

HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE

Ali Uğur Ural

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

Embriyonal gelişim esnasında hematopoetik kök hücreler (HKH) önce yolk sac'dan fetal karaciğere sonra da dalak ve kemik iliğine göç ederler. Erişkinlerde, az sayıda kök hücre periferik kanda dolaşır, bu sayı kemoterapi veya büyüme faktörleriyle artırılabilir. HKH'ler kemoterapi ve/veya radyoterapi ile miyeloablasyon sağlanan hastalara verildiğinde adezyon molekülleri sayesinde kemik iliğinde yerleşir ve yeni kan hücrelerini oluşturur, yani engraftment özelliği gösterir. Tüm bu işlemler homing (yerleşme, yerini bulma) olarak adlandırılır. Moleküler seviyede, bu basamakların her birisine hücre yüzeyinde sitoadezyon molekülleri ile vasküler endotel ile kemik iliği (KI) mikroçevresinde bulunan ligandları arasındaki etkileşim aracılık eder. Allojeneik KIT ile lösemiler, kemik iliği yetmezlikleri, prelösemik sendromlar tedavi edilirken, yüksek dozda kemoterapi uygulanmasına imkan sağlayacak otolog KIT ile çoğu solid tümörlerin tedavisi mümkün olmaktadır. Periferik kanda gözlenen tüm kan elemanları HKH'den kaynaklanırken, kemik iliğinde HKH'nin kendini yenilemesi ve farklılaşması destekleyici mikroçevrenin veya niş'in (niche) varlığına çok sıkı olarak bağlıdır.

HKH'ler, 104- 105 toplam kan hücreleri içerisinde 1 sıklıkla bulunurlar. Bazı yüzey belirteçlerinin tanımlanmasıyla belirlenebildikleri halde, pratikte heterojen bir grup olarak tanımlanırlar. Doğum sonrası, HKH'ler kemik iliği, kordon kanı ve mobilize edilmiş periferik kan gibi hematopoetik dokularda bulunurlar. Lineage belirteçlerinin yokluğu (Lin-) ile birlikte bazı belirteçlerle tanımlanırlar. HKH'lerin en önemli belirteçlerinden birisi CD34'dür. Bu, insan kemik iliği hücrelerinin %0.5-5 inde ifade olur. Erken progenitorlarda bulunurken daha olgun hücrelerde bulunmaz. Yakın zamanlar-

da fare ve insanlarda, koloni oluşturabilme yeteneğine sahip HKH'ler CD34+ ve CD34- grupları içerisinde bulunmuştur. Bu hücreler ayrıca Lin- ve CD38- ifade ederler. CD34 ile birlikte diğer yüzey belirteçleri daha primitif hücre gruplarını tanımlamakta kullanılmıştır (CD34+CD38- hücreler gibi). Uzun süreli koloni oluşturabilen hücrelerin büyük çoğunluğu, CD34+CD38lo grupla kıyaslandığında CD34+CD38- içinde bulunmuştur. CD34+CD38lo grubu daha diferansiyel olmuş hücrelerden oluşur; uzun-süreli engraftment ve bipotent lenfomyeloid kapasitelerini kaybetmişlerdir. İnsan HKH'lerinde CD133 de bulunur ve kaynağına bağlı olmak üzere CD34+ ve CD34- belirteci de ifade ederler. Hematopoetik potansiyelli kök hücrelerin saflaştırılmasında kullanılan diğer önemli belirteçler arasında vasküler endotelial büyüme faktör reseptör 2 (VEGFR-2), CD90 (Thy-1), CD117 (c-kit), CD164, CXC-kemokin reseptör 4 (CXCR-4), p-glikoprotein, Sca-1, AA4, CD45 sayılabilir.

Kemik iliğinde ve kordon kanında bulunan ve in vivo engraft olma özelliğine sahip HKH'ler ve büyüme faktörleriyle mobilize edilmiş periferik kan kök-progenitör hücreler daha olgunlaşmış hematopoetik progenitör hücreleri (HPH) oluştururlar. İnsanlarda, HKH ve HPH'lerin çoğu CD34 fosfoglikoprotein protein ve mRNA'yı taşırlar. In vivo engraft olma özelliğine sahip HKH'ler toplam CD34+ hücre topluluğunun <<%1'ini oluştururlar. Bu nedenle CD34+ HKH'ler, erken HKH'ler ve çok sayıda çeşitli gelişim basamaklarında committed-HPH'ler gibi heterojen bir hücre grubundan oluşurlar. Toplam CD34+ hücre topluluğu ile karşılaştırıldığında bu in vivo engraft olma özelliğine sahip HKH'ler içinde, CD34+/CD38-/Lin- hücreler oldukça zengindir. HPH subpopülasyonu içerisinde rodamin veya

Hoecscht boyalarını dışarı pompalama ve CD133 taşıma gibi diğer daha özel markerlar da bulunur. Hematopoesis, CD34+ HKH'lerin kendi kendilerini yenileme, diferansiyasyon ve migrasyonunun dengelenmesi ile karakterizedir. Hematopoesis esnasında, periferik kanda az miktarda CD34+ hücrelerin bulunması, HKH'lerin KI ile diğer organlar arasında sürekli bir hareketini akla getirir. Kemoterapiden sonra kemik iliğinin tekrar yapılanması ve büyüme faktörlerinin uygulanması CD34+ hücrelerin periferik kan içerisine mobilizasyonunu kolaylaştırır. Kemik iliği ve mobilizasyondan sonra periferik kanda bulunan CD34+ hücrelerde transkripsiyon faktörlerinin tanımlanması, CD34+ hücrelerin kendi kendilerini yenileme, diferansiyasyon, mobilizasyon ve migrasyon özelliklerini de ortaya çıkarır.

Kemik iliğinde Angiopoietin-1 (Ang-1) osteoblastlar tarafından ifade edilir, reseptörü olan Tie2 ise HKH'lerin üzerinde bulunur. Özellikle Tie2 bulunduran HKH'ler kemik yüzeyine yakın yörede ve Ang-1 ifade eden osteoblastlarla bağlantı içerisindedirler. Bu bağlantı HKH'leri istirahata sevk eder, kemiğe daha güçlü bağlantı oluşturur ve hücreleri kemoterapi hasarından korur. Ang-1/Tie2 sinyali aynı zamanda HKH üzerinde β 1-integrin ve N-cadherin (N-CAD) ifadesinin artışına da sebep olur. N-CAD'da HKH adezyonunun sağlanmasında önemli başka bir adezyon molekülüdür. Osteoblast üzerindeki N-CAD, β -katenin ile veya bazı kaynaklara göre de bazı HKH'ler üzerinde ifade edilen N-CAD ile dimerize olarak HKH'lerin niş içerisinde kalmasını sağlarlar. β 1-integrinler'den olan (very late antigen) VLA-4 osteoblast üzerinde ifade edilen fibronektin ve vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM1) ile bağlanarak, HKH'leri istirahata sevk eder ve apoptozisden korur. Dolaşımda bulunan HKH'lerde kemik iliğinde bulunana kıyaslandığında daha düşük seviyede VLA-4 bulunur. VLA-4 antikoru ile tedavi edilen farelerde HKH engraftmanı olmamıştır. VLA-4 aracılı adezyon etkileşimleri, HKH'lerin periferik kana mobilizasyonunda, kemik iliği mikroçevresine yerleşmesinde etkili bulunmuştur. Hücre akıbetini düzenleyen diğer bir regülatör de Annexin II (Anxa2) dir, endosteal osteoblastlarda ve kemik iliği endotel hücrelerinde ifade edilirler. Anxa2 eksik farelerin kemik iliklerinde daha az HKH bulunmuş, transplantasyon yapılanlarda daha az engraftment ve yaşam süresi tespit edilmiştir. Böylece, Anxa2'nin HKH yerleşmesinde ve engraftment'da etkili olduğu tespit edilmiştir.

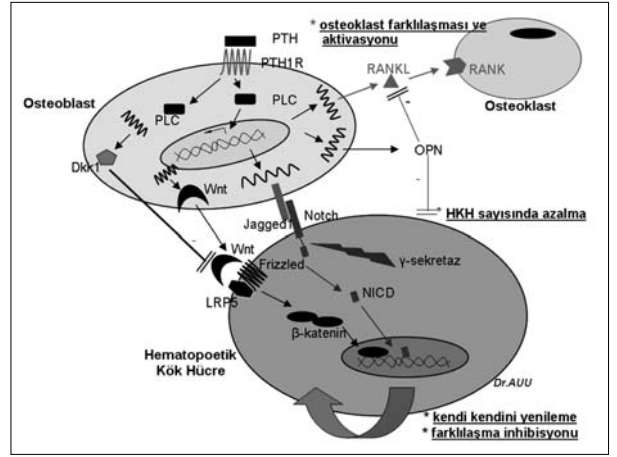
HKH'nin istirahati, kendini yenilemesi ve farklılaşmasında osteoblastlarla yapmış olduğu adezyon da önemlidir. Osteoblastlar HKH üzerindeki regülasyonu hücre-yüzey adezyon molekülleri ve salgıladıkları sitokinlerle yaparlar. CXCL12/CXCR4 etkileşimi HKH'nin endosteal niş'de yerleşmesinde ve HKH'nin G-CSF aracılı mobilizasyonunda önemlidir. CXCL12 kemik iliğinde osteoblastlar ve endotel hücreleri tarafından oluşturulur, bunu PTH regüle eder. CXCL12 bulunmayan farelerde hematopoez defekti vardır. CXCL12'nin reseptörü olan CXCR4'e bağlanması, HKH'lerin yerleşimini ve kemik iliği tekrar yapılanmasını sağlar, HKH'leri istirahate (G0) sevk eder. CXCR4'ün yok edilmesi, HKH'lerin G0'dan çıkmalarına ve hücre siklusuna girmelerine sebep olur.

Kemik iliğinde, mezankimal kök hücrelerden oluşan kemik iliği stroma hücreleri niş'in fiziksel yapılarını oluştururlar. Kemik iliği stroma hücreleri salgıladıkları sitokinler ve hücre-hücre adezyonuyla başlatılan hücrelerarası sinyallerle HKH'lerin kendilerini yenileme ve farklılaşmasını düzenlerler. Kemik iliği stroma hücreleri, mezankimal kök hücrelerden (MKH) köken alan osteoblast, endotel hücreleri, fibroblastlar ve yağ hücrelerinden oluşur. Bu hücreler arasında osteoblastlar ve endotel hücreleri sırasıyla endosteal ve vasküler niş'i oluşturarak HKH'nin devamı ve fonksiyon görebilmesi için gerekli mikroçevreyi oluştururlar. Endosteal niş kemik yüzeyinde lokalize olup, istirahatte (G0) olan HKH'ler burada osteoblastlarla ve CXCL12-bol retiküler hücrelerle (CAR) bağlantı içerisindedirler. Vasküler niş ise kemik iliği sinüzoidleri yöresinde lokalizedir. Burada bulunan HKH'ler daha çok kendini yenileyen veya farklılaşan hücrelerdir. Kök hücre- niş etkileşimleri, HKH istirahati, kendini yenilemesi ve farklılaşması arasında bir denge sağlar. Örneğin endosteal niş yöresinde, osteoblastlarla HKH'ler arasındaki yakın ilişki, HKH istirahati ile kemik iliğine hareketi arasındaki dengeyi sağlar. Vasküler niş yöresi ise, HKH'lerin çoğalma, farklılaşma ve transendotelial hareketinin sağlandığı yöredir. Vasküler niş kavramı da osteoblastlar olmadan HKH'lerin patolojik durumlarda dalak veya karaciğer gibi ekstramedullar yörede yaşayabilmesi için önemlidir.

Endosteal niş'in asıl hücrelerini oluşturan osteoblastlar üzerinde PTH1R bulunur. Paratiroid hormon (PTH) PTH1R etkileşimi osteoblast sayısını, trabeküler kemik hacmini ve HKH sayısını artırır. PTH1R üzerine PTH etkisi, hücre içinde fosfolipaz C (PLC), adenilat siklaz (AC) ve protein kinaz A

(PKA) yollarının aktivasyonuna sebep olur. PKA aktivasyonu osteoblastta Jagged1 ifadesinin artışına sağlar. Jagged1, HKH üzerine Notch reseptörleri ile etki eder ve Notch'un hücre içi parçası olan Notch-hücre içi parçasının (NICD) γ -sekretazlarca kırılmasına ve bunun çekirdeğe giderek HHK'lerin özellikle kendini yenilemesi sağlanması ve farklılaşmasının inhibisyonunu sağlayan genlerin ortaya çıkmasını sağlar (Şekil). Wnt, osteoblastlar tarafından oluşturulur ve salınır. HKH üzerindeki Wnt reseptörü sarmal durumda olup, lipoprotein reseptör alakalı- protein (LRP) ile bağlantı içerisinde. Bu uyarıyı, hücre içinde β -katenin'in çekirdeğe yer değiştirmesine ve Notch sinyalinde olduğu gibi HHK'lerin kendini yenilemesi sağlanması ve farklılaşmasının inhibisyonunu sağlayan genlerin ortaya çıkmasını sağlar. Wnt sinyali ayrıca, HKH'lerin normal sitokinlere büyüme cevabı açısından da gereklidir. Axin gibi Wnt sinyal inhibitörleri veya sarmal ligand- bağlı reseptörün inhibisyonu in vitro olarak HKH'lerin büyümesinin inhibisyonunu ve in vivo tekrar yapılanmayı engeller. HKH'lerde Wnt yolağının aktivasyonu, HKH'lerin kendini yenilemelerinden sorumlu olan HoxB4 ve Notch ifadelerinin artışına sebep olur. İlave olarak, sağlam Notch sinyali Wnt sinyalinin aracılık ettiği HKH'lerin farklılaşmadan kalmasında da yardımcı olur, ancak bu in vitro olarak hücre yaşamında veya hücre siklusuna girişte etkili değildir. Osteoblastlar ayrıca Wnt sinyalini inhibe eden Dickkopf1 (Dkk1) de salgılar. Bu da transplantasyondan sonra kemik iliği tekrar yapılanmasını engeller (Şekil).

Yapılan çalışmalarda kemik iliğinde yüksek miktarda CXCL12 ifade eden bir grup retiküler hücre (CAR hücreleri) tanımlanmıştır. Bu hücrelerde CXCL12/CXCR4 etkileşimi erişkin kemik iliğinde HKH havuzunun devamı için gereklidir. CAR hücrelerinin hem vasküler ve hem de endosteal niş yöresinde bulunması bu iki niş arasında fonksiyonel bir bağlantıyı gösterir.



PTH'nin PTH1R aracılığıyla osteoblast üzerine etkisi, osteoblastlarda RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) ve OPN (osteopontin) üretimini artırır. RANKL'ın osteoklast üzerinde RANK ile etkileşimi, osteoklast farklılaşma ve aktivasyonunu sağlar. Bu aktivasyon, MMP-9 ve katepsin-K aracılığıyla CXCL12'nin yıkılmasına ve HKH'lerin dolaşıma mobilizasyonuna sebep olur. Kemik anabolik ajanı olan strontium ile osteoklast aktivasyonunun engellenmesi, osteoblast sayısını artırır, kemik iliği nakli yapılan farelerde hematopoetik yapılanmayı geciktirir.

OPN özellikle aktif kemik yeniden yapılanmasının olduğu alanlarda ve endosteal niş yöresinde bulunan osteoblastlardan salınır. Osteoklastlara etkisi açısından RANKL'ın bir inhibitörü olup, RANK için RANKL ile yarışır ve osteoklast aktivasyonunu engeller. Bu nedenle OPN eksik olan hayvanlarda osteoklast gelişimi hızlanmış ve şiddetli osteoporoz vardır. Bunun yanında OPN, HKH üzerinde bulunan CD44, α 4 ve α 5 β 1 reseptörlerine bağlanarak HKH sayısını negatif yönde etkiler. Böylece OPN, HKH havuzunun negatif bir regülatörü olarak etki eder. OPN eksikliği, Tie2 ve Notch ligandı Jagged1 ifadesini artırarak ve HKH apoptozisini azaltarak kemik iliğinde HKH sayısını artırır (Şekil).

Kaynaklar

1. Shiozawa Y, Havens AM, Pienta KJ, Taichman RS. The bone marrow niche: habitat to hematopoietic and mesenchymal stem cells, and unwitting host to molecular parasites. *Leukemia*. 22:941-950, 2008.
2. Porter RL, Calvi LM. Communications between bone cells and hematopoietic cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 473:193-200, 2008.
3. Huang X, Cho S, Spangrude GJ. Hematopoietic stem cells: generation and self-renewal. *Cell Death and Differentiation*. 14:1851-1859, 2007.
4. Wu JY, Scadden DT, Kronenberg HM. Role of osteoblast lineage in the bone marrow hematopoietic niches. *Journal of Bone and Mineral Research*. 24:759-764, 2009.
5. Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *The Journal of Clinical Investigation*. 116:1195-1201, 2006.
6. Raaijmakers MHGP, Scaden DT. Evolving concepts on the microenvironmental niche for hematopoietic stem cells. *Current Opinion in Hematology*. 15:301-306, 2008.
7. Trowbridge JJ, Moon RT, Bhatia M. Hematopoietic stem cell biology: too much of a Wnt thing. *Nature Immunology*. 7:1021-1023, 2006.
8. Can A. Hematopoietic stem cell niches: Interrelations between structure and function. *Transfusion and Apheresis Science*. 38:261-268, 2008.
9. Kaplan RN, Psaila B, Lyden D. Niche-to-niche migration of bone marrow-derived cells. *Trends in Molecular Medicine*. 13:72-81, 2007.
10. Valtieri M, Sorrentino A. The mesenchymal stromal cell contribution to homeostasis. *Journal of Cellular Physiology*. 217:296-300, 2008.
11. Arai F, Suda T. Maintenance of quiescent hematopoietic stem cells in the osteoblastic niche. *Annals of New York Academy of Science*. 1106:41-53, 2007.
12. Metcalf D. Concise review: Hematopoietic stem cells and tissue stem cells: Current concepts and unanswered questions. *Stem Cells*. 25:2390-2395, 2007.
13. Ural AU, Avcu F, Baran Y. Bisphosphonate treatment and radiotherapy in metastatic breast cancer. *Medical Oncology*. 25:350-355, 2008.