifade ettiği PD1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması. **(I)** ILC3'lerin ifade ettiği CTLA-4 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hastalar arasında karşılaştırılması.

4.4. Glial tümörlü hastaların periferik kan ILC'lerinin kontrol noktası ifadesi

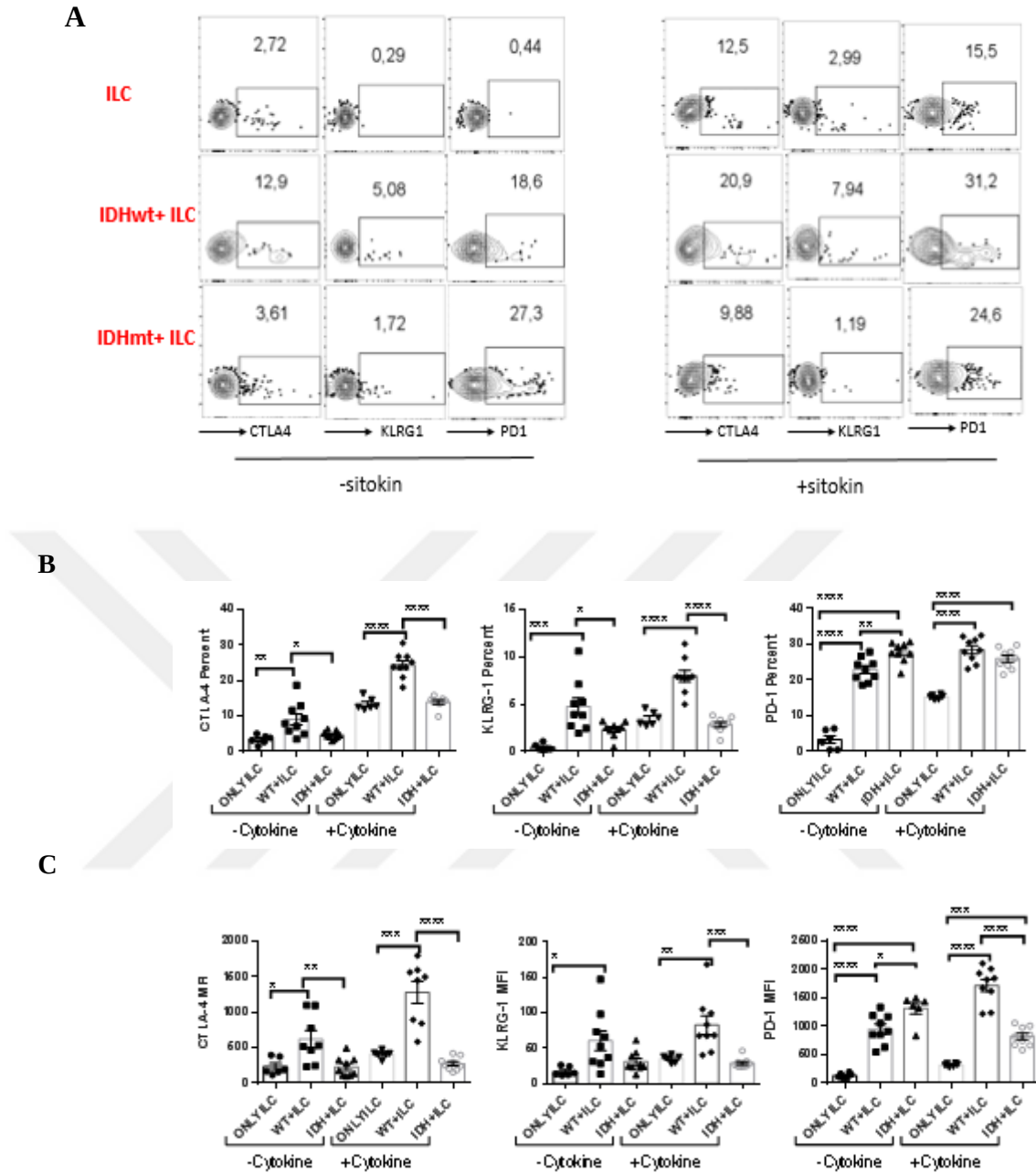
Hasta ve sağlıklı kontrol periferik kan örneklerindeki ILC hücre alt gruplarında kontrol noktası proteinleri olan KLRG1, PD1, CTLA4 ifadesi flow sitometri ile analiz edildi. Kandan elde edilen ILC hücre alt gruplarına bu proteinler için spesifik yüzey boyaması yapıldı ve analiz edildi. IDH1 MT hasta kanında sağlıklı kontrol kanı ile karşılaştırıldığında ILC1'de azalmış PD-1, IDH1 WT ile karşılaştırıldığında azalmış CTLA-4 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.4). KLRG1 ifadesi IDH MT hasta ILC2'lerinde IDH WT ILC2'lerine göre artmış ve yine CTLA-4 ekspresyonu IDH WT hasta ILC2'lerinde sağlıklı kontrollere kıyasla artmıştı (Şekil 4.4). Ancak IDH1 WT ve MT kıyaslandığında WT ILC1'in CTLA-1 ifadesi önemli ölçüde daha yüksekti. Ancak her üç grup ILC3'lerin KLRG1, PD1, CTLA4 ifadeleri benzerdi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. IDH1 MT glial tümör hastalarının kan ILC1'lerinde azalmış CTLA-4 ifadesi bulundu. (* $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.005$) **(A)** ILC1'lerin ifade ettiği KLRG1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(B)** ILC1'lerin ifade ettiği PD1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(C)** ILC1'lerin ifade ettiği CTLA-4 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(D)** ILC2'lerin ifade ettiği KLRG1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(E)** ILC2'lerin ifade ettiği PD1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(F)** ILC2'lerin ifade ettiği CTLA-4 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(G)** ILC3'lerin ifade ettiği KLRG1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(H)** ILC3'lerin ifade ettiği PD1 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması. **(I)** ILC3'lerin ifade ettiği CTLA-4 MFI'lerinin kontrol, IDH1 MT ve IDH1 WT hasta kanları arasında karşılaştırılması.

4.5. ILC-IDH1 MT veya -IDH1 WT hücre hattı ko-kültürlerinde ILC kontrol noktası inhibitörlerinin ifadesi

İnsan tümör doku ve kan örnekleriyle yaptığımız deneylere ek olarak glioblastoma insan hücre hatları olan U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 ile deneylerimizi devam ettirdik. Bunun için tonsil dokularından lenfosit izolasyonu yapıp uygun yüzey boyamalarının ardından flow sitometride kapılama stratejisi uyguladık ve total ILC'leri izole ettik. Ardından bu iki hücre hatları ile birlikte 4-5 gün kültürledik. Sonrasında ILC'leri adherent tümör hücrelerinden ayırdık ve PD-1, KLRG1 ve CTLA-4 ifadelerini ölçmek üzere gerekli yüzey antikoları kullanarak yüzey boyaması gerçekleştirdik. Bu deneyi yaparken ILC'lerin gelişimi için gerekli sitokinleri eklediğimiz ve ekmediğimiz kondisyonlar vardı. IDH1 WT hücre hattı ile ko-kültür olan ILC'lerin yüzey PD-1, KLRG1 ve CTLA-4 ifadesi IDH MT olanlara kıyasla anlamlı olarak artmıştı (Şekil 4.5). Ayrıca tek başına ILC'lerin olduğu kondisyonlarda tümör hücre hattı ile ko-kültür yapılan ILC'lere oranla PD-1, KLRG1 ve CTLA-4 ifadesinin olduğu bulundu (Şekil 4.5).



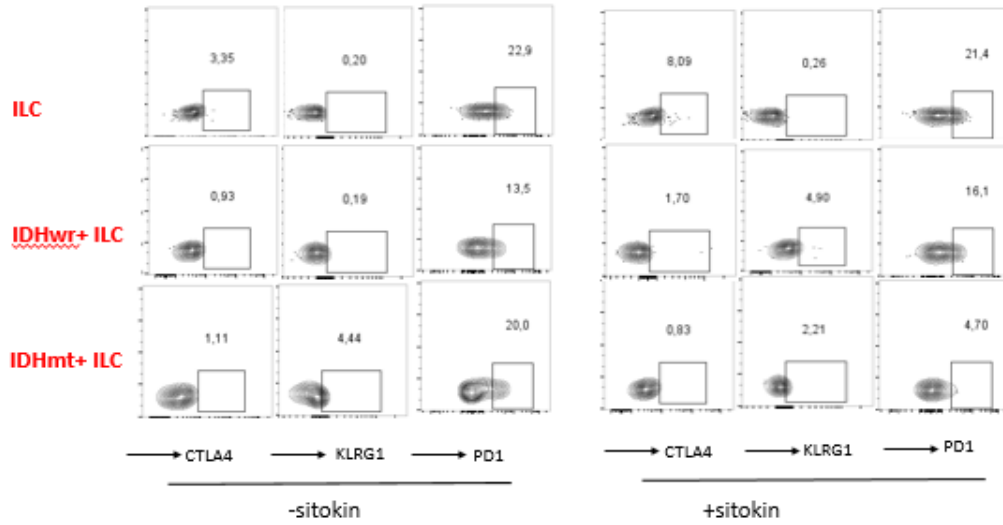
Şekil 4.5. IDH1 WT GBM hücreleri ile tonsil ILC'lerin ko-kültürü, yüzey PD-1, KLRG1 ve CTLA-4'ü IDH MT'den önemli ölçüde daha fazla artırdı. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$) Tek başına ILC'nin ve IDH1 MT/IDH1 WT GBM hücre hattı ile birlikte sitokinli (rekombinant human IL2 (5ng), rekombinant human IL7 (50 ng), rekombinant human IL12 (50ng), rekombinant human IL1 β (50ng), rekombinant human IL23 (50ng) ve sitokinsiz 4 gün kültürlendi. **(A)** ILC'lerin CTLA4, KLRG1, PD1 ifadelerinin flow sitometri grafik gösterimi. **(B)** ILC'lerin CTLA4, KLRG1, PD1 ifade yüzdelерinin bar grafik gösterimi. **(C)** ILC'lerin CTLA4, KLRG1, PD1 ifade MFI'larının bar grafik gösterimi.

4.6. IDH1 MT veya IDH1 WT hücre hattı süpernatantlarına maruz kaldıktan sonra ILC kontrol noktası inhibitörü ifadesi

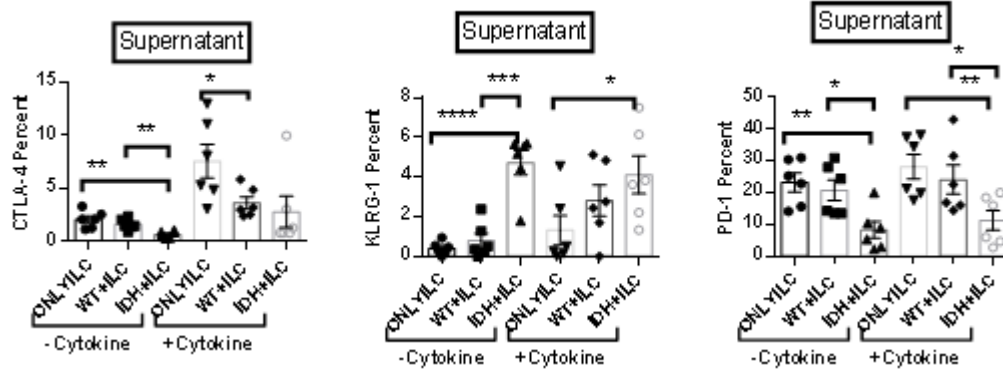
IDH1 MT ve IDH1 WT hücre hatlarını kültür kaplarına 10^5 hücre/200 μ l koyarak 2 gün kültürledik. Sonrasında yapışan hücrelere dokunmaksızın üzerindeki süpernatantı topladık, hücre alma ihtimalini ekarte etmek için santrifüjleyerek süpernatantlara %5 FBS, antibiyotik (1x) ekleyerek filtreden geçirdik. Tonsil dokusundan ILC izolasyonu gerçekleştirdik ve her kuyucuğa eşit ILC gelecek şekilde topladığımız süpernatantlar ve sadece besiyeri ile 3 gün kültür yaptık. Sonrasında ILC hücrelerinin PD-1, KLRG1 ve CTLA-4 yüzey ifadeleri için gerekli boyamaları uyguladık. IDH1 MT GBM hücre hattının süpernatantında ILC'lerin kültürlenmesi, PD-1 ve CTLA-4'ün ILC ekspresyonunu IDH1 WT supernatant'tan önemli ölçüde daha fazla azalttı, ancak KLRG1'i her grupta aynı seviyelerde idi (Şekil 4.6).



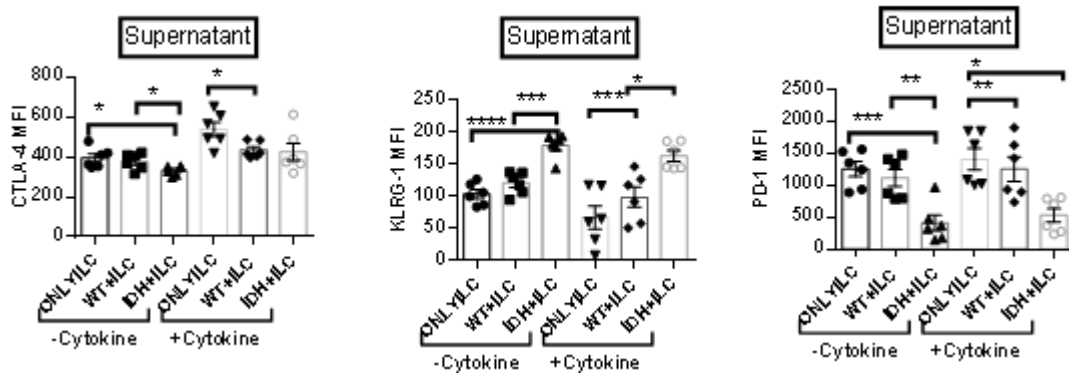
A



B



C



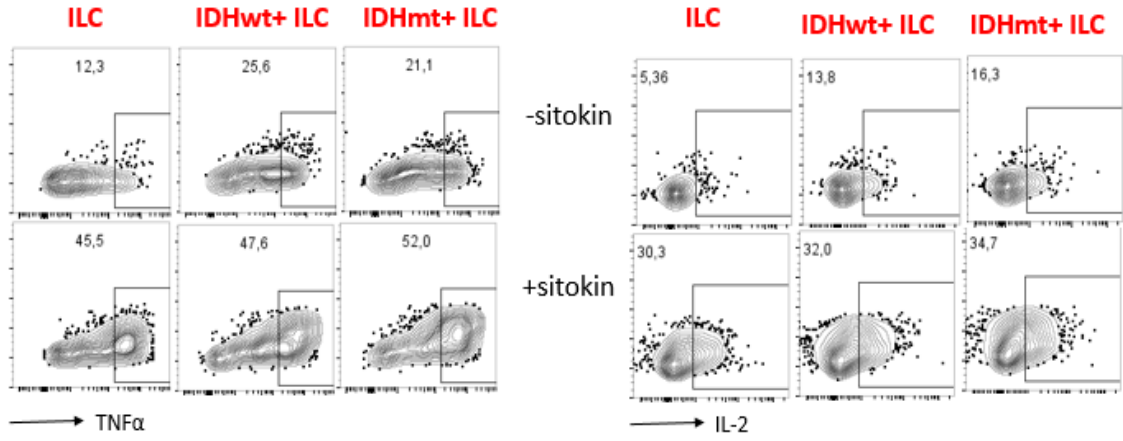
Şekil 4.6. IDH1 MT GBM hücre hattının süpernatantında ILC'lerin kültürlenmesi, PD-1 ve CTLA-4'ün ILC ekspresyonunu IDH1 WT süpernatantına göre önemli ölçüde daha fazla azaltır, ancak KLRG1'i azaltmaz. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$) Tek başına ILC'nin ve IDH1 MT/IDH1 WT GBM süpernatantı ile birlikte sitokinli (rekombinant human IL2 (5ng), rekombinant human IL7 (50 ng), rekombinant human IL12 (50 ng), rekombinant human IL1 β (50ng), rekombinant human IL23 (50ng) ve sitokinsiz 4 gün kültürlendi. **(A)** ILC'lerin CTLA4, KLRG1, PD1 ifadelerinin flow sitometri grafik gösterimi. **(B)** ILC'lerin CTLA4, KLRG1, PD1 ifade yüzdelere bar grafik gösterimi. **(C)** ILC'lerin CTLA4, KLRG1, PD1 ifade MFI'lerinin bar grafik gösterimi.

4.7. GBM Hücre hattı süpernatantı ile ko-kültür yapılan ILC'lerin sitokin üretim kapasitesi

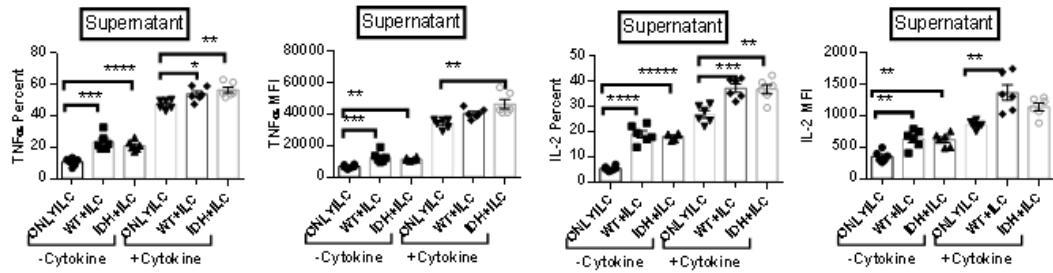
Tonsil dokusundan elde ettiğimiz ILC'lerin üzerine IDH1 MT ve IDH1 WT hücre hattından elde ettiğimiz süpernatantları ekleyerek 3 gün birlikte kültür ettik, sitokinin olduğu ve olmadığı koşullarda elde ettiğimiz ILC'leri 3. günün sonunda PMA, ionomycin, Golgi Plug ile 4 saat aktive ettikten sonra Biolegend marka fiksatif/permabilize kiti kullanarak hücre içi sitokin boyaması gerçekleştirdik. APC/Cyanine7 anti-human IFN γ , PE anti-human TNF α , PerCP/Cyanine 5.5 anti-human IL-2, PB anti-human GM-CSF, APC anti-human IL-17 antikorları ile boyama yaparak flow sitometride analiz yaptık. GBM hücre hattı süpernatantları ile kültürlenmiş ILC'ler sadece besiyerinde oldukları duruma göre anlamlı olarak TNF- α , IL-2 üretimini aktive etti (Şekil.4.7).



A



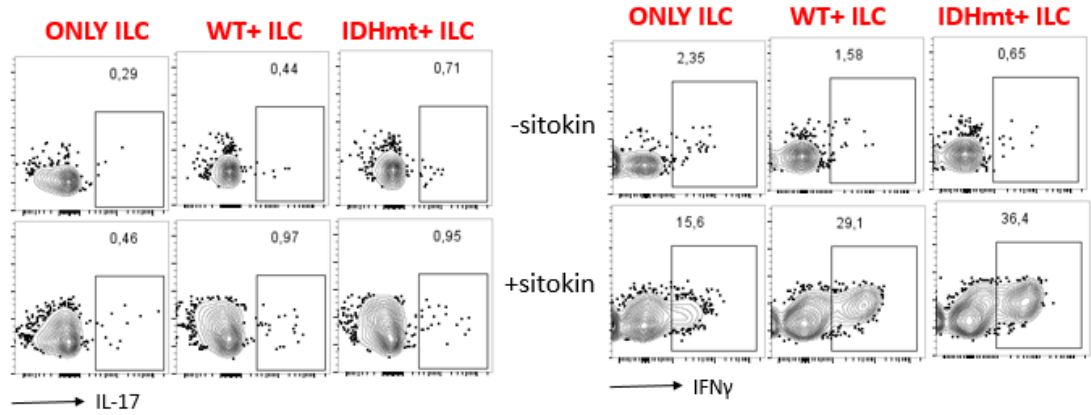
B



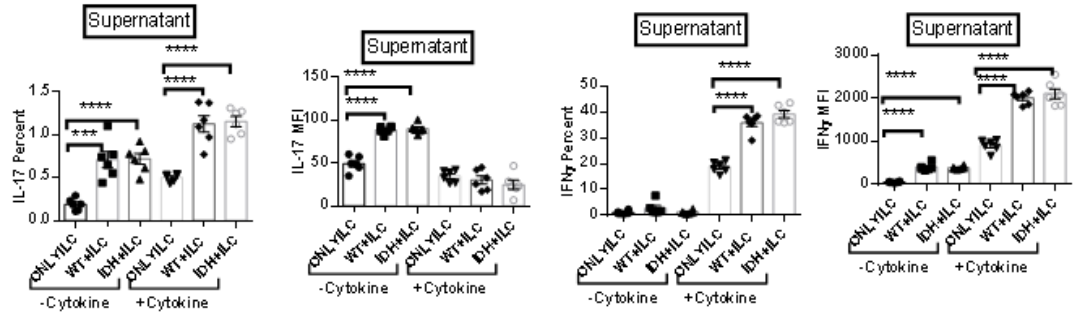
Şekil 4.7. IDH1 WT veya IDH1 MT GBM hücre hattı süpernatantlarına maruz kalan ILC'ler tarafından TNF- α ve IL-2 üretimi artmıştır. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$) (A) ILC'lerin TNF α ve IL-2 üretim miktarlarının flow sitometri gösterimi. (B) ILC'lerin TNF α ve IL-2 üretim yüzde ve MFI'lerinin bar grafiğinde gösterimi.

Aynı şekilde GBM süpernatantları ile aktive olan ILC'ler IL-17A ve IFN- γ 'yıda daha yüksek üretti (Şekil 4.8), ancak GM-CSF sitokininin üretimi aynıydı (Şekil 4.9)

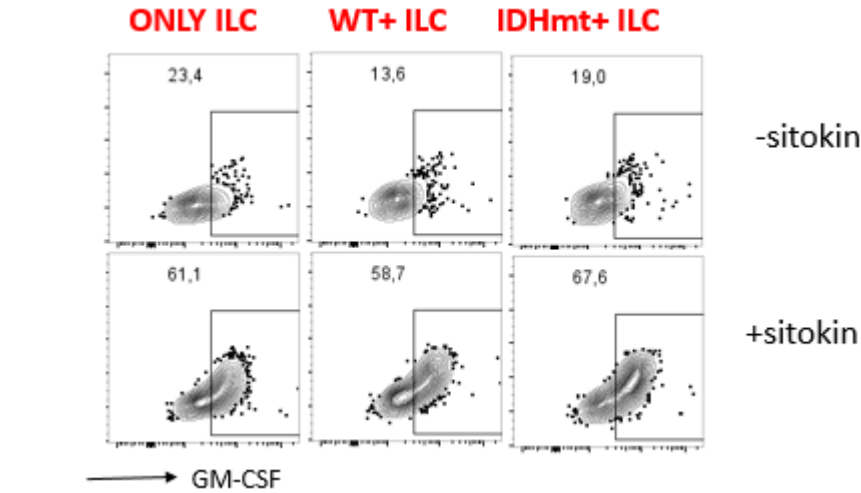
A



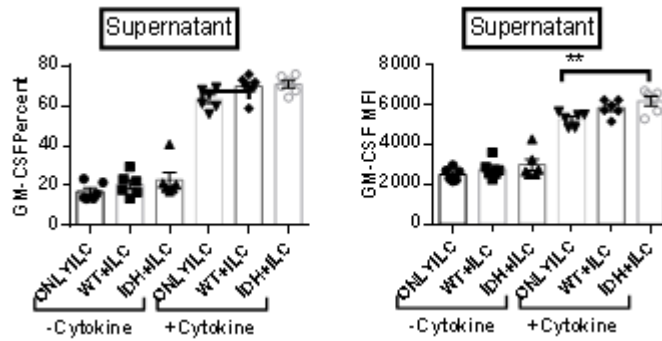
B



Şekil 4.8. IDH1 WT veya IDH1 MT GBM hücre hattı süpernatanlarına maruz kalan ILC'ler tarafından IL-17 ve IFN γ üretimi artmıştır. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$) (A) ILC'lerin IL-17 ve IFN γ üretim miktarlarının flow sitometri gösterimi. (B) ILC'lerin IL-17 ve IFN γ üretim yüzde ve MFI'lerinin bar grafiğinde gösterimi.



A



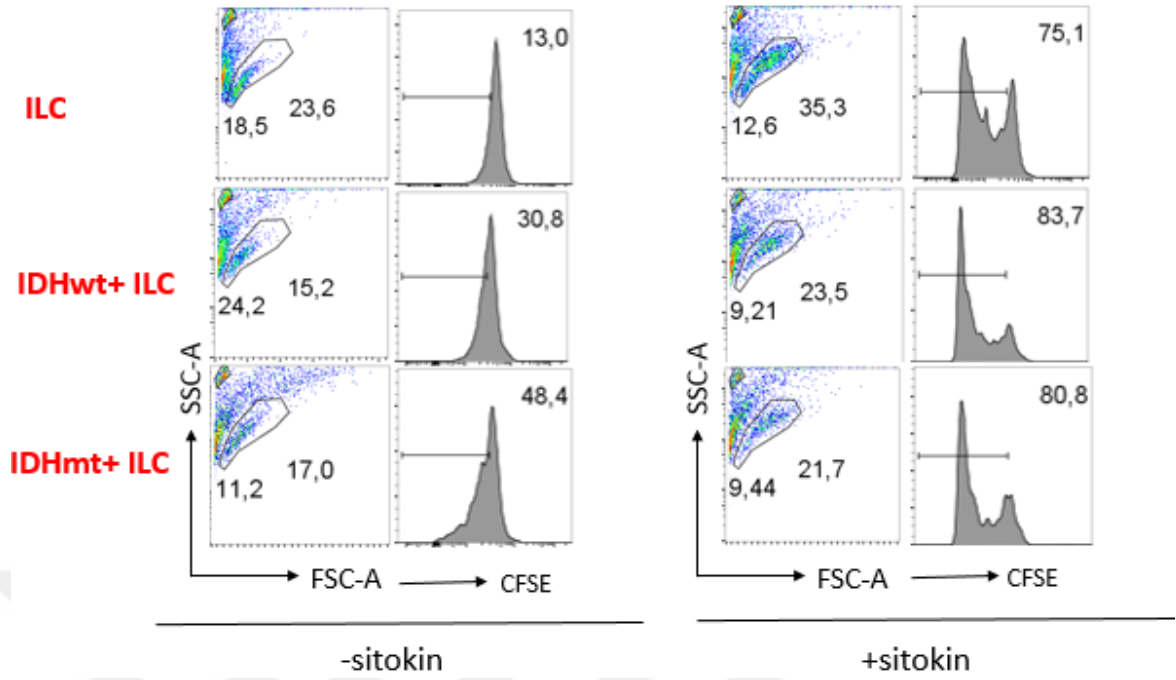
B

Şekil 4.9. IDH1 WT veya IDH1 MT GBM hücre hattı süpernatanlarına maruz kalan ILC'ler tarafından GM-CSF üretimi aynı kalmıştır. (** $p \leq 0.01$) **(A)** ILC'lerin GM-CSF üretim miktarlarının flow sitometri gösterimi. **(B)** ILC'lerin GM-CSF üretim yüzde ve MFI'lerinin bar grafiğinde gösterimi.

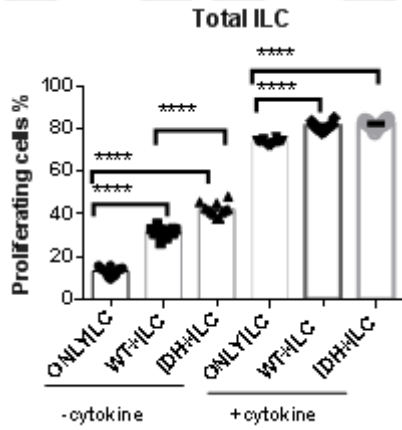
4.10. ILC- IDH1 MT veya IDH1 WT hücre hattı ko-kültürlerinde ILC proliferasyon yeteneğinin belirlenmesi

Tonsil dokusundan elde ettiğimiz ILC'leri CFSE boyası ile %5 FBS'li PBS içerisinde 2dk karanlık oda ısısında boyadık. Ardından U-87 MG (ATCC® HTB-14™) ve IDH1 mutant-U-87 hücre hatları ile 4 gün kültürledik. Flow sitometride proliferasyon yeteneklerini kıyasladık. IDH1 MT hücre hattı ile kültürlenen ILC'lerin proliferasyonu IDH1 WT hücre hattı ile kültürlenenlere kıyasla anlamlı olarak daha yüksekti (Şekil. 4.10)

A



B



Şekil 4.10. ILC'ler, IDH1 MT ile birlikte kültürlerde IDH1 WT hücre hattından daha iyi çoğalır. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$) **(A)** CFSE ile boyanmış tonsil ILC'lerinin GBM ko-kültürü sonucu proliferasyon flow grafikleri. **(B)** CFSE ile boyanmış tonsil ILC'lerinin GBM ko-kültürü sonucu proliferasyon bar grafikleri.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Beyin, bağışıklık ayrıcalıklı bir bölge olarak kabul edilir çünkü moleküllerin ve hücrelerin beyin parankimi içine geçişini kısıtlayan kan-beyin bariyerinin yüksek seçiciliğine sahiptir. Glioma hücrelerinin mikroçevresi, tümörlerin oluşumunda ve gelişmesinde son derece önemli bir rol oynar. Tümör hücreleri, endotel hücreleri, bağışıklık hücreleri ve hücreler tarafından salgılanan çeşitli sitokinler birlikte bir glioma tümör mikro ortamını oluşturur. Bağışıklık hücreleri arasında makrofajlar, mikrogliya, düzenleyici T hücreleri (Treg'ler), miyeloid türevli baskılayıcı hücreler (MDSC), T lenfositleri, doğal öldürücü (NK) hücreler, dendritik hücreler bulunur (Chen ve ark., 2020). Yapılan çalışmalar beyindeki aktif immün gözetim mekanizmalarını vurgulamıştır. GBM gibi katı doku malignitesi olan hastalarda, kusurlu T hücre fonksiyonu dâhil olmak üzere çok sayıda immün fonksiyon bozukluğu vardır (Upreti ve ark., 2020). Ancak glial tümör tiplerinin immün gözetimine ILC'lerin katkısını ortaya çıkaran bir çalışma yoktur. Bu yüzden tümör yerel mikroçevresinin ve benzersiz hücrel etkileşimlerin beyindeki ILC fonksiyonlarını nasıl etkilediğini ve bu etkileşimlerin tümör gidişatındaki rolünün literatürüne katkısı için bu çalışmayı gerçekleştirdik.

Normal fizyolojik koşullarda insan ILC1'leri karaciğer, bağırsaklar, tonsil, dalak, lenf düğümleri, yağ dokuları, cilt, kan ve akciğerde bulunduğu gösterilmiştir (Fuchs, 2016; Fuchs ve ark., 2013; Björklund ve ark., 2016; Trabanelli ve ark., 2018; Li, 2018; Teunissen ve ark., 2014; Shikhagaie ve ark., 2017; Villanova ve ark., 2014; Bernink ve ark., 2013). Ayrıca SSS beyin parankiminde, meninkslerde ve koroid pleksusta NK hücreleri, ILC1'ler, ara ILC1'ler ve eski ILC3'leri içerir, öte yandan SSS-NK hücrelerinin aksine, SSS-ILC1'ler koroid pleksusta zengindir (Romero-Suárez ve ark.,

2019).

Çalışmamızda IDH MT ve IDH WT glial tümörlü erişkin hastalardan cerrahi rezeksiyon sonrası çıkarılan tümör dokularını ve yine ameliyat esnasında alınan periferik kanlarını kullandık. Ayrıca tümörlü beyin dokusuna kontrol olarak kanser olmayan rekürren tonsillit tanısı ile ameliyata alınmış hastalardan çıkarılan tonsil dokusunu kullandık. İlk olarak hem tümör dokusuna infiltre olan hem de kanda bulunan ILC'lerin frekanslarını belirlemek amacıyla deneylerimizi gerçekleştirdik. Glial tümör dokusuna infiltre olan ILC alt tip frekanslarını değerlendirdiğimiz ilk sonucumuzda ILC1 alt tipinin IDH MT olan hastaların tümör dokularında IDH WT hastalara ve tonsil dokusuna kıyasla anlamlı olarak azaldığını gözlemledik. Ancak ILC1 frekansı glial tümörleri olan hasta kanında ve kontrol kanında benzerdi. Hem doku hem de kandaki ILC2 frekanslarında kontrol örneklerine kıyasla bir fark gözlemlemedik, buna rağmen ILC3 frekansı anlamlı olarak IDH MT hastaların tümör dokularında IDH WT hastalara ve tonsil dokusuna kıyasla anlamlı olarak artmıştı. Benzer şekilde IDH MT hastaların kanlarındaki ILC3 frekansıda diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak artmıştı.

Yapılan bir çalışmada tanı anında AML hastalarında bozulmuş sitotoksitesisi olan ve remisyona ulaşan hastalarda düzelen ILC1 benzeri bir popülasyonu ($\text{Lin}^- \text{CD56}^+ \text{CD94}^+ \text{CD16}^- \text{CD127}^+$) tanımladılar (Salomé ve ark., 2019). Bununla birlikte, geleneksel ILC1'ler ($\text{Lin}^- \text{CD127}^+ \text{CD117}^- \text{CRTH2}^- \text{NKp46}^-$) ve CD103^+ ILC1 benzeri hücreler (ieILC1), sırasıyla bazı hematolojik malignitelerin ve solid tümörün PBMC'lerinde ve tümör mikroçevresinde önemli ölçüde artmıştır (de Weerd ve ark., 2016; Trabanelli ve ark., 2011; Salomé ve ark., 2019; Dadi ve ark., 2016). Başka bir çalışmada komşu dokuya kıyasla kötü huylu gastrointestinal tümörlerde NK ve ILC1 hücrelerinin zenginleştiğini ancak kan ILC frekansının kontrolle benzer olduğunu gözlemlediler (Salimi ve ark., 2018). NK hücrelerine benzer şekilde, ILC1'lerin önemli sitotoksik aktiviteleri ve $\text{IFN-}\gamma$ üretme yetenekleri nedeniyle antitümör savaşçıları olarak kabul edilir, ancak bu sitotoksik kapasite NK hücrelerinden daha azdır (Verma ve ark., 2020). Granzim B ve TRAIL eksprese eden ILC1'ler, tümör hücrelerini parçaladıkları bir MMTV-PyMT (mouse mammary tumor virus-polyoma middle tumor-antigen) meme tümörü modelinde tespit edildi (Dadi ve ark., 2016).

Beyin tümörlerindeki ILC1 fonksiyonları incelenmemiş olsada farede EAE bağlamında araştırılmıştır (Romero-Suárez ve ark., 2019). EAE bağlamında gözlemlenen ILC1'lerin dinamikleri ve sitotoksik potansiyeli, SSS-ILC1'lerin, tümör hücrelerini parçalayarak veya immünoregülatör sitokinleri salgılayarak beyin tümörlerinin büyümesini

kısıtlamada potansiyel bir rol oynadığını göstermektedir. NKp44 insan ILC1 ve ILC3 tarafından ifade edilir ve daha uzun GBM sağkalımıyla ilişkili bir yol olan PDGF-DD tarafından aktive edilir, NKp44-PDGF-D etkileşimi, immün kontrol noktası blokajını güçlendirir (Barrow ve ark., 2018). Kararlı durum SSS-NK hücreleri ve SSS-ILC1'ler benzer miktarlarda IFN- γ salgılamak, SSS-ILC1'ler daha fazla TNF- α üretmiştir. EAE'de, NK hücreleri artmış IFN- γ ve TNF α ekspresyonuna sahipken ILC1'ler sabit seviyeleri korudu. İlginç bir şekilde, naif ve EAE farelerinden elde edilen SSS-ILC1'ler, granzim B ve perforini eksprese eder ve degranüle olmuştur, bu da anti-tümör sitotoksik potansiyelini düşündürür (Sedgwick ve ark., 2020).

Bizim hasta gruplarımızda frekansları benzer olsa da başka çalışmalarda grup 2 ILC'yi aktive eden sitokinler daha pro-tümörijenik olabilir, örneğin, IL-33, bazı modellerde kronik inflamasyonu ve tümör gelişimini destekler. IL-33 reseptörünün (ST2) bloke edilmesi, bir kolon kanseri modelinde tümör oluşumunu ve boyutunu azaltmıştır (Lu ve ark., 2016). Ek olarak, tip 2 sitokinlerin tümör oluşumunu teşvik ettiği gösterilmiştir. IL-13, prostat tümörlerinin ilerlemesini indükleyebilir (Devikala ve ark., 2015) ve makrofajların M2 fenotip polarizasyonunu geliştirebilir (Dhakal ve ark., 2014). Mide kanserli hastalarda, periferik kanda daha yüksek ILC2 frekansı gözlemlendi ve immüno-supresif bir mikro-ortama katkıda bulunduğu düşünüldü (Bie ve ark., 2014). Mesane kanseri hastalarında ise idrar ve kandaki ILC2 frekansları MDSC frekansları ile koreledir, ayrıca kolorektal kanser hastalarında tümöre infiltre olan ILC2 tümör büyümesini desteklemiştir (Chevalier ve ark., 2017; Wang ve ark., 2020). Öte yandan yapılan bir murin çalışmasında ILC2 tarafından üretilen IL-5'in eozinofillerin ortama çekilmesine sebep olarak metastaz oluşumunun daha iyi kontrol edilmesine yol açtığı gösterilmiştir (Ikutani ve ark., 2012).

EAE'de meninkslerdeki ve SSS'deki ILC3 sayıları artmıştır. Buradaki ILC3'ler, proinflatuar sitokinlerden IFN- γ , IL-17 ve GM-CSF üretmiş olup CD4⁺ bellek T hücresinin hayatta kalmasını ve işlevini destekleyen yardımcı uyarıcı moleküllerden CD30L ve OX40L moleküllerini eksprese etmiştir. Bu sonuç MHC sınıf II-bağımlı neoantijenlerin tanınmasını etkileyebilir immünoterapiye yanıtta kullanılabilir (Hatfield ve Brown, 2015; Alspach ve ark., 2019). Başka bir çalışma, T-bet'e bağlı NKp46⁺ ILC'lerin (NK hücreleri, ILC1 ve NKp46⁺ ILC3) meninkslerde lokalize olduğunu ve kan beyin bariyerini bozacak çeşitli inflamatuvar araçlar ürettiğini bu sayede miyelin reaktif TH17 hücrelerinin beyin parankimine sızmasını kolaylaştırdığını buldu. NKp46⁺ ILC'lerde T-bet'in seçici kaybı, meninkslerde NK hücrelerinin ve

ILC1'lerin azalmasına ve NKp46⁺ ILC3'ler tarafından IFN- γ üretilmesine neden oldu, bu da SSS'nin TH17 istilasını bozdu ve EAE hastalığından korundu (Kwong ve ark., 2017).

Toplu olarak, bu bulgular meningeal ILC3'lerin, T lenfositlerin beyne sızmasını kolaylaştırarak ve hayatta kalmalarını destekleyerek beyin kanserinde anti-tümör bağışıklığını destekleyebileceğini düşündürmektedir ve IDH MT hastaların gösterdiği iyi prognoz ile ilişkilendirildiğinde bulgularımız literatürle örtüşmektedir. Ancak farklı tümör türleri ile yapılan çalışmalar ILC3'lerin hem anti hem pro tümör fonksiyonlarının olabileceğinin altını çizmiştir. Hepatoselüler karsinom (HCC) hastalarında, büyük olasılıkla ILC3 tarafından salgılanan yüksek IL-22 seviyeleri, tümör büyümesinin ve metastaz oluşumunun artmasına neden olduğu bildirildi (Jiang ve ark., 2011). Meme kanseri hastalarında, ILC3'lerin stromal hücrelerle etkileşime girerek CXCL13 ve ardından metastaz oluşumuna yol açan tümör motilitesini destekleyen RANKL'ı ürettiği gözlemlendi (Irshad ve ark., 2017). Ayrıca skuamöz karsinom hastalarında tümör boyutu, *IL17A* mRNA seviyeleri ile koreledir ve tümör dokusu içinde yüksek *IL17A* ve *IL23* mRNA seviyeleri olan hastalarda, servikal karsinom hastalarında da görülen, anlamlı derecede daha düşük sağkalım oranları görülmüştür (Koh ve ark., 2019), ancak ILC3'ün yanı sıra IL-17A'nın nötrofiller ve T hücreleri tarafından da salgılandığına dikkat edilmelidir (Punt ve ark., 2015). Öte yandan, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri evre I ve evre II'de NKp44⁺ ILC3'ün tümör infiltrasyonu, immün aktivasyon için gerekli yapılar olan intratümöral üçüncül lenfoid yapılar (TLS: tertiary lymphoid structures) ile ilişkilendirilmiştir ve hastaların lehine olduğu düşünülmüştür (Dieu-Nosjean ve ark., 2008). ILC3'lerin IL-22, TNF α , IL2 ve IL8 üreterek TLS oluşumu için endotel hücrelerini aktive ettiği varsayılmaktadır (Carrega ve ark., 2015). Bir klinik çalışmada, donör kaynaklı dolaşımdaki NKp44⁺ ILC3 sıklığı, GvHD (graft-versus-host disease) gelişme riskinin azalmasıyla koreledir (Munneke ve ark., 2014).

İnsanda ve farede ILC1 ve ILC3 arasındaki çift yönlü plastisitenin varlığı gösterilmiş ve IL-1 β , IL-2 ve IL-23 ile *in vitro* kültürlenmiş insan CD127⁺ ILC1, anlamlı olarak azaltılmış IFN- γ ve artmış IL-22 üretimi ile işaretlenmiş olan NCR⁺ ve NCR- ILC3'e farklılaşabilmiştir. Buna karşılık IL-12 ve IL-15 gibi sitokin tedavisi hem NCR⁺ hem de NCR- ILC3'ü, IL-22 üretimi kaybı ve artmış Eomes ve IFN- γ ekspresyonu ile karakterize edilen ILC1 (ex-ILC3 olarak adlandırılır) ya da NK hücrelerine dönüştürdü (Bernink ve ark., 2015; Raykova ve ark., 2017). ILC3'lerin artan sıklığı ve azalan ILC1 yüzdesi, kısalmış hasta sağ kalımıyla ilişkilendirildi bunun yanında tümör büyümesi ve

metastaz oluşumu için uygun bir TME oluşturulduğu düşünüldü (Koh ve ark., 2019). Ayrıca NK hücrelerini ILC1'lere dönüştürmede TGF- β 'nın rolü, tümör mikro-ortamında vurgulanmıştır (Gao ve ark., 2017).

Bütün bu yapılan çalışmalar göz önüne alındığında bizim çalışmamızda glial mikroçevresindeki ILC1'lerin azalmış ILC3'lerin artmış frekansı tümör lokal ortamdaki TGF β ya da IL-23 gibi sitokinler sayesinde ILC1-ILC3 ya da ILC1-NK plastisitesini akla getirir. Çalışmamızda ILC1 fenotiplemesi yaparken NK hücreleri dışlanmıştır dolayısıyla NK hücrelerinin bu hastalardaki frekansı ile alakalı elimizde bilgi yoktur.

İmmün hücrelerin başarılı aktivasyonu, tümör hücrelerinin elimine edilmesinde önemlidir. Programlanmış ölüm 1 (PD-1: Programmed cell death protein 1, CD279) ve Sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein (CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4) immün yanıtları modüle eden ve doku hasarını hafifleten inhibitör reseptörlerdir (Zawlik ve ark., 2016). Tümör hücreleri, bağışıklık tanımadan kaçınmak için kontrol noktası reseptörleri barındırabilir ve bu reseptörlerin bloke edilmesi kansere karşı bağışıklık tepkilerini artırabilir. PD-1'in ligandları PDL1 ve PDL2 ile makrofajlar ve dendritik hücreler üzerindeki etkileşimi, IL-2 üretimini aşağı regüle eder, aktivasyonu, proliferasyonu ve sitokin üretimini inhibe eder (Bertucci ve ark., 2015; Haanen, 2015). Tümör hücreleri, PD-1 ligandlarının ekspresyonunu kazanarak sitotoksik T hücre yanıtınlığını indükleyebilir. PD-1'i hedef alan monoklonal antikorlar; Lambrolizumab, Nivolumab ve Pembrolizumab melanom, böbrek ve akciğer kanserleri dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisinde olumlu immünoterapik etkilere sahiptir (Webster, 2014; Aoun ve ark., 2015).

CTLA-4'ün doğal ligandları CD80 ve CD86'ya bağlanması, aktive edilmiş insan T hücrelerinin apoptozu ve klonal silinmesini indükleyebilir. CTLA-4 antagonisti, Ipilimumab, melanom ve meme kanseri tedavisinde onaylanmıştır (Theurich ve ark., 2016). Hem NK hem de antijen görmüş T hücreleri, birlikte inhibitör reseptör olan öldürücü hücre lektin benzeri reseptör G1'i (KLRG1: killer-cell lectin like receptor G1) eksprese edebilir. Genç erişkinlerde T hücrelerinin yaklaşık %20-40'ı bu belirteci ifade edebilir ve 65 yaş üstü bireylerde %90'a yükselir (Arber ve ark., 2002; Ouyang Q, ve ark., 2003). B hücreli lenfomalı farelerde etkili immünoterapi, KLRG1 eksprese eden T lenfositlerinin genişlemesini artırır (Kobayashi ve ark., 2015). *In vitro* deneyler ve fare enfeksiyon modellerine ilişkin veriler, insan ILC'lerde immün kontrol noktası protein ifadesinin sitokin üretimini engellediğini göstermektedir (Mariotti ve ark., 2019).

Tümör infiltre eden ILC popülasyonunun aktivasyon durumunu değerlendirmek için,

hastaların hem periferik kan hemde tümör dokularındaki KLRG-1, PD-1 ve CTLA-4 negatif kontrol noktası proteinlerinin ekspresyonunu araştırdık. Tümör dokusu ve tonsil ILC1'lerinin yüzey ifade miktarları her üç negatif kontrol noktası proteini için benzerdi. IDH WT ILC2'lerin PD1 ifadesi hem tonsil ILC2'si hemde IDH MT tümör ILC2'leri ile kıyaslandığında anlamlı olarak artmıştı. Bunun yanında IDH WT ILC3'lerin tonsil ILC3'lerine kıyasla anlamlı artışını, PD1 ifadesinin ise IDH MT ILC3'lere kıyasla anlamlı azalışını gözlemledik. Bunun yanında IDH MT olan hasta kanlarındaki ILC1'lerin anlamlı olarak azalmış PD-1 ve CTLA-4 ifadesi vardı. Ayrıca sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında IDH WT hasta kanlarının total ILC'lerinde ve ILC2'de yüksek CTLA-4 ekspresyonu gözlemlendi, ancak IDH WT ve MT karşılaştırıldığında yalnızca WT ILC1 CTLA-1'i önemli ölçüde daha yüksekti. IDH MT ve IDH WT hasta kan ILC2'lerinin KLRG1 ifadeleri kıyaslandığında mutant olanlarda artmış KLRG1 ifadesi gözlemlendi.

Primer insan glial tümörlerde elde ettiğimiz verileri insan glial tümör hücre hatları olan U87MG ve IDH1 mutant (R132H)-U-87 ile tonsil ILC'leri ex-vivo ko-kültür yaparak hem doğrulamak hem de daha ayrıntılı veriler elde etmek istedik. Primer glial tümörlerde olduğu gibi daha önce bu iki hücre hatları kullanılarak gerçekleşmiş bir ILC fenotipi ortaya koyan çalışmaya rastlamadık. Bu deney kurgusunda tüm ILC izolasyon kaynağı olarak rekürren tonsillit tanısı almış hastaların ameliyat esnasında çıkarılan tonsil dokusunu kullandık. U87MG ve IDH1MT (R132H)-U-87 hücre hatları ile 4-5 gün birlikte kültürlediğimiz ILC'lerin kontrol noktası inhibitör protein yüzey ifadelerini kıyasladığımızda tek başına kültür edilen ILC'lere kıyasla glial tümör hücre hattı ile kültürlenmiş ILC'lerin daha yüksek CTLA-4, KLRG-1, PD-1 ifade ettiklerini gözlemledik. Ayrıca IDH MT-ILC ve IDH WT-ILC karşılaştırıldığında anlamlı olarak IDH MT ile birlikte kültürlenmiş ILC'lerin CTLA-4 ve KLRG-1 ifadeleri azalmıştı.

Kanser bağlamında, immün kontrol noktası proteinlerinin insan ILC'lerde eksprese edildiğini gösteren birçok yeni çalışma bulunmaktadır. Örneğin, farelerde, tümörle ilişkili ILC1'lerin, NK hücrelerine kıyasla daha yüksek seviyelerde inhibitör reseptör olan NKG2A, KLRG1, CTLA4, CD96, LAG3 ifade etti (Gao ve ark., 2017). Meme tümörlerinde ILC'lerde immün kontrol noktası ekspresyonunu araştıran bir çalışmada, malign dokulardan izole edilen ILC1'lerin dolaşımdaki ILC1'lere kıyasla daha yüksek CTLA-4 seviyeleri ifade ettiği ve infiltre ILC2'lerin hem CTLA4 hem de PD-1'in daha yüksek seviyelerini ifade ettiği gösterilmiştir. Malign gastrointestinal tümörlerde, ILC2'ler ve ILC3'ler için paralel dokulara kıyasla daha yüksek bir PD-1

ekspresyonu gösterilmiştir (Salimi ve ark., 2018). Primer ve metastatik tümörleri olan hastaların malign plevral efüzyonlarında hem NK hücrelerinde hem de ILC3'lerde PD-1 ekspresyonu da tespit edilmiştir (Tumino ve ark., 2019). ILC2'ler normalde KLRG1'i eksprese eder ve ekspresyonu, inflamatuvar koşullarda daha fazla düzenlenebilir. Yüksek KLRG1 ekspresyonu gerçekten de gastrointestinal tümörlerdeki ILC2'lerde (Salimi ve ark., 2018) ve kolorektal kanserlerden izole edilen ILC2'lerde bulundu (Simoni ve ark., 2017).

Sonrasında kontrol noktası inhibitör proteinlerin azalması ILC'lerin gerçekten de daha çok proliferasyonuna neden oluyor mu sorusunu cevaplamak için U87MG ve IDH1 mutant (R132H)-U-87 ile kültürlenmiş ILC'lerin proliferasyon yeteneklerini de kıyasladık ve IDHMT hücre hattı ile kültürlenmiş ILC'ler anlamlı olarak IDH WT ile kıyaslandığında daha çok çoğalıyorlardı. Yapılan başka araştırmacılara ait yayınlarda ILC2'de genetik olarak PD-1 bulunmadığında artan proliferasyon ve sitokin üretimi gözlemlendi ve bu reseptörün ILC2 aktivitesi üzerindeki negatif rolünü doğruladı. Ek olarak, ILC2'deki PD-1 delesyonu, benzer şekilde pankreas tümörlerinde de PD-1'in immün lenfoid hücrelerin genel bir inhibitörü olarak işlev gördüğünü vurgulayarak artan anti-tümör tepkileri ile ilişkilendirildi (Jacquelot ve ark., 2021; Moral ve ark., 2020).

Bütün bu ILC'ler üzerindeki etkinin tümör hücresi-ILC hücre kontağı ile mi yoksa tümör hücrelerinin saldırdığı birtakım mediatörlerle mi gerçekleştiğini açıklayabilmek adına bu kez U87MG ve IDH1 mutant (R132H)-U-87 hücre hatlarından elde ettiğimiz süpernatantlarla ILC'leri kültürledik. IDH MT hücrelerden alınan süpernatant, ILC'lerdeki CTLA4 ve PD1 seviyelerini anlamlı olarak azaltmış, KLRG1'i artırmıştır. Son olarak U87MG ve IDH1 mutant (R132H)-U-87 hücre hatlarından elde ettiğimiz süpernatantlarla kültürlenmiş ILC'lerin ürettiği IFN γ , IL-2, IL-17, TNF α , GM-CSF sitokinlerinin miktarlarını intraselüler boyama yaparak değerlendirmek istedik. IDH mutasyonunun varlığı sitokin üretim kapasitelerinde bir fark yaratmasa da ILC'ler glial tümörlerin süpernatantlarıyla kültürlendiklerinde, medyumda kültür edilenlere kıyasla anlamlı olarak çok daha fazla IFN- γ , IL-2, IL-17, TNF α üretmiştir.

ILC'lerin tümör mikroçevresinde diğer immün hücrelerle etkileşim kurma yollarından bir tanesi ürettikleri sitokinlerdir. NK hücreleri ve diğer ILC'lerin T hücreleri ile dinamik bir ilişkisi daha önce ortaya koyulmuştur (Gasteiger, 2014). IFN- γ 'nin proliferasyonu engellediği, MHC ekspresyonunu desteklediği ve CD8 T hücrelerini çeken proinflamatuvar kemokinlerin salınımını indüklediği göz önüne alındığında, NK

hücreleri ve ILC1'ler genellikle anti-tümörijenik olarak görülmektedir (Gao ve ark., 2016; Müller-Hermelink ve ark., 2008; Martini ve ark., 2010; Peng ve ark., 2012). Bununla birlikte, IFN- γ 'nin bazı durumlarda tümör gelişimini desteklediği gösterilmiştir. IFN- γ kolonizasyonu indükler, proliferasyonu hızlandırır ve çeşitli tümör hücrelerini daha agresif hale getirir (Taniguchi ve ark., 1987; Schürch ve ark., 2013). Ek olarak, IFN- γ , immünomodülatör fonksiyonlara sahip olan ve tümörlere karşı T hücresi yanıtını inhibe eden miyeloid türevli baskılayıcı hücrelerin (MDSC) alımını kolaylaştıran enzim indoleamin 2,3-dioksijenazın (IDO) ekspresyonunu destekler (Jürgens ve ark., 2009; Holmgaard ve ark., 2015). IFN- γ 'nin anti-proliferatif aktivitesine, STAT-1 aktivasyonu ve sikline bağımlı kinaz-2 ve 4'e (CDK) bağlanan p21WAF1/CIP1 ve p27Kip1'in indüksiyonu aracılık eder (Ikeda ve ark., 2002). IFN- γ /STAT1 yolu ayrıca kaspaz 1, FAS ve FASL'yi indükler ve apoptozu teşvik eder (Delgado-Ramirez ve ark., 2021).

NK hücreleri, IFN ve TNF üretimi yoluyla veya NKp30'u devreye sokarak dendritik hücre olgunlaşmasını indükleyebileceğini gösteren çalışmalardan (Vitale ve ark., 2005) yola çıkarak bizim çalışmamızda da ILC kaynaklı artmış IFN- γ ve TNF- α aynı sonuca hizmet edebilir. Aynı zamanda ILC kaynaklı IL-2 T ve NK hücrelerinin proliferasyonu, aktivasyonu ve sitolitik efektör fonksiyonlarını arttırabilir (Sim, 2014).

ILC3'ler, tümör başlangıcına yol açan kronik inflamasyonu artırabilen proinflamatuvar sitokinlerin IL-17, GM-CSF veya IFN- γ önemli bir kaynağıdır. IL-23 ve IL-17 seviyeleri ölümcül metastatik kolorektal kansere ilerleme ile ilişkilendirildi ve aynı tip kanserle olan başka bir çalışmada IL-22'nin tümör büyümesi, metastaz ve kemorezistans ile korele olduğu bulundu (Grivennikov ve ark., 2012; Wu, ve ark., 2013).

Kimyasal olarak indüklenen fare melanom tümörlerinden izole edilen tümör infiltrate edici lökositlerin tek hücreli RNA dizileme analizlerini gerçekleştiren çalışma IL-5 ekspresyonuna ek olarak, tümör infiltrate eden ILC2'nin GM-CSF'nin ana üreticileri olduklarını ve bunun eozinofillerin hayatta kalmasını ve etkili anti-tümör tepkilerini desteklemek için gerekli olan işlevini desteklediğini göstermektedir (Jacquelot ve ark., 2021).

Sonuç olarak, çalışmamız glial tümörlerde farklı fonksiyonel ILC popülasyonlarının bulunduğu dair ilk kanıtı sağlamaktadır. Tümör hücreleri ile etkileşimleri ve tümör progresyonu veya antitümör savunmaları üzerindeki etkileri daha fazla araştırma gerektirse de verilerimiz ILC'nin ve salgıladıkları sitokinlerin glial tümör

mikroçevresinde bulunan hücre ve       r faktörlerin karmaşık ağına eklenebileceğini göstermektedir. Ayrıca ILC'lerin kontrol noktası inhibitör proteinleri daha yüksek ifade etmesi (hem hücre-hücre kontaklı hem de salınan birtakım mediatörlerle), daha az prolifer  olmaları gibi sonuçlarımızdan yola çıkararak IDH1 MT GBM tümör mikro ortamının hem birincil tümörler de hem de kültür koşullarında IDH1 WT tümör mikro ortamından daha az immün baskılayıcı gibi göründüğünü ortaya koymaktadır.



6. KAYNAKLAR

- Akhurst RJ, Hata A. Targeting the TGF β Signalling Pathway in Disease. *Nat Rev Drug Discov*,2012; 11 (10): 790–811.
- Alspach E, Lussier DM, Miceli AP, et al. MHC-II Neoantigens Shape Tumour Immunity and Response to Immunotherapy. *Nature*,2019; 574 (7780): 696–701.
- Aoun F, Kourie HR, Sideris S, et al. Checkpoint Inhibitors in Bladder and Renal Cancers: Results and Perspectives. *Immunotherapy*,2015; 7 (12): 1259–71.
- Aparicio-Domingo P, Romera-Hernandez M, Karrich J, et al. Type 3 Innate Lymphoid Cells Maintain Intestinal Epithelial Stem Cells after Tissue Damage. *J Exp Med*,2015; 212 (11): 1783–91.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. Lack of Proliferative Capacity of Human Effector and Memory T Cells Expressing Killer Cell Lectinlike Receptor G1 (KLRG1). *Blood*,2002; 100 (10): 3698–3702.
- Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, et al. Intestinal Inflammation Targets Cancer-Inducing Activity of the Microbiota. *Science*,2012; 338 (6103): 120–23.
- Aust JG, Gays F, Mickiewicz KM, et al. The Expression and Function of the NKR1 Receptor Family in C57BL/6 Mice. *J Immunol*,2009; 183 (1): 106–16.
- Bal SM, Bernink JH, Nagasawa M, et al. IL-1 β , IL-4 and IL-12 Control the Fate of Group 2 Innate Lymphoid Cells in Human Airway Inflammation in the Lungs. *Nat Immunol*,2016; 17 (6): 636–45.
- Bal SM, Golebski K, Spits H. Plasticity of Innate Lymphoid Cell Subsets. *Nat Rev Immunol*,2020; 20 (9): 552–65.
- Bald T, Wagner M, Gao Y, et al. Hide and Seek: Plasticity of Innate Lymphoid Cells in Cancer. *Semin Immunol*,2019; 41 (101273).
- Bao W, Jin L, Fu HJ, et al. Interleukin-22 Mediates Early Host Defense against Attaching and Effacing Bacterial Pathogens. *Nat Med*,2008; 14 (3): 282–89.
- Barrow AD, Edeling MA, Trifonov V, et al. Natural Killer Cells Control Tumor Growth

- by Sensing a Growth Factor. *Cell*,2018; 172 (3): 534-548.e19.
- Bennstein SB, Scherenschlich N, Weinhold S, et al. Transcriptional and Functional Characterization of Neonatal Circulating Innate Lymphoid Cells. *Stem Cells Transl Med*,2021; 10 (6): 867–82.
- Bennstein SB, Weinhold S, Manser AR, et al. Umbilical Cord Blood-Derived ILC1-like Cells Constitute a Novel Precursor for Mature KIR+NKG2A- NK Cells. *ELife*,2020; 9: 1–30.
- Bennstein SB, Uhrberg M. Biology and Therapeutic Potential of Human Innate Lymphoid Cells. *FEBS J*,2021; 1742-464X.
- Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, et al van den. Adjuvant Procarbazine, Lomustine, and Vincristine Improves Progression-Free Survival but Not Overall Survival in Newly Diagnosed Anaplastic Oligodendrogliomas and Oligoastrocytomas: A Randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer P. *J Clin Oncol*,2006; 24 (18): 2715–22.
- Bernink JH, Krabbendam L, Germar K, et al. Interleukin-12 and -23 Control Plasticity Of Cd127+ Group 1 And Group 3 Innate Lymphoid Cells In The Intestinal Lamina Propria. *Immunity*,2015; 43 (1): 146–60.
- Bernink JH, Peters CP, Munneke M, et al. Human Type 1 Innate Lymphoid Cells Accumulate in Inflamed Mucosal Tissues. *Nat Immunol*,2013; 14 (3): 221–29.
- Bertucci F, Finetti P, Birnbaum D, Mamessier E. The PD1/PDL1 Axis, a Promising Therapeutic Target in Aggressive Breast Cancers. *Oncoimmunology*,2015; 5 (3).
- Bie Q, Zhang P, Su Z, et al. Polarization of ILC2s in Peripheral Blood Might Contribute to Immunosuppressive Microenvironment in Patients with Gastric Cancer. *J Immunol Res.*,2014; 2014: 923135.
- Björklund ÅK, Forkel M, Picelli S, et al. The Heterogeneity of Human CD127+ Innate Lymphoid Cells Revealed by Single-Cell RNA Sequencing. *Nat Immunol*,2016; 17 (4): 451–60.
- Borger DR, Tanabe KK, Fan KC, et al. Frequent Mutation of Isocitrate Dehydrogenase (IDH)1 and IDH2 in Cholangiocarcinoma Identified through Broad-Based Tumor Genotyping. *Oncologist*,2012; 17 (1): 72–79.
- Bradl M, Lassmann H. Oligodendrocytes: Biology and Pathology. *Acta Neuropathol*,2009; 119 (1): 37–53.
- Bremnes RM, Busund LT, Kilvær TL, et al. The Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Development, Progression, and Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*,2016; 11 (6): 789–800.

- Brown TJ, Brennan MC, Li M, et al. Association of the Extent of Resection With Survival in Glioblastoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA Oncol*,2016; 2 (11): 1460–69.
- Bruno A, Focaccetti C, Pagani A, et al. The Proangiogenic Phenotype of Natural Killer Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Neoplasia*,2013; 15 (2): 133–42.
- Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, et al. Innate Lymphoid Cells Drive Interleukin-23-Dependent Innate Intestinal Pathology. *Nature*,2010; 464 (7293): 1371–75.
- Carrega P, Loiacono F, Di Carlo E, et al. NCR(+)ILC3 Concentrate in Human Lung Cancer and Associate with Intratumoral Lymphoid Structures. *Nat Commun*,2015; 23 (6): 8280.
- Cazzola M, Vardiman JW, Arber DA, et al. The 2016 Revision to the World Health Organization Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia. *Blood*,2016; 127 (20): 2391–2405.
- Cella M, Fuchs A, Vermi W, et al. A Human Natural Killer Cell Subset Provides an Innate Source of IL-22 for Mucosal Immunity. *Nature*,2009; 457 (7230): 722–25.
- Cella M, Otero K, Colonna M. Expansion of Human NK-22 Cells with IL-7, IL-2, and IL-1 β Reveals Intrinsic Functional Plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2010; 107 (24): 10961–66.
- Chen H, Li M, Guo Y, et al. Immune Response in Glioma's Microenvironment. *Innov Surg Sci*,2020; 11 (5): 3–4.
- Chevalier MF, Trabanelli S, Racle J, et al. ILC2-Modulated T Cell-to-MDSC Balance Is Associated with Bladder Cancer Recurrence. *J Clin Invest*,2017; 127 (8): 2916–29.
- Cobb LM, Verneris MR. Therapeutic Manipulation of Innate Lymphoid Cells. *JCI Insight*,2021; 22 (6): e146006.
- Conti HR, Shen F, Nayyar N, et al. Th17 Cells and IL-17 Receptor Signaling Are Essential for Mucosal Host Defense against Oral Candidiasis. *J Exp Med*,2009; 206 (2): 299–311.
- Cortez VS, Cervantes-Barragan L, Robinette ML, et al. Transforming Growth Factor- β Signaling Guides the Differentiation of Innate Lymphoid Cells in Salivary Glands. *Immunity*,2016; 44 (5): 1127–39.
- Cortez VS, Colonna M. Diversity and Function of Group 1 Innate Lymphoid Cells. *Immunol Lett*,2016; 179: 19–24.
- Crotta S, Gkioka A, Male V, et al. The Transcription Factor E4BP4 Is Not Required for Extramedullary Pathways of NK Cell Development. *J Immunol*,2014; 192 (6):

2677–88.

- Cupedo T, Crellin NK, Papazian N, et al. Human Fetal Lymphoid Tissue-Inducer Cells Are Interleukin 17-Producing Precursors to RORC⁺ CD127⁺ Natural Killer-like Cells. *Nat Immunol*,2009; 10 (1): 66–74.
- Dadi S, Chhangawala S, Whitlock BM, et al. Cancer Immunosurveillance by Tissue-Resident Innate Lymphoid Cells and Innate-like T Cells. *Cell*,2016; 164 (3): 365–77.
- Dang L, White DW, Gross S, et al. Cancer-Associated IDH1 Mutations Produce 2-Hydroxyglutarate. *Nature*,2009; 462 (7274): 739–44.
- Darboe A, Nielsen CM, Wolf AS, et al. Age-Related Dynamics of Circulating Innate Lymphoid Cells in an African Population. *Front Immunol*,2020; , 3070.
- Daussy C, Faure F, Mayol K, et al. T-Bet and Eomes Instruct the Development of Two Distinct Natural Killer Cell Lineages in the Liver and in the Bone Marrow. *J Exp Med*,2014; 211 (3): 563–77.
- Degn M, Modvig S, Dyring-Andersen B, et al. Increased Prevalence of Lymphoid Tissue Inducer Cells in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Early Multiple Sclerosis. *Mult Scler (Houndmills, Basingstoke, England)*,2016; 22 (8): 1013–20.
- Delgado-Ramirez Y, Baltazar-Perez I, Martinez Y, et al. STAT1 Is Required for Decreasing Accumulation of Granulocytic Cells via IL-17 during Initial Steps of Colitis-Associated Cancer. *Int J Mol Sci*, 2021;
- Devikala G, Jennifer S, James H, and et al H. A Role for IL-13 in the Progression of Prostate Tumors (TUM10P.1046). *J Immunol*,2015; 194 (1 Supplement).
- Dhakal M, Hardaway JC, Guloglu FB, et al. IL-13R α 1 Is a Surface Marker for M2 Macrophages Influencing Their Differentiation and Function. *Eur J Immunol*,2014; 44 (3): 842–55.
- Dieu-Nosjean MC, Antoine M, Danel C, et al. Long-Term Survival for Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer with Intratumoral Lymphoid Structures. *J Clin Oncol : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*,2008; 26 (27): 4410–17.
- DiNardo CD, Propert KJ, Loren AW, et al. Serum 2-Hydroxyglutarate Levels Predict Isocitrate Dehydrogenase Mutations and Clinical Outcome in Acute Myeloid Leukemia. *Blood*,2013; 121 (24): 4917–24.
- Ding M, Newman F, Chen C, et al. Dosimetric Comparison Between 3DCRT and IMRT Using Different Multileaf Collimators in the Treatment of Brain Tumors. *Med Dosim*,2009; 34 (1): 1–8.

- Doherty TA, Broide DH. Airway Innate Lymphoid Cells in the Induction and Regulation of Allergy. *Allergol Int: Official Journal of the Japanese Society of Allergology*,2019; 68 (1): 9–16.
- Eisenring M, vom Berg J, Kristiansen G, et al. IL-12 Initiates Tumor Rejection via Lymphoid Tissue-Inducer Cells Bearing the Natural Cytotoxicity Receptor NKp46. *Nat Immunol*,2010; 11 (11): 1030–38.
- Eken A, Yetkin MF, Vural A, et al. Fingolimod Alters Tissue Distribution and Cytokine Production of Human and Murine Innate Lymphoid Cells. *Front Immunol*,2019; 10 (FEB).
- Eken A, Donmez-Altuntas H. Innate Lymphoid Cells (Non - NK ILCs) Innate Lymphoid Cells (Non - NK ILCs). In: Isvoranu G. Editor. *Lymphocyte Updates - Cancer, Autoimmunity and Infection*. London InTech,2017;;, 129–48.
- Everaere L, Ait-Yahia S, Molendi-Coste O, et al. Innate Lymphoid Cells Contribute to Allergic Airway Disease Exacerbation by Obesity. *J Allergy Clin Immunol*,2016; 138 (5): 1309-1318.e11.
- Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 Mutations Result in a Hypermethylation Phenotype, Disrupt TET2 Function, and Impair Hematopoietic Differentiation. *Cancer Cell*,2010; 18 (6): 553–67.
- Fleming V, Hu X, Weber R, et al. Targeting Myeloid-Derived Suppressor Cells to Bypass Tumor-Induced Immunosuppression. *Front Immunol*,2018;
- Friebel E, Kapolou K, Unger S, et al. Single-Cell Mapping of Human Brain Cancer Reveals Tumor-Specific Instruction of Tissue-Invading Leukocytes. *Cell*,2020; 181 (7): 1626-1642.e20.
- Fuchs A, Vermi W, Lee JS, et al. Intraepithelial Type 1 Innate Lymphoid Cells Are a Unique Subset of IL-12- and IL-15-Responsive IFN- γ -Producing Cells. *Immunity*,2013; 38 (4): 769–81.
- Fuchs A. ILC1s in Tissue Inflammation and Infection. *Front Immunol*,2016;
- Fuchs A, Colonna M. Innate Lymphoid Cells in Homeostasis, Infection, Chronic Inflammation and Tumors of the Gastrointestinal Tract. *Curr Opin Gastroenterol*,2013; *Curr Opin Gastroenterol*.
- Gao J, Shi LZ, Zhao H, et al. Loss of IFN- γ Pathway Genes in Tumor Cells as a Mechanism of Resistance to Anti-CTLA-4 Therapy. *Cell*,2016; 167 (2): 397-404.e9.
- Gao Y, Souza-Fonseca-Guimaraes F, Bald T, et al. Tumor Immune evasion by the Conversion of Effector NK Cells into Type 1 Innate Lymphoid Cells. *Nat*

- Immunol,2017; 18 (9): 1004–15.
- García M, Kokkinou E, Carrasco García A, et al. Innate Lymphoid Cell Composition Associates with COVID-19 Disease Severity. *Clin Transl Immunology*,2020; 9 (12).
- Garman RH. Histology of the Central Nervous System. *Toxicol Pathol*,2011; 39 (1): 22–35.
- Gasteiger G, Fan X, Dikiy S, et al. Tissue Residency of Innate Lymphoid Cells in Lymphoid and Nonlymphoid Organs. *Science*,2015; 350 (6263): 981–85.
- Gasteiger G, Rudensky AY. Interactions between Innate and Adaptive Lymphocytes. *Nat Rev Immunol*,2014; 14 (9): 631–39.
- Glial Cells - The Definitive Guide | Biology Dictionary. n.d. 2021-09-23. Accessed September 23, 2021. <https://biologydictionary.net/glial-cells/>.
- Goodenberger ML, Jenkins RB. Genetics of Adult Glioma. *Cancer Genet*,2012; 205 (12): 613–21.
- Gordon SM, Chaix J, Rupp LJ, et al. The Transcription Factors T-Bet and Eomes Control Key Checkpoints of Natural Killer Cell Maturation. *Immunity*,2012; 36 (1): 55–67.
- Goswami S, Walle T, Cornish AE, et al. Immune Profiling of Human Tumors Identifies CD73 as a Combinatorial Target in Glioblastoma. *Nat Med* 2019 26:1,2019; 26 (1): 39–46.
- Grivnenkov SI, Wang K, Mucida D, et al. Adenoma-Linked Barrier Defects and Microbial Products Drive IL-23/IL-17-Mediated Tumour Growth. *Nature*,2012; 491 (7423): 254–58.
- Grove KC, Provoost S, Verhamme FM, et al. De. Characterization and Quantification of Innate Lymphoid Cell Subsets in Human Lung. *PLoS ONE*,2016; 11 (1): 1–12.
- Gury-BenAri M, Thaïss CA, Serafini N, et al. The Spectrum and Regulatory Landscape of Intestinal Innate Lymphoid Cells Are Shaped by the Microbiome. *Cell*,2016; 166 (5): 1231-1246.e13.
- Haanen JB, Robert C. Immune Checkpoint Inhibitors. *Prog Tumor Res*,2015; 42 (September): 55–66.
- Halim TY, Steer CA, Mathä L, et al. Group 2 Innate Lymphoid Cells Are Critical for the Initiation of Adaptive T Helper 2 Cell-Mediated Allergic Lung Inflammation. *Immunity*,2014; 40 (3): 425–35.
- Hambardzumyan D, Bergers G. Glioblastoma: Defining Tumor Niches. *Trends Cancer*,2015; Cell Press.

- Han Q, Liang H, Cheng P, et al. Gross Total vs. Subtotal Resection on Survival Outcomes in Elderly Patients With High-Grade Glioma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*,2020; 0 (March): 151.
- Hatfield JK, Brown MA. Group 3 Innate Lymphoid Cells Accumulate and Exhibit Disease-Induced Activation in the Meninges in EAE. *Cell Immunol*,2015; 297 (2): 69–79.
- Henderson F, Abdullah KG, Verma R, et al. Tractography and the Connectome in Neurosurgical Treatment of Gliomas: The Premise, the Progress, and the Potential. *Neurosurg Focus*,2020; 48 (2): E6.
- Hira VV, Verbovšek U, Breznik B, et al. Cathepsin K Cleavage of SDF-1 α Inhibits Its Chemotactic Activity towards Glioblastoma Stem-like Cells. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*,2017; 1864 (3): 594–603.
- Hira VVV, Van Noorden CJF, Molenaar RJ. CXCR4 Antagonists as Stem Cell Mobilizers and Therapy Sensitizers for Acute Myeloid Leukemia and Glioblastoma? *Biology*,2020; 9 (2): 31.
- Hirose S, Wang S, Tormanen K, Wang Y, et al. Roles of Type 1, 2, and 3 Innate Lymphoid Cells in Herpes Simplex Virus 1 Infection In Vitro and In Vivo. *J Virol*,2019; 93 (13).
- Holmgaard RB, Zamarin D, Li Y, et al. Tumor-Expressed IDO Recruits and Activates MDSCs in a Treg-Dependent Manner. *Cell Rep*,2015; 13 (2): 412–24.
- Hoorweg K, Peters CP, Cornelissen F, et al. Functional Differences between Human NKp44- and NKp44+ RORC+ Innate Lymphoid Cells. *Front Immunol*,2012; 3 (APR).
- HuangHuang Y, Guo L, Qiu J, et al. IL-25-Responsive, Lineage-Negative KLRG1(Hi) Cells Are Multipotential “inflammatory” Type 2 Innate Lymphoid Cells. *Nat Immunol*,2015; 16 (2): 161–69.
- Hussain SF, Yang D, Suki D, et al. Innate Immune Functions of Microglia Isolated from Human Glioma Patients. *J Transl Med* 2006 4:1,2006; 4 (1): 1–9.
- Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The Roles of IFN Gamma in Protection against Tumor Development and Cancer Immunoediting. *Cytokine Growth Factor Rev*,2002; 13 (2): 95–109.
- Ikutani M, Yanagibashi T, Ogasawara M, et al. Identification of Innate IL-5-Producing Cells and Their Role in Lung Eosinophil Regulation and Antitumor Immunity. *J Immunol (Baltimore, Md. : 1950)*,2012; 188 (2): 703–13.
- Irshad S, Flores-Borja F, Lawler K, et al. ROR γ t + Innate Lymphoid Cells Promote

- Lymph Node Metastasis of Breast Cancers. *Cancer Res*,2017; 77 (5): 1083–96.
- Jacquelot N, Seillet C, Wang M, et al. Blockade of the Co-Inhibitory Molecule PD-1 Unleashes ILC2-Dependent Antitumor Immunity in Melanoma. *Nat Immunol*,2021; 22 (7): 851–64.
- Jiang HR, Milovanović M, Allan D, et al. IL-33 Attenuates EAE by Suppressing IL-17 and IFN- γ Production and Inducing Alternatively Activated Macrophages. *Eur J Immunol*,2012; 42 (7): 1804–14.
- Jiang R, Tan Z, Deng L, et al. Interleukin-22 Promotes Human Hepatocellular Carcinoma by Activation of STAT3. *Hepatology (Baltimore, Md.)*,2011; 54 (3): 900–909.
- Jiao Y, Huntington ND, Belz GT, et al. Type 1 Innate Lymphoid Cell Biology: Lessons Learnt from Natural Killer Cells. *Front Immunol*,2016; 7 (OCT): 1–8.
- Jones C, Karajannis MA, Jones DTW, et al. Pediatric High-Grade Glioma: Biologically and Clinically in Need of New Thinking. *Neuro Oncol*,2017; 19 (2): 153–61.
- Jürgens B, Hainz U, Fuchs D, et al. Interferon- γ -Triggered Indoleamine 2,3-Dioxygenase Competence in Human Monocyte-Derived Dendritic Cells Induces Regulatory Activity in Allogeneic T Cells. *Blood*,2009; 114 (15): 3235–43.
- Kang MR, Kim MS, Oh JE, et al. Mutational Analysis of IDH1 Codon 132 in Glioblastomas and Other Common Cancers. *Int J Cancer*,2009; 125 (2): 353–55.
- Karunamuni R, Bartsch H, White NS, et al. Dose-Dependent Cortical Thinning After Partial Brain Irradiation in High-Grade Glioma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*,2016; 94 (2): 297–304.
- Keime-Guibert F, Chinot O, Taillandier L, et al. Radiotherapy for Glioblastoma in the Elderly. *N Engl J Med*,2009; 356 (15): 1527–35.
- Kiessling R, Klein E, Pross H, et al. “Natural” Killer Cells in the Mouse. II. Cytotoxic Cells with Specificity for Mouse Moloney Leukemia Cells. *Eur J Immunol*,1975; 5 (2): 117–21.
- Kim BS, Siracusa MC, Saenz SA, et al. TSLP Elicits IL-33-Independent Innate Lymphoid Cell Responses to Promote Skin Inflammation. *Sci Transl Med*,2013; 5 (170): 170ra16-170ra16.
- Kim HY, Umetsu DT, Dekruffy RH. Innate Lymphoid Cells in Asthma: Will They Take Your Breath Away? *Eur. J. Immunol*,2016; 46: 795–806.
- Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer Immunoediting from Immune Surveillance to Immune Escape. *Immunology*,2007; Wiley-Blackwell.
- Kim Y, Yoo JY, Lee TJ, et al. Complex Role of NK Cells in Regulation of Oncolytic

- Virus–Bortezomib Therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2018; 115 (19): 4927–32.
- King JL, Benhabbour SR. Pharmaceuticals Glioblastoma Multiforme-A Look at the Past and a Glance at the Future. *Pharmaceutics*,2021; 9 (13): 1053.
- Kirchberger S, Royston DJ, et al. Innate Lymphoid Cells Sustain Colon Cancer through Production of Interleukin-22 in a Mouse Model. *J Exp Med*,2013; 210 (5): 917–31.
- Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, et al. The WHO Classification of Tumors of the Nervous System. *J Neuropathol Exp Neurol*,2002; 61 (3): 215–25.
- Klemm F, Maas RR, Bowman RL, et al. Interrogation of the Microenvironmental Landscape in Brain Tumors Reveals Disease-Specific Alterations of Immune Cells. *Cell*,2020; 181 (7): 1643-1660.e17.
- Klose CSN, Flach M, Möhle L, et al. Differentiation of Type 1 ILCs from a Common Progenitor to All Helper-like Innate Lymphoid Cell Lineages. *Cell*,2014; 157 (2): 340–56.
- Kobayashi T, Doff BL, Rearden RC, et al. NKT Cell-Targeted Vaccination plus Anti-4-1BB Antibody Generates Persistent CD8 T Cell Immunity against B Cell Lymphoma. *Oncoimmunology*,2015; 4 (3): 1–11.
- Koh J, Kim HY, Lee Y, et al. IL23-Producing Human Lung Cancer Cells Promote Tumor Growth via Conversion of Innate Lymphoid Cell 1 (ILC1) into ILC3. *Clin Cancer Res*, 2019;
- Kortylewski M, Xin H, Kujawski M, et al. Regulation of the IL-23 and IL-12 Balance by Stat3 Signaling in the Tumor Microenvironment. *Cancer Cell*,2009; 15 (2): 114–23.
- Koues OI, Collins PL, Cella M, et al. Distinct Gene Regulatory Pathways for Human Innate versus Adaptive Lymphoid Cells. *Cell*,2016; 165 (5): 1134–46.
- Krämer B, Goeser F, Lutz P, et al. Compartment-Specific Distribution of Human Intestinal Innate Lymphoid Cells Is Altered in HIV Patients under Effective Therapy. *PLoS Pathog*,2017; 13 (5).
- Kumthekar P, Raizer J, Singh S. *Low-Grade Glioma*. *Cancer Treat Res*,2015; Vol. 163.
- Kwong B, Rua R, Gao Y, et al. T-Bet-Dependent NKp46 + Innate Lymphoid Cells Regulate the Onset of T H 17-Induced Neuroinflammation. *Nat Immunol*,2017; 18 (10): 1117–27.
- Lambrecht BN, Hammad H. The Immunology of Asthma. *Nat Immunol*,2015; 16 (1): 45–56.
- Li J, Glover SC. Innate Lymphoid Cells in Inflammatory Bowel Disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*,2018; 66 (6): 415–21.

- Lim AI, Li Y, Lopez-Lastra S, et al. Systemic Human ILC Precursors Provide a Substrate for Tissue ILC Differentiation. *Cell*,2017; 168 (6): 1086–1100.
- Lim AI, Menegatti S, Bustamante J, et al. IL-12 Drives Functional Plasticity of Human Group 2 Innate Lymphoid Cells. *J Exp Med*, 2016; 213 (4): 569–83.
- Lordo MR, Scoville SD, Goel A, et al. Cancers Unraveling the Role of Innate Lymphoid Cells in Acute Myeloid Leukemia. *Cancers (Basel)*, 2021;
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol*,2007; Springer.
- Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A Summary. *Acta Neuropathol*,2016; 3: 803–20.
- Louis DN, Perry A, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: A Summary. *Neuro-Oncol*,2021; 23 (8): 1231–51.
- Lu B, Yang M, Wang Q. Interleukin-33 in Tumorigenesis, Tumor Immune Evasion, and Cancer Immunotherapy. *J Mol Med*,2016; 94 (5): 535–43.
- Luci C, Reynders A, Ivanov II, et al. Influence of the Transcription Factor ROR γ t on the Development of NKp46+ Cell Populations in Gut and Skin. *Nat Immunol*, 2009; 10 (1): 75–82.
- M Gagné L, Boulay K, Topisirovic I, et al. Oncogenic Activities of IDH1/2 Mutations: From Epigenetics to Cellular Signaling. *Trends Cell Biol*,2017; 27 (10): 738–52.
- MacDonald SM, Ahmad S, Kachris S, et al. Intensity Modulated Radiation Therapy versus Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy for the Treatment of High Grade Glioma: A Dosimetric Comparison. *J Appl Clin Med Phys*,2007; 8 (2): 47–60.
- Mackay LK, Minnich M, Kragten NA, et al. Hobit and Blimp1 Instruct a Universal Transcriptional Program of Tissue Residency in Lymphocytes. *Science*,2016; 352 (6284): 459–63.
- Maloy KJ, Powrie F. Intestinal Homeostasis and Its Breakdown in Inflammatory Bowel Disease. *Nature* 2011 474:7351,2011; 474 (7351): 298–306.
- Mann J, Ramakrishna R, Magge R, Wernicke AG. Advances in Radiotherapy for Glioblastoma. *Front Neurol*,2018; 0 (JAN): 748.
- Mariotti FR, Quatrini L, Munari E, et al. Innate Lymphoid Cells: Expression of PD-1 and Other Checkpoints in Normal and Pathological Conditions. *Front Immunol*, 2019; 1: 910.
- Martini M, Testi MG, Pasetto M, et al. IFN- γ -Mediated Upmodulation of MHC Class I

- Expression Activates Tumor-Specific Immune Response in a Mouse Model of Prostate Cancer. *Vaccine*,2010; 28 (20): 3548–57.
- Mebius RE, Rennert P, Weissman IL. Developing Lymph Nodes Collect CD4+CD3-LT β + Cells That Can Differentiate to APC, NK Cells, and Follicular Cells but Not T or B Cells. *Immunity*,1997; 7 (4): 493–504.
- Medeiros BC, Fathi AT, DiNardo CD, et al. Isocitrate Dehydrogenase Mutations in Myeloid Malignancies. *Leukemia* 2017 31:2,2016; 31 (2): 272–81.
- Milovanovic M, Volarevic V, Ljubic B, et al. Deletion of IL-33R (ST2) Abrogates Resistance to EAE in BALB/C Mice by Enhancing Polarization of APC to Inflammatory Phenotype. *PloS One*,2012; 7 (9).
- Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, et al. New Insights into Cancer Immunoediting and Its Three Component Phases-Elimination, Equilibrium and Escape. *Curr Opin Immunol.*,2014; 27 (15): 25.
- Mjösberg JM, Trifari S, Crellin NK, et al. Human IL-25-and IL-33-Responsive Type 2 Innate Lymphoid Cells Are Defined by Expression of CCR4 and CD161. *Nat Immunol*,2011; 12 (11): 1055–62.
- Molenaar RJ, Verbaan D, Lamba S, et al. The Combination of IDH1 Mutations and MGMT Methylation Status Predicts Survival in Glioblastoma Better than Either IDH1 or MGMT Alone. *Neuro-Oncol*,2014; 16 (9): 1263–73.
- Möller G, Möller E. Immunological Aspects of Cancer. *Harvey Lect*, 1973;, 71–102.
- Monticelli LA, Sonnenberg GF, Abt MC, et al. Innate Lymphoid Cells Promote Lung-Tissue Homeostasis after Infection with Influenza Virus. *Nat Immunol*,2011; 12 (11): 1045–54.
- Moral JA, Leung J, Rojas LA, et al. ILC2s Amplify PD-1 Blockade by Activating Tissue-Specific Cancer Immunity. *Nature*,2020; 579 (7797): 130.
- Moro K, Yamada T, Tanabe M, et al. Innate Production of TH 2 Cytokines by Adipose Tissue-Associated c-Kit+ Sca-1+ Lymphoid Cells. *Nature*,2010; 463 (7280): 540–44.
- Moschen AR, Tilg H, Raine T. IL-12, IL-23 and IL-17 in IBD: Immunobiology and Therapeutic Targeting. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*,2019; 16 (3): 185–96.
- Müller-Hermelink N, Braumüller H, Pichler B, et al. TNFR1 Signaling and IFN- γ Signaling Determine Whether T Cells Induce Tumor Dormancy or Promote Multistage Carcinogenesis. *Cancer Cell*,2008; 13 (6): 507–18.
- Munneke JM, Björklund AT, Mjösberg JM, et al. Activated Innate Lymphoid Cells Are Associated with a Reduced Susceptibility to Graft-versus-Host Disease.

- Blood,2014; 124 (5): 812–21.
- Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, et al. Helicobacter Pylori CagA Interacts with E-Cadherin and Dereglates the β -Catenin Signal That Promotes Intestinal Transdifferentiation in Gastric Epithelial Cells. *Oncogene* 2007 26:32,2007; 26 (32): 4617–26.
- Najem H, Khasraw M, Heimberger AB. Microenvironment Landscape in CNS Tumors and Role in Responses to Immunotherapy. *Cells*, 2021; 9 (10): 2032.
- Nayak L, Panageas KS, Reiner AS, et al. Radiotherapy and Temozolomide for Anaplastic Astrocytic Gliomas. *J Neurooncol*, 2015; 123 (1): 129.
- Neill DR, Wong SH, Bellosi A, et al. Nuocytes Represent a New Innate Effector Leukocyte That Mediates Type-2 Immunity. *Nature*,2010; 464 (7293): 1367–70.
- Nussbaum K, Burkhard SH, Ohs I, et al. Tissue Microenvironment Dictates the Fate and Tumor-Suppressive Function of Type 3 ILCs. *J Exp Med*,2017; 214 (8): 2331–47.
- O'Rourke DM, Nasrallah MP, Desai A, et al. A Single Dose of Peripherally Infused EGFRvIII-Directed CAR T Cells Mediates Antigen Loss and Induces Adaptive Resistance in Patients with Recurrent Glioblastoma. *Sci Transl Med*, 2017; 9 (399).
- Ohne Y, Silver JS, Thompson-Snipes L, et al. IL-1 Is a Critical Regulator of Group 2 Innate Lymphoid Cell Function and Plasticity. *Nat Immunol*,2016; 17 (6): 646–55.
- Olar A, Aldape KD. Using the Molecular Classification of Glioblastoma to Inform Personalized Treatment. *J Pathol*,2014; 232 (2): 165–77.
- Orimo K, Tamari M, Saito H, et al. Characteristics of Tissue– Resident ILCs and Their Potential as Therapeutic Targets in Mucosal and Skin Inflammatory Diseases. *Allergy*,2021;
- Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, et al. The Epidemiology of Glioma in Adults: A State of the Science Review. *Neuro Oncol*,2014;
- Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2010–2014. *Neuro Oncol*,2017;
- Ouyang Q, Wagner WM, Voehringer D, et al. Age-Associated Accumulation of CMV-Specific CD8⁺ T Cells Expressing the Inhibitory Killer Cell Lectin-like Receptor G1 (KLRG1). *Exp Gerontol*,2003; 38 (8): 911–20.
- Owaidah TM, Al Beihany A, Iqbal MA, et al. Cytogenetics, Molecular and Ultrastructural Characteristics of Biphenotypic Acute Leukemia Identified by the EGIL Scoring System. *Leukemia*,2006; 20 (4): 620–26.

- Panda SK, Colonna M. Innate Lymphoid Cells: A Potential Link between Microbiota and Immune Responses against Cancer. *Semin Immunol*,2019; 41: 101271.
- Pansuriya TC, van Eijk R, d'Adamo P, et al. Somatic Mosaic IDH1 and IDH2 Mutations Are Associated with Enchondroma and Spindle Cell Hemangioma in Ollier Disease and Maffucci Syndrome. *Nat Genet*,2011; 43 (12): 1256–61.
- Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An Integrated Genomic Analysis of Human Glioblastoma Multiforme. *Science*,2008; 321 (5897): 1807–12.
- Peng W, Liu C, Xu C, et al. PD-1 Blockade Enhances T-Cell Migration to Tumors by Elevating IFN- γ Inducible Chemokines. *Cancer Res*,2012; 72 (20): 5209–18.
- Perry JS, Han S, Xu Q, Herman ML, et al. Inhibition of LT α Cell Development by CD25 Blockade Is Associated with Decreased Intrathecal Inflammation in Multiple Sclerosis. *Sci Transl Med*,2012; 4 (145).
- Polese B, Zhang H, Thuraiajah B, et al. Innate Lymphocytes in Psoriasis. *Front Immunol*,2020; 11: 242.
- Prager BC, Bhargava S, Mahadev V, et al. Glioblastoma Stem Cells: Driving Resilience through Chaos. *Trends Cancer*,2020; 6 (3): 223–35.
- Price AE, Liang HE, Sullivan BM, et al. Systemically Dispersed Innate IL-13-Expressing Cells in Type 2 Immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2010; 107 (25): 11489–94.
- Price G, Bouras A, Hambardzumyan D, Hadjipanayis CG. Current Knowledge on the Immune Microenvironment and Emerging Immunotherapies in Diffuse Midline Glioma. *EBioMedicine*,2021; 69: 103453.
- Punt S, Fleuren GJ, Kritikou E, Lubberts E, et al. Angels and Demons: Th17 Cells Represent a Beneficial Response, While Neutrophil IL-17 Is Associated with Poor Prognosis in Squamous Cervical Cancer. *Oncoimmunology*,2015; 4 (1): 984539.
- Rak GD, Osborne LC, Siracusa MC, et al. IL-33-Dependent Group 2 Innate Lymphoid Cells Promote Cutaneous Wound Healing. *J Invest Dermatol*,2016; 136 (2): 487–96.
- Raykova A, Carrega P, Lehmann FM, et al. Interleukins 12 and 15 Induce Cytotoxicity and Early NK-Cell Differentiation in Type 3 Innate Lymphoid Cells. *Blood Adv*,2017; 1 (27): 2679–91.
- Richmond JM, Harris JE. Immunology and Skin in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*,2014; 4 (12): a015339.
- Riggan L, Freud AG, O'Sullivan TE. True Detective: Unraveling Group 1 Innate Lymphocyte Heterogeneity. *Trends Immunol*,2019; 40 (10): 909–21.

- Robinette ML, Colonna M, Cortez VS. Innate Lymphoid Cells New Insights into Function and Development. *Curr Opin Immunol*,2015; 32 (1): 71–77.
- Robinette ML, Fuchs A, Cortez VS, Lee JS, et al. Transcriptional Programs Define Molecular Characteristics of Innate Lymphoid Cell Classes and Subsets. *Nat Immunol*, 2015 16:3,2015; 16 (3): 306–17.
- Romero-Suárez S, Del Rio Serrato A, Bueno RJ, et al. The Central Nervous System Contains ILC1s That Differ From NK Cells in the Response to Inflammation. *Front Immunol*,2019; 10.
- Russi AE, Walker-Caulfield ME, Ebel ME, et al. Cutting Edge: C-Kit Signaling Differentially Regulates Type 2 Innate Lymphoid Cell Accumulation and Susceptibility to Central Nervous System Demyelination in Male and Female SJL Mice. *J Immunol*,2015; 194 (12): 5609–13.
- Safavi F, Li H, Gonnella P, et al. C-Kit Plays a Critical Role in Induction of Intravenous Tolerance in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Immunol Res*,2015; 61 (3): 294–302.
- Salimi M, Barlow JL, Saunders SP, et al. A Role for IL-25 and IL-33-Driven Type-2 Innate Lymphoid Cells in Atopic Dermatitis. *J Exp Med*,2013; 210 (13): 2939–50.
- Salimi M, Wang R, Yao X, Li X, et al. Activated Innate Lymphoid Cell Populations Accumulate in Human Tumour Tissues. *BMC Cancer*,2018; 18 (1): 1–10.
- Salomé B, Gomez-Cadena A, Loyon R, et al. CD56 as a Marker of an ILC1-like Population with NK Cell Properties That Is Functionally Impaired in AML. *Blood Adv*,2019; 3 (22): 3674.
- Sampson JH, Heimberger AB, Archer GE, et al. Immunologic Escape After Prolonged Progression-Free Survival With Epidermal Growth Factor Receptor Variant III Peptide Vaccination in Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma. *J Clin Oncol*, <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.28.6963>,2010; 28 (31): 4722–29.
- Sanai N, Berger MS. Intraoperative Stimulation Techniques for Functional Pathway Preservation and Glioma Resection. *Neurosurg Focus*,2010; 28 (2): E1.
- Sanos SL, Bui VL, Mortha A, Oberle K, et al. ROR γ t and Commensal Microflora Are Required for the Differentiation of Mucosal Interleukin 22-Producing NKp46+ Cells. *Nat Immunol*,2009; 10 (1): 83–91.
- Saranchova I, Han J, Zaman R, Arora H, et al. Type 2 Innate Lymphocytes Actuate Immunity Against Tumours and Limit Cancer Metastasis. *Sci Rep* 2018 8:1,2018; 8 (1): 1–17.
- Sasaki T, Moro K, Kubota T, et al. Innate Lymphoid Cells in the Induction of Obesity.

- Cell Rep,2019; 28 (1): 202-217.e7.
- Satoh-Takayama N, Lesjean-Pottier S, Vieira P, et al. IL-7 and IL-15 Independently Program the Differentiation of Intestinal CD3-NKp46+ Cell Subsets from Id2-Dependent Precursors. *J Exp Med*,2010; 207 (2): 273–80.
- Satoh-Takayama N, Vosshenrich CA, Lesjean-Pottier S, et al. Microbial Flora Drives Interleukin 22 Production in Intestinal NKp46+ Cells That Provide Innate Mucosal Immune Defense. *Immunity*,2008; 29 (6): 958–70.
- Sceneay J, Chow MT, Chen A, et al. Primary Tumor Hypoxia Recruits CD11b+/Ly6Cmed/ Ly6G+ Immune Suppressor Cells and Compromises NK Cell Cytotoxicity in the Premetastatic Niche. *Cancer Res*,2012; 72 (16): 3906–11.
- Scheithauer P, Kleihues PC, Burger BW. *Histological Typing of Tumours of the Central Nervous System*. Springer Berlin Heidelberg,1993;
- Schürch C, Riether C, Amrein MA, et al. Cytotoxic T Cells Induce Proliferation of Chronic Myeloid Leukemia Stem Cells by Secreting Interferon- γ . *J Exp Med*,2013; 210 (3): 605–21.
- Sciumé G, Hirahara K, Takahashi H, et al. Distinct Requirements for T-Bet in Gut Innate Lymphoid Cells. *J Exp Med*,2012; 209 (13): 2331–38.
- Sedgwick AJ, Ghazanfari N, Constantinescu P, et al. The Role of NK Cells and Innate Lymphoid Cells in Brain Cancer. *Front Immunol*,2020; Frontiers Media S.A.
- Shih HY, Sciumè G, Mikami Y, Guo L, et al. Developmental Acquisition of Regulomes Underlies Innate Lymphoid Cell Functionality. *Cell*,2016; 165 (5): 1120–33.
- Shikhagaie MM, Germar K, Bal SM, Ros XR, et al. Innate Lymphoid Cells in Autoimmunity: Emerging Regulators in Rheumatic Diseases. *Nat Rev Rheumatol*,2017; 13 (3): 164–73.
- Silver JS, Kearley J, Copenhaver AM, et al. Inflammatory Triggers Associated with Exacerbations of COPD Orchestrate Plasticity of Group 2 Innate Lymphoid Cells in the Lungs. *Nat Immunol*,2016; 17 (6): 626–35.
- Sim GC, Radvanyi L. The IL-2 Cytokine Family in Cancer Immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev*,2014; 25 (4): 377–90.
- Simoni Y, Fehlings M, Kløverpris HN, et al. Human Innate Lymphoid Cell Subsets Possess Tissue-Type Based Heterogeneity in Phenotype and Frequency. *Immunity*,2017; 46 (1): 148–61.
- Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal Bifidobacterium Promotes Antitumor Immunity and Facilitates Anti-PD-L1 Efficacy. *Science*,2015; 350 (6264): 1084–89.

- Spits H, Artis D, Colonna M, Dieffenbach A, et al. Innate Lymphoid Cells-a Proposal for Uniform Nomenclature. *Nat Rev Immunol*,2013; 13 (2): 145–49.
- Spits H, Di Santo JP. The Expanding Family of Innate Lymphoid Cells: Regulators and Effectors of Immunity and Tissue Remodeling. *Nat Immunol*,2011; 12 (1): 21–27.
- Stark MA, Huo Y, Burcin TL, Morris MA, et al. Phagocytosis of Apoptotic Neutrophils Regulates Granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity*,2005; 22 (3): 285–94.
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N Engl J Med*, [Http://Dx.Doi.Org/10.1056/NEJMoa043330](http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa043330),2009; 352 (10): 987–96.
- Stupp R, Taillibert S, Kanner A, et al. Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*,2017; 318 (23): 2306–16.
- Su YT, Phan FP, Wu J. Perspectives on IDH Mutation in Diffuse Gliomas. *Trends Cancer*,2018; 4 (9): 605–7.
- Sun JC, Lanier LL. NK Cell Development, Homeostasis and Function: Parallels with CD8 + T Cells. *Nat Rev Immunol*,2011; Nature Publishing Group.
- Suzuki A, Kochi Y, Okada Y, Yamamoto K. Insight from Genome-Wide Association Studies in Rheumatoid Arthritis and Multiple Sclerosis. *FEBS Lett*,2011; 585 (23): 3627–32.
- Takayama T, Kamada N, Chinen H, et al. Imbalance of NKp44(+)NKp46(-) and NKp44(-)NKp46(+) Natural Killer Cells in the Intestinal Mucosa of Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology*,2010; 139 (3).
- Taniguchi K, Petersson M, Höglund P, et al. Interferon Gamma Induces Lung Colonization by Intravenously Inoculated B16 Melanoma Cells in Parallel with Enhanced Expression of Class I Major Histocompatibility Complex Antigens. *Proc Natl Acad Sci U S A*,1987; 84 (10): 3405–9.
- Teunissen MBM, Munneke JM, Bernink JH, et al. Composition of Innate Lymphoid Cell Subsets in the Human Skin: Enrichment of NCR+ ILC3 in Lesional Skin and Blood of Psoriasis Patients. *J Invest Dermatol*,2014; 134 (9): 2351–60.
- Theurich S, Rothschild SI, Hoffmann M, et al. Local Tumor Treatment in Combination with Systemic Ipilimumab Immunotherapy Prolongs Overall Survival in Patients with Advanced Malignant Melanoma. *Cancer Immunol Res*,2016; 4 (9): 744–54.
- Timuçin A, Türker K. Yüksek Gradeli Gliomların Moleküler Biyolojisi. *Türk Nöroşir Derg*,2017; 27 (2): 162–68.

- Trabanelli S, Chevalier MF, Martinez-Usatorre A, et al. Tumour-Derived PGD2 and NKp30-B7H6 Engagement Drives an Immunosuppressive ILC2-MDSC Axis. *Nat Commun*,2017; 8 (1).
- Trabanelli S, Curti A, Lecciso M, et al. CD127+ Innate Lymphoid Cells Are Dysregulated in Treatment Naïve Acute Myeloid Leukemia Patients at Diagnosis. *Hematology*,2011; 96 (9): 1390–91.
- Trabanelli S, Gomez-Cadena A, Salomé B, et al. Human Innate Lymphoid Cells (ILCs): Toward a Uniform Immune-Phenotyping. *Cytometry B Clin Cytom*,2018; 94 (3): 392–99.
- Tumino N, Martini S, Munari E, et al. Presence of Innate Lymphoid Cells in Pleural Effusions of Primary and Metastatic Tumors: Functional Analysis and Expression of PD-1 Receptor. *Int J Cancer*,2019; 15 (145): 1660–68.
- Upreti D, Bakhshinyan D, Bloembergen D, et al. Strategies to Enhance the Efficacy of T-Cell Therapy for Central Nervous System Tumors. *Front Immunol*,2020; 12 (11): 599253.
- Vallentin B, Barlogis V, Piperoglou C, et al. Innate Lymphoid Cells in Cancer. *Cancer Immunol Res*,2015; 3 (10): 1109–14.
- Vanichapol T, Chutipongtanate S, Anurathapan U, et al. Immune Escape Mechanisms and Future Prospects for Immunotherapy in Neuroblastoma. *Biomed Res Int*,2018; 25 (2018): 1812535.
- Vély F, Barlogis V, Vallentin B, et al. Evidence of Innate Lymphoid Cell Redundancy in Humans. *Nat Immunol*,2016; 17 (11): 1291–99.
- Verdecchia A, De Angelis G, Capocaccia R. Estimation and Projections of Cancer Prevalence from Cancer Registry Data. *Stat Med*,2002; 21 (22): 3511–26.
- Verma R, Er JZ, Pu RW, et al. Eomes Expression Defines Group 1 Innate Lymphoid Cells During Metastasis in Human and Mouse. *Front Immunol*,2020; 17 (11): 1190.
- Vesely MD, Schreiber RD. Cancer Immunoediting: Antigens, Mechanisms, and Implications to Cancer Immunotherapy. *Ann N Y Acad Sci*,2013; 1284 (1): 1–5.
- Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al. Anticancer Immunotherapy by CTLA-4 Blockade Relies on the Gut Microbiota. *Science*,2015; 350 (6264): 1079–84.
- Villanova F, Flutter B, Tosi I, et al. Characterization of Innate Lymphoid Cells in Human Skin and Blood Demonstrates Increase of NKp44+ ILC3 in Psoriasis. *J Invest Dermatol*,2014; 134 (4): 984–91.
- Vitale M, Della Chiesa M, Carlomagno S, et al. NK-Dependent DC Maturation Is

- Mediated by TNF α and IFN γ Released upon Engagement of the NKp30 Triggering Receptor. *Blood*,2005; 106 (2): 566–71.
- Vivier E, Artis D, Colonna M, et al. Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell*,2018; 174 (5): 1054–66.
- Vivier E, Raulet DH, Moretta A, et al. Innate or Adaptive Immunity? The Example of Natural Killer Cells. *Science*,2011;
- Vonarbourg C, Mortha A, Bui VL, et al. Regulated Expression of Nuclear Receptor ROR γ t Confers Distinct Functional Fates to NK Cell Receptor-Expressing ROR γ t+ Innate Lymphocytes. *Immunity*,2010; 33 (5): 736–51.
- Waitkus MS, Diplas BH, Yan H. Biological Role and Therapeutic Potential of IDH Mutations in Cancer. *Cancer Cell*,2018; 34 (2): 186–95.
- Waitkus MS, Diplas BH, Yan H. Isocitrate Dehydrogenase Mutations in Gliomas. *Neuro Oncol*,2016; 18 (1): 16–26.
- Walker JA, Barlow JL, McKenzie AN. Innate Lymphoid Cells — How Did We Miss Them? *Nat Rev Immunol*,2013; 13 (2): 75–87.
- Wang S, Qu Y, Xia P, et al. Transdifferentiation of Tumor Infiltrating Innate Lymphoid Cells during Progression of Colorectal Cancer. *Cell Res* 2020 30:7,2020; 30 (7): 610–22.
- Wang S, Xia P, Chen Y, et al. Regulatory Innate Lymphoid Cells Control Innate Intestinal Inflammation. *Cell*,2017; 171 (1): 201-216.e18.
- Wang Y, Chu J, Yi P, et al. SMAD4 Promotes TGF- β -Independent NK Cell Homeostasis and Maturation and Antitumor Immunity. *J Clin Invest*,2018; 1 (128): 5123–36. <https://www.jci.org/articles/view/121227>.
- Ward NL, Umetsu DT. A New Player on the Psoriasis Block: IL-17A- and IL-22-Producing Innate Lymphoid Cells. *J Invest Dermatol*,2014; 134 (9): 2305.
- Webster RM. The Immune Checkpoint Inhibitors: Where Are We Now? *Nat Rev Drug Discov*,2014; 13 (12): 883–84.
- Weerd I, van Hoeven V, Munneke JM, et al de. Innate Lymphoid Cells Are Expanded and Functionally Altered in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Haematologica*,2016; 101 (11): e461–64.
- Wei J, Chen P, Gupta P, et al. Immune Biology of Glioma-Associated Macrophages and Microglia: Functional and Therapeutic Implications. *Neuro Oncol*,2020; 22 (2): 180–94.
- Weizman OE, Adams NM, Schuster IS, et al. ILC1 Confer Early Host Protection at Initial Sites of Viral Infection. *Cell*,2017; 171 (4): 795-808.e12.

- Weizman OE, Song E, Adams NM, et al. Mouse Cytomegalovirus-Experienced ILC1s Acquire a Memory Response Dependent on the Viral Glycoprotein M12. *Nat Immunol*,2019; 20 (8): 1004–11.
- Weller M, Cloughesy T, Perry JR, et al. Standards of Care for Treatment of Recurrent Glioblastoma--Are We There Yet? *Neuro Oncol*,2013; 15 (1).
- Wrensch M, Minn Y, Chew T, et al. Epidemiology of Primary Brain Tumors: Current Concepts and Review of the Literature. *Neuro Oncol*,2002; 4 (4): 278–99.
- Wu J, Armstrong TS, Gilbert MR. Biology and Management of Ependymomas. *Neuro Oncol*,2016; 18 (7): 902–13.
- Wu T, Cui L, Liang Z, et al. Elevated Serum IL-22 Levels Correlate with Chemoresistant Condition of Colorectal Cancer. *Clin Immunol*,2013; 147 (1): 38–39.
- Xie Y, Han Y, Zhang X, et al. Application of New Radiosensitizer Based on Nano-Biotechnology in the Treatment of Glioma. *Front Oncol*,2021; 22 (11): 633827.
- Yamanaka K, Yamamoto O, Honda T. Pathophysiology of Psoriasis: A Review. *J Dermatol*,2021; 48 (6): 722–31.
- Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas. *N Engl J Med*,2009; 360 (8): 765–73.
- Young RM, Jamshidi A, Davis G, et al. Current Trends in the Surgical Management and Treatment of Adult Glioblastoma. *Ann Transl Med*,2015; 3 (9).
- Yuan X, Rasul F, Nashan B, Sun C. Innate Lymphoid Cells and Cancer: Role in Tumor Progression and Inhibition. *Eur J Immunol*,2021; 1–18.
- Zawlik I, Gablo N, Szymanska B, et al. Immune Checkpoints in Aggressive Breast Cancer Subtypes. *Neoplasma*,2016; 63 (5): 768–73.
- Zhang K, Xu X, Pasha MA, et al. Cutting Edge: Notch Signaling Promotes the Plasticity of Group-2 Innate Lymphoid Cells. *J Immunol*,2017; 198 (5): 1798–1803.

[illegible]

GLİAL TÜMÖRLERDE KAN VE TÜMÖR MİKROÇEVRESİNDEKİ İNNEATE LENFOİD HÜCRELERİN (ILC) KARAKTERİZE EDİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%5	%5	%4	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	prod-web02.biolegend.com	%1
	İnternet Kaynağı	
2	tr.wikipedia.org	%1
	İnternet Kaynağı	
3	www.scintila.cz	%1
	İnternet Kaynağı	
4	Hui.Li Yang, Wen.Jie Zhou, Han Lu, Sha.Ting Lei et al. " Decidual stromal cells promote the differentiation of CD56 CD16 NK cells by secreting IL-24 in early pregnancy ", American Journal of Reproductive Immunology, 2019	%1
	Yayın	
5	Richard A O'Connor, Vishwani Chauhan, Layla Mathieson, Helen Titmarsh et al. "T cells drive negative feedback mechanisms in cancer associated fibroblasts, promoting expression of co-inhibitory ligands, CD73 and IL-27 in non-small cell lung cancer", Oncolmunology, 2021	<%1
	Yayın	

ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı: Şerife ERDEM

Doğum Yılı:

EĞİTİM

Lisans: Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi/Biyoloji 2010

Yüksek Lisans: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D 2013

Doktora: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D/YÖK 100/2000 doktora programı tümör immünoloji alanı 2021

(TÜBİTAK 2211A BİDEB bursiyeri)

İŞ DENEYİMLERİ

2012–2017: Detagen Genetik Tanı Merkezi (Laboratuvar sorumlu biyolog)

SCI,SSCI,AHCI İNDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

1. Eken A, Cansever M, Okus FZ, **Erdem S**, Nain E, Azizoglu ZB, Haliloglu Y, Karakukcu M, Ozcan A, Devcioglu O, Aksu G, Arikan Ayyildiz Z, Topal E, Karakoc Aydinler E, Kiykim A, Metin A, Cipe F, Kaya A, Artac H, Reisli I, Guner SN, Uygun V, Karasu G, Dönmez Altuntas H, Canatan H, Oukka M, Ozen A, Chatila TA, Keles S, Baris S, Unal E, Patiroglu T. *ILC3 Deficiency and Generalized ILC Abnormalities in DOCK8 Deficient Patients*. Allergy. 2019 Oct 9. doi: 10.1111/all.14081.
2. Eken A, Cansever M, Somekh I, Mizoguchi Y, Zietara N, Okus FZ, **Erdem S**, Canatan H, Akyol S, Ozcan A, Karakukcu M, Hollizeck S, Rohlf M, Unal E, Klein C, Patiroglu T. *Genetic Deficiency and Biochemical Inhibition of ITK Affect Human Th17, Treg, and Innate Lymphoid Cells*. J Clin Immunol. 2019 May;39(4):391-400. doi: 10.1007/s10875-019-00632-5. Epub 2019 Apr 25.
3. Eken A, Yetkin MF, Vural A, Okus FZ, **Erdem S**, Azizoglu ZB, Haliloglu Y, Cakir M, Turkoglu EM, Kilic O, Kara I, Dönmez Altuntaş Altuntaş H, Oukka M, Kutuk MS, Mirza M and Canatan H (2019) *Fingolimod Alters Tissue Distribution and Cytokine Production of Human and Murine Innate Lymphoid Cells*. Front. Immunol. 10:217. doi: 10.3389/fimmu.2019.00217.
4. Eken A, **Erdem S**, Haliloglu Y, Zehra Okus F, Cakir M, Fatih Yetkin M. Akcakoyunlu M, Karayigit MO, Azizoglu ZB, Bicer A, Gur TN, Aslan K, Hc Oukka M, Altuntas HD, Ufuk Nalbantoglu O, Gundogdu A, Mirza M, Canat *Temporal overexpression of IL-22 and Reg3γ differentially impacts the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis*. Immunology. 2021 Sep;164(1):73-89.
5. Ahmet Eken, Mehmet Fatih Yetkin, Fatma Zehra Okus, **Serife Erdem**, Mustafa Cakir, Yesim Haliloglu, Zehra Busra Azizoglu, Hamiyet Donmez Altuntas, Meral

Mirza, Halit Canatan. *Comparison of Peripheral Blood Th17 Cells and Associated Cytokines in Fingolimod-Receiving and Untreated Relapsing Remitting Multiple Sclerosis Patients*. Turkish Journal of Immunology (2019) Vol 7, No 2, 2019 pages. 69 – 75

6. Ahmet Eken, Fatma Zehra Okus, **Serife Erdem**, Zehra Busra Azizoglu, Yesim Haliloglu, Ebru Yilmaz, Musa Karakukcu, Hamiyet Donmez-Altuntas, Halit Canatan. *IL-15 negatively regulates curdlan-induced IL-23 production by human monocyte derived dendritic cells and subsequent Th17 response*. Northern Clinics of Istanbul (2019) .38802 Pages 379 – 387

7. Türkoğlu, E. M., **Erdem Şerife**, Okus, F. Z., Özcan, A., Azizoğlu, Z. B., Eken, A., Uludağ, S. Z., Kutuk, M. S., Karakukcu, M., & Ünal, E. *Impact of Intrauterine Growth Restriction Diseases on The Umbilical Cord Blood CD34+ Cell Counts: Morbidly Adherent Placenta and umbilical cord blood CD34+ cells*. The Journal of Pediatric Academy, 2020.1(2), 56-61.

KİTAP BÖLÜM YAZARLIĞI

Erdem S, Unal E, Eken A “T lymphocyte-specific protein tyrosine kinase deficiency” Rare Diseases in Children Focusing on Pediatric Immunology & Neurology, ISBN: 978-625-7146-27-2, 2020

HAKEMLİ DERGİ/ KONGRE / SEMPOZYUMLARIN BİLDİRİM KİTAPLARINDA YER ALAN YAYINLAR

1. Ahmet Eken, M. Fatih Yetkin, F. Zehra Okuş, **Serife Erdem**, Mustafa Çakır, M. Serdar Kutuk, Hamiyet Dönmez Altuntaş, Meral Mirza, Halit Canatan. Sphingosine 1 phosphate 1 receptor agonists Fingolimod and SEW2871 impact innate lymphoid cell biology, Davos, Switzerland, World Immune regulation Meeting Abstract book, 2018, March

2. Ahmet Eken, Türkan Patiroğlu, F. Zehra Okuş, **Serife Erdem**, Musa Karakükçü, Murat Cansever, Hamiyet Dönmez Altuntaş, Halit Canatan, Mohamed Oukka, Elif Karakoc, Safa Baris, Sevgi Keles, Ahmet Ozen, Gulsun Karasu, Ekrem Ünal. Absence of group 3 innate lymphoid cells in DOCK8-defective HIES patients. Davos, Switzerland, World Immune regulation Meeting Abstract book, 2018, March

3. Ahmet Eken, F. Zehra Okuş, Türkan Patiroğlu, **Serife Erdem**, Musa Karakükçü, Murat Cansever, Hamiyet Dönmez Altuntaş, Halit Canatan, Mohamed Oukka, Erdem Topal, Ayca Kiyim, Elif Karakoc, Ayse Metin, Safa Baris, Ismail Reisli, Sevgi Ahmet Ozen, Vedat Uygun, Gulsun Karasu, Ekrem Ünal. Group 3 innate lymphoid cells are absent in DOCK8-defective HIES patients. IMMUNOLOGY2018, Austin/ Texas, A.B.D., 4-8 Mayıs 2018, Supplement...

4. Ahmet Eken, Mehmet Fatih Yetkin, Fatma Zehra Okus, **Serife Erdem**, Mustafa Cakir, M.Serdar Kutuk, Alperen Vural, Hamiyet Donmez Altuntas, Meral Mirza, Halit Canatan. Sphingosine 1 Fosfat Reseptörü-1 Agonistleri Fingolimod Ve SEW2871

İnnate Lenfoid Hücrelerin Biyolojisini Etkilemektedir. Kıbrıs, 10.Klinik Nöroimmünoloji Sempozyumu, 2018 Nisan 1-4,

5. A. Eken, M.F. Yetkin, F.Z. Okus, **S. Erdem**, M. Cakir, M.S. Kutuk, A. Vural, I. Kara, H. Donmez Altuntas, M. Mirza, H. Canatan, S1P1 receptor antagonists Fingolimod and SEW2871 affect human group 1 and 3 innate lymphoid cell biology, , ECTRIMS Online Library.10/11/18; 228605; P762

6. **Şerife Erdem**, Ahmet Eken, Fatma Zehra Okuş, Halit Canatan, Hamiyet Dönmez Altuntaş, Musa Karakükcü, Ekrem Unal, Murat Cansever, Alper Özcan, Türkan Patiroğlu, Ömer Devecioglu, Güzide Aksu, Erdem Topal, Elif Karakoc, Ayca Kiyki ,Ahmet Ozen, Safa Baris, Ayse Metin, Ismail Reisli, Sukru N. Guner, Sevgi Keles, Gulsun Karasu, Vedat Uygün, Mohamed Oukka, Talal Chatila. DOCK8 defektif HIES hastalarında Grup 3 İnnaten Lenfoid Hücrelerin sayı ve fonksiyonları bozulmuştur,” İmmünolojide moleküller sempozyumu İZMİR, 2018

7. Eken A., Yetkin M. F., Okus F. Z., **Erdem S.**, Çakir M., Haliloğlu Y., et al Comparison of peripheral blood Th17 cells and associated cytokines in fingolimod receiving and untreated multiple sclerosis patients,,Turkish Journal of Immunology, cilt.7, ss.69-75, 2019

8. **Şerife Erdem**, F.Zehra Okuş, Z.Büşra Azizoğlu, Yeşim Haliloğlu, Ayten Biçer, Mustafa Çakır, Hamiyet Altuntaş, Halit Canatan, Ahmet Eken, Characterization Of Treg Cells Generated In The Presence Of Group 3 Innate Lymphoid Cells Ex Vivo,MIMIV IV. BURSA 2019

9. Ahmet Eken, F.Zehra Okuş, **Şerife Erdem**, Z.Büşra Azizoğlu, M.Onder Karayigit, Yeşim Haliloğlu, Ayten Biçer, Mustafa Çakır, Tuğba Nur Gür, Mohamed Oukka, Hamiyet Altuntaş, Halit Canatan. Modulation of IL-22 and Reg3g Affects Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Severity MIMIV IV. BURSA 2019

10. **Şerife Erdem**, Anna Lisa Lanz, Alper Özcan, Gülay Ceylaner, Murat Cansever, Serdar Ceylaner, Türkan Patiroğlu, Ekrem Ünal, Ahmet Eken, Fabian Hauck, Kombine İmmün Yetmezliği Olan Hastada LCK Geninde Yeni Bir Missense Mutasyon. 7. Klinik İmmünoloji Kongresi 2021

11. **Şerife Erdem**, Yeşim Haliloğlu, Şule Haskoloğlu, Elif Arık, Özlem Keskin, Sevgi Bilgiç Eltan, Esra Yücel, Hüseyin Avcılar, Ebru Yılmaz, Ekrem Ünal, Musa Karakükcü, Mehmet Halil Çeliksoy, Sara Şebnem Kılıç Gültekin, Safa Barış, Mustafa Yavuz Köker, Ayşe Metin, İsmail Reisli, Sevgi Keleş, Esin Figen Doğu, Aydan İkinciogulları, Ahmet Eken, Lökosit Adezyon Eksikliği Olan Hastalarda Th17 Ve Treg Hücrelerinin Karakterizasyonu. 7. Klinik İmmünoloji Kongresi 2021

12. **Serife Erdem**, Halil Ulutabanca, Ahmet Kucuk, Alperen Vural, Eken,Characterization Of Innate Lymphoid Cells In The Glioblastoma Microenvironment With Or Without Idh1 Mutations, World Immune Regulation Meeting-XV,2021

YER ALDIĞI PROJELER

1. Proje: Tübitak 3501-Proje no: : 215S725. Grup 3 doğal lenfoid hücreler'in (ILC3), CD4+ düzenleyici T hücrelerinin (Treg) gelişim ve immüno-supresif fonksiyonlarına etkisinin incelenmesi, Gönüllü çalışan

Tarih: 2016- 2020 Yer: Erciyes Üniversitesi

2. Proje: Erciyes BAP-. S1P1 reseptörünün Multiple Skleroz patogeneğinde rol alan insan Th17 hücrelerinin gelişimine ve fonksiyonlarına etkilerinin araştırılması , Gönüllü çalışan

Tarih: 2016- 2018 Yer: Erciyes Üniversitesi

3. Proje: BİDEB-2232-Geri Dönüş-IL-15 Sitokininin İnsan Dendritik Hücreleri Tarafından IL-23 Üretimine Etkisinin İncelenmesi, Gönüllü çalışan

Tarih: 2016-2018 Yer: Erciyes Üniversitesi

4. Proje: Tübitak-1003- Proje no:315S315-Multiple Skleroz (Ms) Fare Modelinde Interleukin-22 (IL-22) Sitokini Modülasyonunun Terapötik Potansiyelinin Araştırılması, Bursiyer

Tarih: 2017- 2019 Yer: Erciyes Üniversitesi

Ödüller

YÖK 100/2000 Doktora bursu

Tübitak 2211A BİDEB Doktora bursu

6th European Congress of Immunology best poster award. Characterization Of Innate Lymphoid Cells In The Glioblastoma Tumor Microenvironment With Or Without Idh1 Mutations.