

# بررسی فعالیت سلولهای کشنده طبیعی در بیماران سرطانی و مقایسه با افراد سالم

دکتر عبدالکریم شیخی\*

## چکیده

در بین اجزای سیستم ایمنی، سلولهای کشنده طبیعی (Natural killer cells) اولین خط دفاعی را بر علیه یاخته‌های سرطانی تشکیل می‌دهند. کاهش فعالیت این سلولها می‌تواند با بروز، استقرار و گسترش بسیاری از سرطانها، عفونتهای ویروسی، سندرمهای نقص ایمنی و بیماریهای اتوایمیون همراه باشد. در این مطالعه فعالیت کشندگی طبیعی سلولهای مونونوکلئر خون محیطی (سلولهای عمل‌کننده) بر علیه سلولهای سل لاین انسانی K562 (سلولهای هدف)، در بیماران مبتلا به سرطان پستان (۷ نفر)، سرطان مری (۹ نفر)، سرطان کولوکتال (۶ نفر)، سرطان معده (۲ نفر) و ملانوما (۲ نفر) اندازه‌گیری و همزمان با مقادیر اندازه‌گیری شده در ۳۱ نفر گروه کنترل سالم مقایسه شده است. در این بیماران قبل از بررسی، هیچگونه اقدام درمانی (شیمی‌درمانی، جراحی، رادیوتراپی و سایر موارد) صورت نگرفته است. در این مطالعه از نسبتهای 50:1 و 10:1\*\* (E:T) استفاده شده است. سلولهای هدف قبل از کشت مشترک با سلولهای عمل‌کننده به وسیله 51Cr نشاندار شده و پس از کشت مشترک میزان 51Cr آزاد شده از سلولهای هدف توسط دستگاه گاما کانتور (counter -  $\gamma$ ) اندازه‌گیری شده است.

میزان متوسط درصد لیز اختصاصی (یا فعالیت کشندگی طبیعی) در بیماران مبتلا به سرطانهای مختلف  $2 \pm 35$  درصد بوده که نسبت به متوسط مقادیر اندازه‌گیری شده در افراد سالم ( $1/5 \pm 69$  درصد)، بسیار کمتر بوده است، این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است ( $P < 0.0001$ ). کاهش فعالیت کشندگی طبیعی این سلولها می‌تواند اولیه نسبت به سرطان و مساعد کننده زمینه بروز سرطان بوده و یا اینکه ثانویه نسبت به اثرات مستقیم یا غیرمستقیم یاخته‌های سرطانی بر روی تعادل سیستم ایمنی طبیعی باشد.

۲- سرطان پستان

۴- سرطان مری

کلید واژه‌ها: ۱- سلولهای کشنده طبیعی

۳- سیستم ایمنی

## مقدمه

طی دو دهه گذشته با استفاده از آزمایشهای متعدد و وسیعی، جستجو برای یافتن مکانیسمهای ایمنی که بطور اختصاصی قادر به حذف سلولهای توموری هستند، انجام گرفته است، اکثر این کاوشها بر روی آنتی‌ژن‌سپت سلولهای توموری صورت گرفته است، زیرا کلید یافتن هر نوع ایمنی

(اختصاصی و غیراختصاصی) بر ضد تومور، در واقع آنتی‌ژن‌هایی است که باعث تحریک آن نوع ایمنی می‌شوند. با اینکه توسط روشهای تجربی مختلفی ثابت شده بود که، بر روی سلولهای توموری آنتی‌ژنهای اختصاصی توموری القا شده توسط مواد شیمیائی و ویروسها وجود دارند ولی بررسی

\* عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان - گروه ایمنولوژی

\*\* E:T : Effector، سلولهای عمل‌کننده: سلولهای هدف

بر روی تومورهای خودانگیز چونندگان (spontaneous tumors) بیانگر فقدان این آنتی‌ژنها در سلولهای توموری بوده است. (۸۱۷)

در بروز مقاومت طبیعی بر علیه پیوند مغز استخوان و شرکت در واکنش میزبان در مقابل پیوند (Graft versus host = G.V.H) نشان می‌دهد. (۶،۱۸،۲۴)

در اواخر دهه ۱۹۷۰ تشکیل میزگردهای متعدد، منجر به تغییراتی در طرز تفکر و جهت‌گیری در ایمنولوژی تومور گشت و این موضوع روشن شد که نقش سلولهای مشتق شده از تیموس (T cells) در پاسخ میزبان بر علیه تومورها، آنقدر که قبلاً بدان توجه می‌شد اهمیت ندارد، بلکه فونکسیون سلولهای T ممکن است محدود به ارتباط تومور - میزبان و انواع بخصوصی از تومورها باشد، در حالی که اکثر تومورهائی که در انسان بروز می‌کند از نوع خودانگیز بوده و فاقد آنتی‌ژنهای خاص تحریک کننده سیستم ایمنی اختصاصی می‌باشد. لذا محققین که تا اینجا تمام افکارشان را روی سیستم ایمنی اختصاصی T Cell متمرکز کرده بودند به یکباره متوجه یک نوع سلول دیگر شدند که برای کشتن سلولهای توموری از مکانیسمهای جداگانه‌ای استفاده می‌کند و آن سلول کشنده طبیعی (N.K. = Natural killer cell) بود. این سلولها دسته‌ای از لنفوسیتها هستند که قدرت شناسائی آنتی‌ژنهای تغییر یافته (Neoantigens) را بدون احتیاج به تماس قبلی با آنها دارا بوده و از دو دسته دیگر لنفوسیتها یعنی T.Cell و B.Cell از لحاظ مورفولوژی، فنوتیپ و فعالیت متفاوتند و برای انجام فعالیت بر ضد سلولهای توموری و سایر فعالیتها محدود به سیستم MHC نیستند. (۲۴ و ۱۰،۴،۷،۱۳،۲۳)

کاهش فعالیت یاخته‌های کشنده طبیعی می‌تواند با بروز، استقرار و گسترش بسیاری از سرطانها، عفونتهای حاد و مزمن ویروسی، سندرمهای متعدد نقص ایمنی و بیماریهای خودایمنی همراه باشد و به دلیل اهمیت این یاخته‌ها در تأمین مصنوعیت طبیعی (Natural Immunity) و دفاع ضد توموری (اولین خط دفاعی بر ضد تومورها)، بررسی‌های کمی و کیفی فعالیت این سلولها در خون محیطی و سایر اجزای لنفاوی می‌تواند نقش بسیار ارزنده‌ای در پیش‌آگهی، مراقبت حین درمان و ایمنوتراپی این بیماریها داشته باشد. (۲۴)

در این مطالعه فعالیت یاخته‌های کشنده طبیعی خون محیطی در بیماران مبتلا به سرطان پستان، مری و کولورکتال اندازه‌گیری شده و همزمان با مقادیر اندازه‌گیری شده در افراد سالم مقایسه شده است.

### مواد و روشها

بطور کلی روش اندازه‌گیری N.K. Activity عبارت از آزاد شدن  $^{51}Cr$  رادیواکتیو از سلولهای هدف (target) نشاندار شده  $K 562$  می‌باشد. این سلولهای هدف، سل‌لاین بدست آمده از پریوتون بیماران مبتلا به ALL بوده و یک سل‌لاین اریترولوکیما است که در مجاورت سلولهای عمل‌کننده (effector) بدست آمده از خون محیطی در کشت مشترک کشته می‌شوند.

برای این کار مقدار  $10^6 - 10^7$  از خون محیطی افراد بیمار بستری در بخشهای معراج بیمارستان امام خمینی (ره) تهران و افراد سالم به صورت هپارینه گرفته شده و بلافاصله (حداکثر ظرف مدت یک ساعت) در دمای  $4^{\circ}C - 0^{\circ}C$  به آزمایشگاه ایمنولوژی سازمان انتقال خون ایران برده و با استفاده از متدگرادیان Ficoll-Isopaque سلولهای تک هسته‌ای خون محیطی را جدا کرده و با استفاده از محلول Hank's شستشو و در محیط کشت RPMI 1640 واجد آنتی‌بیوتیک به حجم دلخواه می‌رساندیم، سپس سلولها را با استفاده از روش

از میان اجزای سیستم ایمنی، سلولهای کشنده طبیعی اولین خط دفاعی را بر علیه یاخته‌های سرطانی تشکیل می‌دهند (دیگر اجزای این سیستم مثلاً ماکروفاژها حداقل به ۱۸ ساعت و سلولهای T به ۳-۶ روز، زمان نیاز دارند تا پس از مواجه شدن با یاخته سرطانی، فعالیت کشندگی را از خود بروز دهند). این سلولها، یکی از اجزای اصلی و ضروری سیستم نظارت ایمنولوژیک (Immune Surveillance) بر علیه تومورها و سلولهای تغییر یافته، عفونتهای ویروسی و بعضی عفونتهای باکتریایی و قارچی بوده و همچنین بعنوان یکی از عوامل تنظیم کننده پاسخ ایمنی و تنظیم فعالیت سلولهای بنیادی خونساز عمل می‌کنند، بعلاوه گزارشهای متعددی حضور این سلولها را

اندازه گیری شده، متوسط سنجش سه حفره برای هر قسمت در نظر گرفته شده و با استفاده از فرمول زیر میزان درصد لیز اختصاصی یا فعالیت سلولهای کشته شده طبیعی بدست می آید:

$$\% Cr \text{ release}$$

or

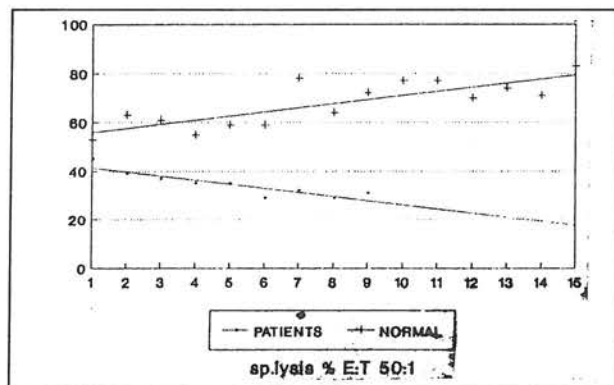
$$\% \text{Specific lysis} =$$

$$\frac{\text{cpm in Experiment} - \text{cpm in Spontaneous release}}{\text{cpm in max release} - \text{cpm in spont. release}} \times 100$$

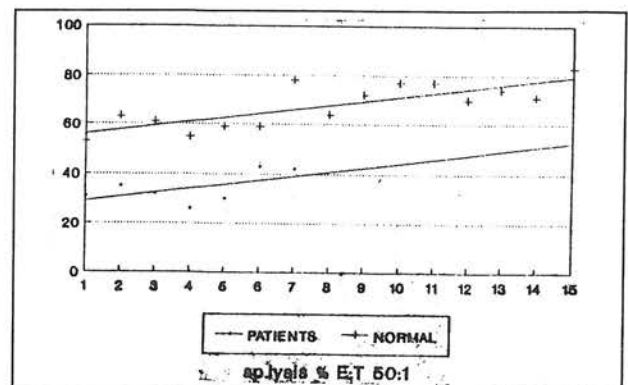
### نتایج

همانطور که از جدول شماره ۱ و ۶ و هیستوگرام شماره ۵ برمی آید میزان فعالیت کشندگی طبیعی در سلولهای تک هسته ای خون محیطی بیماران سرطانی بسیار پائین تر از افراد سالم بوده و این اختلاف به روشنی معنی دار است که با استفاده از آزمون آماری *Student t-test* مقدار  $P < 0.0001$  به دست می آید. در مورد بیماران مبتلا به سرطان پستان تعداد ۷ نفر بیمار که در درمانگاه معراج انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی بستری بوده، و قبلاً درمان نشده بودند و گزارش هیستوپاتولوژیکی آنها بیانگر سرطان پستان بود، مورد آزمایش قرار گرفتند و همراه با آنها از افراد کنترل *Sex & age matched* استفاده شد، آنهایی که دارای سرطان متاستاز دهنده بودند میزان فعالیت سلولهای کشته شده طبیعی پائین تری داشتند. متوسط فعالیت *NK* در این بیماران ۳۶ درصد بود که نسبت به متوسط میزان فعالیت *NK* در ۹ نفر کنترل که ۶۲ درصد است، پائین تر می باشد. نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۲ بیانگر این مطلب است. تعداد ۹ نفر مبتلا به سرطان مری همزمان با ۱۵ فرد

*Trypan blue excluding* شمارش و غلظت سلولها را به  $5 \times 10^5$  در ۱۰۰ میکرولیتر رساندیم. همزمان با آماده شدن سلولهای افکتور، سلولهای تارگت *K562* را از فلاسک محیط کشت کامل  $(C.M.RPMI = \text{Antibiotics} + \text{Fcs} + \text{RPMI} 1640)$  و از انکوباتور  $5\% \text{ CO}_2$  بیرون آورده، شمارش کرده و غلظت سلولهای تارگت را به  $2 \times 10^6$  در هر میلی لیتر (با استفاده از *C.M.RPMI*) رسانده و با استفاده از  $51\text{Cr}$  رادیواکتیو، نشاندار کردیم و پس از ۶۰-۴۵ دقیقه انکوباسیون (در شرایط  $5\% \text{ CO}_2$ ،  $95\% \text{ air}$  و  $37^\circ\text{C}$ )، شستشو و به رقت  $10^5$  در هر میلی لیتر می رساندیم، بدین ترتیب با آماده شدن سلولهای هدف و عمل کننده جهت کشت مشترک (*Common Culture*) نسبتهای  $5 \times 10^5 / 100 \mu\text{l}$  و  $10^5 / 100 \mu\text{l}$  از سلولهای افکتور تهیه نموده و به حجم مساوی ( $100 \mu\text{l}$ ) از افکتور و تارگت در داخل حفره های میکروپلیت *U* شکل می ریزیم و برای کاهش تغییرات، هر نسبت *E:T* را به صورت *Triplicate* انجام می دهیم (در این مطالعه از نسبتهای *E:T*،  $10:1$  و  $50:1$  استفاده شده است) سپس میکروپلیت ها را به مدت چهار ساعت (*Short term assay*) در انکوباتور  $5\% \text{ CO}_2$  در  $37^\circ\text{C}$  قرار می دهیم. این تست دو کنترل دارد که یکی به عنوان *back ground* یا *Spontaneous Release* که به صورت سه گانه و از تارگت +  $100 \mu\text{l}$  محیط کشت کامل، تشکیل یافته و کنترل دیگر عبارت از لیزماکزیمم (۱۰۰ درصد) سلولهای تارگت است که از تارگت +  $100 \mu\text{l}$  آب مقطر یا درجنت استفاده می شود. پس از اتمام زمان کشت مشترک، با استفاده از گاما کاتر بخش رادیوایزوتوپ سازمان انتقال خون ایران، میزان رادیواکتیویتی سوپرناتانت حفره های میکروپلیت



نمودار ۲- فعالیت *N.K.* در بیماران مبتلا به سرطان مری و مقایسه با افراد سالم



نمودار ۱- فعالیت *N.K.* در بیماران مبتلا به سرطان پستان و مقایسه با افراد سالم

جدول ۱- فعالیت سلولهای کشنده طبیعی در افراد نرمال

no. of normal persons	percent of specific lysis E:T 10:1	percent of specific lysis E:T 50:1	no. of normal persons	percent of specific lysis E:T 10:1	percent of specific lysis E:T 50:1
1	37	53	17	38	77
2	34	63	18	34	80
3	29	61	19	34	72
4	30	55	20	32	71
5	35	59	21	30	72
6	36	59	22	31	72
7	34	78	23	32	69
8	33	64	24	32	69
9	33	72	25	33	69
10	32	77	26	34	74
11	30	77	27	31	75
12	30	70	28	31	62
13	29	74	29	35	56
14	40	71	30	35	66
15	41	83	31	36	60
16	40	75			

جدول ۲- گزارش هیستوپاتولوژی بیماران مبتلا به سرطان پستان

no. of patients	%specific lysis E:T 50:1	Report of histopathology
1	31	Metastatic breast carcinoma
2	35	Invasive ductal carcinoma
3	32	Fibrocystic changes doubt to malignan
4	26	Metastatic ductal carcinoma
5	30	Metastatic ductal carcinoma
6	43	Fibrocystic changes
7	42	Fibrocystic changes
Mean normal	62	Normal

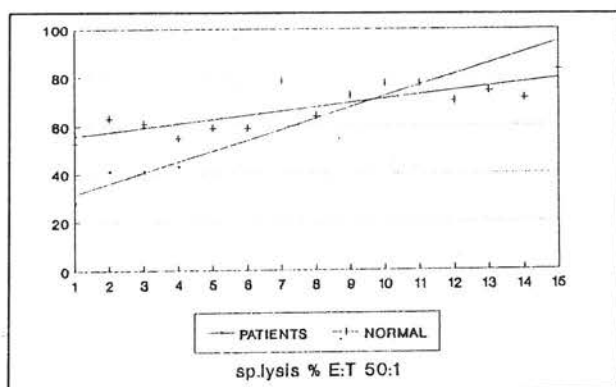
جدول ۳- گزارش هیستوپاتولوژی بیماران مبتلا به سرطان مری

no. of patients	%specific lysis E:T 50:1	Report of histopathology
1	45	Adenocarcinoma
2	39	S.C.C
3	37	S.C.C
4	35	S.C.C
5	35	S.C.C
6	29	Adenocarcinoma
7	32	S.C.C
8	29	S.C.C
9	31	S.C.C
Mean normal	71	Normal

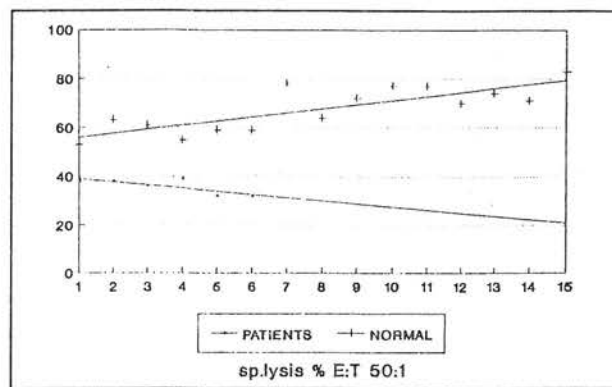
S.C.C. = Squamous Cell Carcinoma

متاستاز دهنده هستند، فعالیت  $NK$  پائین تری دارند. (نمودار شماره ۲ و جدول شماره ۳) در مورد بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال تعداد ۶ نفر همزمان با افراد کنترل مورد آزمایش قرار گرفتند که نتیجه بدست آمده کاهش شدید فعالیت  $NK$  را در این بیماران محرز می کند (نمودار شماره ۳ و جدول شماره ۴)

سالم مورد آزمایش قرار گرفتند که نتایج بدست آمده بدین قرار است: متوسط فعالیت  $NK$  در این بیماران  $34 \pm 1/8$  درصد که نسبت به افراد نرمال  $68/9 \pm 1/4$  درصد بسیار پائین تر است و این نشانه دهنده بالا بودن میزان فاکتورهای تضعیف کننده فعالیت  $NK$  در بدن بیماران سرطانی است و ضمناً همانند بیماران مبتلا به سرطان پستان، بیماریانی که دارای سرطان



نمودار ۴- فعالیت  $N.K.$  در بیماران مبتلا به سرطان معده و ملانوم و مقایسه با افراد سالم



نمودار ۳- فعالیت  $N.K.$  در بیماران مبتلا به سرطان رکتوم و مقایسه با افراد سالم

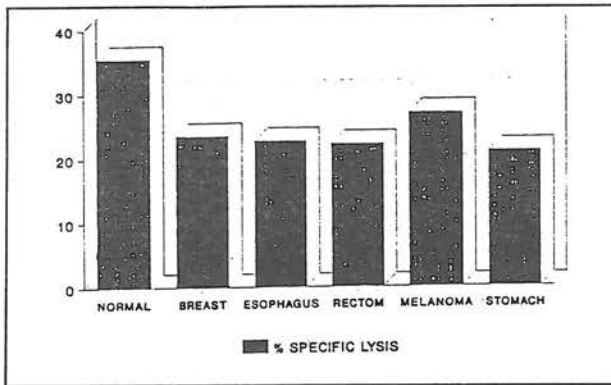
جدول ۴- گزارش هیستوپاتولوژی و میزان سیتوکسیستی سنجش شده در بیماران مبتلا به سرطان رکتوم

patients number	%specific lysis E:T 50:1	Report of Histopathology
1	38	Adenocarcinoma
2	38	Adenocarcinoma of right colon
3	36	Nd
4	39	Nd
5	32	Nd
6	32	Nd

آماري تفاوت معنی داری ندارد و بطور کلی متوسط فعالیت NK در بیماران سرطانی نسبت به ۳۱ نفر کنترل سالم دارای تفاوت معنی داری است. ( $P < 0.0001$ )

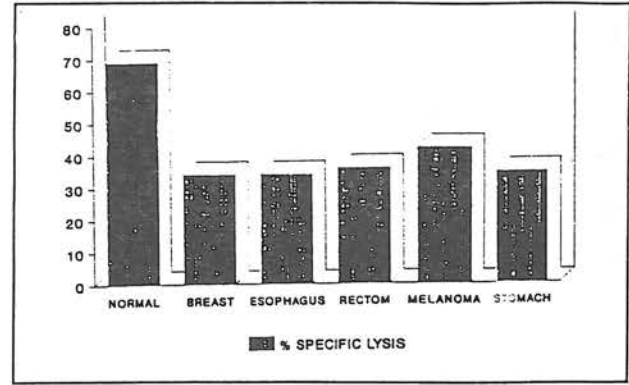
در مورد بیماران مبتلا به سرطان معده و ملانوم نیز نتیجه همانند بیماران کولورکتال، پستان و مری است. (نمودار شماره ۴ و جدول شماره ۵)

متوسط فعالیت NK در سرطانهایی مختلف با همدیگر از نظر



نمودار ۴- درصد لیزاختصاصی افراد نرمال و بیماریا نسبت

با نسبت E:T=10:1



نمودار ۵- درصد لیزاختصاصی افراد نرمال و بیمار

با نسبت E:T=50:1

جدول ۵- گزارش هیستوپاتولوژی بیماران مبتلا به سرطان معده و ملانوم

patients number	%specific lysis E:T 50:1	Report of histopathology
<b>STOMACH</b>		
1	28	Poorly differentiated adenocarcinoma
2	41	Metastatic tumor of stomach
<b>MELANOMA</b>		
1	41	Hyperkeratosis with granulation
2	43	Not done

جدول ۶- فعالیت سلولهای کشنده طبیعی در بیماران سرطانی در مقایسه با افراد سالم

	no. of pa	%mean sp. lysis±SE E:T 50:1	normal person E:T 50:1	%mean sp. lysis E:T 10:1	normal persons E:T 10:1
Breast	7	34±2.5	62	23.5	36
Esophagus	9	34±1.8	74	22.7	38
Rectum	6	35.8±1.3	67	22.2	40
Stomach	2	34.5	78	21	44
Melanoma	2	42	70	27	35

Normal	31	68.9±1.4	72	35.5	41
--------	----	----------	----	------	----

SE= Standard Error

یک فاکتور خطر برای گسترش بدخیمی‌ها در انسان مطرح است و در بسیاری از بدخیمی‌ها چه *Solid* و چه *soft tissue* این سلولها مهار شده‌اند. بروز و گسترش تومور نیز موجب مهار و کاهش فعالیت این سلولها می‌شود. افرادی که کاهش فعالیت طولانی سلولهای *NK* دارند، مستعد بروز و گسترش تومور هستند همچنین افرادی که پیوند عضو شده‌اند، بدنال دریافت میزان زیادی داروهای تضعیف‌کننده سیستم ایمنی و همچنین بدلیل سرکوب سیستم ایمنی طبیعی، بیشتر در معرض ابتلا به بیماری‌های لنفوپرولیفراتیو و سایر بدخیمی‌ها هستند. (۲۴)

اختلال در مصونیت طبیعی می‌تواند موجب افزایش بروز تومور در انسان شود و کاهش فعالیت *NK* در بیماران سرطانی می‌تواند دلیلی بر کاربرد این سلولها به عنوان یک عامل پیش‌آگهی در عود مجدد، پاسخ به درمان و مدت بقای بیماران مبتلا به سرطان باشد بطوری که مثلاً پس از جراحی تومور، میزان فعالیت *NK* با میزان موفقیت عمل جراحی نسبت مستقیم دارد و شاخص خوبی برای پیش‌آگهی این امر است. لذا با توجه به بررسیهای مکرر، محققین سعی بسیاری در طرح‌ریزی یک برنامه مفید و مؤثر ایمونوتراپی با استفاده از فعال کردن ایمنی طبیعی انجام داده‌اند و تاکنون پیشرفت چشمگیری در این راه داشته‌اند. هدف از مطالعه‌ای که ما تحت عنوان بررسی فعالیت *NK* در سرطان‌های پستان، مری، و غیره در مقایسه با افراد

### بحث و نتیجه‌گیری

سلولهای کشنده طبیعی زیرمجموعه‌ای از لنفوسیتها هستند (۱۵ درصد از لنفوسیتهای خون محیطی و ۲-۱ درصد از لنفوسیتهای طحال) که در مغز استخوان تولید شده و در فرم فونکشنال بالغ در طحال و خون محیطی یافت می‌شوند. فرم حافظه‌ای این سلولها وجود ندارد. این سلولها *Non B Cell* و *Non T Cell* هستند و فاقد اختصاصات گرانولوسیتها و مونوسیتها فاکتوسیتیک می‌باشند. از لحاظ مورفولوژی، سلولهای *NK* به زیرمجموعه‌ای از لنفوسیتها به نام لنفوسیتهای گرانول دار بزرگ (*Large Granular Lymphocyte = LGL*) تعلق دارند که دارای گرانولهای آزرروفیلیک بوده و حجم سیتوپلاسمی آنها، نسبت بیشتری از حجم کل سلول را شامل می‌شود. فعالیتهای مختلفی برای آنها گزارش شده که مهمترین آنها، کنترل رشد سلولهای توموری در مراحل اولیه و کنترل و مهار توده‌های متاستاتیک می‌باشد. سلولهای عمل‌کننده طبیعی (*Natural Effector*) مختلفی که دارای فعالیت *NK* هستند و بر علیه تومور اقدام می‌کنند تاکنون مطرح شده که از لحاظ مورفولوژی و فونکسیون نزدیک به سلولهای *NK* هستند (از جمله سلولهای *LAK cells, MHC-Unrestricted T Cell, N.C.* و غیره) (۵، ۱۱، ۱۵). سلولهای *N.K* اولین خط دفاعی در برابر سلولهای توموری هستند. کاهش فعالیت سلولهای *NK* به عنوان

بیماران مبتلا به سرطان پستان، مری و کولورکتال از مراکز دیگر نیز گزارش شده است. (۲۰۳،۹۰،۱۲،۲۱ و ۲۲)

فعالیت *N.K* را می توان با استفاده از مدیاتورهائی همچون *IL-2* و *INF- $\gamma$*  و غیره تقویت کرد و با استفاده از پروتکل تولید سلولهای *LAK* (با استفاده از لئفوسیت های خون محیطی *IL-2+* در *In vitro* و سپس تزریق مجدد سلولهای اتولوگ به خود مریض، می توانیم درمان موسوم به *Adoptive Immunotherapy* را همزمان با شیمی درمانی، رادیوتراپی و جراحی برای نجات بیمار انجام داد با توجه به مجوز گرفته شده از مؤسسه *FDA* آمریکا و انجام درمان موفقیت آمیز فوق در موارد متعدد، و با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه در جمهوری اسلامی ایران نیز می توان برای درمان بیماران سرطانی از این روش استفاده کرد. (۵،۱۰،۱۴ و ۱۶)

نرمال، انجام دادیم، در درجه اول اندازه گیری و سنجش میزان فعالیت *NK* در بیماران سرطانی و نشان دادن اختلاف آن با میزان فعالیت *NK* در اشخاص نرمال بود که برای اولین بار و با موفقیت در ایران انجام دادیم و نتایج نشان دهنده، کاهش شدید در فعالیت *NK* در بیماران نسبت به افراد نرمال بود و بیانگر تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم یاخته های سرطانی روی سیستم ایمنی طبیعی یا فراهم شدن زمینه بروز سرطان و گسترش و متاستاز بر اثر کاهش مصنوعیت طبیعی و یا هردو می باشد. میزان فعالیت *NK* در افراد نرمال برابر با ۶۹ درصد بدست آمد که نسبت به سابقه مطالعه و اندازه گیری *NK* در کشورهای دیگر با توجه به رفرنسهای ذکر شده در پایان مقاله تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود و این نشان دهنده این می تواند باشد که میزان فعالیت *NK* در این گروه از افراد نرمال ایرانی با کشورهای دیگر تفاوت قابل توجهی ندارد. ضمناً کاهش فعالیت *NK* در

## REFERENCES

- 1) Beverley P.C.L.; *Immunological aspects of cancer*, Baltimor, University park press; 1978; 101-22
- 2) Biron C.A., et al; *Severe herpes virus infections in an adolescent without natural killer cells*; *The New Eng.J. of Med.* 320; 1989: 26-28
- 3) Braun D.P., Marris J.E.; *Effect of chemotherapy on NK function in the peripheral blood of cancer patients*; *Cancer Immunol. Immunother* 21, 1986: 240-245
- 4) Brodt P., *Tumor immunology, Three decades in review*; *Ann. Rev. Microbi* 37, 1983: 447-76
- 5) Herberman R.B.; *The biological basis of immunologic diseases*, 1983; 75-8
- 6) Herberman R.B., Oraldo J.R.; *Natural killer cells: Their role in defenses against disease*; *Science*, 214, 1981: 24-30
- 7) Hewitt H.B.; *The choice of animal tumors for*

*experimental studies of cancer therapy*; *Adv. cancer Res.*; 27, 1987: 149-200

8) Hewitt H.B., blake E.R., walder A.S.; *A critique of the evidence for active host defense against cancer, based on personal studies of 27 murine tumer of spontaneous origin*; *Br.J. Cancer*, 33, 1976: 241-59

9) Hoe BK. Frost P.; *Natural killer cell activity of prostatic cancer patients*; *Cancer Investigation*, 5(4), 1987: 285-291

10) Kedar E., et al.; *Chemo, Immunotherapy of murine solid tumors: Cehanced therapeutic effects by interleukin-2 combined with interferon and the role of specific T cells*; *Cancer Immunol Immunother*; 35, 1992: 63-68

11) Klein J.; *Immunology, cambridge center, cambridge, Massachusetts USA, Black well scientific pullications, Inc.* 1991: 29-49



- 12) Levy S., Tempe J.L.; Stage-related decrease in natural killer cell activity in untreated patients with mycosis fungoides 1993: 247-57
- 13) Lotzova E.; The role of NK cells in human disease; *Current opinion in Immunol. I*, 1989
- 14) Oka M., et al; Depression of cytotoxicity of non parenchymal cells in the liver after surgery; *Surgery*, 116(5) 1994: 877-82
- 15) Ortaldo, J.R.; Regulation of natural killer activity; *Cancer & metastasis Rev.* 6, 1987: 637-651
- 16) Park K.G.M., et al.; Recombinant IL-2, Treatment in patients with metastatic colorectal cancer: effect on natural cytotoxicity; *cancer immunol. Immunother.* 35, 1992: 53-58
- 17) Prehn R.T.; Tumor progression & homeostasis; *Adv. cancer. K* 23, 1976: 203-36
- 18) Reiter Z.; Interferon: a major regulator of NK cell mediated cytotoxicity; *J. Interferon Res.* 13(4) 1993: 247-57
- 19) Rosenberg S.A.; Immunotherapy of cancer using IL-2 immunology today, 9(2), 1988: 25-62
- 20) Rossi A.R., et al.; Lysis of neuroblastoma cell lines by human natural killer cells activated by IL-2 & IL-12; *Blood*, 83(5) 1994: 1323-8
- 21) Sach J., et al.; Thyrocyte specific killer cell activity is decreased in patients with thyroid carcinoma; *Cancer*, 59, 1987: 1914-1917
- 22) Stein J.X., et al.; N K cell defects resulting from thermal injury; *Cellular Immunol.*, 86, 1984: 551-556
- 23) Weiss D.W.; Reflections on tumor origin, Immunogenicity & Immunotherapy cancer *Immunol. Immunother.*, 2, 1977: 11-19
- 24) Whitc side T.L., Herberman R.B.; The role of NK cells in human disease; *Clin. Immunol & Immunopath.*, 53, 1989: 1-23

**تقویم همایش های علمی دانشگاه  
۱۳۷۶-۷۸**

ملاحظات	محل برگزاری	زمان برگزاری			دانشکده ارائه دهنده پیشنهاد	عنوان برنامه	ردیف مشخصات
		سال	ماه	روز			
	سالن اجتماعات و مجتمع رسول اکرم (ص)	۱۳۷۶	شهریور	۲۸-۳۱	پزشکی	همایش سراسری و با آموزشی بیماریها و جراحی سیتوس و و بیجی	۱
	مجتمع آمفی تئاتر رازی	۱۳۷۶	آبان	۱۹-۲۳	پزشکی	سومین کنگره و با آموزشی زنان و مامائی	۲
	مجتمع آمفی تئاتر رازی	۱۳۷۶	آذر	۲۴-۲۷	نهاد نمایندگی - دانشکده پزشکی استیتور و انبوشکی تهران	همایش نقش دین در بهداشت روان	۳
	سالن اجتماعات دانشکده پرستاری و مامائی	۱۳۷۶	اسفند	روز ۳	پرستاری و مامائی	سمینار مراقبت های پرستاری	۴
	بعداً مشخص خواهد شد.	۱۳۷۶	اسفند	روز ۴	پزشکی	دومین کنگره سراسری روانپزشکی فرهنگی و اجتماعی	۵
	مجتمع آمفی تئاتر رازی	۱۳۷۷	اردیبهشت	روز ۶	پزشکی	کنگره سراسری جامعه پزشکان متخصص داخلی	۶
	بعداً مشخص خواهد شد	۱۳۷۷	خرداد	روز ۳	مدیریت و اطلاع رسانی پزشکی	سومین سمینار سراسری مدارک پزشکی ایران	۷
	بعداً مشخص خواهد شد	۱۳۷۷	شهریور	روز ۴	پزشکی	کنگره سراسری درمانولوژی و تازه های درمانولوژی	۸
	سالن اجتماعات مجتمع حضرت رسول اکرم (ص)	۱۳۷۷	آبان	روز ۴	پزشکی	تازه های ضربه های سیستم عصبی	۹
	سالن اجتماعات مرکز پزشکی فیروزگر	۱۳۷۷	اسفند	روز ۴	پزشکی	سنگرانی در بیماریهای مختلف بدن	۱۰
	بعداً مشخص خواهد شد	۱۳۷۸	بهار	روز ۴	پزشکی	چهارمین سمینار سراسری استرس	۱۱

# NATURAL KILLER CELL ACTIVITY ASSAY IN CANCEROUS PATIENTS IN COMPARISON WITH NORMAL PERSONS

A.K.Sheikhi, M.D. \*

## ABSTRACT

Among immune system components natural killer (NK) cells are the first line of defence against tumor cells. The decreasing activity of these cells can be associated with carcinogenesis, in situ tumor growth and metastasis of different cancers, viral infections, immunodeficiency syndroms and autoimmune diseases.

In this study natural killer activity of peripheral blood mononuclear cells (Effector cells) against K562 cell line (Target cells) in clinically and histologically proved cases of nine esophageal, seven breast, six rectum, two melanoma and two stomach cancer patients was assessed concurrently with 31 sex and age mated controls.

The patients did not have any treatment (chemotherapy, radiotherapy, surgery and else) previously.

Measurement of N.K activity was carried out using two effector: target (E:T) proportions of 50:1 and 10:1 prior to coculture with effector cells, the target cells were labelled with  $^{51}\text{Cr}$ , and after coculturing the amount of free  $^{51}\text{Cr}$  was measured using a gamma counter. The percentage of specific lysis (or NK activity) in different cancerous patients ( $35 \pm 2\%$ ) was statistically (student t test) lower than the value obtain in normal persons ( $69 \pm 1.5\%$ ), ( $p < 0.0001$ ).

This reduction in NK activity can be the cause of tumor cell growth or a consequence of direct or indirect effects of tumor cells on the balance of natural immune system.

**Key words:** 1) Natural killer cells

3) Breast cancer

2) Immune system

4) Esophageal cancer

\* Faculty Member of Zanjan University of Medical Sciences and Health Services - Department of Immunology