

Metastaz biyolojisi

Prof. Dr. İbrahim H. Güllü¹
Dr. İbrahim Akalın²

¹ Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Ankara.

² Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

Summary

Metastatic biology

Tumor metastasis is the dominant cause of death in cancer patients. Though, the molecular and cellular mechanisms underlying the tumor metastasis are still elusive, researches on identification of protein molecules with their expressions allied to the metastatic process would help to understand the metastatic mechanisms. Thus, they facilitate the development of both strategies for the therapeutic interventions targeting the metastatic mechanisms and novel insights for clinical management of the cancer.

Günümüz teknolojisiyle birlikte kanser biyolojisinin daha iyi anlaşılması, kanserden korunmada ve tedavisinde kayda değer gelişmeler sağlamış olsa da gelişmiş ülkelerde kanser nedeni ölümler halen yüksek düzeylerde bulunmakta ve toplumdaki tüm ölümlerin % 25' ini oluşturmaktadır [1]. Kanserden ölümlerin % 90'ından ise metastaz gelişimi sorumludur [2]. Metastaz, kanser hücrelerinin köken aldıkları bölgeden vücudun farklı doku ve organlarına yayılmasıdır. Bu, anjiyenez, invazyon, migrasyon-motilite, extravazasyon ve proliferasyon gibi birbirleriyle ilişkili bir dizi kompleks ve çok basamaklı olaylar zinciri ile gerçekleşir [3]. İlk olarak, tümör hücreleri yeni damar oluşumunu uyarırlar ve sonra komşu hücrelerle olan bağlarını kopararak primer tümör dokusundan ayrılırlar. Tümör hücreleri daha sonra extraselüler matrikse geçerek burada ilerlerler ve çevre dokulara ulaşırlar ya da dolaşım sistemine geçip uzak dokuları işgal ederler. Bu sayede yaşamlarını ve çoğalmalarını sürdürürler [4]. Konvansiyonel tedavilere dirençli olup prognozu kötüleştirerek yaşam sürecini kısaltan metastaz gelişimi, bu noktada yoğun ilgi çekmiş ve moleküler mekanizmalarının aydınlatılmasıyla metastaz basamaklarını da hedefleyen yeni tedavi stratejileri gündeme gelmiştir.

Anjiyenez ve antianjiyenez tedavileri

Yeni damar yapımı (anjiyenez, neovaskülarizasyon) vücutta fizyolojik olarak yara iyileşmesi; embriyogenez, menstrüel siklus vb. durumlarda söz konusudur. Patolojik anjiyenez ise başta tümörler olmak üzere kollajen doku hastalıkları (romatoid artrit vb.), retinopatiler ve psoriasis gibi hastalıklarda görülür [5]. Hızlı büyüyen tümörler, tümör kitlesi 1-2 mm³lük hacme ulaştıktan sonra oksijen ve besin desteği sağlayabilmek için ilk aşama olan anjiyenez uyarırlar. Anjiyenez, çevresel ve genetik değişimlerin etkisinde anjiyenez faktörleriyle inhibitör faktörler arasındaki dengeyi anjiyenez aktivatörleri lehine kaymasıyla gelişir [6]. Tümör iliş-

kili anjiyenez; spesifik büyüme faktörlerine, endotel hücre reseptörlerinin aktivasyonuna ve endotel hücrelerinin çoğalma kapasiteleri ile buna hizmet eden hücre dışı matriks komponentlerine bağlıdır.

Anjiyenez ajanları

Anjiyenezde birçok ajan rol alır. Bunlar tümör hücrelerinden, monosit, fibroblast gibi ortamdaki diğer hücrelerden ya da kollajen matriksin yıkımı sonrasında açığa çıkabilirler [7]. Anjiyenez ajanları içinde en önemli ve üzerinde en çok durulanı Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)'dür. Vascular Permeability Factor (VPF) olarak da bilinir. Önceleri iki ayrı yapı zannedilirken aynı protein oldukları gösterilmiştir ve daha çok VEGF olarak adlandırılmaktadır. VEGF homodimerik, heparin-binding glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. VEGF A, B, C, D, E, ya da aminoasit sayılarına göre VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆ ve VEGF₁₄₅ gibi isoformları bulunmaktadır [8]. VEGF biyolojik aktivitesini temel olarak üç reseptörü ile gerçekleştirir. Tirozin kinaz yapısında olan bu reseptörleri VEGF-R1 (flt-1), VEGF-R2 (flk-1/KDR) ve VEGF-R3 (flt-4) olarak sıralanabilir. Bunlardan VEGF-R1 ve R2 endotel hücreleri üzerinde iken VEGF-R3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır [9-11]. VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon, ve diferansiyasyonunu sağlar [12]. Nitric oxide (NO) ise anjiyenezin VEGF-bağımlı bir mediyatörüdür. VEGF'in NO sentez enzimi üzerindeki uyarıcı etkisi sonucu oluşan NO endotel hücre migrasyonunda rol alır [13]. Başta RAS, SRC ve HER-2 onkogenleri olmak üzere VEGF düzeyi; p53 gen mutasyonu, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-13, FGF-4, PDGF, TGF- β , IGF-1, TNF- α ve NO gibi birçok endojen ajan ile düzenlenmekte ve tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonu artmaktadır. Düşük glikoz seviyesi, oksidatif stres ve özellikle hipoksik ortamda düzeyi hızla artan hypoxia-inducible transcription factor-1 (HIF-1) de VEGF salınımlarında etkili rol oynamaktadır. Ayrıca, VEGF muhtemel temel anjiyenez faktörü olma özelliği yanında; VEGF'e maruz kalan damarlarda, endotel hücreleri arasında fenestrasyon, vesiküler organeller ve transselüler gap oluşumuna olanak sağlayarak vasküler permeabiliteyi artırır. Endotel hücreleri için migratuar özelliğinin yanı sıra VEGF; hücre dışı matriks yıkımından sorumlu olan matriks metalloproteinazlar ile urokinaz ve doku- tipi plazminojen aktivatörlerinin salınımını da uyarır. Böylelikle invazyon ve metastazı da kolaylaştırır [14].

VEGF reseptörlerine benzer olarak bir diğer grup reseptör tirozin kinaz üyesi de yeni damar oluşumuyla ilgilidir. Bu grup, endotele özgü Tie (Tyrosine kinase with Immunoglobulin and Epidermal growth factor homology) reseptör ailesi olarak bilinir. Tie1 ve Tie2 reseptörleri se-

lektif olarak endotel hücreleri üzerinde bulunur ve embriyonik vasküler yapının oluşumu için gereklidirler [15]. Bu reseptörler endojen anjiojenez aktivatörü olan Angiopoietin-1 (Ang-1)'in reseptörleridir. Ang-1 kapiller damarları güçlendirir, perisitleri stabilize ederek endotel hücre yaşam süresini artırır ve yeni oluşan vasküler yapıyı güçlendirir [16, 17]. Ang-1, Tie2 reseptörü için doğal bir agonist iken Ang-2, endotel hücreleri için antagonist etki gösterir. Ang-1, VEGF gibi endotel hücreleri için mitojenik etki göstermeden endotel hücrelerinin kendi arasındaki ve çevredeki düz kas, perivasküler alan ya da ekstraselüler matriks ile olan ilişkisini güçlendirir. Ang2 ise Ang1'e ters etki olarak damarları destabilize eder ve yoğun olarak damar yeniden yapım bölgelerinde artmış olarak bulunur. Ang2'nin bu destabilizör etkisi belki de vasküler yapıyı tümör dokusunda VEGF gibi mutajen ajanlara daha duyarlı kılmaktadır [18].

PDGF; Thymidine Phosphorilase etkisi gösterir ve timidini timine defosforilleyerek serbest radikal oluşumunu artırmak suretiyle anjiojenez genlerini aktive eder [19].

Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2, bFGF) ise bir diğer heparine bağlanan anjiojenik proteindir. FGF, endotel hücrelerinde çoğalma ve epiplast hücrelerinin endotel hücrelerine farklılaşmasını sağlar. Ayrıca, bFGF doğrudan veya dolaylı olarak endotel hücre aktivitesini düzenler. Potent bir endotel hücre stimülatörü olan bFGF; endotelde migrasyon, proliferasyon ve tüp formasyonunda sorumludur [20]. bFGF ile VEGF'in anjiojenez üzerinde sinerjistik etki gösterdikleri bilinmektedir. Fakat farklı olarak bFGF'siz ortamda yapılan fare deneylerinde damar oluşumunun gözlenmesi bFGF'in özellikle erişkin vasküler yapının korunması ve yara iyileşmesinde etkili olduğu düşünülmektedir [21]. PDGF ve bFGF de heparine bağlı peptid yapıda büyüme faktörleri olarak VEGF gibi tirozin kinaz reseptörleri üzerine etki ederek dimerizasyon, otosfosforilasyon ve neticede mitogen activated protein kinaz (MAPK) gibi intrasellüler kinazların aktivasyonunu sağlarlar. Böylece activator protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörleri uyarılarak mitojenik etkili genlerde cevap oluşturulur. PDGF'in özellikle yüksek gradeli glial tümörlerde overekspresye olduğu bilinmektedir [22].

Transforming Growth Factor- β (TGF- β); tümör anjiojenezindeki rolünü endotel hücreleri üzerindeki kemotaktik etkisi ile gerçekleştirir. Bunu Tenascin gibi endotel hücrelerinin yapışmasını ve göçünü sağlayan matriks proteinlerinin yapısını artırarak gerçekleştirir. Bu sayede tümör hücrelerinin invazyon ve metastazına da olanak sağlamaktadır. Ayrıca VEGF ve VEGF reseptörlerinin ekspresyonunu da uyararak anjiojenezde proliferatif aşamada da rol alır [23].

“Metastaz, kanser hücrelerinin köken aldıkları bölgeden vücudun farklı doku ve organlarına yayılmasıdır. Bu, angiogenez, invazyon, migrasyon-motilite, extravazasyon ve proliferasyon gibi birbirleriyle ilişkili bir dizi kompleks ve çok basamaklı olaylar zinciri ile gerçekleşir [3]. İlk olarak, tümör hücreleri yeni damar oluşumunu uyarırlar ve sonra komşu hücrelerle olan bağlarını kopararak primer tümör dokusundan ayrılırlar. Tümör hücreleri daha sonra ekstraselüler matrikse geçerek burada ilerlerler ve çevre dokulara ulaşırlar ya da dolaşım sistemine geçip uzak dokuları işgal ederler. Bu sayede yaşamlarını ve çoğalmalarını sürdürürler.”

EGF ve TGF- α ise yine bir tirozin kinaz reseptörü olan EGF reseptörlerine bağlanırlar. Her ikisi de endotel hücreleri için mitojenik etki göstererek anjiojenez uyarırlar. Endotel hücrelerinde proliferasyon ve migrasyonda rol alan diğer bir sitokin ise Scatter factor/hepatocyte growth factor (SF/HGF)dür. Etkisini c-Met protooncogeni ürünü olan bir transmembran tirozin kinaza yüksek affinite ile bağlanarak gerçekleştirir [24, 25].

Anti-anjiojenik tedaviler

Vücutta her sistemde olduğu gibi bu sistemin de inhibitörleri mevcuttur ve anjiojenez, aktivatörleri ile inhibitörleri arasındaki dengeye bağlı olarak aktive veya inhibe olmaktadır. Anjiojenik faktörler ile anti-anjiojenik faktörler arasındaki bu denge tümör dokusu gibi hızla çoğalan hücrelerin bulunduğu ortamda hücrelerin çoğalması ve yaşam sürelerinin uzaması için temel unsur teşkil eden anjiojenez lehine bozulmaktadır. Bu noktada anjiojenezin inhibisyonu için değişik stratejiler öne sürülmüştür. Bu stratejiler; anjiojenik faktörlerin inhibisyonu, doğal anti-anjiojenik faktörlerin uygulanması (Endostatin, Angiostatin vb.), endotel hücrelerinin inaktivasyonu, yeni damarların hücre dışı matriks ile etkileşimini bozacak moleküllerin uygulanması (matriks metallopro-

teinaz inhibitörleri) şeklinde özetlenebilir.

Tümörler, anjiojenik faktörlerin üretimini karakterize dokular olduklarından, bunların ekspresyonunun ya da etkilerinin inhibisyonu tümör anjiojenezinin baskılanmasında indirek ancak etkili bir yaklaşımdır. Öncelikli hedefler içinde en çok tercih edilenler VEGF ve VEGF reseptörleridir. VEGF'in endotel hücreleri üzerinde bulunan transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması ile tetiklenen sinyal yolu birçok seviyede farklı açılardan inhibe edilerek VEGF in etkinliği önlenilmektedir [26, 27]. Bu amaçla anti-VEGF stratejileri geliştirilmiştir. Bu stratejiler VEGF ve VEGF'in endotel hücreleri üzerinde bulunan VEGFR-1/Flt-1 ve VEGFR-2/Flk-1 gibi tirozin kinaz bağımlı reseptörleriyle ilişkilidir [28]. Bu amaçla;

1. Soluble rekombinant Flt-1 reseptörleri,
2. Anti-VEGF Antikorları (rhuMab VEGF, Bevacizumab, Avastin®; VEGF-trap)
3. Anti-VEGFR antikorları ()
4. Küçük molekül ağırlıklı VEGFR inhibitörleri (SU5416, SU6668, SU11248, PTK787, ZD6474, CP-547,632)
5. Anti-VEGF gen modaliteleri geliştirilmiştir.

VEGF sistemi aynı zamanda monoklonal antikorlarla ya da spesifik tirozin kinaz inhibitörleri aracılığıyla VEGF'in reseptörleri hedef alınarak da inhibe edilebilir. Bunlar anjiojenezde direk veya indirek olarak rol alan VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (Flk-1), Tie-1 ve Tie-2 gibi reseptörleri hedef alan küçük moleküllerdir. Bunların içinde ise en önemlisi, özellikle tümör dokusunda endotel hücre proliferasyonu ve kemotaksisinden sorumlu olan Flk-1 (VEGFR-2)'dir [29]. SU5416 temelde VEGFR-2 (Flk-1/KDR) reseptörlerini hedef alarak reseptör bağımlı tirozin kinazı inhibe eden sentetik, küçük molekül ağırlıklı etkili bir angiogenez inhibitörüdür. Yapılan birçok çalışmayla epidermal karsinom, fibrosarkom, gliom, akciğer ca, meme ca, malign melanom ve prostat kanseri gibi kanserlerde anjiojenezin inhibe ederek tümör kitlesinde belirgin küçülme sağladığı gösterilmiştir [30].

Anjiojenezin vücutta doğal inhibitörleri vardır ve bazılarının potent oldukları anlaşılmış ve yapıları izole edilmiştir. Bu potent inhibitör ajanlardan Trombospondin, Angiostatin, Endostatin ve İnterferonlar anti-anjiojenik tedavide kullanılmaktadır. *Thrombospondin-1*; endojen olarak üretilen bir endotel hücre inhibitörüdür. Oldukça büyük bir protein olmasına rağmen TSP-1'in anti-anjiojenik etkisi proteinin N-terminal kısmında bulunur. Bu nedenle ABT-510 gibi TSP-1 proteininin aktif kısmını taklit eden rekombinant proteinler üretilmiştir. *Endostatin ve Angiostatin*; her ikisi de endotel hücrelerinde apoptozu indükleyen ve migrasyon ve proliferasyonu önleyen endojen anti-anjiojenik faktörlerdir. Endos-

tatin kollajen XVIII'in 20kDa'luk, angiostatin ise plazminojenin 38 kDa'lık fragmanıdır. Rekombinant Endostatin' in i.v. bolus enjeksiyonları sonrasında hiçbir yan etki görülmemiş olması umut verici olmuştur [31]. *Interferonlar*; immünomodulator, antiviral, ve anti-anjiyojenik özellikleri olan doğal sitokin ailesidir. Anti-anjiyojenik aktiviteleri ilk kez hayat kurtarıcı olarak çocukluk hemangiomalarında gösterilmiştir. Ayrıca Kaposi sarkomunda da etkili oldukları bilinmektedir (48). Anjiyojenezi, endotel hücreleri üzerinde antimitotik ve antimigratuar etkiyle birlikte parankimden bFGF salınımını önleyerek bloke ederler [32]. Diğer endojen anjiyojenez inhibitörlerini ise maspin, angiopoietin, protamin, retinoik asit ve de özellikle farklı bir etkiyle anjiyojenezi inhibe eden endojen matriks metalloproteaz inhibitörleri (TIMP'ler) olarak sıralayabiliriz.

Ayrıca, eski bir antiemetik ajan olan Thalidomide (NSC 66847) de günümüzde anti-angiogenik bir ajan olarak faz III aşamasında kullanılmaktadır. Yüksek doz kemoterapi sonrasında relaps gözlenen multiple myelomlu hastalarda yapılan çalışmalarda da önemli sonuçlar veren Thalidomide, antitümör etkisini anjiyojenik büyüme faktörleri olan bFGF ve VEGF'i inhibe ederek gerçekleştirmektedir [33]. Aspergillus Fumigatustan elde edilen sentetik bir mantar analogu olan Fumagillin (AGM 1470), in vitro ortamda DNA sentezini inhibe ederek endotel proliferasyonunu ve kapiller-benzeri tüp oluşumunu engeller. Hayvan modeli çalışmalarında AGM 1470'in angiogenezi inhibe ederek tümörün büyümesini baskıladığı gösterilmiştir [34]. Thalidomide ve Fumagillin gibi doğrudan endotel büyümesini inhibe eden ilaçlara, halen faz II klinik çalışmaları devam ve damar ağının hedef alan Squalamine ve Combrastatin de eklenebilir. *Vitaxin* ise subkütan uygulanan bir monoklonal antikordur. Sadece çoğalmakta olan endotel hücreleri üzerinde eksprese olan ve endotel hücrelerinin hücre dışı matriks ile ilişkisini düzenleyen integrin $\alpha\beta3$ 'ü hedef alır. Bu adezyon reseptörünün hedef alınmasıyla anjiyojenezde önemli birçok basamak olan hücre göçü, farklılaşması, proliferasyonu inhibe edilmekte ve apoptosis uyarılmaktadır. *Vitaxin* ek olarak *EMD121974* (Cilengitide), *SCH221153* te diğer anti-integrin ajanlardır [35, 36].

İnvazyon ve anti-invaziv tedaviler

Metastazın önemli bir basamağı olan tümör invazyonu kompleks ve dinamik bir olaydır. Tümör hücre invazyonu, her bir aşamasında farklı moleküllerin görev aldığı çeşitli alt basamaklardan oluşur. İlk aşama kanser hücrelerinin primer tümörden ayrılmasıdır (Detachment). Bu basamak hücre adezyon moleküllerinden E-Cadherin'le ilgilidir. Hücre içi partikül olan *catenin*lerle birlikte invazyonu önlerler. Ancak

“Günümüze kadar yapılan çalışmalarla metastaz gelişiminde rol alan birçok basamak ve moleküler ajan bulunmuş olsa da, halen tümör metastazının mekanizmaları tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Ancak, son yıllarda kanser tedavisi için yapılan yoğun araştırmalarla birlikte metastazın mekanizmalarının kısmen de olsa aydlatılmasıyla bu mekanizmaları hedef alan tedaviler geliştirilmeye başlanmış ve anti-metastatik tedaviler gündeme gelmiştir. Metastaz biyolojisi ile ilgili yapılan çalışmaların ürünü olarak antimetastatik tedavi modalitelerinin konvansiyonel tedavilere eklenmesiyle kansere yönelik savaşta yeni umutlar doğmuştur.”

günümüzde E-cadherin düzeyini artırmaya yönelik antimetastatik tedavi modaliteleri ele alınmamıştır.

İkinci aşama ise kanser hücrelerinin matrikse, endotel hücrelerine ve subendotelial bazal membrana tutunma aşamasıdır (Attachment). Bu aşamada hücre adezyon moleküllerinden İntegrin, Selektin ve Ig benzeri adezyon molekülleri görev alırlar. Transmembranöz bir protein olan integrinler, reseptörü olan α 3 (av- β 3) ile hücre-hücre, hücre-matriks ilişkisinde rol olarak invazyon ve anjiyojenez gelişiminde etkilidir [37]. Bu reseptörler aracılığıyla metastazın bu iki önemli basamağını birden hedef alan anti-integrin stratejileri geliştirilmiştir. Bu grupta anti-integrin antikoları; *Vitaxin* (LM 609) ile küçük molekül ağırlıklı integrin antagonistleri; *EMD-121974*, *MoAb 17E6* ve *Salmosin* bulunmaktadır. *Mab LM 609*, *av- β 3*'ün ligandıyla ilişkisini bloke ederek hücre adezyonunu engeller. Malign tümörlerde artan bFGF ve TNF- α gibi anjiyojenik moleküller de *Vitaxin* ile inhibe edilerek, yeni oluşan damar hücrelerinde apoptosis uyarılmakta ve neticede tümör kitlesinde belirgin bir küçülme sağlanmaktadır [38].

İnvazyon ve metastazda bir diğer basamak bazal membran ve extrasellüler matriks komponentlerinin yıkımıdır. Bu işlemde birçok proteolitik enzim görev alır. Proteoliz için başlıca

enzim grupları metalloproteazlar, plazminojen aktivatörleri (t-PA, u-PA) ve Cathepsin'lerdir. Matriksin ve bazal membranın yıkımından sorumlu bu enzimler içinde matriks metalloproteazlar özel bir yere sahiptir. Tümör hücreleri ve endotel hücreleri için en önemli bariyer olan bazal membranın içerdiği tip-IV kollejeni yıkan MMP-2 ve MMP-9, malignitenin derecesiyle korele olarak birçok metastatik tümörde yüksek olarak bulunmuştur. Bu amaçla, proteolizi engelleyen gerek fizyolojik gerekse sentetik inhibitörlerin bulunması kanser tedavisinde yeni umutlar doğurmuştur. MMP inhibitörlerinin invazyona paralel olarak anjiyojenezi de inhibe ettiği gösterilerek metastazı engellediği çeşitli çalışmalarla ispatlanmıştır [39, 40]. Fizyolojik MMP inhibitörleri arasında TIMP-1 ve TIMP-2 en önemlileridir. Özellikle TIMP-1'in gerek rekombinant, gerekse TIMP-1 cDNA'sının genetik olarak transfüzyonu yoluyla faz III çalışmalarında kullanılmasına başlanmıştır.

Öte yandan çeşitli sentetik MMP inhibitörleri de klinik çalışma aşamalarına gelmişlerdir. Bu amaçla bulunan ilk sentetik MMP inhibitörü *Batimastat* (BB-94)'tir. *Batimastat*; anjiyojenezde, tümör büyümesinde ve metastaz gelişmesinde MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MMP-9 üzerinden etkili bir inhibitördür. Geniş spektrumlu antimetastatik bir ajan olmasına rağmen yerini yapıcı aynı olan ancak alternatif olarak suda çözünebilen ve dolayısıyla oral kullanıma özelliğine sahip *Marimastat* (BB 25-16)'a bırakmıştır. Diğer kullanılan moleküller arasında köpek balığı kıkırdığından elde edilen *Neovastat* ile *AG 3340*, *BAY 129566* ve de oral tetrasiklin analogları olan *CMT 3N*'lerden *COL-3* ve *Metasiklin* bulunmaktadır [41-43].

İnvazyon sırasında tümör hücrelerinin migratuar özellik kazanmasını sağlayan motilite faktörlerine karşı da bazı tedaviler geliştirilmektedir. *Genistein* ve *Tyrophostin* mesane kanserlerinde tümör hücrelerinin motilitesini durdurmaktadır [44]. *Carboxiamide-aminoimidazol* (CAI) bileşiği de over kanserlerinde *autocrin motility factor*'le uyarılan hücre motilitesini ve hücre adezyonunu geri dönüşümlü olarak inhibe etmektedir.

Metastaz ve genetik

Metastaz oluşumu için birçok moleküler faktör tanımlanmıştır. *Cadherin* ailesi, integrinler, laminin - elastin bağlayıcı proteinler ile *CD44*'ü de içeren hücre adezyon molekülleri metastaz gelişiminde önemli modülatörler olarak bulunmuşlardır. Metalloproteinazlar ve uPA/uPAR sistemin proteazlar gibi proteolitik enzimler de uzak organ metastazlarında önemli rol oynamaktadırlar. Bununla birlikte tümör hücre göçü için gerçekleşen anjiyojenez ve lenfanjiyojenez ise invazyon ve metastaz da

rol alan önemli biyolojik olaylardır [4].

Yukarıda bahsedilen ajanlara ek olarak metastazın herbir basamağında görev alan birçok gen tanımlanmıştır. Onkogenler bu genlerden bir gruptur. Örnek olarak mutant *RAS* ve *RAF-MAP kinazın* aktivasyonu birçok farklı tümör hücresinde metastatik fenotip ile sonuçlanmaktadır [45]. *MET*, *SERINE/THREONINE KINAZ*; *MOS* and *RAF*, *TYROSINE KINASES SRC*, *FMS* and *FES* gibi onkogenlerin ektopik ekspresyonları da alıcı hücrelerde yine metastaz ile sonuçlanmaktadır.

Farklı olarak; metastazı, kaskadın farklı yerlerinde inhibe eden metastaz baskılayıcı (supressor) genler de bulunmuştur. Bu genlerin birçoğu metastaz gelişimini hücre proliferasyonunu inhibe etmeden önlemektedirler. Bu genlerden en ilginç olanı nm23'tür. Yüksek metastatik özelliği bulunan tümör hücre serilerinde nm23 cDNA'ları daha düşük seviyelerde iken daha az metastaz özelliği olan hücrelerde daha yüksek nm23 seviyeleri saptanmıştır [46]. Son dönemde yayımlanan bir makalede epitelyal meme tümörlerinin metastaz yapabilmeleri için "embriyogenezde epitelyal-mezenkimal değişimi" kontrol eden *TWIST* adlı bir genin gerekli olduğu bildirilmiştir [47]. *TWIST* genlerin okunup okunmamasında düzenleyici bir gen dir. Yalnızca metastatik meme kanserli serilerde eksprese olup non-metastatik meme kanseri serilerinde eksprese olmaması; insan tümör metastazını kontrol eden ve bu konuda bulunan ilk gen olma özelliğini kazandırmıştır. Böylece *TWIST* geninin eksprese olup olamadığına bakılarak tümörün metastatik özelliği hakkında yorum yapılabilmektedir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarla metastaz gelişiminde rol alan birçok basamak ve moleküler ajan bulunmuş olsa da, halen tümör metastazının mekanizmaları tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Ancak, son yıllarda kanser tedavisi için yapılan yoğun araştırmalarla birlikte metastazın mekanizmalarının kısmen de olsa aydınlatılmasıyla bu mekanizmaları hedef alan tedaviler geliştirilmeye başlanmış ve anti-metastatik tedaviler gündeme gelmiştir. Metastaz biyolojisi ile ilgili yapılan çalışmaların ürünü olarak antimetastatik tedavi modalitelerinin konvansiyonel tedavilere eklenmesiyle kansere yönelik savaşta yeni umutlar doğmuştur.

REFERANSLAR

1. Brooks SaS, U (eds). Metastasis Research Protocols. Totowa, Humano Press 2001.
2. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
3. Poste G, Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis. *Nature* 1980; 283: 139-146.
4. Meyer T, Hart IR. Mechanisms of tumour metastasis. *Eur J Cancer* 1998; 34: 214-221.
5. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235: 442-447.
6. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182-1186.

7. Klagsbrun M, D'Amore PA. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996; 7: 259-270.
8. Ferrara N. VEGF: an update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol* 2000; 11: 617-624.
9. Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME et al. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med* 2001; 7: 186-191.
10. Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG et al. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nat Med* 2001; 7: 192-198.
11. Kliche S, Waltenberger J. VEGF receptor signaling and endothelial function. *IUBMB Life* 2001; 52: 61-66.
12. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; 146: 1029-1039.
13. Lala PK, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol* 2001; 2: 149-156.
14. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4-25.
15. Sato TN, Qin Y, Kozak CA, Audus KL. Tie-1 and tie-2 define another class of putative receptor tyrosine kinase genes expressed in early embryonic vascular system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 9355-9358.
16. Suri C, Jones PF, Patan S et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell* 1996; 87: 1171-1180.
17. Koblizek TI, Weiss C, Yancopoulos GD et al. Angiopoietin-1 induces sprouting angiogenesis in vitro. *Curr Biol* 1998; 8: 529-532.
18. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-248.
19. Gasparini G, Harris AL. Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: much more than a new prognostic tool. *J Clin Oncol* 1995; 13: 765-782.
20. Klagsbrun M. The fibroblast growth factor family: structural and biological properties. *Prog Growth Factor Res* 1989; 1: 207-235.
21. Miller DL, Ortega S, Bashayan O et al. Compensation by fibroblast growth factor 1 (FGF1) does not account for the mild phenotypic defects observed in FGF2 null mice. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 2260-2268.
22. Mentlein R, Held-Feindt J. Angiogenesis factors in gliomas: a new key to tumour therapy? *Naturwissenschaften* 2003; 90: 385-394.
23. Breier G, Blum S, Peli J et al. Transforming growth factor-beta and Ras regulate the VEGF/VEGF-receptor system during tumor angiogenesis. *Int J Cancer* 2002; 97: 142-148.
24. Grotendorst GR, Soma Y, Takehara K, Charette M. EGF and TGF-alpha are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissue regeneration. *J Cell Physiol* 1989; 139: 617-623.
25. Bottaro DP, Rubin JS, Falletto DL et al. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. *Science* 1991; 251: 802-804.
26. Jung YD, Mansfield PF, Akagi M et al. Effects of combination anti-vascular endothelial growth factor receptor and anti-epidermal growth factor receptor therapies on the growth of gastric cancer in a nude mouse model. *Eur J Cancer* 2002; 38: 1133-1140.
27. Kim ES, Serur A, Huang J et al. Potent VEGF blockade causes regression of coopted vessels in a model of neuroblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 11399-11404.
28. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Polorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF)

- and its receptors. *Faseb J* 1999; 13: 9-22.
29. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: molecular and biological aspects. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999; 237: 1-30.
30. Fong TA, Shawver LK, Sun L et al. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. *Cancer Res* 1999; 59: 99-106.
31. Eskens FA. Angiogenesis inhibitors in clinical development; where are we now and where are we going? *Br J Cancer* 2004; 90: 1-7.
32. Ezekowitz RA, Mulliken JB, Folkman J. Interferon alfa-2a therapy for life-threatening hemangiomas of infancy. *N Engl J Med* 1992; 326: 1456-1463.
33. Singhal S, Mehta J, Desikan R et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 1999; 341: 1565-1571.
34. Tanaka H, Taniguchi H, Mugitani T et al. Angiogenesis inhibitor TNP-470 prevents implanted liver metastases after partial hepatectomy in an experimental model without impairing wound healing. *Br J Surg* 1996; 83: 1444-1447.
35. Patel SR, Jenkins J, Papadopolous N et al. Pilot study of vitaxin--an angiogenesis inhibitor-in patients with advanced leiomyosarcomas. *Cancer* 2001; 92: 1347-1348.
36. Kumar CC, Malkowski M, Yin Z et al. Inhibition of angiogenesis and tumor growth by SCH221153, a dual alpha(v)beta3 and alpha(v)beta5 integrin receptor antagonist. *Cancer Res* 2001; 61: 2232-2238.
37. Brooks PC, Clark RA, Chersesh DA. Requirement of vascular integrin alpha v beta 3 for angiogenesis. *Science* 1994; 264: 569-571.
38. Gutheil JC, Campbell TN, Pierce PR et al. Targeted antiangiogenic therapy for cancer using Vitaxin: a humanized monoclonal antibody to the integrin alphavbeta3. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3056-3061.
39. Akalin I, Gullu IH, Kurdoglu M, Marangoz S. Why hepatocellular carcinoma cells are unlikely to metastasize: is there a role for tissue inhibitor of metalloproteinase-1? *Med Hypotheses* 2001; 57: 221-223.
40. Ylisirnio S, Hoyhtya M, Turpeenniemi-Hujanen T. Serum matrix metalloproteinases -2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinases -1, -2 in lung cancer--TIMP-1 as a prognostic marker. *Anticancer Res* 2000; 20: 1311-1316.
41. Wojtowicz-Praga SM, Dickson RB, Hawkins MJ. Matrix metalloproteinase inhibitors. *Invest New Drugs* 1997; 15: 61-75.
42. Naglich JG, Jure-Kunkel M, Gupta E et al. Inhibition of angiogenesis and metastasis in two murine models by the matrix metalloproteinase inhibitor, BMS-275291. *Cancer Res* 2001; 61: 8480-8485.
43. Erlichman C, Adjei AA, Alberts SR et al. Phase I study of the matrix metalloproteinase inhibitor, BAY 12-9566. *Ann Oncol* 2001; 12: 389-395.
44. Theodorescu D, Laderoute KR, Calaoagan JM, Guilding KM. Inhibition of human bladder cancer cell motility by genistein is dependent on epidermal growth factor receptor but not p21ras gene expression. *Int J Cancer* 1998; 78: 775-782.
45. Chambers AF, Tuck AB. Ras-responsive genes and tumor metastasis. *Crit Rev Oncog* 1993; 4: 95-114.
46. Steeg PS. Perspectives on classic article: metastasis suppressor genes. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: E4.
47. Yang J, Mani SA, Donaher JL et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell* 2004; 117: 927-939.