

Nöroblastom: Genetik, Epigenetik Mekanizmalar ve Hedefe Yönelik Tedavi Yaklaşımları

Neuroblastoma: Genetic, Epigenetic Mechanisms and Targeted Therapy Approaches: Review

Bakiye GÖKER BAĞCA,^a
Çığır BİRAY AVCI^a

^aTıbbi Biyoloji AD,
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İzmir

Geliş Tarihi/Received: 14.08.2017
Kabul Tarihi/Accepted: 02.10.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:
Bakiye GÖKER BAĞCA
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji AD, İzmir,
TÜRKİYE/TURKEY
goker.bb@gmail.com

ÖZET Nöroblastom, embriyonik dönemde ortaya çıkan, nöral krest kaynaklı nadir bir kanser türüdür. Santral sinir sistemindeki herhangi bir bölgeden ama sıklıkla böbrek üstü bezlerinden köken almaktadır. Hastalarda genellikle lenf düğümlerine, kemik iliğine ve kemiğe metastaz gerçekleşmesi sağkalımı olumsuz şekilde etkilemektedir. Nöroblastomun başlangıçta tamamen ailesel bir hastalık olduğu düşünülse de ailesel olanlar tüm hastaların küçük bir bölümünü oluşturmaktadır. Nöroblastom patogenezinde rol aldığı tanımlanmış olan belli başlı mutasyonlar MYCN, ALK, PHOX2B, ATRX ve TERT genlerini içermektedir. Bununla birlikte artık sadece genetik değil epigenetik düzenlenim hatalarının da diğer pek çok hastalıkta olduğu gibi, nöroblastom patogenezinde görev aldığı bilinmektedir. Kromatin yapının regülasyonunu sağlayan histon modifikasyonları, gen ifadesinin kontrolünde görev alan DNA metilasyonu ve ncRNA'lar aracılığıyla gerçekleşen bu düzenlemelerin nöroblastomla ilişkisi araştırılmaktadır. Konvansiyonel tedavi, hastaların prognostik özelliklerine bağlı olarak cerrahi müdahale ile tümörün çıkarılması, kemoterapi, olog kök hücre nakli ve radyoterapi yaklaşımlarını içermesine rağmen, kemoterapötiklere karşı direnç gelişimi ya da duyarlılık sorunları sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Bu sorunların üstesinden gelmek, sağkalımı ve yaşam kalitesini artırmak için güncel tedavi yaklaşımları, doğrudan kanser hücrelerini elimine etmeyi amaçlayan "hedefe yönelik tedavi" yaklaşımlarının geliştirilmesine odaklanmış durumdadır. Bu çalışmada, nöroblastom genetiği ve epigenetiği hakkında bildiklerimizin ve hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarında nerede olduğumuzun güncel literatür verileri ile ortaya konulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nöroblastom; genetik; neoplastik kök hücreler; moleküler hedefe yönelik tedavi

ABSTRACT Neuroblastoma is a rare cancer arising in the embryonic stage, originating from the neural crest. It originates from any region of the central nervous system, but often emerges from the adrenal glands. In most cases, metastasis to lymph nodes, bone marrow, and bone affect survival rates adversely. Although neuroblastoma is considered as a completely familial disease at the beginning, familial cases constitute a small part of all cases. The major mutations identified in the pathogenesis of neuroblastoma include MYCN, ALK, PHOX2B, ATRX and TERT genes. Nevertheless, it is now known that not only genetic but also epigenetic aberrations of gene expression are involved in the pathogenesis of neuroblastoma as well as many other diseases. Epigenetic regulations which include histone modifications that regulate the chromatin structure; DNA methylation which is involved in the control of gene expression; and ncRNAs, is being searched in relation to neuroblastoma. Conventional treatment includes surgical removal of tumors, chemotherapy, autologous stem cell transplantation, radiotherapy approaches according to the prognostic features of the patients, however, resistance to chemotherapeutics or insensitivity problems frequently occur. Current treatment options have focused on the development of "targeted treatment" approaches which is aimed at directly eliminating cancer cells in order to improve survival rates and the quality of life. This study aims to reveal our knowledge of neuroblastoma genetics and epigenetics and where we are in targeted treatment approaches with up-to date literatures.

Keywords: Neuroblastoma; genetics; neoplastic stem cells; molecular targeted therapy

GEN KISALTMALARI

Sembol	Orijinal Tanımlama	Türkçe Adlandırma
ABL1	Abelson Tyrosine-Protein Kinase 1	Abelson Tirozin Kinaz 1
AIF	Apoptosis Inducing Factor	Apoptoz İndükleyici Faktör
AKT	AKT Serine/Threonine Kinase 1	AKT Serin/Treonin Kinaz 1
ALDH1	Aldehyde Dehydrogenase 1	Aldehit Dehidrogenaz 1
ALK	Anaplastic Lymphoma Receptor Tyrosine Kinase	Anaplastik Lenfoma Reseptör Tirozin Kinaz
ASCL1	Achaete-Scute Family BHLH Transcription Factor 1	Achaete-Scute Ailesi BHLH Transkripsiyon Faktörü 1
ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated	Ataksi Telenjektazi Mutant
ATRX	ATP-Dependent (X-Linked) Helicase	ATP Bağımlı (X bağımlı) Helikaz
AURKA	Aurora Kinase A	Aurora Kinaz A
BARD1	BRCA1 Associated RING Domain 1	BRCA1 İlişkili RING Domain 1
BCL2	B-Cell Lymphoma	B-Hücreli Lenfoma
BEX	Brain Expressed X-Linked	X Bağlantılı Beyinde Ekspres
BIM	BCL2 Like 11	BCL2 Benzeri 11
BMI1	Polycomb Ring Finger	Polycomb Yüzük Parmak
BRCA1	BRCA1, DNA Repair Associated	BRCA1, DNA Tamiri İlişkili
CAI2	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü 2A
CAMTA1	Calmodulin Binding Transcription Activator 1	Kalmodulin Bağlayan Transkripsiyon Aktivatörü 1
CASC15	Susceptibility Candidate 15	Yatkınlık Adayı 15
CASZ1	Castor Zinc Finger 1	Kastor Çinko Parmak 1
CCND1	Cyclin D1	Siklin D1
CD9	CD9 Molecule	CD9 Molekülü
CDC42	Cell Division Cycle 42	Hücre Bölünmesi Döngü 42
CDK4	Cyclin-dependent kinase 4	Siklin Bağımlı Kinaz 4
CDK6	Cyclin-dependent kinase 6	Siklin Bağımlı Kinaz 6
CHAF1A	Chromatin Assembly Factor 1 Subunit A	Kromatin Oluşum Faktörü 1 Alt birim A
CHK2	Checkpoint Kinase 2	Kontrol Noktası Kinaz 2
CSF3	Colony Stimulating Factor 3	Koloni Uyarıcı Faktör 3
CSF3R	Colony Stimulating Factor 3 Receptor	Koloni Uyarıcı Faktör 3 Reseptörü
CSMD1	CUB And Sushi Multiple Domains 1	CUB ve Sushi Çoklu Domainleri 1
CTAG1B	Cancer/Testis Antigen 1B	Kanser/Testis Antijen 1B
CYP26A1	Cytochrome P450 Family 26 Subfamily A Member 1	Sitokrom P450 Ailesi 26 Alt aile A Üye 1
DDX4	DEAD-Box Helicase 4	DEAD Box Helikaz 4
DEF	Digestive Organ Expansion Factor	Dijestif Organ Genişleme Faktörü
DICER	Dicer1 Ribonuclease III	Dicer 1 Ribonükleaz III
DKK1	Dickkopf WNT Signaling Pathway Inhibitor 1	Dickkopf WNT Sinyal Yolağı İnhibitörü 1
DNMT3a	DNA Methyltransferase 3 Alpha	DNA Metiltransferaz 3 Alfa
DNMT3B7	DNA Methyltransferase 3 Beta (isoform)	DNA Metiltransferaz 3 Beta (izoform)
DOT1L	DOT1 Like Histone Lysine Methyltransferase	DOT 1 Benzeri Histon Lizin Metiltransferaz
DROSHA	Drosha Ribonuclease III	Drosha Ribonükleaz III
DRP1	Dynamamin 1 Like	Dinamin 1 Benzeri
DUSP12	Dual Specificity Phosphatase 12	Dual Spesifiklik Fosfataz 12
E2F2	E2F Transcription Factor 2	E2F Transkripsiyon Faktörü 2
E2F3	E2F Transcription Factor 3	E2F Transkripsiyon Faktörü 3
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
FE65L1	Amyloid Beta Precursor Protein Binding Family B Member 2	Amiloid Beta Prekürsör Bağlayan Protein Ailesi B Üye 2
FZD7	Frizzled Class Receptor 7	Frizzled Sınıfı Reseptör 7
GADD45A	Growth Arrest And DNA Damage Inducible Alpha	Büyüme Arest ve DNA Hasarı İndüklenebilir Alfa
GAS5	Growth Arrest Specific 5	Büyüme Arest Spesifik 5

GPRC5C	G Protein-Coupled Receptor Class C Group 5 Member C	G Protein-Birleşmiş Reseptör Sınıf C Grup 5 Üye C
GRHL1	Grainyhead Like Transcription Factor 1	Grainyhead Benzeri Transkripsiyon Faktörü 1
GTSE1	G2 And S-Phase Expressed 1	G2 ve S Fazı Ekspres 1
H2AFX	H2A Histone Family Member X	H2A Histon Aile Üyesi X
HACE1	HECT Domain And Ankyrin Repeat Containing 1	HECT Domain ve Ankrin Tekrarı İçeren E3 Ubikitin Protein Ligaz 1
HDAC11	Histone Deacetylase 11	Histon Deasetilaz 11
HDAC2	Histone Deacetylase 2	Histon Deasetilaz 2
HDAC3	Histone Deacetylase 3	Histon Deasetilaz 3
HDAC5	Histone Deacetylase 5	Histon Deasetilaz 5
HDAC8	Histone Deacetylase 8	Histon Deasetilaz 8
HGF	Hepatocyte Growth Factor	Hepatosit Büyüme Faktörü
HNET	Solute Carrier Family 6 Member 2	Solut Taşıyıcı Ailesi 6 Üye 2
HSD17B12	Hydroxysteroid 17-Beta Dehydrogenase 12	Hidroksisteroid 17-Beta Dehidrogenaz 12
IL24	Interleukin 24	İnterlökin 24
IL31RA	Interleukin 31 Receptor A	İnterlökin 31 Reseptör A
KALRN	RhoGEF Kinase	RhoGEF Kinaz
KDM4B	Lysine Demethylase 4B	Lizin Demetilaz 4B
KIF1B	Kinesin Family Member 1B	Kinezin Aile Üyesi 1B
KIT	Proto-Oncogene Receptor Tyrosine Kinase	Protoonkogen Reseptör Tirozin Kinaz
KMT5A	Lysine Methyltransferase 5A	Lizin Metiltransferaz 5A
LIN28B	Lin-28 Homolog B	Lin-28 Homolog B
LINC00467	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 467	Protein Kodlamayan Uzun İntergenik RNA 467
LINC01105	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 1105	Protein Kodlamayan Uzun İntergenik RNA 1105
LMO1	Transcriptional Regulator LIM Domain Only 1	Transkripsiyonel Regülatör LIM Domain Sadece 1
LMO4	Transcriptional Regulator LIM Domain Only 4	Transkripsiyonel Regülatör LIM Domain Sadece 4
MALAT1	Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1	Metastaz İlişkili Akciğer Adenokarsinoma Transkript 1
MDM2	Proto-Oncogene, E3 Ubiquitin Protein Ligase	Protoonkogen, E3 Ubikitin Protein Ligaz
MDR1	ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1	ATP Bağlayan Kaset Alt ailesi B Üye 1
MEG3	Maternally Expressed 3	Maternal Ekspres 3
MET	Hepatocyte Growth Factor Receptor	Hepatosit Büyüme Faktörü Reseptör
MFN2	Mitofusin 2	Mitofusin 2
MGMT	O-6-Methylguanine-DNA Methyltransferase	O-6-Metilguanin-DNA Metiltransferaz
MIR100HG	A Cell Proliferation Regulator mir-100-Let-7a-2 Cluster Host Gene	Hücre Proliferasyon Regülatörü mir-110-Let-7a-2 Cluster Konak Geni
mTOR	Mechanistic Target Of Rapamycin	Rapamisin Mekanistik Hedefi
MYCN	Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Neuroblastoma	Kanatlı Miyelositomatozis Viral Onkogen Nöroblastom
MYCNUT	MYCN Upstream Transcript	MYCN Yukarı Akış Transkripti
NBAT-1	Neuroblastoma Associated Transcript 1	Nöroblastom İlişkili Transkript 1
NCAM	Neural Cell Adhesion Molecule	Nöral Hücre Adezyon Molekülü
ncRAN	Small Nucleolar RNA Host Gene 16	Küçük Nükleolar RNA Konak Geni 16
NEFL	Neurofilament Light Polypeptide	Nörofilament Hafif Polipeptit
NGFR	Nerve Growth Factor Receptor	Sinir Büyüme Faktörü Reseptörü
NLK	Nemo Like Kinase	Nemo Benzeri Kinaz
NOTCH1	Notch 1	Notch 1
NRAS	Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog	Nöroblastom RAS Viral Onkogen Homoloğu
NTRK2	Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase 2	Nörotropik Reseptör Tirozin Kinaz 2

OCD1	Solute Carrier Family 6 Member 4	Solut Taşıyıcı Ailesi 6 Üye 4
OPA1	Mitochondrial Dynamamin Like GTPase	Mitokondrial Dinamin Benzeri GTPaz
P21	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü 1A
PGF	Placental Growth Factor	Plasental Büyüme Faktörü
PHOX2B	Paired Like Homeobox 2b	Eşleşmiş Benzeri Homeobox 2b
PI3K	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase	Fosfatidilinositol-4,5-Bisfosfat 3-Kinaz
PLK1	Polo Like Kinase 1	Polo Benzeri Kinaz 1
PPARD	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Delta	Peroksizom Proliferatör Aktif Reseptör Delta
PPARGC1A	PPARG Coactivator 1 Alpha	PPARG Koaktivatör 1 Alfa
PPM1D	Protein Phosphatase, Mg ²⁺ /Mn ²⁺ Dependent 1D	Mg ²⁺ /Mn ²⁺ Bağımlı Protein Fosfataz 1D
PROM1	Prominin1	Prominin1
PTPRD	Protein Tyrosine Phosphatase, Receptor Type D	Protein Tirozin Fosfataz Reseptör Tip D
RARA	Retinoic Acid Receptor Alpha	Retinoik Asit Reseptör Alfa
RBL2	RB Transcriptional Corepressor Like 2	RB Transkripsiyonel Korepresör Benzeri 2
RET	Ret Proto-Oncogene	Ret Protoonkogeni
ROCK1	Rho Associated Coiled-Coil Containing Protein Kinase 1	Rho İlişkili Sarmallı-Sarmal İçeren Protein Kinaz 1
SMARCA4	SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily A, Member 4	SWI / SNF ve Matrix İlişkili, Aktin Bağımlı Kromatin Regülatörü, Alt aile A, Üye 4
SNHG1	Small Nucleolar RNA Host Gene 1	Küçük Nükleolar RNA Konak Gen 1
SPDYA	Speedy/RINGO Cell Cycle Regulator Family Member A	Speedy/RINGO Hücre Döngüsü Regülatörü Aile Üyesi A
SRC	Proto-Oncogene, Non-Receptor Tyrosine Kinase	Protoonkogen, Reseptör Olmayan Tirozin Kinaz
STAT3	Signal Transducer And Activator Of Transcription 3	Sinyal Transdüseri ve Transkripsiyon Aktivatörü 3
TACR1	Tachykinin Receptor 1	Taşikininin Reseptör 1
TENM2	Teneurin Transmembrane Protein 2	Teneurin Transmembran Protein 2
TENM3	Teneurin Transmembrane Protein 3	Teneurin Transmembran Protein 3
TERT	Telomerase Reverse Transcriptase	Telomeraz Ters Transkriptaz
TFAM	Transcription Factor A, Mitochondrial	Mitokondriyal Transkripsiyon Faktörü A
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta	Transforme Edici Büyüme Faktör Beta
TP53	Tumor Protein P53	Tümör Protein P53
TRPM2	Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 2	Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı Alt aile M Üye 2

Nöroblastom, embriyogenez sırasında nöral krest hücrelerinin mutasyonundan köken alan, 'nöroblastom kök hücreleri' tarafından oluşturulan malign bir kanser türüdür. Sempatik sinir sisteminin herhangi bir bölgesinde ortaya çıkabilmekte birlikte, hastaların %50'sinden fazlasında adrenal medullada meydana gelmektedir. İnsidansı yaklaşık milyonda sekizdir ve bu hastalar tüm çocukluk kanserlerinin %7'sini oluşturmaktadır. Nöroblastomun medyan yaşı 18 aydır ve hastaların %90'ı 10 yaşın altındadır.¹

Hastalığın fenotipi primer tümör bölgesine ve metastaz alanına göre değişiklik göstermektedir. Sıklıkla lenf düğümleri, kemik iliği, kemik ve nadiren akciğer, karaciğer ve santral sinir sistemine gerçekleştirdiği metastaz, hem klinik semptomları hem de sağkalımı büyük ölçüde etkilemektedir.²

Nöroblastom birçok farklı genetik ve epigenetik etkinin kombinasyonundan kaynaklanan heterojen özellikte bir hastalıktır. Başlangıçta tümüyle ailesel bir hastalık olarak kabul edilmesine rağmen, günümüzde *ALK* ve *PHOX2B* genlerinin sorumlu

olduğu ailesel hastaların tüm olguların sadece %1'ini oluşturduğu bilinmektedir.³⁻⁵

Nöroblastom, sempatik sinir sistemine farklılaşacak olan progenitör hücrelerin değişmiş formları olan nöroblastom kök hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Hücre döngüsü ve farklılaşmayı teşvik eden bir transkripsiyonel düzenleyici olan *MYCN* geninin amplifikasyonu nöroblastomda en yaygın görülen genetik değişikliktir. *MYCN* amplifikasyonu, tümör derecesi, progresyon ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir.⁶ *ALK* mutasyonları hem ailesel hem sporadik nöroblastom patolojisinde rol oynamaktadır.^{3,4} Transkripsiyonel düzenleyici *ATRX* genindeki fonksiyon kaybı mutasyonları ve telomeraz enzimini kodlayan *TERT* geninin promotör bölgesindeki regülasyon, kromatinin yeniden modellenmesine katılan genlerdeki mutasyonlar nöroblastom gelişimi ve ilerlemesiyle ilişkilidir.^{7,8} Kodlamayan bölgelerdeki somatik mutasyonlar da nöroblastom progresyonuyla ilişkilendirilmiştir. Özellikle, tümör baskılayıcı ve aday tümör baskılayıcı genlerin kodlamayan bölgelerindeki mutasyonlar, yüksek risk nöroblastomda oldukça etkilidir.⁹

Konvansiyonel nöroblastom tedavisi, hastaların risk grubuna bağlı olarak primer tümörün cerrahi olarak çıkarılması, kemoterapi, olog hema topoietik kök hücre nakli, radyoterapi yaklaşımlarını içermektedir. Tedaviyi izleyen süreçte, hastada kemoterapötiklere karşı direnç gelişimi ya da nüks sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Bu engellerin üstesinden gelmek için nöroblastom tedavisi alanında yapılan araştırmalar, hastaların sağkalımını ve yaşam kalitesini artırmak amacıyla hedefli tedavi stratejilerinin ve genom düzenleme yöntemlerinin geliştirilmesine odaklanmıştır.¹⁰

NÖROBLASTOM KÖK HÜCRESİ

Nöroblastom, heterojen bir kanserdir ve tek bir tümörde pek çok farklı tipte hücre bulunmaktadır. Heterojen yapıyı sağlayan tüm farklılaşmış hücre tiplerinin, tek bir nöroblastom kök hücrelerinin farklılaşması ile meydana geldiği öngörülmektedir.¹¹ Kanser kök hücreleri hem kemoterapi direnci hem de relapsla yakından ilişkili olduğundan, kök hücre

rede bulunan patojenik mekanizmaların aydınlatılması tedavi başarısının sağlanmasında kritik bir basamaktır.

Nöroblastom kök hücreleri; ilk kez nöral krestin malign hücreleri olarak, hem nöroblastik malign hücrelerine hem de nöral krestin farklılaşmış hücrelerine dönüşebilen ve morfolojik olarak iki tipin arasında yer alan insan nöroblastom I-Tip hücreler (intermedier hücreler) olarak tanımlanmıştır. Her iki hücre tipini oluşturabilme ve kendini yenileme özelliğine sahip olduğundan kök hücre olarak karakterize edilmiştir.¹²

Normal nöronal gelişim sırasında nöral progenitör hücrelerin polarite kaybı ve asimetrik bölünmesinin nöroblastom kök hücrelerini meydana getirdiği *Drosophila melanogaster* ile yapılan çalışmada gösterilmiştir.¹³ *SPDYA*, asimetrik bölünmeyi kontrol ederek nöroblastom kök hücreleri oluşumunu kontrol etmektedir.¹⁴ Sırasıyla ailesel ve spontan nöroblastom prognozunda en önemli rolü paylaşan *ALK* ve *MYCN* mutasyonları nöral krestin progenitör hücrelerinden nöroblastom kök hücreleri oluşumunu desteklemektedir.¹⁵ Embriyonik prekürsörlerde *TP53*'ün *BMI1* aracılığıyla baskılanması onkogenik transformasyona karşı yanıtı azaltarak nöroblastomu indüklemektedir.¹⁶ *PLK1* ekspresyonunun nöroblastom kök hücrelerinde sağkalımı ve kendini yenilemeyi destekleyen en önemli faktörlerden biri olduğu öne sürülmektedir.¹⁷

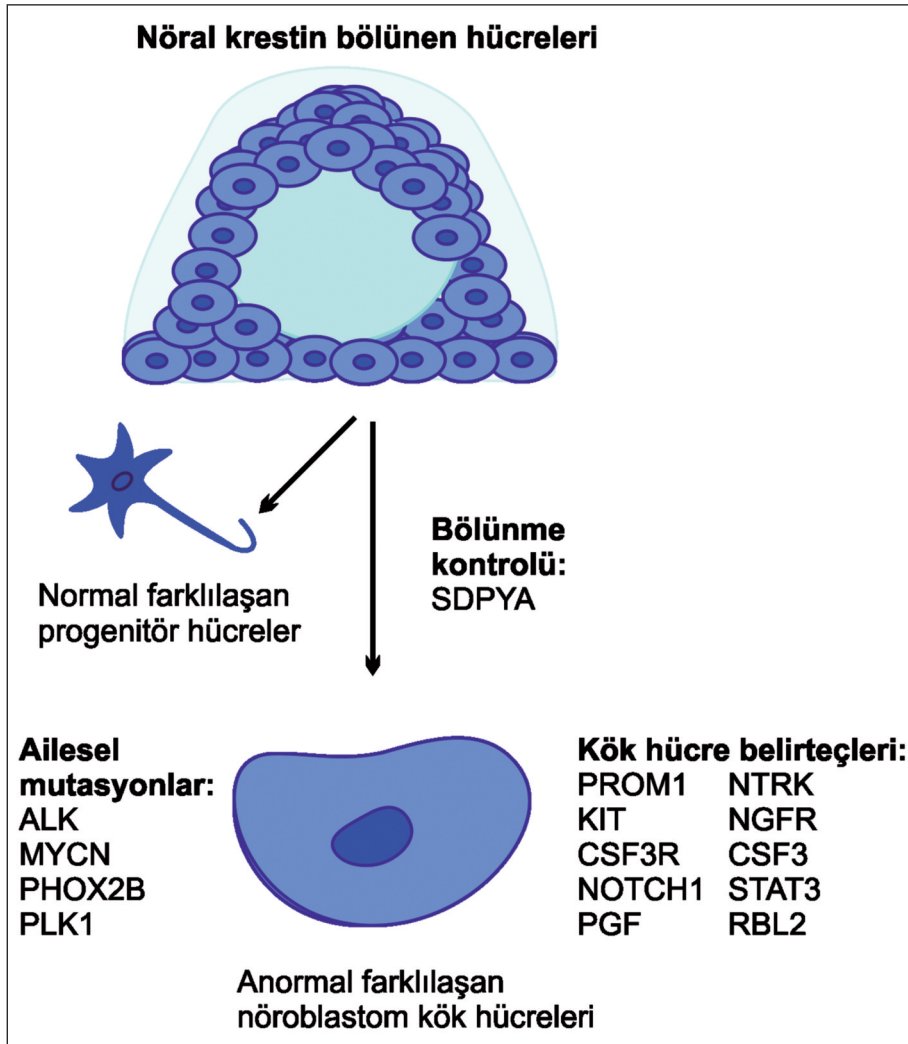
Nöroblastom kök hücreleri; *PROM1* (*CD133*), *KIT* (*CD117*), *CSF3R* (*CD114*) hücre yüzey proteinleri ve malign nöroblastom kök hücrelerine dönüşümde rol oynayan *GPRC5C*, *NOTCH1*, *PGF*, *NTRK2*, *NGFR*, *CSF3*, *STAT3*, *RBL2* genlerinin yuvarı ifadesi ile karakterizedir (Şekil 1).¹⁸⁻²¹

NÖROBLASTOMUN MOLEKÜLER PATOGENEZİ

Nöroblastom gelişiminde ve prognozunda etkili pek çok genetik ve epigenetik faktör tanımlanmıştır.

NÖROBLASTOMA ÖZGÜ GENETİK ALTERASYONLAR

MYCN protoonkogeninin amplifikasyonu, nöroblastom patogenezi ile ilişkisi keşfedilen ilk aberasyondur. 1984 yılında Brodeur ve ark., *MYCN*



ŞEKİL 1: Nöroblastom kök hücrelerinin genetik yapısı.

Nöroblastom kök hücrelerinin düzenlenmesinde *SDPYA*, *ALK*, *MYCN*, *PHOX2B*, *PLK1* genlerinin mutasyonları görev yapmaktadır. Nöroblastom kök hücrelerinde ayrıca *PROM1*, *KIT*, *CSF3R*, *NOTCH1*, *PGF*, *NTRK*, *NGFR*, *CSF3*, *STAT3*, *RBL2* belirteçleri bulunmaktadır.

geninin DNA'daki kopya sayısının insan nöroblastom hücre hatlarında diğer insan kanserlerine ait hücre hatlarıyla karşılaştırıldığında, 20-140 kat amplifiye durumda olduğunu belirlemişlerdir. Bununla uyumlu şekilde tedavi uygulanmayan hastalarda da kopya sayısının hastalık evresi ve kötü prognozla korele olduğunu göstermişlerdir.²²

N-myc olarak da adlandırılan *MYCN* protoonkogeni 2p24.3'e lokalize bir transkripsiyon faktörüdür ve mutasyonları pek çok hematolojik malignite ile ilişkilendirilmiş olan 8q24.21'de lokalize *MYC* (*c-Myc*) protoonkogeni ile homologdur. Nükleusta, aynı bağlanma alt birimine sahip olduğu diğer transkripsiyon faktörleri ile dimerize olarak, kanser hü-

resinin sağkalımını ve proliferasyonunu destekleyen genlerin transkripsiyonunu uyarmakta, normal nöronal farklılaşmayı düzenleyen genlerin transkripsiyonunu ise baskılamaktadır.⁶ Normal şekilde farklılaşmamış olan nöroblastların birikimi nöroblastom oluşumunun altında yatan temel nedendir.

Ailesel nöroblastomlar tüm hastaların yaklaşık %1-2'sini oluşturmaktadır. Normal beyin ve sinir sistemi gelişiminde rol oynayan tirozin kinaz reseptörü *ALK*, kalıtsal nöroblastomların ana bileşeni olduğu kadar sporadik nöroblastomda da büyük rol oynamaktadır.^{3,4} *ALK*'ye ek olarak, nöral krest gelişiminin temel regülatörü olan *PHOX2B* geni de ailesel nöroblastom gelişiminde rol oynamaktadır.⁵

MYCN amplifikasyonu sporadik nöroblastomların büyük bölümünden (~%20) sorumlu olmasına rağmen; ergen ve genç erişkin hastaların büyük bölümünde (~%20) bu mutasyon bulunmaz iken, *ATRX* mutasyonu bulunmaktadır.²³ *ATRX*, *SWI/SNF* ailesine üye bir kromatin yeniden modelleme genidir ve matriks-kromatin ilişkisini düzenleyerek gen ekspresyonunun epigenetik düzenlenmesinde görev almaktadır. *ATRX*, metilasyon ile sessizleştirilen transpozon elementler, imprintlenmiş genler ve telomerleri içeren bölgelerde H3.3 (Histon 3 varyantı) birikiminden sorumludur.⁷ Telomer, kromozomların uç bölgelerinde bulunan ve kromozomların stabilitesini sağlayan tekrar dizilidir. Ökaryotlarda, her replikasyonda telomerler kısalmaktadır ve böylece hücrenin proliferasyon yeteneği kısıtlanmaktadır.²⁴ Kök ya da progenitör hücrelerin ve patolojik olarak kanser hücrelerinin sınırsız bölünme yeteneklerinin korunmasını sağlayan telomer uzunluğunun sürdürülmesinde iki mekanizma görev almaktadır; bunlardan birincisi *ATRX* geninin işlev kaybı ile oluşan [alternative lengthening of telomeres; alternatif telomer uzaması (ALT)] mekanizmasıdır. *ATRX* geninin fonksiyon kaybı nöroblastomu da içeren kanserlerdeki anormal telomer uzamasına neden olmaktadır.²⁵ Telomer uzunluğunun korunmasında rol alan ikinci mekanizma, *TERT* geninin yeniden düzenlenmeleri ile telomeraz enziminin aktivasyonudur. *TERT* genindeki mutasyonlar *MYCN* ve *ATRX* mutasyonları taşımayan hastalarda ileri evre ve kötü prognoz nöroblastom ile büyük oranda (~%20) ilişkilendirilmiştir.⁸

Aynı hücrede bir ya da birkaç kromozomda aynı anda çok sayıda yeniden düzenlenmenin meydana gelmesiyle karakterize “kromotripsis” olarak adlandırılan katastrofik süreç de kanser oluşumuna neden olan mutasyonların zamanla birikimi teorisine ek olarak, nöroblastom patogenezinde rol oynamaktadır.²⁶ Kötü prognozla seyreden üç ve dördüncü evre hastaların yaklaşık %20’lik bölümünde bulunan kromotripsis mekanizmaları, tüm genom sekanslama çalışmaları aracılığıyla büyük oranda tanımlanmıştır. Bu mekanizmada rol alan genler sinir sistemi gelişimi ve nöronal farklılaşma ile ilişkilidir. Sinir sistemi gelişiminde rol oynayan transmembran *PTPRD*, *TENM2*, *TENM3*, *CSMD1* proteinlerinin ve

bu reseptörler aracılığıyla sinyalleşmeyi sağlayan *Rac/Rho* yolağındaki *TIAM1*, *DLC1* GTPaz proteinlerinin defektleri, *MYCN* amplifikasyonu taşımayan ileri evre ve kötü prognozlu hastalardan sorumludur. 1p36’da lokalize *CDC42* GTPaz’ın aşağı regülasyonu ise *MYCN* amplifikasyonuna sahip hastalarda ileri evre hastalıkla ilişkilidir.²⁷

CDC42’ye ek olarak; *KALRN*, *CAMTA1*, *KIF1B*, *CASZ1* genlerinin delesyonu ve 17q kazanımı ileri evre hastalarda *MYCN* amplifikasyonu ile koreledir.²⁸ 11q heterozigosite kaybı da *MYCN* amplifikasyonu ile ters orantılı şekilde, ileri evre nöroblastom ile ilişkilendirilmiştir.²⁹

Geniş çaplı genom çapında ilişkilendirme çalışmaları yatkinlıkla ilişkili genleri tanımlamıştır. Bu genlerden yatkinlıkla en yakından ilişkili olanları; *CASC15*, *BARD1*, *LMO1*, *DUSP12*, *DDX4*, *IL31RA*, *HSD17B12*, *HACE1*, *LIN28B*, *NEFL* ve *TP53* tür.³⁰⁻³²

NÖROBLASTOMDA EPIGENETİK DEĞİŞİMLER

Epigenetik modifikasyonlar, ökaryotik hücrelerde kromatinin transkripsiyon için gerekli faktörler tarafından erişilebilirliğini düzenleyerek, gen ekspresyonunun regülasyonunda rol oynayan geri dönüşümlü değişikliklerdir. Kromatinin yeniden modellenmesi, histon modifikasyonları, DNA metilasyonu ve ncRNA’lar aracılığıyla düzenlemeyi gerçekleştirmektedir. Histon modifikasyonu olan asetilasyon sadece ökromatin ile ilişkili iken, histonda ve DNA’da meydana gelen metilasyon hem ökromatin hem de heterokromatin ile ilişkilidir.³³

Nöroblastom hastalarında gerçekleştirilen “mikroarray” tabanlı DNA metilasyon çalışmaları, promoter hipermetilasyonunun genomik hipometilasyondan daha sık şekilde nöroblastom patogenezinde rol aldığını göstermiştir.^{34,35} DNA metil transferazların hem yukarı hem de aşağı regülasyonu hangi genin promoter bölgesinin metilasyonu ile ilişkili olduğuna bağlı olarak, nöroblastom patogenezinde rol alabilmektedir. *MGMT*, *WNT/β-katenin* sinyal yolağı ile ilişkilidir ve yukarı regülasyonu, nöroblastom gelişimi ve kemoterapi direnci ile ilişkilendirilmiştir.³⁶ Bununla birlikte, *DNMT3B7* ise normal nöronal farklılaşmayı tetikleyecek şekilde genomik metilasyona yol açmaktadır.³⁷

DNA metilasyonuna benzer şekilde, histon metilasyonu ve demetilasyonu da nöroblastom prognozu üzerine farklı etkiler göstermektedir. Bir H4K20me1 metiltransferazı olan *KMT5A*, *TP53* aracılığıyla apoptozu baskılamakta, ayrıca nöroblastom hücrelerine farklılaşmayı ve sağkalımı indüklemektedir.³⁸ *DOT1L* histon metiltransferazının yüksek ekspresyonu *MYCN*, *OCD1* ve *E2F2* genlerinin ekspresyon seviyeleri ile koreledir ve hem nöroblastom gelişimini hem de kötü prognostik özellikleri tetiklemektedir.³⁹ Histon şaperon *CHAF1A* sağkalım ilişkili genlerin H3K9 trimetilasyonu aracılığıyla ileri seviye nöroblastom gelişimi ile ilişkilidir.⁴⁰ *KDM4B*, lizin demetilazı kötü prognoz nöroblastomda histon demetilasyonu aracılığıyla *MYCN* sinyalleşmesinin epigenetik regülasyonundan sorumludur.⁴¹

Pek çok solid ve hematolojik malignitedeki rollerinin tanımlanması ile birlikte, tedavi stratejilerinin büyük bir bölümü epigenetik mekanizmaları hedeflemeye yönelmiştir. Histon asetilasyonu kanser prognozunda rol oynayan yaygın bir modifikasyon olduğundan, araştırmalar özellikle histon deasetilaz inhibitörlerine odaklanmıştır. *HDAC2*, apoptotik *miR-183*'ü aşağı regüle ederek nöroblastom gelişimini desteklemektedir.⁴² *GRHL1* ileri seviye nöroblastomda *HDAC3* tarafından hipoasetilasyon aracılığıyla baskılanmaktadır.⁴³ *CD9* ekspresyonunun *HDAC5* aracılığıyla baskılanması kötü prognoz ve metastazla ilişkilidir.⁴⁴ *HDAC8* ifade seviyesinin artması *miR-137* ekspresyonunu baskılayarak ve *MDR1* geninin ekspresyonunu tetikleyerek kemoterapi direncinde rol almaktadır.⁴⁵ *ATRX* ile aynı ailede yer alan *SMARCA4* kromatin yeniden modelleme geni, nöroblastom hücrelerinin sağkalımını desteklemektedir ve ileri evre nöroblastom ile ilişkilendirilmiştir.⁴⁶

2012 yılında yayımlanan "Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE)" projesinin çıktılarını, insan genomunun %2'den az bir bölümünün protein kodlayan genlerden oluştuğunu, genomun çok büyük bir bölümünün psödogenlerden ve ncRNA'lardan meydana geldiğini göstermiştir. tRNA, miRNA, siRNA, snRNA'ları içeren küçük ncRNA'lar ve uzun kodlamayan RNA (lncRNA)'ları içeren ncRNA'lar hem gen ekspresyonunun regü-

lasyonunda hem de protein sentezinde temel rol oynamaktadır. miRNA'lar yaklaşık 20 nükleotid uzunluğundaki tek zincirli RNA molekülleridir, lncRNA'lar ise 200 nükleotidden daha uzun moleküllerdir. ncRNA'lar kritik regülatör rollere sahip olduğundan, deregülasyonları özellikle kanserleri içeren çok sayıda patoloji ile ilişkilendirilmiştir.⁴⁷

miRNA'lar, gen ekspresyonunu her aşamada düzenleyebilen temel moleküllerdir. Düzenleme özelliklerine bağlı olarak hem onkogenik (onkomiR) hem de tümör baskılayıcı olarak görev yapabilmektedirler. *miR-17-92* ailesi üyeleri (*miR-17*, *miR-18a*, *miR-19a*, *miR-19b*, *miR-20a* ve *miR-92*) kötü prognoz ve tedavi direncinde *P21* ve *BIM* regülasyonu aracılığıyla *MYCN* amplifikasyonu ile birlikte yukarı ifade edilmiştir.^{48,49} *TP53* sinyal yolağında yer alan *miR-34a*, bir tümör baskılayıcı olarak iş görmekte ve *MYCN*'yi ve *E2F3*, *BCL2*, *CCND1* ile birlikte siklin bağımlı kinazları [cyclin-dependent kinase (CDK)] aşağı regüle etmektedir. Bununla birlikte, nöroblastom hücrelerinde *miR-34a* ekspresyonu genellikle 1p36 delesyonu ile baskılanmıştır.²⁸ *miR-497* de *MYCN* ekspresyonunu aşağı regüle eden benzer bir tümör baskılayıcıdır.⁵⁰ *miR-188-5p* ve *miR-501-5p*'nin yukarı regülasyonu ve *miR-125b-1*'in aşağı regülasyonunun kemoterapi direnci ile ilişkili olduğu öngörülmektedir.⁵¹ *NLK* geninin negatif regülatörü olan onkomiR *miR-221* ekspresyon artışı, *MYCN* ile ilişkili şekilde nöroblastomda tümör progresyonu ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir.⁵² Ayrıca, miRNA biyogenezinde görevli olan *DICER* ve *DROSHA* genlerinin düşük düzeyde ekspresyonu da nöroblastomda genel olarak miRNA'ların düşük seviyede ifade edilmesine neden olmaktadır.⁵³

2012 yılından bu yana, lncRNA'lar diğer kanserlerde olduğu gibi nöroblastom araştırmalarının da bir parçası olmaya başlamıştır. Bu alandaki çalışmalar özellikle *MYCN*, *ALK* gibi nöroblastom patogenezi ile ilişkili genlerin düzenlenmesi aracılığıyla kanser hücrelerinin doğrudan apoptoza yönlendirilmesine odaklanmıştır. Özellikle kötü prognoz ve yüksek risk grubuna işaret eden biobelirteçler tanımlanmıştır. *MIR100HG* nöroblastom hücre çoğalmasını indüklerken, *MALAT1*

nöronal farklılaşma, anjiyogenez ve migrasyon ile ilgili genleri düzenlemektedir.⁵⁴⁻⁵⁷ Yüksek risk ile ilişkilendirilmiş *MYCNUT* ve *SNHG1*; *MYCN* aracılığıyla nöroblastom progresyonunu tetiklerken, *CAI2* ve *LINC00467* ise *MYCN* amplifikasyonundan bağımsız şekilde progresyonu tetiklemektedir.⁵⁸⁻⁶¹ Tümör baskılayıcı *CASC15* ve *NBAT-1* lncRNA'larının aşağı regülasyonu ya da heterozigosite kaybı ve onko-lncRNA olan *ncRAN*'ın yukarı regülasyonu artmış hücre proliferasyonu ve nöronal farklılaşmanın bozulması aracılığıyla ileri evre ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir.⁶²⁻⁶⁴

TP53 yolağında bulunan antiapoptotik lncRNA'lar *GAS5* ve *LINC01105* nöroblastom hücrelerinde apoptozu regüle etmektedir. *GAS5*'in iki alternatif formu hem *TP53*, *BRCA1* ve *GADD45A* tümör baskılayıcılarının inhibisyonu hem de *MDM2*'nin stabilizasyonu aracılığıyla apoptozu ve hücre döngüsü "arrestini" engellemektedir.⁶⁵ *LINC01105* yukarı regülasyonu da *TP53* baskılanması ile ilişkilidir. Öte yandan, yine *TP53* yolağında bulunan proapoptotik lncRNA *MEG3*'ün aşağı regülasyonu apoptozun baskılanmasına ve nöroblastom dokularında farklılaşmanın bozulmasına yol açar.⁶⁶

Genetik ve epigenetik değişikliklere dair bilgiler artmakla birlikte, mekanizmaların tam olarak nasıl işlediği hâlâ keşfedilmeyi beklemektedir (Şekil 2).

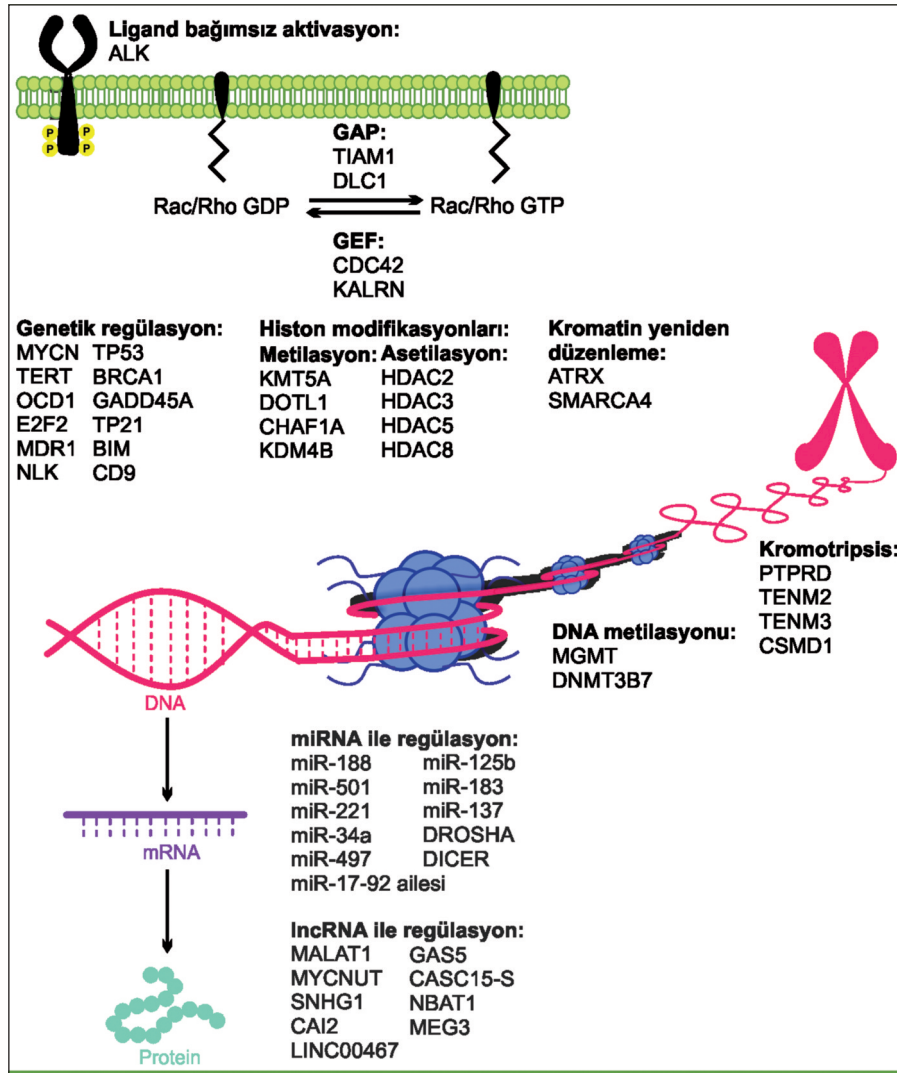
HEDEFE YÖNELİK TEDAVİ YAKLAŞIMI VE GELECEK PERSPEKTİFLER

Nöroblastomun konvansiyonel kemoterapisinde retinoik asit, platin kompleksleri, DNA alkilleyici ajanlar, topoizomeraz inhibitörleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte nöroblastom hücreleri, zaman içinde kemoterapötiklere dirençli hâle gelmektedir. Kemoterapi direncine neden olan mekanizmalar sıklıkla *MYCN* ile ilişkilidir. *LMO4*, *CYP26A1*, *ASCL1*, *RET*, *FZD7* ve *DKK1* genlerinin *MYCN*'nin artmış ekspresyonu ile tetiklenmesi ve *TGF-β* sinyal yolağını indüklemesi güncel bir retinoik asit direnç mekanizmasını tanımlamaktadır.⁶⁷ *MYCN*, mitokondriyal biyogenezi düzenleyen *PPA*, *RGCI1A*, *TFAM* genlerinin ve mitokondriyal dinamikleri düzenleyen *OPA1*, *MFN2*, *DRP1* genleri-

nin deregülasyonu ile apoptozu inhibe ederek, platin bileşiklerine karşı direnç açısından kritik farklı bir rol oynamaktadır.⁶⁸ Farklı yollarla gerçekleşen direnç mekanizmalarını belirleme çalışmaları hâlen devam etmektedir. Son zamanlarda, iki farklı direnç oluşumu hem kalsiyum metabolizması hem de *HGF/MET* sinyal yolunun aktivasyonu olarak tanımlanmıştır.^{69,70} Direnç bağımlı veya bağımsız nüks de geleneksel kemoterapinin başarısını sınırlayan faktörlerdendir.

Konvansiyonel kemoterapi direnci ve relaps riski, araştırmaların hedefli tedaviye odaklanmasına neden olmuştur. Güncel hedefli tedavi yaklaşımları, ağırlıklı olarak nöroblastom hücrelerinin apoptozunu uyarmayı amaçlamaktadır. Ek olarak; normal nöronal farklılaşma, epigenetik düzenleme, immünoterapi, nanopartiküller ve dual mekanizmaların indüklenmesi ile ilgili çalışmalar son araştırmaların konusunu oluşturmaktadır.

Hücre döngüsü ve *MYCN* stabilizasyonunun pozitif düzenleyicisi olan *PLK1*'in yukarı regülasyonu, yüksek riskli nöroblastom ile ilişkilendirilmiştir. *PLK1*'in inhibisyonu, hücre döngüsünün dur-durulmasına neden olmakta ve apoptozu indüklemektedir.^{71,72} Pek çok kanserden farklı olarak, *TP53* mutasyonları nöroblastomda daha az görülmektedir. *TP53* aracılı hücre ölüm yolağının negatif bir düzenleyicisi olan *PPM1D*'nin inhibisyonu, *CHK2/TP53* aracılığıyla apoptozu indüklemek için yeni bir yaklaşım olarak önerilmiştir.⁷³ *TP53* sinyal yolağının aşağı akışında bulunan nöroblastom hücrelerinde apoptozu indükleyen yeni tanımlanan proapoptotik *BEX* genleri yeni tümör baskılayıcılar olarak umut vadedilmektedir.⁷⁴ *EGFR*'nin inhibisyonu, *PI3K/AKT/mTOR* sinyal yolunun baskılanması yoluyla nöroblastom hücrelerini apoptoza yönlendirmektedir.⁷⁵ G-proteini ile ilişkili reseptör *TACR1*'in inhibisyonu, apoptozu indüklemekte ve nöroblastom hücrelerinin sağkalımını azaltmaktadır.⁷⁶ *SRC/ABL1* tirozin kinazını hedeflemek, nöroblastom hücrelerini ölüme yönlendirebilecek olan yeni bir tedavi yaklaşımını ortaya koymaktadır.⁷⁷ *IL-24* kaspazdan bağımsız yolla *AIF*, *ATM* ve *H2AFX* regülasyonu üzerinden nöroblastomda hücre ölümünü indüklemektedir.⁷⁸



ŞEKİL 2: Nöroblastomda rol oynayan genetik ve epigenetik mekanizmalar.

Nöroblastom oluşumunda ALK'nin ligand bağımsız aktivasyonu; TIAM1 ve DLC1 GAP'lerin ve CDC42 ve KALRN GEF'lerin dengesindeki bozukluklar; MYCN, TERT, OCD1, E2F2, MDR1, NLK, TP53, BRCA1, GADD45A, TP21, BIM, CD9 genlerin regülasyonu; PTPRD, TENM2, TENM3, CSMD1'in yer aldığı kromotripsis; KMT5A, DOTL1, CHAF1A, KDM4B, HDAC2, HDAC3, HDAC5, HDAC8, ATRX, SMARCA4, MGMT, DNMT3B7, miRNA'lar ve lncRNA'lar aracılığıyla gerçekleşen epigenetik regülasyon rol almaktadır.

Bir diğer yaklaşım, nöroblastom hücrelerinin normal diferansiyasyonunun başlatılmasıdır. *ASCL1* geni, *MYCN* onkogenlerinden bağımsız bir mekanizma yoluyla nöronal hücrelerin nöroblastaya dönüşümünü engellemektedir.⁷⁹ *PPARD*'nin, hücre farklılaşmasını düzenleyen ve kullanılmakta olan terapide rol alan *RARA* ile koaktivasyonu, nöroblastların normal diferansiyasyonunu sağlayarak nöroblastom tedavisinde yeni bir kombinasyonel yaklaşım oluşturmaktadır.⁸⁰ *ALK* ve *CDK4/6*;

AURKA ve *BCL2*'nin dual inhibisyonları da nöroblastom tedavisinde sinerjistik yaklaşımlar oluşturmaktadır.⁸¹⁻⁸³

Epigenetik regülasyon, nöroblastomun patogenezinde olduğu kadar tedavide de büyük önem taşımaktadır. Nöroblastomda *HDAC11*'in inhibisyonu, çoğalma ile ilişkili genleri baskılamakta ve apoptozu hedefli şekilde başlatmaktadır. *HDAC11*, tedavi için umut veren bir hedef olarak görülebilmektedir.⁸⁴ *HDAC8* inhibisyonu ve *miR-137* eks-

presyonu, artmış kemoterapi duyarlılığına yol açmaktadır.³⁴ *miR-497*, proliferasyon, metastaz ve direnç ile ilişkili genleri düzenleyen, hedefe yönelik nöroblastom tedavisi için yeni bir aday moleküldür.⁸⁵ Epigenetik düzenleyici *miR-506*, *TGF-β* sinyal yolağında bulunan *ROCK1* i inhibe ederek nöroblastom hücrelerinin metastazını baskılamaktadır.⁸⁶ ncRNA *45A*'nın upregülasyonu, *FE65L1* ve *GTSE1* genlerinin ekspresyonunu düzenleyerek tümör proliferasyonu ve metastazında kritik bir rol oynamaktadır.⁸⁷

Ribozom biyogenezinde rol oynayan *DEF*, hem periferik sempatik sinir sisteminin gelişiminde hem de nöroblastom gelişiminde regülatör görevi görmektedir. *DEF* ve ribozom biyogenezinde rol oynayan diğer bileşenler, hedefli nöroblastom tedavisinde potansiyel olarak kullanılmaktadır.⁸⁸ Mitokondri yoluyla hücre proliferasyonunu düzenleyen *TRPM2*, nöroblastomda potansiyel bir terapötik hedefdir.⁸⁹ Nöroblastom tedavisinde umut verici yaklaşımlardan biri de *HNET*, *ALK*, *NTRK2* ve *NCAM* gibi hücre yüzey proteinlerini hedeflemektedir.^{90,91}

Kimerik antijen reseptör modifiye T-hücreleri, hem nöroblastom hücrelerine immünolojik bir yanıt oluşturmak hem de yanıt düzeyini artırmak amacıyla aşılama umut vadeden bir yaklaşımdır.⁹² Potansiyel bir immünoterapi hedefi olan *CTAG1B*, nöroblastom da dâhil olmak üzere çeşitli solid tümörlerde ifade edilmektedir.⁹³

Nanopartiküllerin, floresan probalar yoluyla tanıma ve terapötik genlerin kapsüllenmesi aracılığıyla tedavide büyük kullanım potansiyeli bulunmaktadır.⁹⁴ Nöroblastom hücrelerine ilaç dağıtımını hedeflemek, diyatamlar gibi biyolojik nanoporoz moleküllerle sağlanabilmekte, böylece sağlıklı hücrelere olan zarar en aza indirilebilmektedir.⁹⁵

Kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar [Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)] ve Cas9 CRISPR-ilişkili protein-9 nükleaz [CRISPR-associated protein-9 nuclease] sistemleri, moleküler tıp uygulamaları için büyük potansiyele sahip, önemli genom düzenleme araçlarıdır. Çalışmalar, pato-

genizde rol oynayan mekanizmaları açıklığa kavuşturmayı ve hedefe yönelik tedavileri geliştirmeyi amaçlamaktadır. *ALDH1* izoenzimlerinin aktivitesi, CRISPR/ Cas9 teknolojisi kullanılarak hastadan köken alan ksenograft tümörleri kullanan çalışmada, nöroblastom kök hücrelerinin agresif doğasıyla ilişkilendirilmiştir.⁹⁶ Hayvan modellerinde, CRISPR/Cas9 teknolojisi kullanan *DNMT3a* transaktivasyonu, beyin hücrelerinin metilasyonunun düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır.⁹⁷ CRISPR/Cas9 teknolojisini kullanarak *NRAS* mutant hücre hattında rehber RNA (gRNA) lar aracılığıyla mutant *NRAS* geninin susturulması, hücreleri spesifik inhibitörlere karşı daha duyarlı hâle getirmiştir.⁹⁸

Mevcut nöroblastom tedavisinde konvansiyonel kemoterapi uygulanmaktadır. Bununla birlikte hastalarda kemoterapötiklere karşı duyarsızlık ya da zamanla direnç gelişimi görülmektedir. Duyarsızlıkta ya da dirençte rol alan mekanizmaların belirlenebilmesi ve hastaya özgü moleküler tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi çalışmaları, tüm kanser türlerinde olduğu gibi güncel nöroblastom araştırmalarının da temelini oluşturmaktadır. Sağlıklı hücrelerde herhangi bir etki oluşturmaksızın doğrudan nöroblastom hücrelerinin apoptozunu, farklılaşmasını indüklemeyi amaçlayan sinyal yollarının regülasyonunu sağlamayı hedefleyen çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda, son dönemin güncel araştırma alanlarını oluşturan; epigenetik regülasyon, immünoterapi, nanopartiküllerin kullanımı, dual mekanizmaların indüklenmesi ve CRISPR gibi genom düzenleme araçlarından yararlanılmaktadır. Daha yolun başında olan bu çalışmalar, konvansiyonel kemoterapinin ötesine geçilerek, kişiye özgü terapi çalışmalarının önünü açacaktır.

SONUÇ

Nöroblastom gelişimi, prognozu ve metastatik karakteri ile ilişkili pek çok özellik tanımlanmış olmakla birlikte, bu nadir hastalığın altında yatan genetik ve epigenetik alterasyonlar hastaların sağkalımını ve tedavi başarısını artırmak için keşfedilmeyi beklemektedir. Son yıllarda, moleküler

ler tıp alanında güncel yöntemlerin geliştirilmesiyle bu alanda yapılan çalışmalar ve umut vadeden yaklaşımların gelişmesini sağlayacak bulguların elde edilmesi hızla artmaktadır. Nöroblastom patolojisi ve moleküler biyolojide artan bilgi düzeyi, tanı ve tedavide yeni yaklaşımların oluşturulmasına, böylece hasta yaşam kalitesinin ve sağkalım oranlarının artırılmasına katkıda bulunacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Yazar Katkıları

Makalenin Yazımı, Tartışılması, Kaynak Bulunması: Bakiye Göker Bağca, Çığır Biray Avcı; **Fikir, Tasarım, Analiz, Yazım:** Bakiye Göker Bağca, Çığır Biray Avcı; **Eleştirel İnceleme:** Çığır Biray Avcı.

KAYNAKLAR

1. Matthay KK, Maris JM, Schleiermacher G, Nakagawara A, Mackall CL, Diller L, et al. Neuroblastoma. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 10 (2):16078.
2. DuBois SG, Kalika Y, Lukens JN, Brodeur GM, Seeger RC, Atkinson JB, et al. Metastatic sites in stage IV and IVS neuroblastoma correlate with age, tumor biology, and survival. *J Pediatr Hematol Oncol* 1999;21(3): 181-9.
3. Lamant L, Pulford K, Bischof D, Morris SW, Mason DY, Delsol G, et al. Expression of the ALK tyrosine kinase gene in neuroblastoma. *Am J Pathol* 2000;156(5):1711-21.
4. Mossé YP, Laudenslager M, Longo L, Cole KA, Wood A, Attiyeh EF, et al. Identification of ALK as the major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature* 2008;455(7215): 930-5.
5. Trochet D, Bourdeaut F, Janoueix-Lerosey I, Deville A, de Pontual L, Schleiermacher G, et al. Germline mutations of the paired-like homeobox 2B (PHOX2B) gene in neuroblastoma. *Am J Hum Genet* 2004;74(4):761-4.
6. Huang M, Weiss WA. Neuroblastoma and MYCN. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3(10):a014415.
7. Voon HP, Hughes JR, Rode C, De La Rosa-Velázquez IA, Jenuwein T, Feil R, et al. ATRX plays a key role in maintaining silencing at interstitial heterochromatic loci and imprinted genes. *Cell Rep* 2015;11(3): 405-18.
8. Valentijn LJ, Koster J, Zwijnenburg DA, Haselt NE, van Sluis P, Volckmann R, et al. TERT rearrangements are frequent in neuroblastoma and identify aggressive tumors. *Nat Genet* 2015;47(12):1411-4.
9. Chmielecki J, Bailey M, He J, Elvin J, Vergilio JA, Ramkissoon S, et al. Genomic profiling of a large set of diverse pediatric cancers identifies known and novel mutations across tumor spectra. *Cancer Res* 2017;77(2):509-19.
10. Berlanga P, Cañete A, Castel V. Advances in emerging drugs for the treatment of neuroblastoma. *Expert Opin Emerg Drugs* 2017;22 (1):63-75.
11. Walton JD, Kattan DR, Thomas SK, Spengler BA, Guo HF, Biedler JL, et al. Characteristics of stem cells from human neuroblastoma cell lines and in tumors. *Neoplasia* 2004;6(6):838-45.
12. Ross RA, Spengler BA, Domènech C, Porubcin M, Rettig WJ, Biedler JL. Human neuroblastoma l-type cells are malignant neural crest stem cells. *Cell Growth Differ* 1995;6 (4):449-56.
13. Caussinus E, Gonzalez C. Induction of tumor growth by altered stem-cell asymmetric division in *Drosophila melanogaster*. *Nat Genet* 2005;37(10):1125-9.
14. Lubanska D, Porter LA. The atypical cell cycle regulator Spy1 suppresses differentiation of the neuroblastoma stem cell population. *Oncoscience* 2014;1(5):336-48.
15. Schulte JH, Lindner S, Bohrer A, Maurer J, De Preter K, Lefever S, et al. MYCN and ALKF1174L are sufficient to drive neuroblastoma development from neural crest progenitor cells. *Oncogene* 2013;32(8): 1059-65.
16. Calao M, Sekyere EO, Cui HJ, Cheung BB, Thomas WD, Keating J, et al. Direct effects of Bmi1 on p53 protein stability inactivates oncoprotein stress responses in embryonal cancer precursor cells at tumor initiation. *Oncogene* 2013;32(31):3616-26.
17. Grinshtein N, Datti A, Fujitani M, Uehling D, Prakesch M, Isaac M, et al. Small molecule kinase inhibitor screen identifies polo-like kinase 1 as a target for neuroblastoma tumor-initiating cells. *Cancer Res* 2011;71(4):1385-95.
18. Zage PE, Whittle SB, Shohet JM. CD114: a new member of the neural crest-derived cancer stem cell marker family. *J Cell Biochem* 2017;118(2):221-31.
19. Ross RA, Walton JD, Han D, Guo HF, Cheung NK. A distinct gene expression signature characterizes human neuroblastoma cancer stem cells. *Stem Cell Res* 2015; 15(2):419-26.
20. Agarwal S, Lakoma A, Chen Z, Hicks J, Metelitsa LS, Kim ES, et al. G-CSF promotes neuroblastoma tumorigenicity and metastasis via STAT3-dependent cancer stem cell activation. *Cancer Res* 2015; 75(12):2566-79.
21. Jori FP, Galderisi U, Piegari E, Peluso G, Cipollaro M, Cascino A, et al. RB2/p130 ectopic gene expression in neuroblastoma stem cells: evidence of cell-fate restriction and induction of differentiation. *Biochem J* 2001;360 (Pt 3):569-77.
22. Brodeur GM, Seeger RC, Schwab M, Varms HE, Bishop JM. Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science* 1984;224 (4653):1121-4.
23. Cheung NK, Zhang J, Lu C, Parker M, Bahrami A, Tickoo SK, et al. Association of age at diagnosis and genetic mutations in patients with neuroblastoma. *JAMA* 2012; 307(10):1062-71.
24. Gunes C, Rudolph KL. The role of telomeres in stem cells and cancer. *Cell* 2013;152(3): 390-3.
25. Heaphy CM, de Wilde RF, Jiao Y, Klein AP, Edil BH, Shi C, et al. Altered telomeres in tumors with ATRX and DAXX mutations. *Science* 2011;333(6041):425.

26. Stephens PJ, Greenman CD, Fu B, Yang F, Bignell GR, Mudie LJ, et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell* 2011;144(1):27-40.
27. Molenaar JJ, Koster J, Zwiijnenburg DA, van Sluis P, Valentijn LJ, van der Ploeg I, et al. Sequencing of neuroblastoma identifies chromothripsis and defects in neurogenesis genes. *Nature* 2012;483(7391):589-93.
28. Henrich KO, Schwab M, Westermann F. 1p36 tumor suppression--a matter of dosage? *Cancer Res* 2012;72(23):6079-88.
29. Bown N, Cotterill S, Lastowska M, O'Neill S, Pearson AD, Plantaz D, et al. Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma. *N Engl J Med* 1999;340(25):1954-61.
30. Bosse KR, Maris JM. Advances in the translational genomics of neuroblastoma: from improving risk stratification and revealing novel biology to identifying actionable genomic alterations. *Cancer* 2016;122(1):20-33.
31. Oldridge DA, Wood AC, Weichert-Leahey N, Crimmins I, Sussman R, Winter C, et al. Genetic predisposition to neuroblastoma mediated by a LMO1 super-enhancer polymorphism. *Nature* 2015;528(7582):418-21.
32. Diskin SJ, Capasso M, Diamond M, Oldridge DA, Conkrite K, Bosse KR, et al. Rare variants in TP53 and susceptibility to neuroblastoma. *J Natl Cancer Inst* 2014;106(4):dju047.
33. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature* 2007;447(7143):396-8.
34. Mayol G, Martín-Subero JI, Ríos J, Queiros A, Kulis M, Suñol M, et al. DNA hypomethylation affects cancer-related biological functions and genes relevant in neuroblastoma pathogenesis. *PLoS One* 2012;7(11):e48401.
35. Decock A, Ongenaert M, Hoebeek J, De Preter K, Van Peer G, Van Criekinge W, et al. Genome-wide promoter methylation analysis in neuroblastoma identifies prognostic methylation biomarkers. *Genome Biol* 2012;13(10):R95.
36. Wickström M, Dyberg C, Milosevic J, Einvik C, Calero R, Sveinbjörnsson B, et al. Wnt/ β -catenin pathway regulates MGMT gene expression in cancer and inhibition of Wnt signalling prevents chemoresistance. *Nat Commun* 2015;(6):8904.
37. Ostler KR, Yang Q, Looney TJ, Zhang L, Vasanthakumar A, Tian Y, et al. Truncated DNMT3B isoform DNMT3B7 suppresses growth, induces differentiation, and alters DNA methylation in human neuroblastoma. *Cancer Res* 2012;72(18):4714-23.
38. Veschi V, Liu Z, Voss TC, Ozbun L, Gryder B, Yan C, et al. Epigenetic siRNA and chemical screens identify SETD8 inhibition as a therapeutic strategy for p53 activation in high-risk neuroblastoma. *Cancer Cell* 2017;31(1):50-63.
39. Wong M, Tee AEL, Milazzo G, Bell JL, Poulos RC, Atmadibrata B, et al. The histone methyltransferase DOT1L promotes neuroblastoma by regulating gene transcription. *Cancer Res* 2017;77(9):2522-33.
40. Barbieri E, De Preter K, Capasso M, Chen Z, Hsu DM, Tonini GP, et al. Histone chaperone CHAF1A inhibits differentiation and promotes aggressive neuroblastoma. *Cancer Res* 2014;74(3):765-74.
41. Yang J, AlTahan AM, Hu D, Wang Y, Cheng PH, Morton CL, et al. The role of histone demethylase KDM4B in Myc signaling in neuroblastoma. *J Natl Cancer Inst* 2015;107(6): djv80.
42. Lodrini M, Oehme I, Schroeder C, Milde T, Schier MC, Kopp-Schneider A, et al. MYCN and HDAC2 cooperate to repress miR-183 signaling in neuroblastoma. *Nucleic Acids Res* 2013;41(12):6018-33.
43. Fabian J, Lodrini M, Oehme I, Schier MC, Thole TM, Hielscher T, et al. GRHL1 acts as tumor suppressor in neuroblastoma and is negatively regulated by MYCN and HDAC3. *Cancer Res* 2014;74(9):2604-16.
44. Fabian J, Opitz D, Althoff K, Lodrini M, Hero B, Volland R, et al. MYCN and HDAC5 transcriptionally repress CD9 to trigger invasion and metastasis in neuroblastoma. *Oncotarget* 2016;7(41):66344-59.
45. Zhao G, Wang G, Bai H, Li T, Gong F, Yang H, et al. Targeted inhibition of HDAC8 increases the doxorubicin sensitivity of neuroblastoma cells via up regulation of miR-137. *Eur J Pharmacol* 2017;802:20-6.
46. Jubierre L, Soriano A, Planells-Ferrer L, París-Coderch L, Tenbaum SP, Romero OA, et al. BRG1/SMARCA4 is essential for neuroblastoma cell viability through modulation of cell death and survival pathways. *Oncogene* 2016;35(39):5179-90.
47. ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012;489(7414):57-74.
48. Chen Y, Stallings RL. Differential patterns of microRNA expression in neuroblastoma are correlated with prognosis, differentiation, and apoptosis. *Cancer Res* 2007;67(3):976-83.
49. Fontana L, Fiori ME, Albini S, Cifaldi L, Giovannazzi S, Forloni M, et al. Antagomir-17-5p abolishes the growth of therapy-resistant neuroblastoma through p21 and BIM. *PLoS One* 2008;3(5):e2236.
50. Creevey L, Ryan J, Harvey H, Bray IM, Meehan M, Khan AR, et al. MicroRNA-497 increases apoptosis in MYCN amplified neuroblastoma cells by targeting the key cell cycle regulator WEE1. *Mol Cancer* 2013;12:23.
51. Ayers D, Mestdagh P, Van Maerken T, Vandosomepele J. Identification of miRNAs contributing to neuroblastoma chemoresistance. *Comput Struct Biotechnol J* 2015;13:307-19.
52. He XY, Tan ZL, Mou Q, Liu FJ, Liu S, Yu CW, et al. microRNA-221 enhances MYCN via targeting nemo-like kinase and functions as an oncogene related to poor prognosis in neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2017;23(11):2905-18.
53. Lin RJ, Lin YC, Chen J, Kuo HH, Chen YY, Diccianni MB, et al. microRNA signature and expression of Dicer and Drosha can predict prognosis and delineate risk groups in neuroblastoma. *Cancer Res* 2010;70(20):7841-50.
54. Bevilacqua V, Gioia U, Di Carlo V, Tortorelli AF, Colombo T, Bozzoni I, et al. Identification of linc-NeD125, a novel long non coding RNA that hosts miR-125b-1 and negatively controls proliferation of human neuroblastoma cells. *RNA Biol* 2015;12(12):1323-37.
55. Chen L, Feng P, Zhu X, He S, Duan J, Zhou D. Long non-coding RNA Malat1 promotes neurite outgrowth through activation of ERK/MAPK signalling pathway in N2a cells. *J Cell Mol Med* 2016;20(11):2102-10.
56. Tee AE, Liu B, Song R, Li J, Pasquier E, Cheung BB, et al. The long noncoding RNA MALAT1 promotes tumor-driven angiogenesis by up-regulating pro-angiogenic gene expression. *Oncotarget* 2016;7(8):8663-75.
57. Tee AE, Ling D, Nelson C, Atmadibrata B, Dinger ME, Xu N, et al. The histone demethylase JMJD1A induces cell migration and invasion by up-regulating the expression of the long noncoding RNA MALAT1. *Oncotarget* 2014;5(7):1793-804.
58. Liu PY, Erriquez D, Marshall GM, Tee AE, Polly P, Wong M, et al. Effects of a novel long noncoding RNA, lincUSMycN, on N-Myc expression and neuroblastoma progression. *J Natl Cancer Inst* 2015;107(7).
59. Sahu D, Hsu CL, Lin CC, Yang TW, Hsu WM, Ho SY, et al. Co-expression analysis identifies long noncoding RNA SNHG1 as a novel predictor for event-free survival in neuroblastoma. *Oncotarget* 2016;7(36):58022-37.

60. Barnhill LM, Williams RT, Cohen O, Kim Y, Batova A, Mielke JA, et al. High expression of CAI2, a 9p21-embedded long noncoding RNA, contributes to advanced-stage neuroblastoma. *Cancer Res* 2014;74(14):3753-63.
61. Atmadibrata B, Liu PY, Sokolowski N, Zhang L, Wong M, Tee AE, et al. The novel long noncoding RNA linc00467 promotes cell survival but is down-regulated by N-Myc. *PLoS One* 2014;9(2):e88112.
62. Russell MR, Penikis A, Oldridge DA, Alvarez-Dominguez JR, McDaniel L, Diamond M, et al. CASC15-S is a tumor suppressor lncRNA at the 6p22 neuroblastoma susceptibility locus. *Cancer Res* 2015;75(15):3155-66.
63. Yu M, Ohira M, Li Y, Niizuma H, Oo ML, Zhu Y, et al. High expression of ncRAN, a novel non-coding RNA mapped to chromosome 17q25.1, is associated with poor prognosis in neuroblastoma. *Int J Oncol* 2009;34(4):931-8.
64. Pandey GK, Mitra S, Subhash S, Hertwig F, Kanduri M, Mishra K, et al. The risk-associated long noncoding RNA NBAT-1 controls neuroblastoma progression by regulating cell proliferation and neuronal differentiation. *Cancer Cell* 2014;26(5):722-37.
65. Mazar J, Rosado A, Shelley J, Marchica J, Westmoreland TJ. The long non-coding RNA GAS5 differentially regulates cell cycle arrest and apoptosis through activation of BRCA1 and p53 in human neuroblastoma. *Oncotarget* 2017;8(4):6589-607.
66. Tang W, Dong K, Li K, Dong R, Zheng S. MEG3, HCN3 and linc01105 influence the proliferation and apoptosis of neuroblastoma cells via the HIF-1 α and p53 pathways. *Sci Rep* 2016;6:36268.
67. Duffy DJ, Krstic A, Halasz M, Schwarzl T, Konietzny A, Iljin K, et al. Retinoic acid and TGF- β signalling cooperate to overcome MYCN-induced retinoid resistance. *Genome Med* 2017;9(1):15.
68. Casinelli G, LaRosa J, Sharma M, Cherek E, Banerjee S, Branca M, et al. N-Myc overexpression increases cisplatin resistance in neuroblastoma via deregulation of mitochondrial dynamics. *Cell Death Discov* 2016;12:16082.
69. Florea AM, Varghese E, McCallum JE, Mahgoub S, Helmy I, Varghese S, et al. Calcium-regulatory proteins as modulators of chemotherapy in human neuroblastoma. *Oncotarget* 2017;8(14):22876-93.
70. Daudigeos-Dubus E, Le Dret L, Bawa O, Opolon P, Vievard A, Villa I, et al. Dual inhibition using cabozantinib overcomes HGF/MET signaling mediated resistance to pan-VEGFR inhibition in orthotopic and metastatic neuroblastoma tumors. *Int J Oncol* 2017;50(1):203-11.
71. Pajtler KW, Sadowski N, Ackermann S, Althoff K, Schönbeck K, Batzke K, et al. The GSK461364 PLK1 inhibitor exhibits strong antitumoral activity in preclinical neuroblastoma models. *Oncotarget* 2017;8(4):6730-41.
72. Xiao D, Yue M, Su H, Ren P, Jiang J, Li F, et al. Polo-like kinase-1 regulates Myc stabilization and activates a feedforward circuit promoting tumor cell survival. *Mol Cell* 2016;64(3):493-506.
73. Chen Z, Wang L, Yao D, Yang T, Cao WM, Dou J, et al. Wip1 inhibitor GSK2830371 inhibits neuroblastoma growth by inducing Chk2/p53-mediated apoptosis. *Sci Rep* 2016;6:38011.
74. Sidhar H, Giri RK. Induction of Bex genes by curcumin is associated with apoptosis and activation of p53 in N2a neuroblastoma cells. *Sci Rep* 2017;7:41420.
75. Mao X, Chen Z, Zhao Y, Yu Y, Guan S, Woodfield SE, et al. Novel multi-targeted ErbB family inhibitor afatinib blocks EGF-induced signaling and induces apoptosis in neuroblastoma. *Oncotarget* 2017;8(1):1555-68.
76. Henssen AG, Odersky A, Szymansky A, Seiler M, Althoff K, Beckers A, et al. Targeting tachykinin receptors in neuroblastoma. *Oncotarget* 2017;8(1):430-43.
77. Bieerkehazhi S, Chen Z, Zhao Y, Yu Y, Zhang H, Vasudevan SA, et al. Novel Src/Abl tyrosine kinase inhibitor bosutinib suppresses neuroblastoma growth via inhibiting Src/Abl signalling. *Oncotarget* 2017;8(1):1469-80.
78. Bhoopathi P, Lee N, Pradhan AK, Shen XN, Das SK, Sarkar D, et al. mda-7/IL-24 induces cell death in neuroblastoma through a novel mechanism involving AIF and ATM. *Cancer Res* 2016;76(12):3572-82.
79. Kasim M, Heß V, Scholz H, Persson PB, Fähling M. Achaete-scute homolog 1 expression controls cellular differentiation of neuroblastoma. *Front Mol Neurosci* 2016;9:156.
80. Yao PL, Chen L, Dobrzański TP, Zhu B, Kang BH, Müller R, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- β/δ inhibits human neuroblastoma cell tumorigenesis by inducing p53- and SOX2-mediated cell differentiation. *Mol Carcinog* 2017;56(5):1472-83.
81. Wood AC, Krytska K, Ryles HT, Infarinato NR, Sano R, Hansel TD, et al. Dual ALK and CDK4/6 inhibition demonstrates synergy against neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2017;23(11):2856-68.
82. Kroesen M, Büll C, Gielen PR, Brok IC, Armandari I, Wassink M, et al. Anti-GD2 mAb and Vorinostat synergize in the treatment of neuroblastoma. *Oncoimmunology* 2016;5(6):e1164919.
83. Ham J, Costa C, Sano R, Lochmann TL, Sennott EM, Patel NU, et al. Exploitation of the apoptosis-primed state of MYCN-amplified neuroblastoma to develop a potent and specific targeted therapy combination. *Cancer Cell* 2016;29(2):159-72.
84. Thole TM, Lodrini M, Fabian J, Wuenschel J, Pfeil S, Hielscher T, et al. Neuroblastoma cells depend on HDAC11 for mitotic cell cycle progression and survival. *Cell Death Dis* 2017;8(3):e2635.
85. Soriano A, Paris-Coderch L, Jubierre L, Martínez A, Zhou X, Piskareva O, et al. MicroRNA-497 impairs the growth of chemoresistant neuroblastoma cells by targeting cell cycle, survival and vascular permeability genes. *Oncotarget* 2016;7(8):9271-87.
86. Li D, Cao Y, Li J, Xu J, Liu Q, Sun X. miR-506 suppresses neuroblastoma metastasis by targeting ROCK1. *Oncol Lett* 2017;13(1):417-22.
87. Penna I, Gigoni A, Costa D, Vella S, Russo D, Poggi A, et al. The inhibition of 45A ncRNA expression reduces tumor formation, affecting tumor nodules compactness and metastatic potential in neuroblastoma cells. *Oncotarget* 2017;8(5):8189-205.
88. Tao T, Sondalle SB, Shi H, Zhu S, Perez-Atayde AR, Peng J, et al. The pre-rRNA processing factor DEF is rate limiting for the pathogenesis of MYCN-driven neuroblastoma. *Oncogene* 2017;36(27):3852-67.
89. Bao L, Chen SJ, Conrad K, Keefer K, Abraham T, Lee JP, et al. Depletion of the human ion channel TRPM2 in neuroblastoma demonstrates its key role in cell survival through modulation of mitochondrial reactive oxygen species and bioenergetics. *J Biol Chem* 2016;291(47):24449-64.
90. Haddad Y, Heger Z, Adam V. Targeting neuroblastoma cell surface proteins: recommendations for homology modeling of hNET, ALK, and TrkB. *Front Mol Neurosci* 2017;10:7.
91. Markovsky E, Eldar-Boock A, Ben-Shushan D, Baabur-Cohen H, Yeini E, Pisarevsky E, et al. Targeting NCAM-expressing neuroblastoma with polymeric precision nanomedicine. *J Control Release* 2017;249:162-72.

92. Tanaka M, Tashiro H, Omer B, Lapteva N, Ando J, Ngo M, et al. Vaccination targeting native receptors to enhance the function and proliferation of chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells. *Clin Cancer Res* 2017;23(14):3499-509.
93. Singh N, Kulikovskaya I, Barrett DM, Binder-Scholl G, Jakobsen B, Martinez D, et al. T cells targeting NY-ESO-1 demonstrate efficacy against disseminated neuroblastoma. *Oncoimmunology* 2015;5(1):e1040216.
94. Lee J, Jeong EJ, Lee YK, Kim K, Kwon IC, Lee KY. Optical imaging and gene therapy with neuroblastoma-targeting polymeric nanoparticles for potential therapeutic applications. *Small* 2016;12(9):1201-11.
95. Delalat B, Sheppard VC, Rasi Ghaemi S, Rao S, Prestidge CA, McPhee G, et al. Targeted drug delivery using genetically engineered diatom biosilica. *Nat Commun* 2015;6:8791.
96. Flahaut M, Jauquier N, Chevalier N, Nardou K, Balmas Bourlout K, Joseph JM, et al. Aldehyde dehydrogenase activity plays a key role in the aggressive phenotype of neuroblastoma. *BMC Cancer* 2016;16(1):781.
97. Kyono Y, Subramani A, Ramadoss P, Hollenberg AN, Bonett RM, Denver RJ. Liganded thyroid hormone receptors transactivate the DNA methyltransferase 3a gene in mouse neuronal cells. *Endocrinology* 2016;157(9):3647-57.
98. Kiessling MK, Schuierer S, Stertz S, Beibel M, Bergling S, Knehr J, et al. Identification of oncogenic driver mutations by genome-wide CRISPR-Cas9 dropout screening. *BMC Genomics* 2016;17(1):723.