

Onkogenler

ONCOGENES

İsmail SAVAŞ*

*Doç.Dr.Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz ABD, ANKARA

Robert Weinberg ve arkadaşları mesane kanser hücrelerinden DNA'yı ekstrakte etmişler ve bu DNA'yı NIH/3T3 fare fibroblast hücrelerine transfekte etmeyi başarmışlardır. 3T3 hücreleri kültürlerde normalde devamlı büyürler, kontakt inhibisyonları vardır ve immüno-suprese farelere injekte edildiklerinde tümör oluşturmazlar. Tümör DNA'sıyla transfeksiyondan sonra ise atimik farelerde 3T3 hücreleri transforme hücre kaynağı olarak göze çarpar. Buna karşın normal hücre DNA'sıyla transfeksiyon 3T3 hücrelerinde transformasyon oluşturmaz. Buradan bazı sonuçlar çıkmaktadır; mesane kanseri hücrelerinin DNA'sında 3T3 fibroblastlarda transformasyona neden olan bazı yapılar mevcuttur. Bu yapılar zaman içinde protoonkogenler-onkogenler olarak isimlendirilmiş ve birçok çalışmaya temel oluşturmuşlardır. Normal hücre genler (protoonkogenler) çeşitli nedenlerle hücre onkogenlere dönüşerek, onkogenik hale gelirler.

Protoonkogenler normal hücrelerin diferansiyasyonu ve proliferasyonunda önemli rol oynarlar.

"Hücre membranıyla, eksternal faktörün etkileşimi hücre membranından sinyal iletimine yol açar.

'Plazma membranının iç yapısından iletilen sinyal ikinci bir haberciyle nükleusa geçer.

*DNA transkripsiyonu ve replikasyonunun başlaması sonuçta hücre bölünmesine yol açar.

Büyümeyi kontrol eden 4 tip gen ürünü vardır. Bilinen birçok onkogen bu 4 tip ürünün biriyle ilişkilidir.

Bunlar;

1. Büyüme faktörleri (sis)
2. Reseptörler (fms, erb A, neu, erb B)
3. intrasellüler reseptörler (src, abl, ras proteinleri)
4. Nükleer transkripsiyon faktörler (jun, fos, myc, N-myc, myb, p53, RB)

Geliş Tarihi: 15.11.1995

Yazışma Adresi: Dr.İsmail SAVAŞ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları ve Tbc. ABD, ANKARA

Normal hücre proliferasyonunun stimülasyonu büyüme faktörlerince sağlanan eksternal sinyallere bağlıdır. Hücre membranı üzerindeki reseptörden sinyal alınır, mesaj membrandan sitoplazmaya ve nükleusa iletilir. Protoonkogenler bu siklusun her aşamasında fonksiyon ederler.

Normal hücrelerin proliferasyonunu stimüle eden birçok büyüme faktörü vardır. Bunlar arasında EGF, PDGF, CSF-1, ILGF ile daha az IL-2, TGF-alfa ve beta onkogen aktivitesiyle yakından ilgilidir. Gene 20 kadar protoonkogen protein-kinaz aktivasyonu ile ilgilidir. Bu aktivasyon membran reseptörleri düzeyinde veya sitoplazmik düzeyde gerçekleşebilir.

Eksternal sinyallerin iletiminde önemli rol oynayan diğer bir protein ras proteinleri. Plazma membranının iç yüzünde yerleşen ras proteini yüksek affiniteyle guanin nükleotidlerini bağlar ve intrinsek GTPase aktivitesi oluşturur. Ras proteinleri GDP'nin GTP'ye dönüşümüyle aktive olur ve adenilat siklazı aktive ederler, intrasellüler cAMP artışı çeşitli kinazları etkiler. Ancak p21 etkisi geçicidir.

Myc, fos, myb gibi onkogenler nükleusda bulunurlar. N-myc, L-myc ve c-myc çeşitleri olup birçok malign tümörlerde artış gözlenmiştir. Birçok nükleer onkogenler normal hücre bölünmesi esnasında ekspresse olurlar. Stimülasyondan 1-2 saat sonra c-myc RNA ortaya çıkar, ancak hücre S fazına geçmeden düzeyi düşer.

AKCİĞER KANSERLERİNDE ONKOGENLER

Akciğer kanseri son yıllarda hem erkek hem de kadınlarda kanser ölümlerinin başında gelmektedir. Optimal tedavi rejimleri ve prognoz sağlamak için tümöre özgü çeşitli özelliklerin ortaya konması gerekmektedir. Son zamanlarda akciğer kanserinin biyolojisi ve moleküler patolojisinde büyük bir bilgi birikimi olmuştur. Bunlardan en önemlileri; protoonkogenler, onkogenler, tümör supresor genler, büyüme faktörleri ve bunların reseptörlerinin tümör oluşumundaki rolleridir. Tümörlerdeki onkogen ekspresyonu, DNA içeriği, çoğalma özelliği ve tümör proteaz ekspresyonu prognozu saptamada

ve tedavi seçiminde önemlidir. Akciğer kanserinde de bu tip moleküler yaklaşımlar prognoz ve tedavi tayininde yol göstericidir.

Akciğer kanserinde bir çok hücrel protoonkogenler aktive olur ve onkogen haline gelirler. Bunlar arasında ras, raf, jun, myb, fms, myc, cErbB-2 sayılabilirler. Bu protoonkogenlerin onkogen haline geçmesi mutasyon, kromozomal translokasyon, gen amplifikasyonu sonucu onkogen haline geçer. Bu sayılan onkogenlerin kesin rolü ve onkogeneze hangi noktada etkileri tam olarak belirlenmiş değildir.

Her genetik olay onkogenik olmayabilir, ama malign değişim yolunda bir basamak oluşturabilir. Akciğerdeki preneoplastik olaylar; hiperplazi, metaplazi, progresif displazi, karsinoma in situ, invazif kanser ve metastatik kanser aşamalarını içine alan epitelyal değişikliklerdir. Bu basamakların her birinde bir veya daha fazla genetik bir olay söz konusudur.

Myc

Myc protoonkogenleri DNA'ya bağlanma özelliği olan proteinleri kodlar, böylece transkripsiyonun düzenlenmesinde rol oynar. Üç önemli üyesi vardır, C-myc, N-myc ve L-myc. Bu ailenin anormal ekspresyonunun en iyi örneği Burkitt lenfomalarıdır. Küçük hücreli akciğer kanserinde amplifiye olarak veya olmayarak genin aşırı ekspresyonu söz konusudur. Küçük hücreli akciğer kanserinde amplifiye olmuş myc ekspresyonu %10-25, amplifiye olmadan myc ekspresyonu %80-90 olarak gözlenmiştir.

Küçük hücreli akciğer kanserinde ilk olarak C-myc anormalliği bildirilmiştir. C-myc ekspresyonuna göre kanserin biyolojik olarak farklı hücre dizininden kaynaklandığı öne sürülmüş ve buna göre iki çeşit küçük hücreli akciğer kanseri tanımlanmıştır. Düşük düzeyde C-myc ekspresyonu eden tipe klasik küçük hücreli akciğer kanseri, yüksek düzeyde c-myc ekspresyonu eden tipe variant küçük hücreli akciğer kanseri tanımlaması uygun görülmüştür. Variant tipe tümörün iki katına çıkma (doubling time) süresi oldukça kısalmış; radyorezistan hale gelmiş ve nörosekretuar granüllerin ekspresyonu da azalmıştır. Aktif c-myc geninin klasik küçük hücreli akciğer kanseri hücre dizinine transfeksiyonu her zaman olmasa da çoğunlukla, klasik tipi variant tipe çevirmiştir. Sonuçta, c-myc onkogeninin variant genotipten sorumlu olduğu öne sürülmüştür. C-myc gen amplifikasyonunun tümöre daha malign bir karakter kazandırdığı sonucuna yol açmıştır. Küçük hücreli akciğer kanserinde kemoterapiyi takiben görülen nükslerde c-myc amplifikasyonunun artması bu teorileri desteklemektedir. O halde tedavideki hedef c-myc gen amplifikasyonu olan hücrelere karşı daha etkin olunmasıdır.

Myc ailesinin diğer üyeleri; N-myc ve L-myc'dir. L-myc'in akciğer kanserindeki klinik önemi henüz saptanmamıştır. N-myc ise önem taşımaktadır. N-myc geninin aşırı ekspresyonu ve kemoterapiye cevabın zayıf olma-

sı, hızlı tümör büyümesi, yaşamın kısalması arasında ilişki bulunmuştur. N-myc ekspresyonu eden tümörlerde yaşam ortalama 13 ayken, ekspresyonu olmayanlarda 22 aydır.

Sonuç olarak, myc gen anormallikleri akciğer kanserinde tümör davranışıyla ilgilidir. Myc gen ailesi genellikle küçük hücreli akciğer kanserinde klinik önem taşır, diğer tiplerde önemi yoktur.

Ras

Üç adet ras protoonkogeni vardır; H-ras, K-ras, N-ras. Üç ras protoonkogeni hücre membranının iç yüzündeki bölgede lokalize 21 kDa'lık proteinlerle ilişki halindedir. Bu proteinlerde guanin nükleotid bağlama özelliği vardır ve fonksiyonel olarak G proteinlerle ilişkilidir.

Ras protoonkogenleri normal proteinin aşırı ekspresyonu veya gen proteini kodlayan zincirdeki nokta mutasyonu sonucunda ortaya çıkar.

P21 ras ekspresyonu küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde gösterilmiş ve son zamanlarda prognostik değeriyle ilgili çalışmalar yayımlanmıştır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 91 olguluk bir seride %64 **P21** ras aktivitesi bulunmuştur. **P21** ras genel olarak adenokanserde %80, yassı hücreli kanserde %40, büyük hücreli kanserde %20, küçük hücreli kanserde %15 civarında pozitif bulunmuştur. Evre IV'deki hastalarda ekspresyonun daha fazla olduğu bildirilmiştir. **P21** ras negatif olan tümörlerde ortalama yaşam, **P21** ras pozitif olan tümörlerden daha uzun bulunmuş ve **P21** ras ekspresyonuyla hem evre hem de yaşam süresi açısından bağlantı kurulmuştur. Öpene edilen **P21** ras (-) hastalar, **P21** ras (+) hastalardan daha uzun yaşamışlardır. **P21** ras ekspresyonu bağımsız bir prognostik değişkendir. Bundan dolayı tümörün **P21** ras durumunu bilmek ilave yaşam bilgisi sağlar.

Akciğer kanserinde spesifik ras geni nokta mutasyonları bulunur. Bu nokta mutasyonları 12., 61. ve 13.kodonda meydana gelir, insan kanserlerindeki ras mutasyonlarının %90'ı K-ras'da ortaya çıkar. Tüm çalışmaların birleştiği nokta; 12.kodondaki K-ras mutasyonunun en sık adenokanserde olmasıdır. K-ras mutasyonu, küratif rezeksiyon şansı olmasına rağmen kötü prognoz göstergesidir.

12.Kodon K-ras mutasyonu olan akciğer kanserli hastaların çoğu ağır sigara içicisidir. K-ras mutasyonu ile sigara içimi arasında ilişki mevcuttur. Sigara içen adenokanserli hastalarda K-ras mutasyonu %30, içmeyen adenokanserlilerde %7 bulunmuştur. Sigara içimi önemli bir negatif prognostik faktör olan K-ras'daki mutasyonu ortaya çıkarmaktadır.

Cerb B-1 ve B-2

Erb B-1 intrinsek tirozin kinaz aktivitesi oluşturan 170 kDa'lık bir transmembran glikoproteini epidermal

büyüme faktör reseptörünü etkileyerek sinyal iletiminde önemli rol oynar. Aktivasyonu aşırı ekspresyonla olur, mutasyonla olmaz.

ErbB-1 proteini normal insan akciğerinde de ekspresyon edilir. Fetal ve yenidoğanların havayollarından epitel hücrelerin çoğalmasını ve gelişmesini hızlandırır. Yapılan çalışmalarda CerbB-1 proteininin akciğer kanserlerinde aşırı ekspresyonu gösterilmiştir. Yassı hücreli kanserde %25, adenokanserde %15, büyük hücreli kanserde %20 civarında CerbB-1 ekspresyonu saptanmıştır.

ErbB2 geni tirozin spesifik protein kinazı, p-issne kodlar, fonksiyonu tam olarak anlayamamıştır. Epitel hücre büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesinde rol oynar. Pi85 c-ErbB-2 normal akciğerlerde de ekspresyon edilebilir. Akciğer adenokanseri ve yassı hücreli kanserinde ekspresyon edilirse normalde bulunduğundan daha fazla bulunur. Adenokanserli hastalarda Piss ekspresyonu yaşlı hastalarda daha sık olup, yaşamın kısıllığının göstergesidir. Yassı hücreli kanserde ise herhangi bir klinikopatolojik parametreyle ilişkili değildir. Adenokanserlerde hastalığın evresiyle P-iss ekspresyonu artar. Evre I'de %18; IHA'da %39, IIIB'de %50 ve II'de %60 ekspresyon edilir. Myc, ras, erbB-1 ve B-2 onkogenlerinin dışında; özellikle küçük hücreli akciğer kanserinde ekspresyon edilen bir kaç onkogen daha vardır. C-myc hücre farklılaşmasıyla ters ilişkili nükleer bir onkogendir ve küçük hücreli akciğer kanserinde ekspresyon edilir. C-raf 3p25'de lokalize bir onkogendir ve küçük hücreli kanserlerde delesyona uğrar. Hematopoiezisde önemli rol oynayan ve tirozin kinaz reseptörü olduğu düşünülen C-kit küçük hücreli akciğer kanserinde ekspresyon edilen diğer bir onkogendir. Ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) potent bir mitojendir ve reseptörleri primer akciğer kanserlerinde bulunmaktadır.

TÜMÖR SUPRESOR GENLER

İnsan tümörlerinin gelişiminde diğer moleküler bir mekanizma antionkogen diye adlandırılan kanser supressor gen fonksiyonunun ortadan kalkmasıdır. İki adet iyi tanımlanmış kanser supressor gen vardır. Retinoblastoma (Rb) geni ve p53 geni olarak adlandırılan bu genlere ek olarak 3., 5. ve 9. kromozomlarda da tümör supressor genler gösterilmiş, ancak net olarak tanımlanamamıştır.

Rb geni; ilk kez izole edilen tümör supressor genidir. Bu gen 105.000 daltonluk, hücrenin progresyonunu regüle eden nükleer bir fosfoproteindir. Her iki Rb allelinin anormalliği, anormal gen transkripsiyon ürünleri veya Rb proteinin olmaması küçük hücreli akciğer kanserinde %95 oranında bulunmuştur, ancak küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde de %10-20 arasında Rb geni saptanmıştır.

P53 geni 17.kromozomda bulunan ve nükleer transkripsiyon faktörü kodlayan önemli bir fosfoproteindir. Akciğer kanserindeki p53 anormallikleri; allel kaybı,

gen mutasyonu gibi protein fonksiyon inaktivasyonu ortaya çıkar. Küçük hücreli akciğer kanserinde %90, küçük hücre dışı akciğer kanserinde %50'den fazla gen mutasyonu sonucu P53 gen anormalliği gösterilmiştir. Akciğer adenokanserinde sigara içimiyle P53'ün aşırı ekspresyonu paralellik gösterir.

Hücre karyotipleri değerlendirildiğinde 3. kromozomun kısa kolunda (3p) kopmalar küçük hücreli akciğer kanserinde %100, küçük hücre dışı akciğer kanserinde %25 dolayında gözlenmiştir. İnterferon gen kümesi içinde 9.kromozomun kısa kolunda da genetik materyalin kaybı akciğer kanserinde gösterilmiştir. Diğer önemli bir kromozom 5q'da gözlenen heterozigote kayıptır. Daha önce kolon kanserinde gözlenen bu anormallik, küçük hücreli akciğer kanserinde %80, küçük hücreli akciğer kanseri dışında %20 bulunmuştur.

Tümör supressor genler ve yapılarının fonksiyonel anormallikleri akciğer kanseri patogeneziinde önemli rolü almasına rağmen, klinik önemi henüz net değildir.

BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE BÜYÜME FAKTÖR RESEPTÖRLERİ

Büyüme faktörleri (BF) hücre proliferasyonunda rol oynayan, hücre bölünmesini stimüle eden sinyal molekülleridir. Bu fonksiyonların ortaya çıkarmak için spesifik reseptörler ve intrasellüler sinyal iletim yollarına ihtiyaç duyarlar. Birçok çeşit BF ve büyüme faktör reseptörü (BFR) akciğer kanser hücreleri tarafından sentez edilir. BF ve BFR'e antagonist maddelerle ilgili çalışmalar yapılmış ve halen yapılmaktadır; hedef; hücrenin proliferasyon ve tümörün invazyonunu engellemektir.

Büyüme faktörleri arasında en çok çalışılan Gastrin Releasing Peptide (GRP) ve bombesindir. GRP güçlü mitojenik etkiye sahiptir. Bombesin/Gastrin Releasing Peptid fetal akciğer büyümesinde önemli bir faktördür. Sigara içenlerin bronkoalveoler lavajlarında bombesin benzeri peptidlerin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Pulmoner nöropeptidlerin üretimlerinin artması sigara maruziyetinin erken bulgusudur ve hücresele proliferasyonun artmasının göstergesidir.

Bombesin ve GRP'e karşı geliştirilen maddelerin küçük hücreli akciğer kanserinde terapötik etkisi gösterilmişse de henüz çalışmalar yeterli değildir.

Bombesinin diğer bir önemi; küçük hücreli akciğer kanserinde tümör markeri olarak kullanılmasıdır. Serum bombesin düzeyinin değişimi hastanın tedaviye cevabını göstermektedir.

Bradikinin, kolesistokininin, nörotensinin, opioid peptidler, vazopressin, galanin, endotelin ve VIP gibi nöropeptidlerin küçük hücreli akciğer kanseri üzerine mitojenik etkileri vardır.

Diğer önemli bir büyüme faktörü; ILGF-1 (Insulin like growth factor-1); insüline benzer bir peptiddir. IGF-1 ve reseptörü; küçük hücreli ve küçük hücre dışı ak-

ciğer kanserinde bulunur. IGF-1 güçlü bir mitojendir, küçük hücreli akciğer kanserinde bu etki IGF-1 veya reseptöre karşı monoklonal antikolarla inhibe edilebilir.

Transferin küçük hücreli akciğer kanserinde otokrin büyüme faktörü olarak fonksiyon görür. Bazı kanser hücre serilerinde (özellikle küçük hücreli akciğer kanseri) hücre yüzeyinde transferrin sentez edilir, ekspresse edilir ve transferrin bağlanır. Transferrin reseptörlerine karşı geliştirilen monoklonal antikolar küçük hücreli akciğer kanserinde büyümeyi durdurmuştur.

Diğer önemli bir faktör; Transforming Growth Faktör (TGF) a'dır. Akciğer adenokanserlerinde otokrin bir büyüme faktörüdür.

Bu hücreler TGFA sentezler, reseptör ekspresse eder ve egzojen TGFA ile büyümeleri uyarılır. Monoklonal antikolar bu tip kanserlerde de büyümeyi durdurur. Yüksek konsantrasyonda TGFA bulunduran akciğer adenokanserler, düşük konsantrasyonlu adenokanserlere göre yaşam süreleri daha azdır. Sonuç olarak TGFA adenokanserde prgonostik bir parametredir.

Büyüme faktör reseptörleri içinde erbB-1 ve B-2'e daha önce kısaca değinilmişti. Bunların dışında bronş kanserlerinde birçok büyüme faktör reseptörleri ekspresse edilmiştir. Fms onkogeni makrofaj koloni stimule eden faktörün (M-CSF) reseptörünü kodlar ve küçük hücre dışı akciğer kanserinde bu reseptör örnekleri gözlenmiştir. Ligandıyla beraber bu reseptörün aktivasyonu (fms+) akciğer kanserinin invazifliğini artırır. Ancak klinik önemi henüz aydınlanmamıştır. Retinoik asit re-

septörü, östrojen, progesteron reseptörleri, opioid ve nikotin reseptörlerinin anormal veya ekspresse edildiği gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Mulshine JL, Treston AM, Brown PH, Birrer mJ, Shaw GL. Initiator and Promoters of Lung Cancer. *Chest* 1993; 103 (1):45-115.
2. Criss WE. Kanserle ilişkili genler-onkogenler. *Doktor* 1994; 2(3):228-34.
3. Lane DP. P53 and Human Cancers. *British Medical Bulletin* 1994; 50(3):582-99.
4. Kern JA, Filderman AE. Oncogenes and Growth factors in Human Lung Cancer. *Clin In Chest Med* 1993; 14(1):31-41.
5. Wall PJ. Growth Factors and Lung Cancer. *Thorax* 1991; 46:924-9.
6. Anderson MLM, Spandidos DA. Oncogenes and onco-suppressor genes in lung cancer. *Respiratory Medicine* 1993; 87:413-20.
7. Hynes NE, Stern DF. The biology of erbB-2/new/HER2 and its role in Cancer. *Biochimic et Biophysicz Act* 1994, 1198:165-84.
8. Murray JF, Nadel JA. *Neoplasm of the lung*. WB Saunder Company. 1994.
9. Johnson BE. Editors in Johnson BE and Johnson DH. *Current Clinical Oncology, Lung Cancer: Biology of Lung Cancer*. Wiley-Liss Printed in the USA 1995:15-40.