بررسی رابطه بین ظاهر شدن مولکولهای کلاس HLA-I بر سطح یاخته‌های رده سرطانی و حساسیت به سلولهای کشنده طبیعی

هادی بزازی I
دکتر فرحدخت فاطمی نسب II
* دکتر کبری انتظامی III
دکتر علیرضا سالک مقدم IV
دکتر شاپور شاه قاسم پور V

چکیده

سلولهای کشنده طبیعی(NK) بخشی از ایمنی ذاتی هستند که بعنوان اولین خط دفاعی، نقش بارزی در از بین بردن سلولهای سرطانی و سلولهای آلوده به ویروس دارند. هدف ما از این پژوهش بررسی تأثیرات ناشی از تغییر در ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاسI بر سطح یاخته‌های سرطانی، در میزان حساسیت به عملکرد سایتوتوکسیسیته سلولهایNK است. در این بررسی یاخته های سرطانی رده MDA-MB-468 مشتق شده از آدنوکارسینومای پستان انسان، بعنوان نمونه انتخاب شدند که تمامی آللهای آنتی ژنهای لکوسیتی انسان (HLA کلاسI) را نشان می دهند. جهت آزمایش و تشخیص بروزHLA کلاسI از آنتی بادی مونوکلونالW6/32 متصل به فلوروکروم فلورسین F.I.T.C استفاده گردید. نتایج توسط تکنیک فلوسایتومتری تک رنگ مورد آنالیز قرار گرفت (سلولهایNK از " خون محیطی" افراد داوطلب بدست آمد). نتایج مطالعات ما نشان داد که میزان ظاهر شدن مولکولهایHLA کلاسI بر سطح یاخته های رده سرطانیMDA-MB-468، پس از کشت در مجاورت اینترفرون گاما، افزایش می‌یابد و بین این افزایش با فعالیت سایتوتوکسیسیته طبیعی سلولهایNK همبستگی مستقیم ($r = 1$) و کامل وجود دارد. بنابراین بر پایه یافته‌های موجود، این احتمال وجود دارد که بر سطح سلولهایNK گیرنده‌هایی حضور داشته باشند که با شناسایی مولکولهایHLA کلاسI غیر خودی و یا لیگاندهای ناشناخته دیگری که با القای اینترفرون گاما افزایش می‌یابند، سبب فعال شدن سلولهایNK و در نتیجه باعث از بین رفتن یاخته‌های هدف شوند.

کلیدواژه‌ها:۱- آنتی ژنهای لکوسیتی انسان (HLA) ۲- سلولهای کشنده طبیعی (NK) ۳- رده سلولهای سرطانی ۴- آنتی‌بادی مونوکلونال ۵- مجموعه اصل سازگارنسجی

مقدمه

سایتوتوکسیسیته طبیعی یکی از ساز و کارهایی است که سلولهای NK بواسطه آن برخی از سلولهای توموری را

این مقاله خلاصه‌ایست از پایان نامه آقای هادی بزازی جهت دریافت مدرک کارشناسی ارشد ایمونولوژی به راهنمایی دکتر کبری انتظامی، ۱۳۷۹. همچنین این مقاله در کنگره سراسری ایمونولوژی در سال ۱۳۷۹ در دانشگاه تربیت مدرس ارائه شده است.

I) کارشناس ارشد ایمونولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
II) استادیار گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، بزرگراه شهید همت، تهران
III) استادیار گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، بزرگراه شهید همت، تهران(* مولف مسؤول)
IV) دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، بزرگراه شهید همت، تهران
V) استادیار گروه ایمونولوژی، بیمارستان مسیح دانشوری، دارآباد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی، تهران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]

از بین می‌برند اما سلولهای طبیعی دارای آنتی‌ژنهای HLA کلاس I خودی را نادیده می‌گیرند (۱و۲). پس از کشف سلولهای NK در دهه ۱۹۷۰، بررسیهایی برای درک ماهیت کشندگی طبیعی این سلولها صورت گرفت. برای نخستین بار Storkus ، Horel-Bellan و Ohlen حساسیت برخی از سلولهای سرطانی فاقد HLA کلاس I را نسبت به عملکرد سلولهای NK گزارش کردند(۳).

در سال ۱۹۸۵، Karre و Ljunggren بر اساس نتایج بدست آمده از رد پیوند آلوژنیک در حالتی که حداقل یکی از آللهای MHC کلاس I میزبان توسط گرافت ظاهر نمی‌شود، فرضیه "Missing self" را ارائه نمودند که بر طبق آن یکی از عملکردهای سلولهای NK، شناسایی و حذف سلولهایی است که توانایی ظاهر کردن آنتی ژنهای مجموعه سازگاری نسجی کلاس I خودی را از دست داده‌اند(٤).

پژوهشهای بعدی با فراهم کردن امکان انتقال ژن MHC و همچنین بکارگیری سایتوکاینها برای القای ظاهر شدن محصولات MHC ادامه یافت. از جمله دستاوردهای این مطالعات، شناسایی گروههای مختلفی از کلونهای سلولهای NK بود که نه تنها در افراد مختلف، بلکه در یک فرد نیز دارای ویژگیهای متفاوتی برای شناسایی آللهای مختلف HLA کلاس I بود. وجود کلونهای مختلف سلولهای NK، وجود گیرنده‌های اختصاصی را پیش‌بینی می‌کرد(٥).

برای نخستین بار Moretta و همکارانش با بکارگیری پادتنهای تک سلسله‌ای، گیرنده‌هایی را بر سطح سلولهای NK یافتند که ۲ آلل مختلف از HLA-C را شناسایی می‌کردند(٦). پژوهشهای بعدی منجر به کشف انواعی از گیرنده‌های سلولهای NK (NKR_S) شد که آللهای دیگری از HLA کلاس I را شناسایی می‌کردند.

در میان گیرنده‌های NKR، مولکولهایی وجود دارند که عملکردهای مهارکنندگی و یا فعال‌سازی را از خود نشان می‌دهند و تعادل بین پیامهای آنها، فعالیت سلول NK را تنظیم می‌کند(۷و۸).

با توجه به اهمیت موضوع و بررسیهای گسترده‌ای که در مورد مولکولهای HLA و سلولهای NK انجام شده است، ما بر آن شدیم که بصورت اختصاصی‌تر، ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاس I را روی سلولهای رده سرطانی، و حساسیت آنها را به سلولهای NK مطالعه نمائیم.

روش بررسی

در این بررسی سلولهای رده سرطانی MDA-MB-468 که از تومور آدنوکارسینومای پستان انسان جدا شده بودند، در محیط کامل RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد FCS و پادزیست، در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ CO_2 بصورت کشت سلولی تک لایه، رشد داده شدند و پس از تکثیر، سلولها به ۲ گروه تقسیم شدند.

در گروه اول، سلولهای سرطانی بمدت ٤٨ ساعت در محیط کامل حاوی ۵۰۰ واحد در میلی لیتر اینترفرون گامای نوترکیب انسانی، قرار داده شدند. اما در گروه دوم، سلولهای سرطانی در مجاورت اینترفرون گاما قرار نگرفتند.

به منظور سنجش میزان ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاس I بر سطح سلولهای سرطانی، ابتدا فلاسکهای پر از سلول انتخاب شدند و سپس سلولها در مجاورت تریپسین ۰/۲۵٪ استخراج گردیدند.

سلولهای استخراج شده با پادتن تک سلسله‌ای w6/32 نشاندار شده با FITC که بطور اختصاصی شاخصهای تک شکلی موجود روی زنجیره سنگین متصل به β_2 میکروگلوبولین HLA کلاس I را شناسایی می‌کنند، رنگ‌آمیزی شدند(۹).

میزان ظاهرشدن مولکولهای HLA کلاس I بر سطح یاخته‌های سرطانی رنگ‌آمیزی شده، بوسیله آنالیز تک رنگ دستگاه فلوسایتومتر(Becton Dickenson)، کالیبر FACS کشور آمریکا از نوع رومیزی خنک شونده با هوا و لیزرآرگون (٤٨٨ میلی‌متر) اندازه گیری شد. سلولهای NK از خون محیطی اهدا کنندگان سالم جدا شدند.

بطور خلاصه ابتدا سلولهای تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) بوسیله سانتریفوژ گرادیان فایکول جدا شدند، سپس مونوسیتهای موجود در PBMC بعلت خاصیت چسبندگی به سطح پلاستیک جذب شدند و در نهایت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]

لنفوسیتهای B و T با پادتنهای تک سلسله‌ای اختصاصی CD19 و CD3 ، در روش سایتوتوکسیسیته توسط کمپلمان حذف شدند. فعالیت سایتولیتیک سلولهای NK بوسیله روش رنگ سنجی بر پایه تترازولیوم MTT، مورد ارزیابی قرار گرفت. **الف**-MTT: نمک تترازولیوم [3-(4,5 dimethylthiazol 2-y1 ،2,5-diphenyl tetrazolium bromide] ماده زرد کم رنگی است که وقتی بعنوان سوبسترا در اختیار سلولهای زنده قرار گیرد بوسیله دهیدروژنازهای میتوکندریایی به محصول آبی پررنگی بنام فورمازان (Formaian) تبدیل می‌شود و این احیا اساس سنجش کالریمتری بر پایه MTT است.

مقدار فورمازان تولید شده با تعداد سلولهای زنده موجود در یک جمعیت همگون سلولی، نسبت مستقیم دارد. فورمازان تولید شده در داخل سلول جای دارد و نامحلول است.

با افزودن DMSO(Dimethy1 Sulfoxide) سلولهای تخریب شده و کریستالهای فورمازان حل می‌گردند.

ب: سوسپانسیونی از سلولهای رده توموری MDA-MB-468 در ۲ گروه، شامل سلولهایی که بمدت ٤٨ ساعت در معرض اینترفرون گاما با غلظت ٥٠٠ u/ml قرار داشتند و گروهی که در معرض اینترفرون گاما قرار نداشتند بطور جداگانه و با غلظت ۱۰۰۰ سلول به چاهکهای معینی از میکروپلیتهای با ظرفیت ۹٦ عدد، ویژه کشت سلولی اضافه شدند و پس از انکوباسیون بمدت ۱ شب در دمای ۳۷°c قرار گرفتند. در مرحله بعد محلول MTT از کلیه چاهکها خارج گردید و در پی آن به هر چاهک ۱۵۰ میکرولیتر از محلول DMSO اضافه شد.

پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب نور در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه ELISA (DYNEX-MRX) Reader ثبت شد. درصد مرگ سلولی از رابطه زیر محاسبه گردید: $\frac{(A-B)-(C-D)}{A} \times ۱۰۰$ که در آن، A مربوط به حداکثر جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر برای چاهکهای بدون شستشو و B مربوط به جذب نور برای سلولهای توموری که بطور غیراختصاصی و در طی ٤ بار شستشو جدا شدند.

C مربوط به جذب تجربی در طول موج ۵۷۰ نانومتر برای سلولهای توموری که پس از شستشو در چاهکها باقی‌ماندند و D مربوط به جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر برای سلولهایNK باقیمانده در چاهکهای کنترل، پس از شستشو است (۱۰).

نتایج

ـ ظاهر شدن مولکولهایHLA کلاسI بر سطح سلولهای رده سرطانی MDA-MB-468 و اثر القائی اینترفرون گاما:

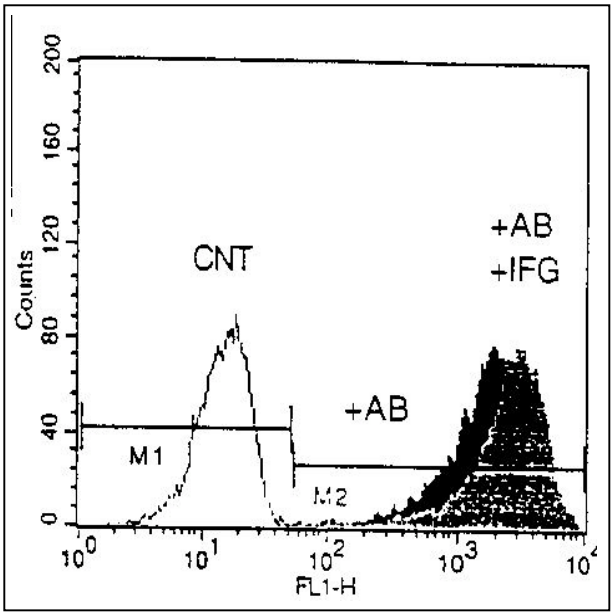
سلولهای رده سرطانی MDA-MB-468 فنوتیپHLA، Cw4، Cw2، Bw36، Aw30و Aw23 را نشان می‌دهند.

همانطوریکه در شکل شماره۱ مشاهده می‌شود، متوسط شدت فلورسنس مربوط به سلولهای توموری رنگ‌آمیزی شده با پادتن تک سلسله‌ای W6/32، نسبت به سلولهای رنگ آمیزی نشده (کنترل منفی) افزایشی را نشان می‌دهد.

به عبارت دیگر این رده سرطانی بطور معمول مولکولهای HLA کلاسI را ارائه می کنند و پس از کشت سلولی، این توانایی را حفظ می‌نمایند.

هیستوگرام مربوط به ظاهرشدن مولکولهای HLAکلاسI بر سطح سلولهای سرطانی که به مدت ٤٨ ساعت در معرض اینترفرون گاما به میزان ۵۰۰ واحد در میلی‌لیتر قرار داشتند نشان می‌دهد که متوسط شدت فلورسانس نسبت به سلولهایی که تحت تأثیر اینترفرون گاما قرار نداشتند، افزایش داشته است. بنابراین، این اطلاعات به روشنی نشان می‌دهد که اینترفرون گاما، میزان ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاس I را بر سطح سلولهای سرطانی MDA-MB-468 افزایش می‌دهد(نمودار شماره۱).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]



شکل شماره ۱- هیستوگرام تک پارامتری از آنالیز فلوسایتومتری میزان ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاس I برسطح یاخته‌های رده سرطانی MDA-MB-468: A- سلولهای کنترل منفی (CNT)، B - سلولهای رنگ‌آمیزی شده با پادتن تک سلسله‌ای کلون W6/32 کونژوگه با FITC (AB+)، C- سلولهایی که تحت اثر اینترفرون گاما به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و با پادتن تک سلسله‌ای کلون W6/32 کونژوگه با FITC رنگ‌آمیزی شدند(IFG+AB+)

File: MDA-MB-468(CNT).001 Acquisition Date: 2-May-O
A Gate: G1 Gated Events: 8861
Total Events: 10000

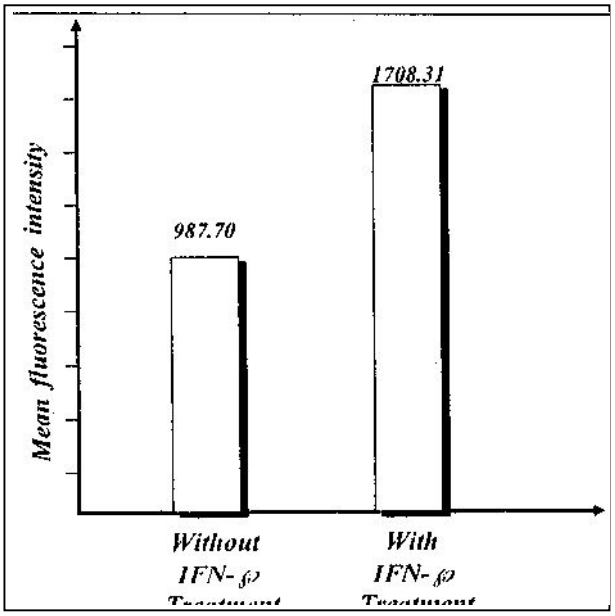
Marker	Events	%Gated	%Total	Mean
All	8861	100.00	88.61	19.77
M1	8809	99.41	88.09	15.79
M2	50	0.56	0.50	721.12

File:MDA-MB-468(CNT+AB).001 AcquisitionDate:2-May-O
B Gate: G1 Gated Events: 8782
Total Events: 10000

Marker	Events	%Gated	%Total	Mean
All	8782	100.00	87.82	19.77
M1	3	0.03	0.03	31.20
M2	8777	99.94	87.77	1657.89

File:MDA-MB-468+IFN+AB.001 AcquisitionDate:2-May-O
C Gate: G1 Gated Events: 9015
Total Events: 10000

Marker	Events	%Gated	%Total	Mean
All	9015	100.00	90.15	2758.70
M1	5	0.06	0.05	20.04
M2	9010	99.94	90.10	2760.22



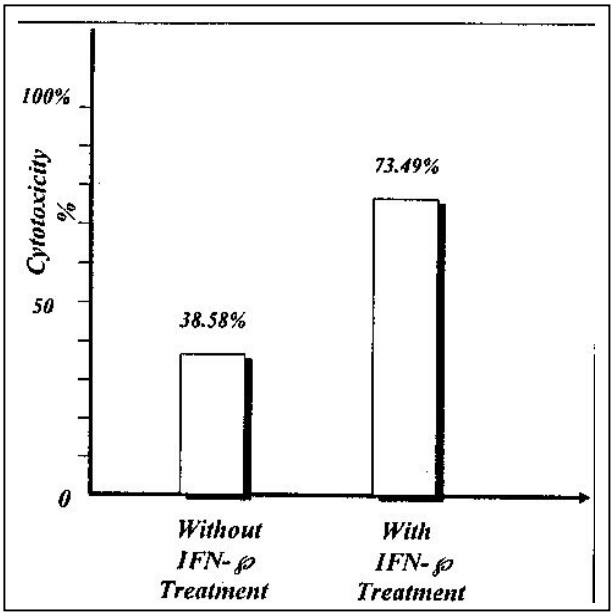
نمودار شماره ۱- میزان ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاس I بر سطح رده سرطانی MDA-MB-468 در ۲ حالت، بدون اثر IFN-γ و تحت تاثیر IFN-γ به میزان ۵۰۰IU/ml و به مدت ۴۸ ساعت

- فعالیت سایتولیتیکی سلولهای NK در برابر سلولهای رده سرطانیMDA-MB-468 و اثر اینترفرون گاما: همانطوریکه در نمودار شماره۲ مشاهده می‌شود، با وجود اینکه مولکولهای HLA کلاسI بر سطح سلولهای رده سرطانیMDA-MB-468 بطور کامل ظاهر می‌شوند، سلولهایNK ۳۸/۵۸٪ از سلولهای سرطانی را از بین می برند.

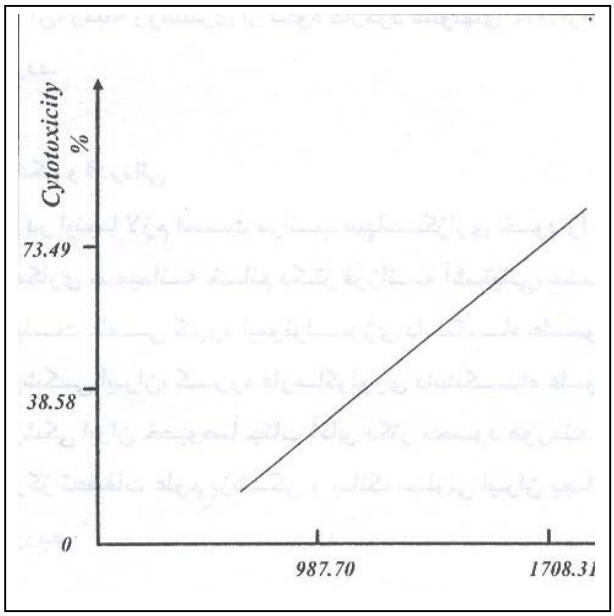
پس از کشت ۴۸ ساعته سلولهای سرطانی در مجاورت اینترفرون گاما، حساسیت سلولهای سرطانی نسبت به سلولهای NK و نسبت به وضعیت قبل از قرارگرفتن در معرض اینترفرون، به میزان ۳۴/۹۱٪ افزایش یافته و مجموع سلولهایی که تحت اثر سایتوتوکسیسیته طبیعی سلولهای NK از بین می‌روند بالغ بر ۷۳/۴۹٪ می‌گردد.

- همبستگی بین میزان ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاس I و حساسیت سلولهای رده سرطانی MDA-MB-468 به سایتوتوکسیسیته سلولهای NK: نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد که حساسیت سلولهای

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]



نمودار شماره ۲- مقایسه درصد سایتوتوکسیسیتی سلولهای NK در برابر سلولهای رده سرطانی؛ MDA-MB-468 که در ۲ حالت بدون اثر IFN-γ و تحت اثر IFN-γ به مدت ۴۸ ساعت قرار داشته است.



نمودار شماره ۳- همبستگی بین میزان ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاس I (بر حسب متوسط شدت فلوئورسنس) بر سطح سلولهای رده توموری MDA-MB-468 با درصد سایتوتوکسیسیتی سلولهای NK در برابر سلولهای رده توموری فوق (r=1)

سرطانی نسبت به سایتوتوکسیسیته سلولهای NK بطور عمده‌ای وابسته به ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاسI می‌باشد، بطوریکه در این مطالعه مشاهده شد بین این ۲ متغیر همبستگی کامل و مثبت وجود دارد (۱ + = r). به این معنا که تغییرات این ۲ متغیر در یک راستا بوده و با افزایش ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاسI بر سطح سلولهای رده سرطانی MDA-MB-468 ، تحت اثر اینترفرون گاما بمدت ۴۸ ساعت، حساسیت آنها نسبت به خاصیت سایتولیز سلولهای NK افزایش می‌یابد. مقدار P برای این همبستگی برابر با P < ۰/۰۲ است.

بحث

این مطالعه بطور آشکار نشان داد که رابطه همسویی بین میزان حساسیت به فعالیت تخریبی سلولهای NK و مقدار ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاسI بر سطح سلولهای رده سرطانی MDA-MB-468 وجود دارد.

مطابق با فرضیه "Missing Self" که برای توضیح نحوه عملکرد سلولهای NK ارائه شد، بین ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاسI و حساسیت به سلولهای NK رابطه معکوسی وجود دارد.

از همان ابتدا Karre و همکارانش در بیان این فرضیه تأکید کرده بودند که طرح پیشنهادی آنها شرحی فراگیر نمی‌باشد چون سلولهای NK از ساز و کارهای مختلفی برای شناسایی و انهدام سلولهای هدف استفاده می‌کنند که یکی از این کارکردها تحت تأثیر HLA کلاسI قرار می‌گیرد.(۱۱).

پس از ارائه این فرضیه، برخی از پژوهشگران، نمونه‌های متعددی را ارائه کردند که نشان می‌داد حساسیت به سلولهای NK مستقل از میزان ظاهر شدن مولکولهای HLA کلاسI است(۱۲). در آن زمان گیرنده‌های اختصاصی HLA کلاسI موجود بر سطح سلولهای NK شناخته نشده بودند. بررسیهای بعدی نشان داد که سلولهای NK انواع مختلف مولکولهای HLA کلاسI را بوسیله گیرنده‌های گوناگون شناسایی می‌کنند(۱۳).

برخی از این گیرنده‌ها، پیامهای منفی را به داخل سلول انتقال داده و مانع از فعال شدن سلولهای NK می‌شوند(۱۴). پژوهشهای بیشتر نشان داد که گیرنده‌هایی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]

مشابه با گیرنده‌های مهار کننده وجود دارند که با مولکولهای HLA کلاسI همکنش (intraction) می‌کنند، اما سبب فعال شدن سلولهای NK می‌گردند(۱۵).

در حقیقت، سلولهای NK از طریق مولکولهای متعددی با سلولهای هدف همکنش می‌کنند. شروع پاسخهای ایمنی سلولهای NK می‌تواند ناشی از همکنش بین مولکولهای چسبان یا کمک تحریکی با لیگاندهای مناسب موجود بر سطح سلولهای هدف باشد(۱۶).

اگر چه ممکن است که این گونه همکنش‌ها برای شروع سایتوتوکسیسیته سلولهای NK کافی باشد اما گیرنده‌های مهاری شناسایی کننده مولکولهای HLA کلاسI خودی، فعالیت سلولهای NK را تنظیم می‌کنند و مانع از ایجاد صدمه به سلولهای طبیعی می‌شوند. بنابراین سلولهای NK آن دسته از سلولها را از بین می‌برند که توانایی ظاهر کردن مولکولهای HLA کلاسI را بر سطح خود از دست داده باشند و یا مقادیر ناکافی از آنرا نشان دهند(۱۷).

بطور معمول گیرنده‌های مهار کننده اختصاصی HLA کلاسI می‌توانند گیرنده‌های سایتوتوکسیسیته سلولهای NK یا به اختصار "NCR" را نیز کنترل نمایند(۱۸). در مجموع بنظر می‌رسد که رقابتی بین گیرنده‌های فعال کننده و گیرنده‌های مهارکننده برای تنظیم کارکردهای سلولهای NK وجود دارد.

بر اساس اطلاعات موجود و همچنین نتایج این مطالعه، بنظر می‌رسد که در غیاب پروتئین‌های HLA کلاسI "خودی" بر سطح یاخته‌های رده سرطانی MDA-MB-468 آلوژنیک، پیام منفی مؤثری از سوی گیرنده‌های مهار کننده اختصاصی مولکولهای HLA کلاسI خودی بداخل سلول منتقل نمی‌شود تا از فعالیت گیرنده‌های فعال کننده سلولهای NK جلوگیری نماید. از سوی دیگر آنتی ژنهای HLA کلاسI "غیر خودی" و همچنین سایر لیگاندهای موجود بر سطح یاخته‌های توموری ممکن است بوسیله گیرنده‌های فعال کننده سلول NK شناسایی شوند و به این ترتیب سبب ایجاد پیامهای مثبتی گردند.

در نهایت، بی‌نظمی در موازنه بین پیامهای مخالف و برتری پیامهای فعال کننده سبب فعال شدن سلولهای NK و از بین رفتن سلولهای هدف می‌شود.

توضیح احتمالی برای افزایش همسوی ظاهر شدن پروتئین‌های HLA کلاسI غیر خودی بر سطح سلولهای سرطانی با حساسیت به عمل سایتولیز سلولهای NK در پی اثر اینترفرون گاما این است که بنظر می‌رسد افزایش چگالی لیگاندهای فعال کننده بر سطح سلولهای سرطانی منجر به همکنشهای فزاینده بین سلولهای اجرایی و هدف می‌گردد، بنابراین پیامهای فعال کننده بیشتری به سلولهای NK منتقل می‌گردند.

به هر حال باید امیدوار بود که با پژوهشهای گسترده، بویژه در زمینه گیرنده‌های فعال کننده اختصاصی HLA کلاسI غیر خودی و همچنین شناسایی سایر گیرنده‌های فعال کننده و لیگاندهای مربوط به آن، زمینه روشنتری از نحوه کارکرد سلولهای NK ارائه گردد.

تشکر و قدردانی

در اینجا لازم است مراتب سپاسگزاری خود را از همکاری صمیمانه خانم دکتر فرزانه آشتیانی، عضو هیئت علمی گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران خصوصاً جناب آقای دکتر محمود هورمند و مرکز تحقیقات علوم پزشکی و بانک سلولی ایران بجای آوریم.

منابع

1- Lanier L.L., Natural killer cell receptor and MHC class I interactions, Curr. Opin. Immunol., 1997; 9:126-131.

2- Trinchieri G., Biology of natural killer cell, Adv. Immunol., 1989; 47: 187-376.

3- Moretta A., Bottino C., Vitale M., et al., Receptors for HLA class- I molecules in human natural killer cells, Annu. Rev. Immunol., 1996; 14: 619-648.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]

4- Ljunggren H.G., Karre K., In search of the "Missing self": MHC molecules and NK cell recognition, Immunol. Today, 1990, 11: 237-244.

5- Hugh. Reyburn, ofer. Mandelboim, Mar vales. Gomez, et al., Human NK cells: their tigahels, receptors and functions, Immunol., Rev 1997, 155,119.

6- Alessandro Moretta, Roberto Biassoni, Cristina Bottino, et al., MHC class I-specific receptors on human NK and T lymphocytes, Immunol. Rev. 1997, 155, 105.

7- Lopez-Botet and Bellon T., Natural killer cell activation and inhibition by receptors for MHC class I, Curr. Opin. Immunol., 1999,II: 301-307.

8- Lanier L.L., NK cell Receptors, Annu. Rev. Immunol., 1998, 16: 359-393.

9- Brodsky F.M., Parham P., Branstable C.J., et al., Monoclonal antibodies analysis of the HLA system\ Immunol. Rev., 1979, 47: 3-39.

10- Heo D.S., Park J.G, Hata K., et al., Evaluation of Tetrazolium - Based Semiautomatic Colorimetric assay for measurment of human antitumor cytotoxicity, Cancer Res., 1990; 50: 3681-3690.

11- Karre K. How to recognize a foreign submarine, Immunol. Rev., 1997, 155: 5-9.

12- Pena J. and solana R., Histocompatibility antigens and natural killer susceptibiliy, Immunol. Rev., 1990, 11: 133-140

13- Moretta L.,Biassoni R., Bottino C., et al., Human NK-cell receptors, Immunol. Today, 2000, 21: 420- 422.

14- Moretta A. And Moretta L., HLA class I specific inhibitory receptors, Curr. Opin. Immunol., 1997, 9: 694-701.

15- Rolstad B. And seaman W.E., Natural killer cells and recognition of MHC class I molecules: New perspectives and challenges in immunology, scand. J. Immunol., 1998, 47:412-425.

16- Lanier L.L., Corliss B., Phillips J.H., Arousal and inhibition of human NK cells, Immunol. Rev., 1997, 155: 145-154.

17- Colonna M., Moretta A., Vely F, et al., Ahigh-resolution view of NK- cell receptors: Structure and function, Immunol today, 2000, 21:428-431.

18- Moretta A., Biassoni R., Bottino C., et al., Natural cytotoxicity receptors that trigger human NK-cell-mediated cytolysis, Immunol. Today, 2000,21: 228-234.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]

EXPRESSION OF HLA CLASS-IA ON TUMOR CELL LINES AND THEIR SUSCEPTIBILITY TO NK CELL

H. Bazzazi, MSC[I] *F.D. Fateminasab, PH.D*[II] **K. Entezami, PH.D*[III] *A.R. Salek moghaddam, PH.D*[IV] *SH. Shahghasempour, PH.D*[IV]

ABSTRACT

Natural Killer cells (NKs), are considered an important first line of defence and were originally defined by their ability to kill certain tumor cells and virally infected cells. Our aim is to study expression of HLA class-Ia on tumor cell lines and their susceptibility of NK cells. In this study MDA-MB-468 tumor cell line (NCB1, C208) That derived from human breast adenocarcinoma, is selected as a model which expresses total alleles of HLA class I. To test HLA class I expression, we used the F.I.T.C conjugated$_m$ Ab W6/32 which recognize assembled HLA-A, B and C locus products. Surface expression of HLA class I on the cell line are determined with single- color flowcytometry analysis. NK cells are obtained from PBL of healthy donors. Results of our study indicate that expression of HLA class I molecules on MDA- MB- 468 Tumor cell line are increased after IFN-γ Treatment. Cytolytic activity of NK cells have direct correlation (r =1) with up- regulation of HLA class I expression on the MDA- MB- 468 tumor cell line.

Therefore, on the basis of this results, we suggest that, on the surface of NK cells may exsist activating receptors that recognize allogenic HLA class I molecules and/or non HLA class I ligand that is upregulated by IFN- & treatment, and cause lysis of target cells.

Key Words: 1) Human Leukocyte Antigen (HLA) 2) Natural killer cell (NK) 3) Tumor cell line (TCL) 4) Monoclonal Antibody ($_m$ AB) 5) Major Histo compatibility complex (MHC)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-05]

This article is the summary of the thesis of H.Bazzazi, MSC under supervision of K.Entezami, PH.D, 2000. also is presented in congress of Immunology,Tarbiat Modaress university, Tehran, Iran.2000

I) *MSC in Immunology, Instructor, Azad university of Gorgan, Golestan, Iran.*

II) *Ph.D, Assistant professor of Immunology Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran,Iran.*

III) *Ph.D, Assistant professor of Immunology Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.(* Corresponding Author)*

IV) *Ph.D, Assistant professor of Immunology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran,Iran.*

IV) *Ph.D, Assistant professor of Immunology, Masih Daneshvari hospital, Dar Abad, shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran,Iran.*