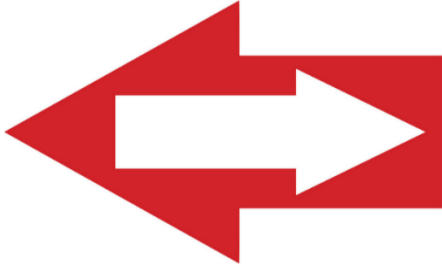




9. Ulusal

**Transplantasyon İmmünolojisi
ve Genetiği Kongresi**



NK Hücreleri
Koruyucu ? Rakip ?

Dr. Resul Karakuş
Gazi Üniv. Tıp Fakültesi
İmmünoloji AD

Akış:

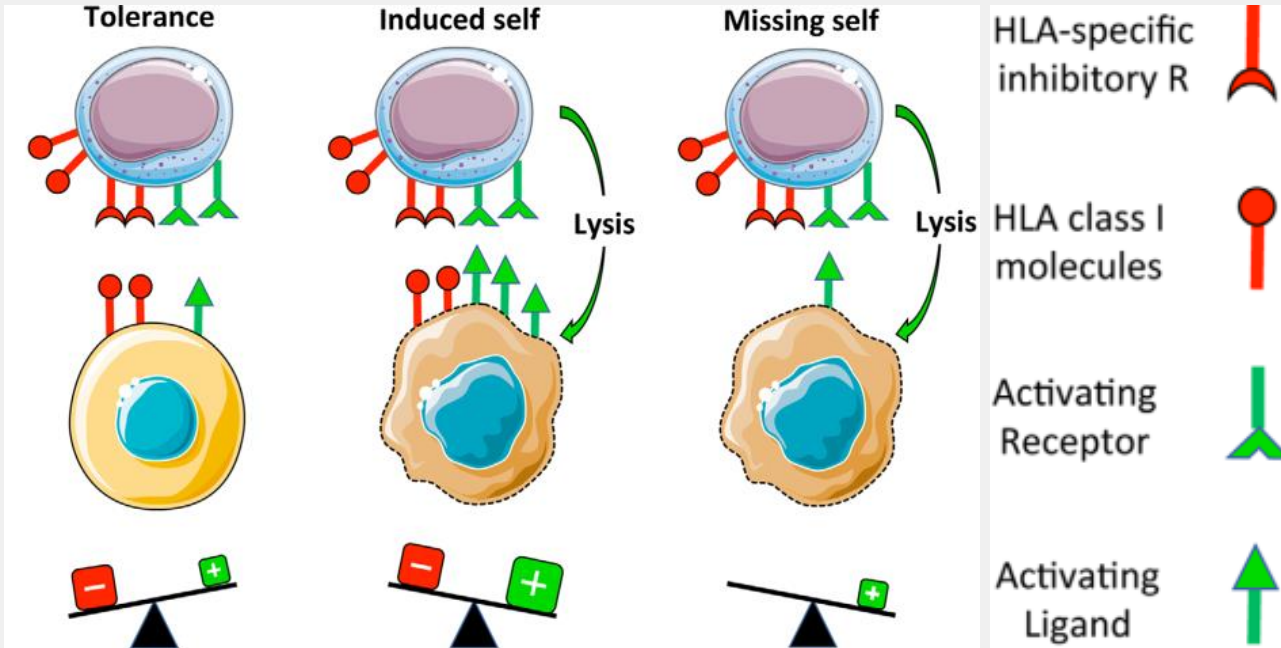
*NK hücreleri

- genel bilgiler
- rejeksiyona etkisi
- toleransa katkısı
- post-transplant enfeksiyonlarda rolü



NK – Genel / Temel Bilgi :

- * **1970**'lerde tanımlanmış
- * Tm / viral infekte hücreleri “**spontan**” öldürebiliyor
→ “**doğal öldürücü**”
- * **öz**'deki (**self**) değişimleri tanıyabilir
 - MHC sı **kaybı** → inhibitör etki düşer → **aktivasyon**
 - **infeksiyonlar** (viral HA gibi TLR ligandları)
 - **stres** (NKG2D ligandları ULBP, MICA/B)
(hücre stresinde MHC sı molekülleri de azalır/kaybolur)



2021;51:1566

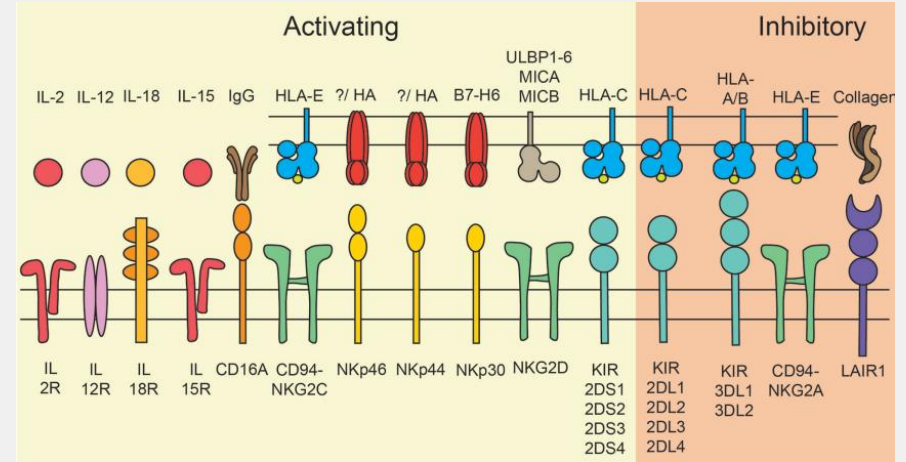
NK – Genel / Temel Bilgi :

* Reseptör setleri +

(**aktif** edici **ITAM** / **inhibe** edici **ITIM**)
rearanjman gözlenmez

aktivatör/inhibitör yollarının **entegre sonucu**, **NK fx'unu** belirler

(“**dinamik denge konsepti**”)



2019;74:397

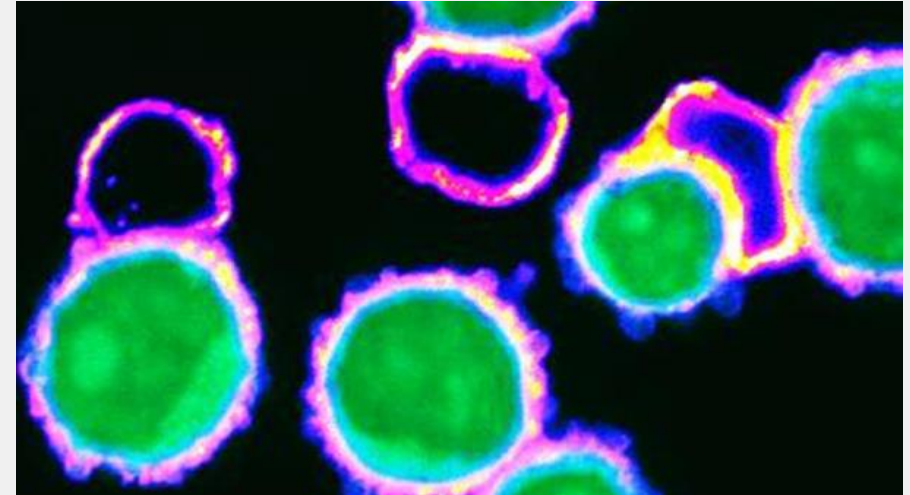
* **doğrudan sitotoksiste** oluşturur

→ sitotoksiste: **sinaptik** aralıkta etkili

→ sitotoksiste için:

perforin, **granzim** ve **TNF üyeleri**

* güçlü **sitokin** (SK) sekresyon kapasitesi (IFN γ , TNF α)



2014;58:259

NK – Genel / Temel Bilgi :

- insanda:

CD56^{bright} & CD56^{dim} NK popülasyonları +

LN'ı ve tonsillerde, bağırsakta az oranda NK (+KC, desidua) :

çoğu CD56^{bright}CD16⁻'tir ve Perforin xpr etmez;

dokuda sürveyans +

uyaranlarla güçlü SK sekr'u

yüksek proliferatif kapasite, zayıf sitotoksiste

Perif kan, Kİ, dalak, AC'deki NK'lar (çoğu NK buralarda) :

çoğu CD56^{dim}CD16⁺'tir ve Perforin xpr eder;

potent ADCC

sitotoksiktir ve uyarım ile IFNg sentezler

farklılaşmıştır ve CMV-‘responsive’ +

NK – Genel / Temel Bilgi :

Reseptörleri

HLA-spesifik reseptörler :

- **KIR**'ları (Killer cell Ig-like receptor) **xpr** eder;
 uzun (**L**ong) sitoplazmik uzantısı olanlar **inhibitör** (LIR2DL, KIR3DL),
 kısa (**S**hort) olanlar **aktivatör** (KIR2DS, KIR3DS) **KIR** olarak çalışır
- KIR xpr'u **self-HLA**ı etkisi altında gerçekleşir
- **i-KIR**'lar farklı HLA allotiplerinde ortaklaşan epitoplari tanır
- **a-KIR** genlerinde **çeşitlilik +**
- bireylerde **dolaşımdaki NK reseptör repertuarı çeşitlilik sergiler**
- **self-HLA** ı'ne spesifik **iKIR**'ların özgün xpr'u,
 ancak **allojenik HLA repertuarında olmaması**
 → bazı **NK**'ların **alloreaktif olabileceğini** göstermektedir
- her bir bireyde **10⁵ fenotipik olarak farklı altküme** olduğu gözlenmiştir

NK – Genel / Temel Bilgi :

Reseptörleri

Non HLA-spesifik **inhibitör** reseptörler:

- aktive edicilerin **sinyal gücünü regüle** eder
- **Toleransın fizyolojik kontrolüne katkı +**
- viral infx / Tm gibi durumlada,
artış (upregulation) **göstebilir** ve/veya de novo sentezlenir
“**aşırı**” yanıtları inhibe edebilir (immün checkpoint gibi çalışır)

Majör aktive edici res’ler :

- **CD16** (FcγRIIIA) → **ADCC**
- **NCR**’ler (Natural Cytotoxicity Receptor) = **NKp46***, **NKp30***, **NKp44****
- **NKG2D** → CTL’lerde xpr eder; MICA/B, ULBP’leri tanır (stres/viral infekte/Tm)
- bazı **NCR**’ler çözünür formda **inh edici** olarak çalışır (decoy ligand)

TLR:

- **TLR2, 3, 5, 7/8, 9** xpr ederler
ligand etkileşimi **aktif edicidir**
→ **sitotoksisite & SK** sekresyonu +

NK – Transplantasyondaki Rol :

- * Doku **rejeksiyon / toleransı** T&B lenfosit **ağırlıklı** kabul edilmiştir;
NK'nın **rol almadığı** düşünülmüştür
(**RAG^{-/-}** hayvan çalışmalarında rejeksiyon gözlenmemesi)
- * 2000'li yılların ortalarında **RAG^{-/-} modellerde:**
IL-15 etkisiyle **allograft reddinin** olabileceği gösterilmiştir
- * **NK'ların allografta infiltrasyonu** deneysel gösterilmiştir
İnfiltrasyon çalışmasında post-Tx ilk 24h'te (deneysel KC Tx'u)
graft-ilişkili **lenfositlerin >%70'ini NK'ların** oluşturduğu
bu NK'ların **>%50'sinin konak kaynaklı** olduğu gösterilmiştir
Allografta **NK infiltrasyonu**, perif kanda **NK azalması** ile **korele +**
- * Deneysel çalışmalarla **uyumlu olarak:**
pediatrik KC Tx alıcılarında,
erken **post-Tx** dönemde **perif kanda NK** sayıları önemli ölçüde azalır

NK – Transplantasyondaki Rol :

- * Rejekte olan **allograftta NK'lar yoğun** ol bulunur
hasarında NK'lardan salınan **inflam. SK'lerin rolü** olabilir
stabilitesinde **anti-inflam etkili SK'lerin rolü** +
- * NK'larda **CD16 xpr'u**:
yoğun: Ab-aracılı rejeksiyonu destekler
düşük: graft **stabilitesini** ve operasyonel toleransı destekler
- * **Tolerojenik / immünregülatuar** potansiyeli olan **NK kümeleri**:
belirli koşullarda **immün sessizliğe (dormansi)** katkıda bulunur
- * NK'lar **CMV** ve **EBV** ile infekte H'leri tanır ve **yanıt verir**
Tx'da bu **viral infx'ların eliminasyonunda** önemli

NK – Rejeksiyona Etki :

* bir Tx sonrası sık gözlenen durumlar:

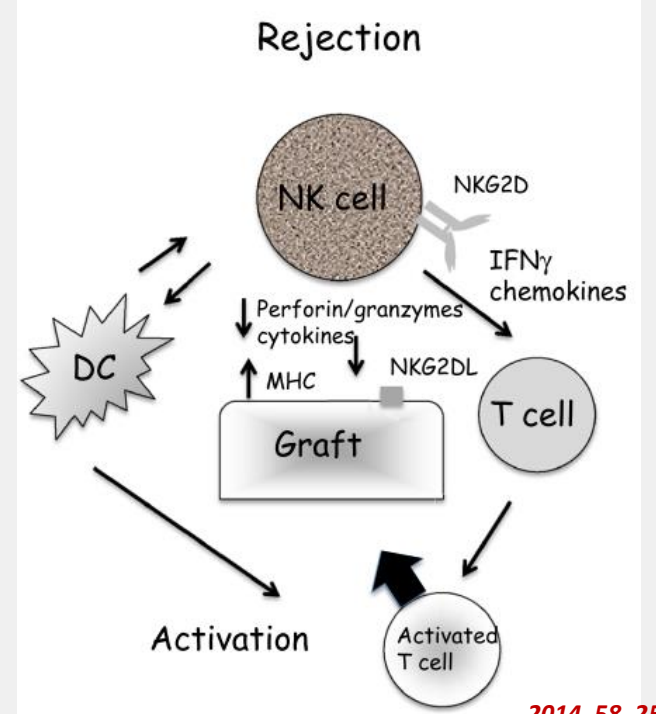
* hedef H'lerde / dokuda :

- missing/değişmiş self-MHC sl +
- donör-spes IgG'lerin H'lerde akümüasyonu
- stres proteinlerinin xpr'u
- özel SK'lerin etkisi ile inflamatuvar çevre

* NK aktiv'u ile :

- IFNg & TNFa: allograftta direkt/indirekt doku hasarı
- IFNg: T-hücre uyarımı → adaptif İY'lar rejex'a katkı +
- Perforin & Granzim → doğrudan sitotox etki +
- NK'larda FasL xpr'u → hedefte Fas-aracılı sitotoksite
- özel NK SK*'leri ile inflamatuvar çevre döngüsü

- * MIG (monokine induced by gamma-IFN),
MIP-1 alfa ve MIP-1 (macrophage inflam protein)



NK – Rejeksiyona Etki :

Cytotoxicity of Natural Killer Cells Activated Through NKG2D Contributes to the Development of Bronchiolitis Obliterans in a Murine Heterotopic Tracheal Transplant Model

2017;17:2338

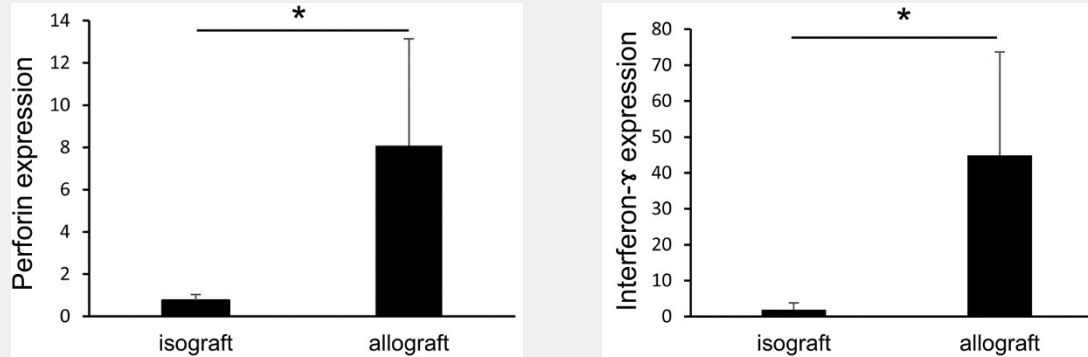
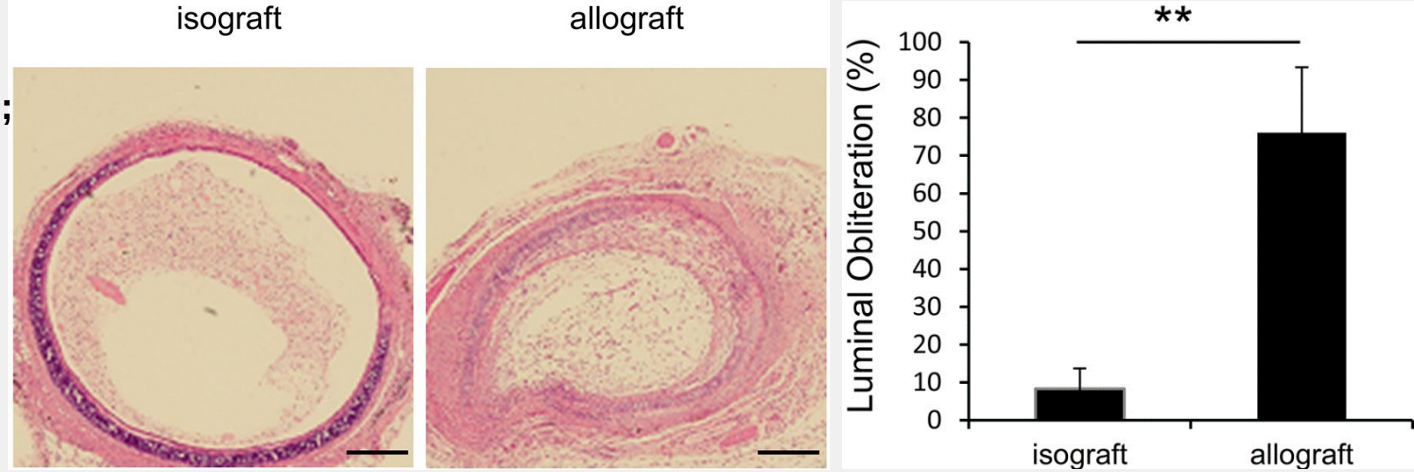
Bronşiolitis obliterans

(kronik rejeksiyon formu;
heterotopik trakeal Tx;

C57BL/6 - izograft,
BALB/c - allograft) :

Amaç :

kronik rejeksiyon
modelinde NK'nın
spesifik rolünü
araştırmak



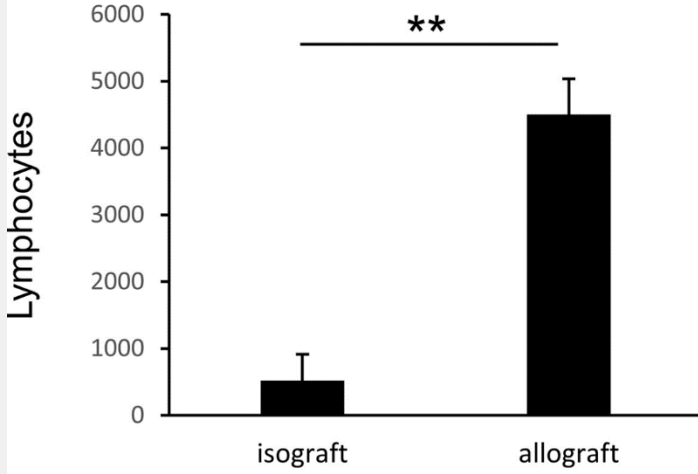
21. gün; PCR; Perforin ve IFN γ xpru



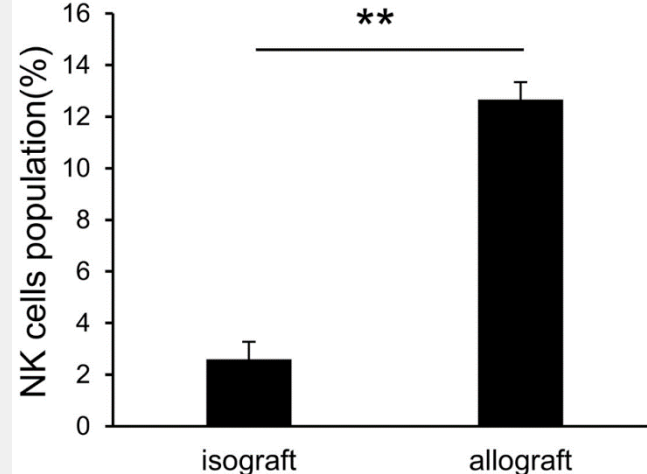
NK – Rejeksiyona Etki :

Cytotoxicity of Natural Killer Cells Activated Through NKG2D Contributes to the Development of Bronchiolitis Obliterans in a Murine Heterotopic Tracheal Transplant Model

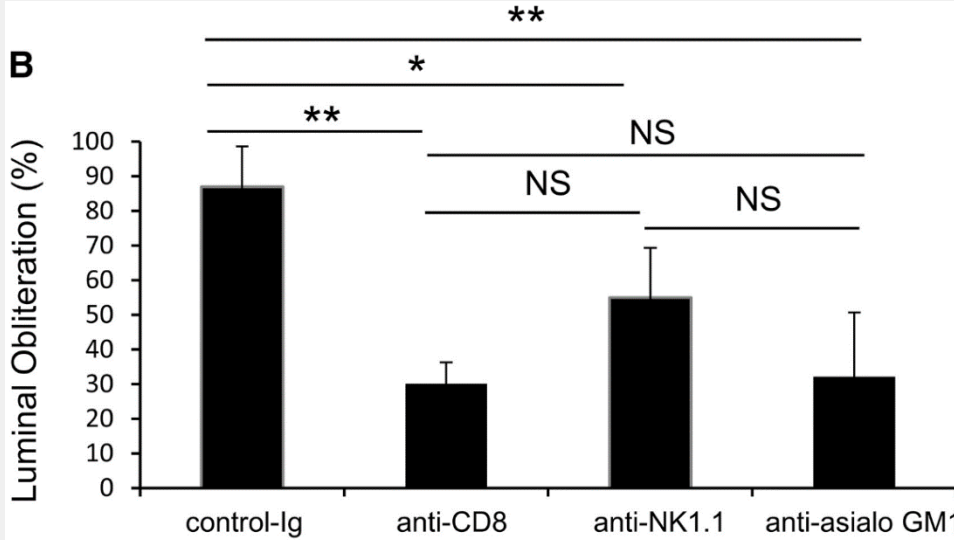
2017;17:2338



Allograftta **lenfosit infiltrasyonu**



Lenfositler içinde **NK oranı**



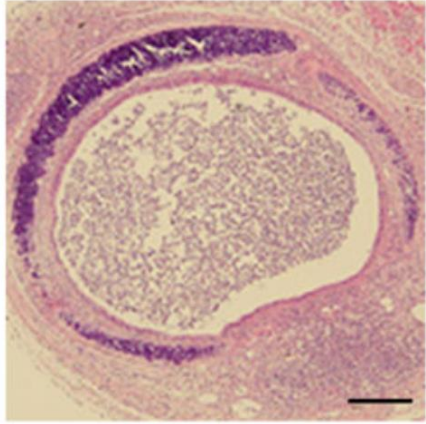
Tx öncesi ve sonrası
mAb ile ilgili H depleasyonu;
anti-CD8 → **CTL** için
anti-NK1.1 → **NK+NKT** için;
anti-asialo GM1 → **NK** için
21. günde değerlendirme

NK – Rejeksiyona Etki :

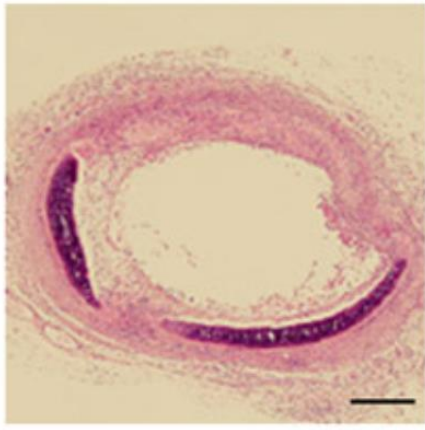
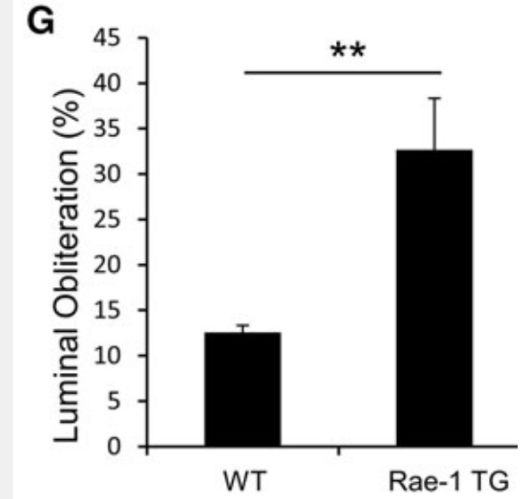
Cytotoxicity of Natural Killer Cells Activated Through NKG2D Contributes to the Development of Bronchiolitis Obliterans in a Murine Heterotopic Tracheal Transplant Model

2017;17:2338

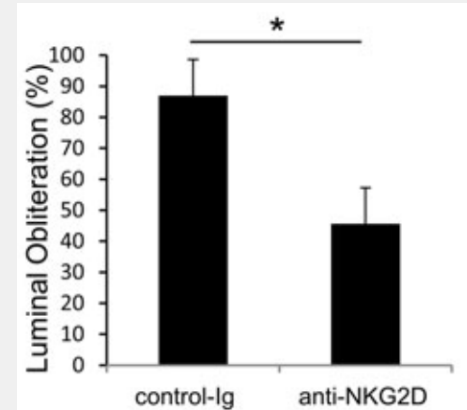
Rae-1TG



farede **NKG2D** ligandı : **Rae-1**,
Rae-1 transjenik BALB/c'den trakea **graftları**,
RAG-/- C57BL/6 farelere Tx
T&B-lenfositlerin etkisinin olmadığı durumda,
Rae-1 xpr'u ve **NKG2D** üzerinden
NK aktivasyonu ile oluşan **obliterasyon**



İzleyen deneyde,
anti-NKG2D veriliyor ve
obliterasyonda ciddi
gerileme +



NK – Rejeksiyona Etki :

Evidence for CD16a-Mediated NK Cell Stimulation in Antibody-Mediated Kidney Transplant Rejection

Michael D. Parkes, MSc,^{1,2} Philip F. Halloran, MD, PhD,^{1,2} and Luis G. Hidalgo, PhD^{1,3}

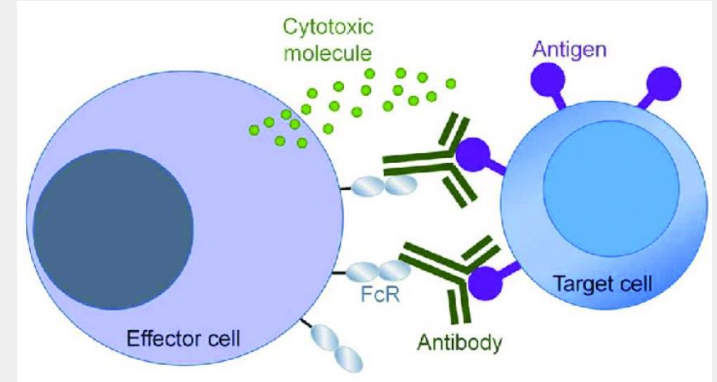
2017;101:e102

- *579 hastadan, 703 böbrek biyopsi materyali
- *RNA izolasyonu
- *primer NK izolasyonu ve anti-CD16a ile uyarım
- ***Amaç** : CD16a ile indüklenebilir NK transkriptlerinin,
NK hücreleri ve biyopsilerde analizi
(CD16a uyarımına bağlı,
yalnızca veya genellikle
selektif olarak NK'da xpr transkriptleri tanımlamak)

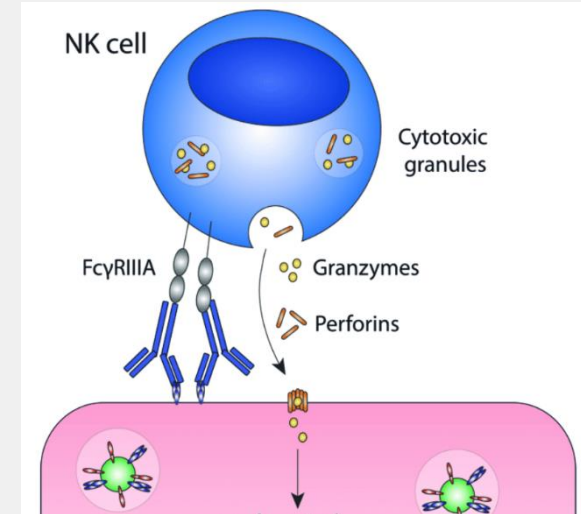
- *NK'lar anti-CD16a ile uyarıldıklarında
artış gösteren 276 transkript içinde
8'i Ab-Aracılı-Rejex ile güçlü korelasyon göstermiş
Bu 8 transkriptten **2'si**
NK-selektif olarak belirlenmiş:

CD160 (=BY55; bir aKIR üyesi; CD56dimCD16+ H'ler xpr eder)

XCL1 (=Lymphotactin; cDC1 H'leri ilgili alana çeker;
TME'de Tm sınırlandırılmasına katkı+)



researchgate.net



NK – Rejeksiyona Etki :

- * **174 böbrekTx** olan olgu;
 - stabil graft fx'u olanlar ile
 - kron rejex olguları karşılaştırma;

***Amaç** : Alıcı inhKIR'larına uygun donör ligandları

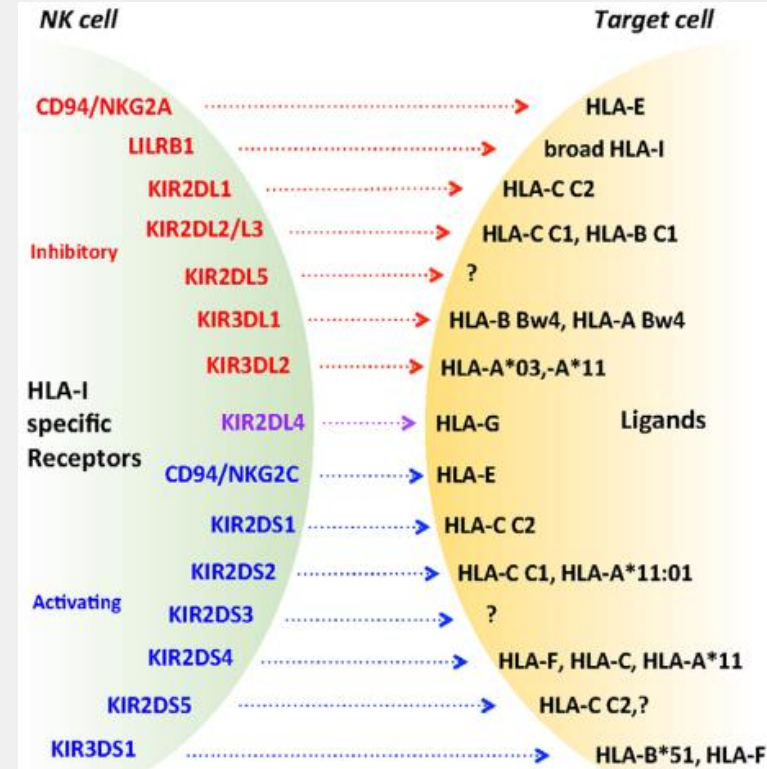
* **Kron rejex** açısından:

- donör HLA-C1 homozigot ise risk yüksek
- donörde HLA-C2 veya HLA-Bw4 epitopları açısından alel pozitifliği varsa risk düşük
- rKIR2DL1 / dHLA-C2 ve rKIR3DL1 / dHLA-Bw4 biri veya her ikisi mevcut değil ise kronik rejex riski kümülatif yüksek

RESEARCH ARTICLE

KIR and their HLA Class I ligands: Two more pieces towards completing the puzzle of chronic rejection and graft loss in kidney transplantation

2017;12:e0180831



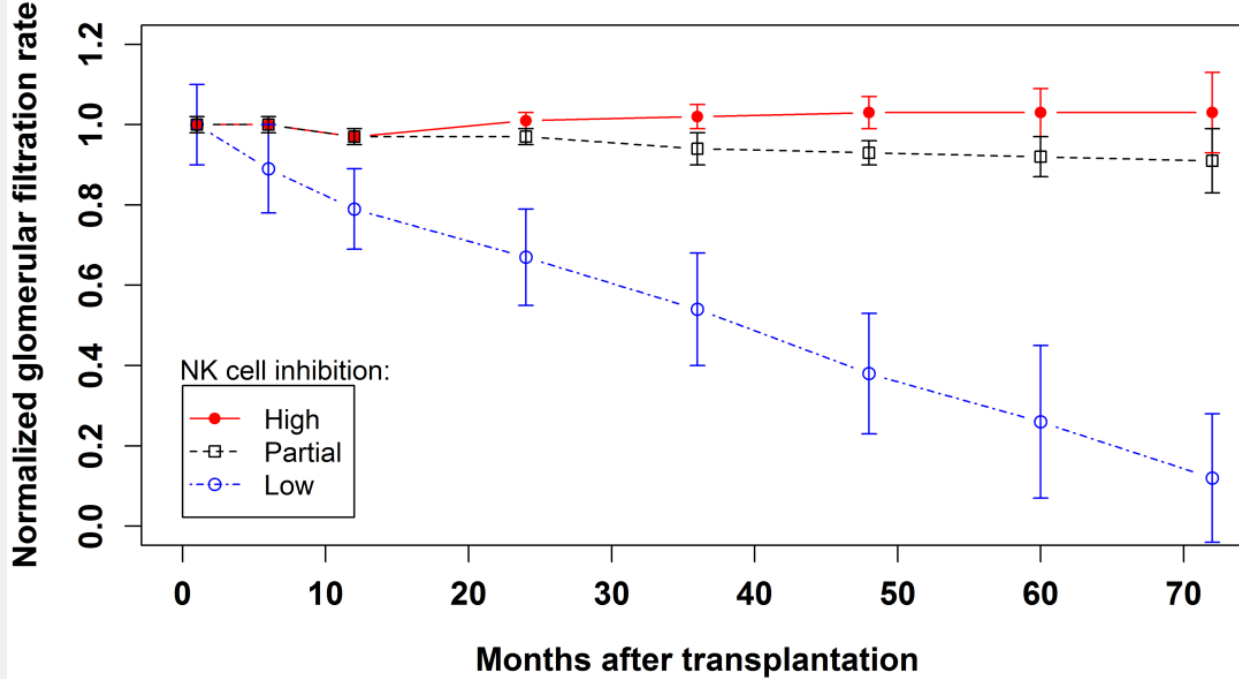
2021_51_1566

NK – Rejeksiyona Etki :

RESEARCH ARTICLE

KIR and their HLA Class I ligands: Two more pieces towards completing the puzzle of chronic rejection and graft loss in kidney transplantation

2017;12:e0180831



rKIR2DL1 / dHLA-C2 ve rKIR3DL1 / dHLA-Bw4 :

*her iki kombinasyona sahip hastalar = **yüksek NK inhibisyonu**

*tek kombinasyona sahip hastalar = **parsiyel NK inhibisyonu**

*her iki kombinasyona **sahip olmayanlar** = **düşük NK inhibisyonu**

→tx için beklemeye alınan hastalarda KIR genotiplendirilmesi yapılmalıdır

NK – Toleransa Katkı :

Broad Impairment of Natural Killer Cells From Operationally Tolerant Kidney Transplanted Patients

2017;8:1721

*Post-Tx :

tolerojenik fenotip ve **graft stabilitesi** sergileyen **alıcılar +**

*Bunların **immün profili** daha fazla **araştırma konusu** olmaktadır

*Operasyonel tolerans elde etmek için:

NK ve **tolerans** ilişkisinin araştırılması gereklidir

11 **operasyonel toleran** (TOL),

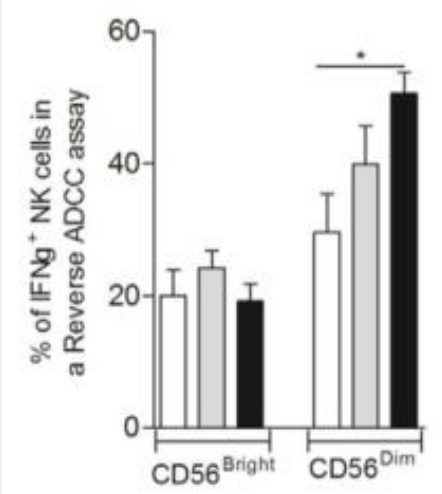
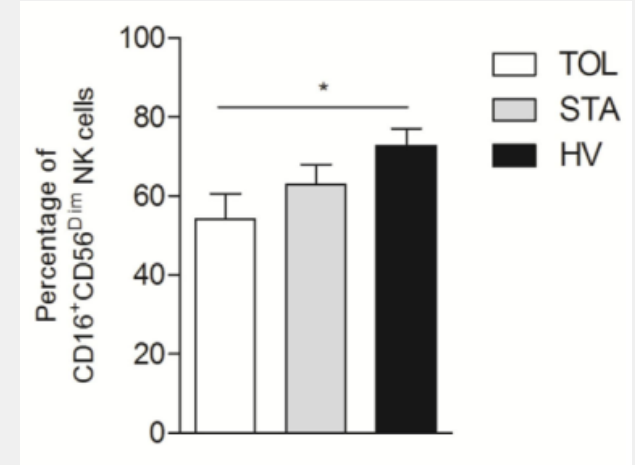
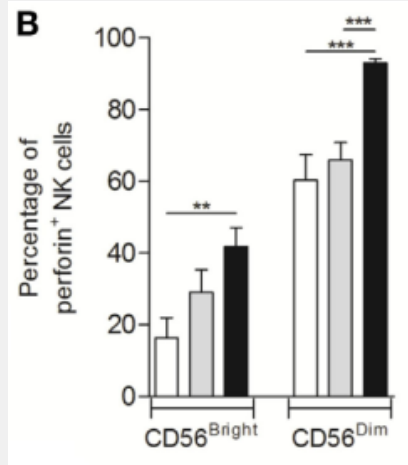
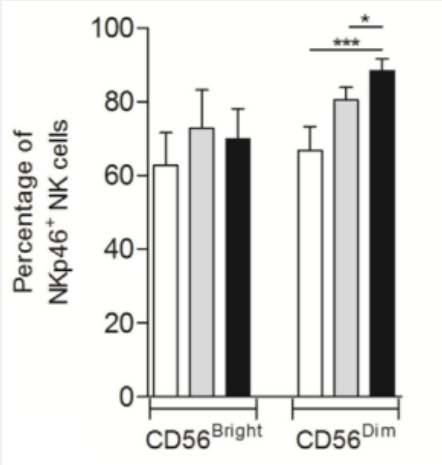
11 **graft stabil** immünosupresyon (STA);

15 sağlıklı gönüllü (HV)

***Amaç** : TOL ve STA olgularında **NK'ların**

fenotipik, fx'el ve genetik açısından **farkları ?**

NK – Toleransa Katkı :



- * hem **TOL**eran, hem **STAB**il olgularda:
CD56dim+NK'larda NKp46 ve Perforin xpr'u daha düşük
- * **TOL** olgularda **CD16 xpr'u daha düşük**
- * ADCC deneyinde **düşük IFNγ sekresyonu**,
düşük CD16 xpr'una bağlanmış
- * CD56dim+NK: **TOL grupta**, STA göre **CD107a xpr'u düşük**
(**CD107a=LAMP1**→perforinin litik granüllere taşınmasında ve H sitotoksitesinde **gerekli** bir protein)

Yorum:

“**NK'larda CD16'nın**
yüksek xpr'u ve aktivasyonu Ab aracılı rejex'u,
düşük xpr'u ise graft stabilitesini ve op. toleransı
destekliyor olabilir”

2017;8:1721

NK – Toleransa Katkı :

*literatürde varolan bir görüş olarak: “Regulatuar NK”

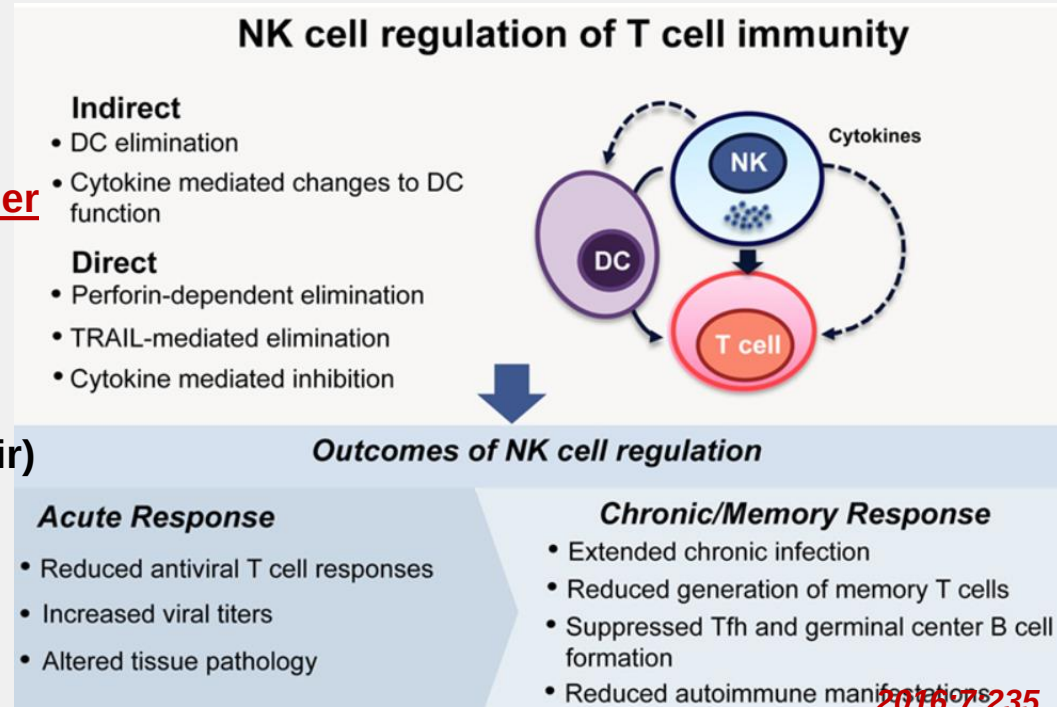
Bunlar **CD56 +/- CD16**;

IFN γ , perforin, granzim **sentezler**
ancak **IL-10 da sentezlerler**.

Ag-spes T-hücre yanıtlarını azaltabilirler

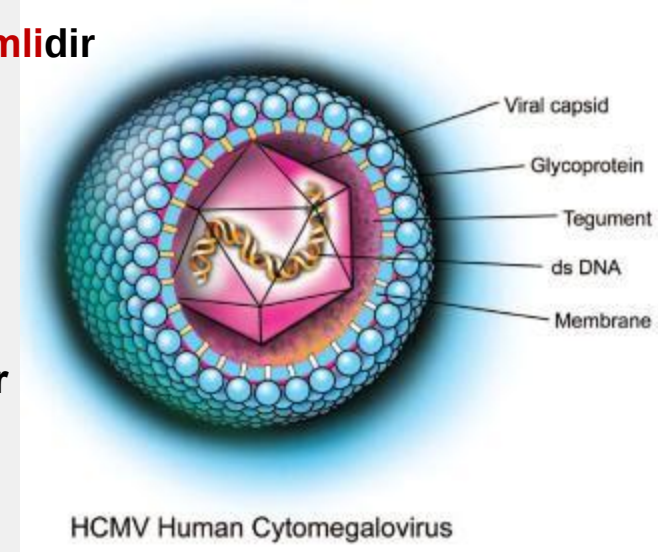
Bazı çalışmalar bu NK grubunun,
allografta karşı immün yanıtsızlığı
destekleyebileceğini öne sürmektedir
(**tolerojenik / immünregulatuar** da denir)

Bu kümenin **fenotipik ve fx'el** olarak
irdelenmeye gereksinimi vardır



NK – İnfeksiyona karşı, sağkalıma katkı :

- * NK özellikle **post-Tx viral**, özellikle **CMV infx**'lerinde **önemlidir**
- * Tx'da immünsupresyon → infx riskini getirir
CMV infx'u post-Tx **sağkalım** için bir **risk faktörüdür**
EBV infx'u da → post-Tx **komplikasyonlar**

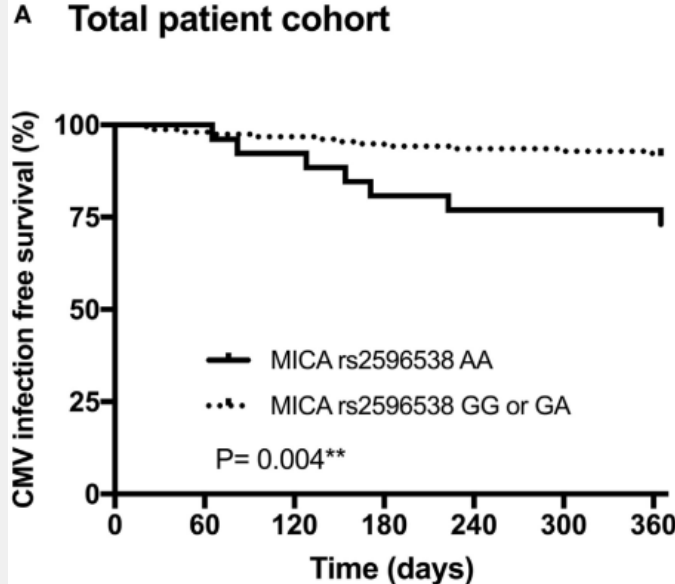


- CMV, **NK reseptör** repertuarında uzun süreli **bir etki** oluşturur
NK majör bir **re-konfig**'a uğrar
CD94/NKG2C xpr eden **NK'lar** **expand** olur
oldukça **diferansiye bir fenotip** sergiler
Bu popülasyona “**adaptif NK**” (stabil epigenetik değişiklikler +)

CMV **reaktiv**'una **çok hızlı**, daha **büyük çapta** (bellek?) **yanıt** geliştirir
Yüksek **IFN γ** , **TNF α** , **sitotoksik molekül** xpr eder, **ADCC** kapasitesi artar
Tx'da CMV reaktiv'u ile gelişen adaptif **NKG2C+CD57+** 'bellek' sıradışı uzun bir
ömür + (**2 yıla kadar**)

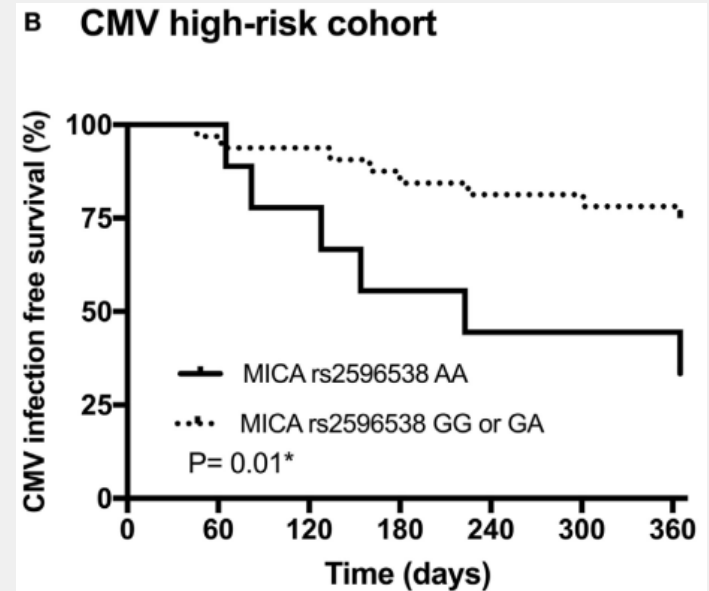
NK – İnfeksiyona karşı katkı :

- * **NK'ların** CMV infx'una karşı etkinliğinde bireysel farklılıklar +
- MICA ve NKG2D'de **SNP**'ler incelenmiş
- **Donör MICA** alelindeki bir **SNP**'nin MICA xpr'unu artırdığı, bunun ise **NKG2D ile bağlanmayı** ve **koruyucu yönde bir aktiv'u** desteklediği bildirilmiştir



The Donor Major Histocompatibility Complex Class I Chain-Related Molecule A Allele rs2596538 G Predicts Cytomegalovirus Viremia in Kidney Transplant Recipients

2017;8:1721



CMV high-risk:

CMV naïve alıcı, CMV pozitif allograft

NK – İnfeksiyona karşı katkı :

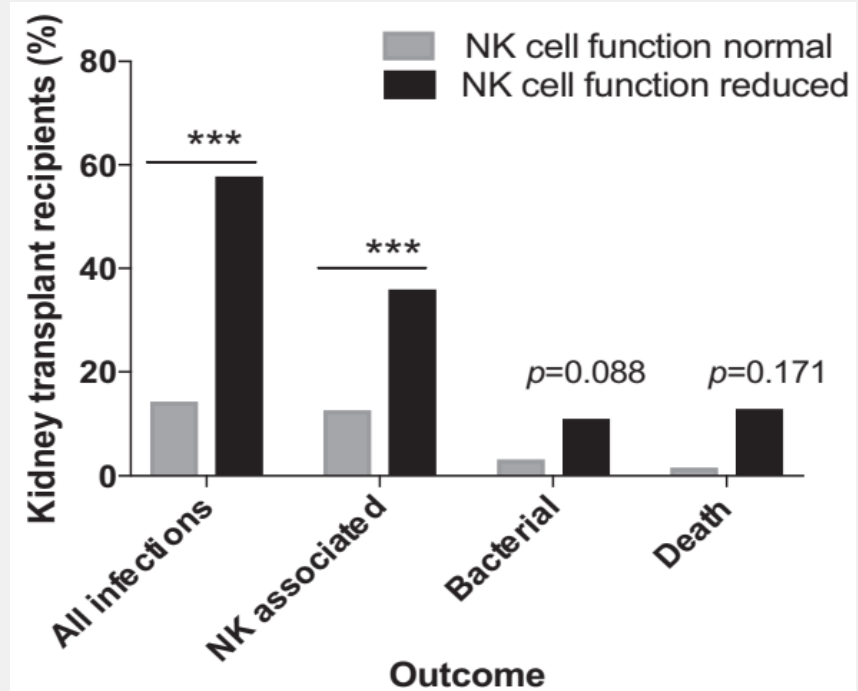
Natural killer cell function predicts severe infection in kidney transplant recipients

2019;19:166

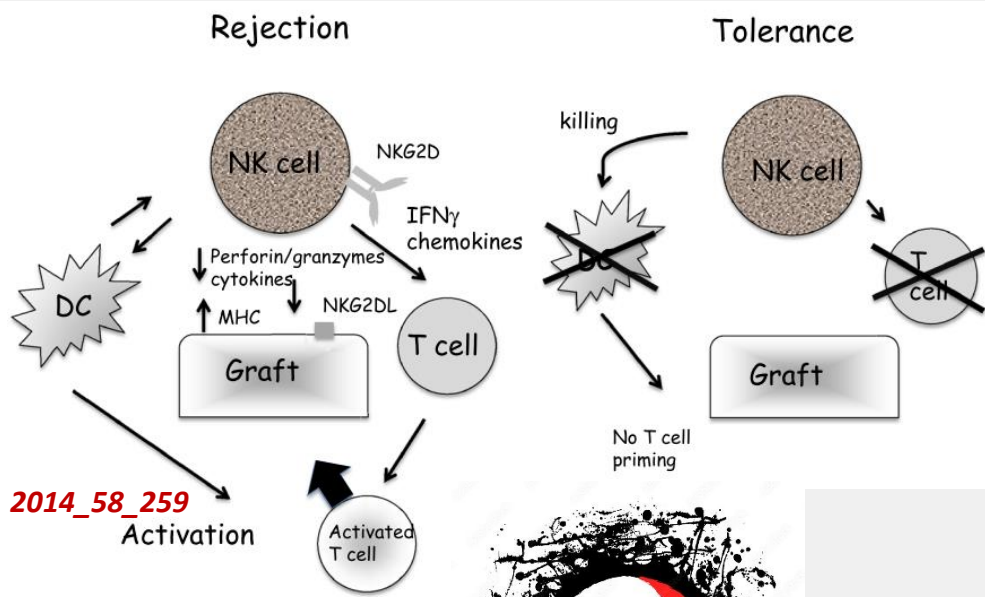
*NK **sayısına bakılmalı mı?**

Yaş, graft fx'u, Tx süresi, imm.supr kullanımı vb faktörlere göre düzeltme yapıldıktan sonra NK sayısı değil, **NK fx'u** ciddi infx'dan **korunmada önemli**

NK sayısı **yol gösterici olmayabilir**
NK **fx'el** açıdan değerlendirilmeli,
sitotoksiste bakılması
önerilmektedir



- * Tx'da **NK biyolojisinin anlaşılmasının klinik bağıntısı yüksektir**
- * **NK gruplarının fenotipik ve fx'el olarak ayrıntılı incelenmeleri ve özellikle immün-ağ içinde diğer H'ler ile etkileşimleri NK'ların sergilediği zararlı ve yararlı çıktılarının (dikotomi) netliğe kavuşturulmasını sağlayacaktır**



stock.adobe.com--119805059

