

Apoptozis Mekanizmaları: Tümör Gelişiminde Fas-FasL Bağımlı Apoptozis

Beril Bahadır Erdoğan*, Esra Kunt Uzaslan*

* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı

ÖZET

Hücre ölümü, embriyogenezis, metamorfozis, endokrin bağımlı doku atrofisi ve normal doku döngüsü esnasında görülür, "programlanmış hücre ölümü", "apoptozis" olarak da adlandırılır. Kanser gelişiminde, artmış hücre proliferasyonu yanında azalmış hücre ölüm hızının da önemli olduğu bilinmektedir. Programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) aktive eden fizyolojik mediatörler Fas ve Fas Liganttır (FasL).

Hücre membran yüzeyindeki Fas-FasL etkileşimi, tümör hücrelerinin sitotoksik T lenfositler ve natural killer (NK) hücreleri tarafından öldürülmesinde çok önemli bir yere sahiptir. Tümör hücrelerinde Fas Ligand ekspresyonu, tümör hücrelerinin Fas ilişkili apoptozise rezistans geliştirerek immün sistemden kaçmasına yardımcı olur.

Akciğer Arşivi: 2003; 4: 165-174

Anahtar Kelimeler: Kanser, apoptozis, Fas, FasL

SUMMARY

Apoptosis Mechanism: Fas-FasL-Mediated Apoptosis in Tumour Development

The cell death occurs during embryogenesis, metamorphosis, endocrine-dependent tissue atrophy and normal tissue turnover is "programmed cell death", mediated by a process termed "apoptosis". It's suggested that decreased cell death rate contributes to carcinogenesis as much as increased cell proliferation. Fas-Fas Ligand (FasL) is one of the major mediator system that activates programmed cell death (Apoptosis).

On the cell membrane surface the interaction of Fas and FasL plays an important role in cytotoxic T-lymphocyte mediated and natural killer (NK) cell-mediated apoptosis against tumor cell. Expression of Fas Ligand in tumor cells resistant to Fas-mediated apoptosis helps the tumor to escape surveillance by the immune system.

Archives of Pulmonary: 2003; 4: 165-174

Key Words: Cancer, apoptosis, Fas, FasL.

Giriş

Kanser, yüzyılın en önemli ölüm sebebidir. Nedeni bilinen ölümler arasında 1970'li yıllarda 4. sırada iken, günümüzde kalp-damar hastalıklarından sonra 2. sıraya yükselmiştir. Her on ölümden birine neden kanserdir (1).

Kanser gelişimindeki en önemli etyolojik faktörler; sigara, mesleki etkenler, radyasyon, diyet, genetik sebeplerdir (proto-onkogenler ve tümör supresör genlerdeki mutasyonlar) (2).

Her hücre, doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve ölür (apoptozis). Bütün bu

olaylar doğal bir denge halinde sürer gider. Doku homeostazisi yani yeniden yapım ve yıkımın bir düzen içinde oluşu, apoptozis/proliferasyon dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine bağlıdır (2,3). Son yıllarda, bu dengenin bozulmasının bir çok önemli hastalığın patogeneziinde rol aldığı gösterilmiştir (2). Örneğin; artmış proliferasyon ve azalmış apoptozisin karsinogeneziinde rol oynadığı düşünülmektedir (2).

Apoptozis (programlanmış hücre ölümü), hücre intiharı olarak da bilinir ve fizyolojik bir olaydır. Programlanmış hücre ölümü, embriyolojik gelişim ve erişkin dokunun gelişiminin sürdürülmesinde anahtar rol oynar (4). Apoptozis, hücrenin yaşam çemberi boyunca yapım-yıkım dengesinin sürdürülmesini sağlar. Örneğin kemik iliğinden devamlı olarak hücre üretimi devam ederken, günde yaklaşık 5×10^{11} kan hücresi apoptozis yolu ile yok edilmek-

Yazışma Adresi: Dr. Beril Bahadır Erdoğan
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve
Tüberküloz Anabilim Dalı, Görükle Bursa 16059
Tel:02244428400-1105
E-mail:cerdogan@uludag.edu.tr

tedir (4). Barsak epitel hücrelerinin devamlı yenilenmesi, menstruasyon esnasında uterusun iç yüzündeki hücrelerin öldürülerek uzaklaştırılması apoptoze örnektir. Apoptozis, organizmada hasar görmüş veya organizma için tehlikeli olabilecek hücrelerin yok edilmesinde de görev alır. Örneğin virüsle enfekte hücreler bu yolla ortadan kaldırılır. Hasarlı DNA da apoptozis yolu ile ortadan kaldırılır (4,5). Hücrenin DNA'sında meydana gelen mutasyonlar kanser gelişimine neden olabilecekleri için bu hasarlı hücrelerin apoptozis yolu ile öldürülmesi büyük önem taşımaktadır (4,6). Apoptozis, doku gelişimi esnasında istenmeyen hücrelerin yok edilmesinde de rol alır. Örneğin böcek ve amfibilerin metamorfozu esnasında larva dokusunun yok edilmesine neden olur. Diğer bir örnek de memelilerde sinir sisteminin gelişimi esnasındaki programlanmış hücre ölümüdür. Fazla sayıda üretilen nöronların %50'den fazlası programlanmış hücre ölümü yoluyla ortadan kaldırılır. Ayrıca akut hücre hasarı durumunda da apoptozis rol almaktadır (4).

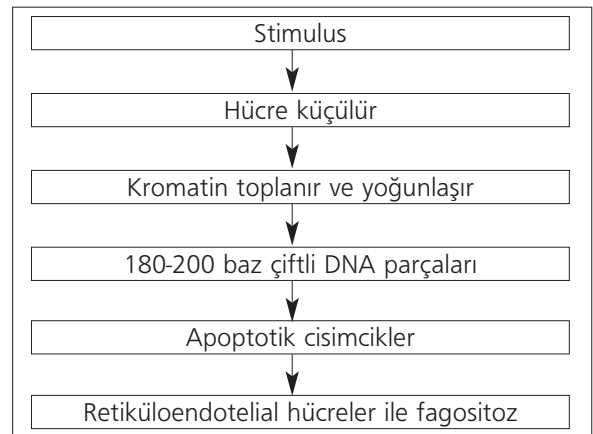
Apoptozisin hızının bozulduğu yani yavaşladığı veya arttığı hallerde çeşitli hastalıklar ortaya çıkar. Viral bir enfeksiyon sırasında, normal şartlarda virüsler enfekte ettikleri hücrede kendi proteinlerini sentezletirler ve hücrenin kendisi için gerekli proteinlerin yapımını durdururlar. Bu yüzden virüsle enfekte olmuş hücrede apoptozis indüklenir ve hücre ölür. Böylece virüs kendisini de yok etmiş olur. Fakat bazı virüsler (ör.Ebstein-Barr virüs veya İnsan Papilloma virüsü), enfekte ettikleri hücrenin apoptozise gitmesini baskılayan yollar geliştirmişlerdir. Örneğin Ebstein-Barr virüs, apoptozis sinyalini kontrol eden regülatörlerden biri olan Bcl-2'ye benzer moleküller üreterek ve ayrıca enfekte ettiği hücrenin kendi Bcl-2 üretimini indükleyen moleküller üreterek apoptozisi durdurmaktadır (2). Papilloma virüs de, güçlü bir apoptozis indükleyicisi olan p53'ü etkisizleştirmektedir. Virüslerin bu etkileri sonucunda, bazı hematolojik kanserlerin gelişimine neden oldukları düşünülmektedir (6).

Nöronlar, bölünmeyen yani çoğalmayan hücreler oldukları için ömür boyu yaşarlar. Alzheimer, Parkinson, Hutchinson, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıklarda nedeni henüz bilinmeyen bir şekilde apoptozis indüklenerek nöronların öldüğü düşünülmektedir (2).

Malign hastalıklar, klasik olarak kontrolsüz aşırı hücre proliferasyonunun olduğu hastalıklar olarak

bilinir. Oysa aşırı proliferasyonun yanında azalmış apoptotik hücre ölüm hızının da malignite gelişimine katkıda bulunduğu görülmüştür. Zamanı geldiğinde normal olarak apoptozise gidemeyen, beklenenden daha uzun süre yaşayan hücreler, genomlarında biriktirdikleri mutasyonların etkisi ile malign hücrelere dönüşme potansiyeli taşırlar.

Apoptozis, klasik hücre ölüm şekli olan nekrozisden bir çok özelliği açısından oldukça farklı bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Nekrozis, fizyolojik bir ölüm şekli değildir. Apoptozis ise hem fizyolojik hem patolojik şartlarda meydana gelmektedir. Apoptozis morfolojik olarak kendine özgü bir yapı içerir (2,4,7). Nekroziste, hücre içine aşırı sıvı girmesi sonucu hücre şişerken, apoptoziste tam tersine hücre küçülür. Nekroziste, kromatin paterni hemen normal hücredeki görüntüye benzerdir ancak apoptotik hücrenin kromatinini nükleus membranının çevresinde toplanır (chromatin aggregation) ve yoğunlaşır (chromatin condensation) (2,4,7). Nekrotik hücrenin plazma membranı, bütünlüğünü kaybeder ve hücre içinden dışına doğru hücre içi materyalinin çıkışı gerçekleşir. Oysa apoptotik hücre membranı intakttır ve üzerinde küçük çepçikler oluşur. Nekrotik hücre, daha sonra lizise uğrar ancak apoptotik hücre küçük cisimciklere (apoptotic bodies) parçalanır. Apoptotik cisimcikler, membran ile kaplıdır, değişen miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi yapılar içerir (4). Nekroziste hücre içeriği dış ortama salıverildiğinden enflamasyon reaksiyonu uyarılır (2). Ancak apoptoziste apoptotik hücre veya cisimcikler komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinden enflamasyon oluşmaz (2,7) (Şekil 1). Apoptozisin en özgün yönü, hücre



Şekil 1: Apoptozisin morfolojik görünümü (7,8)

DNA'sının nükleozomlar arası bölgelerden yaklaşık 180-200 baz çifti veya bunun katları boyutunda DNA parçaları oluşturacak şekilde parçalanmasıdır. Apoptotik hücrede görülen önemli değişikliklerden biri de normalde plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfatidilserinin erken evrede membranın dış yüzüne doğru yer değiştirmesidir (phosphatidylserine translocation). Bu değişim, apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar (7).

Apoptozis Mekanizmaları

Apoptozisin klasik tanımı, otonomik ve programlı hücre intiharı olarak da ifade edilebilir. Apoptozis, hücre dışı ve hücre seviyede oluşan çeşitli sinyaller yoluyla tetiklenebilir (2). Hücre düzeyinde etkili ana fizyolojik aktivatörler, Fas Ligand (FasL) ve Tümör nekrozis faktör (TNF) isimli proteinlerdir. Ölüm faktörü olarak da adlandırılan bu proteinlerin, ilgili reseptörlerine bağlanması ile hücre ölümü gerçekleşir (8). Bunun dışında apoptozis viral enfeksiyonlar, bakteriyel toksinler, onkogenler, kemoterapötikler, radyasyon gibi bazı faktörler ile de başlatılabilir. Ağır DNA hasarına yanıt olarak aktive olan p53 geni, reaktif oksijen radikalleri (hem mitokondri, hem plazma membranı, hem de genom üzerinde oluşturabileceği hasarlara bağlı olarak) apoptozisi tetikleyebilmektedir. Apoptozisi tetikleyen diğer hücre düzeyinde ve hücre dışı ajanlar Tablo I'de gösterilmiştir.

Apoptozisi Tetikleyen Ölüm Faktörleri ve Reseptörleri

1-Fas Ligand (FasL) ve TNF

Sitokinler, protein yapısında olup hedef hücrelerde spesifik reseptörlere bağlanarak hücre çoğalması ve farklılaşmasını kontrol eder. Sitokinler, yapısal özelliklerine göre; sitokin bağımlı büyüme faktörü, TNF ve helikal sitokinler olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar. Önemli bir apoptotik faktör olan Fas Ligand (FasL), TNF ailesinin bir üyesidir (3). TNF; limfotoksin, CD 30 ligand, 4-1BB ligand, CD40 ligand, CD 20 ligand, OX-40 ligand ve TRAIL (TNF ilişkili apoptozisi indükleyen ligand) olarak da adlandırılmıştır (3,5). TNF, hedef hücredeki TNFR-1 (Tümör nekrozis faktör reseptör-1) ve TNFR-2 (Tümör nekrozis faktör reseptör-2) adlı reseptörleri ile bağlandığında apoptozisi aktive eder. FasL, sitotoksik T lenfositlerde (CTL) ve natural killer (NK) hücrelerde bulunur (5,7). Hedef hücrede bulunan reseptörü Fas ile bağlandığında apoptozisi aktive eder. FasL, Tip-II membran proteinini gibi sentezlenir. FasL'in N terminali sitoplazmadadır, C terminali ise ekstrasellüler alana doğru uzanmaktadır (5).

Membrana bağlı TNF ve FasL'in metalloproteinaz enzimleri aracılığı ile proteolizi sonucunda membrandan ayrılıp serbest hale geçen formları mevcuttur. Bu serbest formlarına, solubl TNF ve solubl FasL adı verilmektedir (5,10,11,12,13). Solubl formda bulunan TNF ve FasL'da apoptozisi aktive

Tablo- I: Apoptozisi tetikleyen hücre içi ve dışı ajanlar. (2,6,8,9)

Fizyolojik aktivatörler	Hasara bağlı indüklenme	Tedavi ajanları	Toksinler
TNF ailesi (FasL, TNF)	Isı şoku	Kemoterapötikler Sisplatin, Bleomisin	Etanol
Transforming growth factor beta (TGF-β)	Viral enfeksiyonlar	Gama Radyasyon	Beta-amiloid peptid
Nörotransmitterler; Glutamat, dopamin	Bakteriyel toksinler	UV radyasyon	
Büyüme faktörünün seviyesinde düşüş	Onkogenler (myc, rel, E1A)		
Kalsiyum	Tümör süpresör gen (p53)		
Glukokortikosteroidler	Sitotoksik T hücreler		
	Oksidanlar		
	Serbest radikaller Besin eksikliği ve antimetabolitler		

etmektedir. Ancak membrana bağlı TNF ve FasL'in, spesifik reseptörlerini aktive etmekte solubl formlarından daha etkili oldukları saptanmıştır (14).

2- Fas ve TNF Reseptör Ailesi

FasL ve TNF, apoptozisi başlatmak üzere hedef hücrede spesifik reseptörlere bağlanırlar. FasL'in reseptörü olan Fas, APO-1 veya CD-95 adıyla da bilinen bir tip-1 membran proteindir (15,16). Fas, TNF reseptör ailesinin bir üyesidir (3,5,7,8). Fas, lenfoid hücrelerde, hepatositlerde, bazı kanser hücrelerinde ve akciğerlerde bulunur. TNF reseptör ailesinin diğer üyeleri; TNFR-1, TNFR-2, lenfotoksin-beta, NGF-reseptör, CD40, CD27 ve CD30'dur. TNF reseptör ailesi hala büyümeye devam etmektedir ve 3 yeni üye daha bulunmuştur. Bunlar, insan DR-3 (ölüm reseptörü-3)/Wsl-1 (17,18), İnsan herpes virüs erken mediatör (Human HVEM) (19) ve tavuk cytopathic avian leucosis- sarkoma virüs reseptör (CAR1) reseptörleridir (20).

TNF ligandı, reseptörleri TNFR-1 veya TNFR-2 ile bağlandığında apoptozisi aktive eder. TNFR-1, pek çok dokuda bu sinyalin aktivasyonundan ve iletiminden sorumlu iken TNFR-2, timositlerde TNF bağımlı sinyalden sorumludur.

TNFR-1 ve Fas'ın sitoplazmik parçasında bulunan yaklaşık 80 aminoasitli homolog bölgeler, ölüm sinyalinin iletimini sağladıklarından ölüm bölgeleri olarak adlandırılmışlardır. Bu bölgeler, FADD (Fas ile ilişkili ölüm bölgesi) veya MORT1 ve TRADD (TNFR-1 ile ilişkili ölüm bölgesi) olarak adlandırılır. TRADD, TNFR-1 ve TNFR-2 reseptörlerinin, FADD ise Fas reseptörünün ölüm bölgesidir (5).

Şimdiye kadar anlattıklarımızı özetlersek; apoptozis FasL veya TNF ligandın hedef hücredeki ilgili reseptörleri ile bağlanması ile tetiklenir. Bu reseptörler, Fas, TNFR-1 ve TNFR-2'dir. Bu reseptörlerin aktive olan bölümlerine ölüm bölgeleri adı verilir. Ölüm sinyali bundan sonraki aşamada bu ölüm bölgeleri üzerinden hücre çekirdeğine kadar ileti kaskadı aracılığı ile iletilir (5,7).

3) Apoptozis Sinyalinin İletim Kaskadı a-Kaskad Sistemi

FADD/MORT-1, Fas ile ilişkili, TRADD ise TNFR-1 ile ilişkili ölüm bölgeleridir (5). Aktive olan apoptotik sinyal, FADD/MORT-1 ölüm bölgelerine bağlanan kaspaz-8'e iletilir. Kaspaz-8, ölüm sinyalinin iletiminde rol alan proteinazlardan biridir. Kaspaz-8'in

aktive olması ile birlikte diğer proteinazlar kaskad halinde kendi kendine aktive olarak ölüm sinyalinin nükleusa kadar iletilir ve sonuçta kromozomal DNA'nın yıkımına neden olurlar (5,7) (Şekil-2A). FADD/MORT-1, ölüm sinyalinin iletiminde mediatör olarak rol alırken TRADD'nin tek başına iletimi sağlayamadığı tespit edilmiştir.

TNF, TNFR-1 ile bağlandıktan sonra apoptotik sinyal iki ayrı yol üzerinden iletilir. Birinci yolda, TRADD, ölüm sinyalinin Kaspaz-8'e FADD/MORT1 üzerinden iletir. İkinci yolda ise TRADD, RIP(reseptör interacting protein) denilen ayrı bir protein üzerinden ölüm sinyalinin iletir. RIP, bir serin treonin kinaz olup ölüm bölgeleri içermektedir ve TRADD'ye ölüm bölgeleri ile yaptığı etkileşim ile bağlanır. RIP eğer ortamda fazlaca bulunursa apoptozisi indükler. RIP'in ölüm bölgesi, ölüm sinyalinin iletilmesinden sorumludur. Her iki apoptotik yolun sonunda da kromozomal DNA yıkımı ile hücre ölümü meydana gelmektedir (5,7) (Şekil-2B).

Bu sonuçlar Fas ve TNFR1'in ölüm sinyalinin iletiminde FADD'yi ortak bir yol olarak kullandığını göstermektedir (5).

TNF ailesinin diğer üyesi olan TNFR-1'in, TNF ile ilişkili apoptozisi tetiklemeden ayrı olarak, NF-kB'yi da aktive ettiği bilinmektedir. NF-kB, TNF reseptör ailesinin bir üyesi ile ilişkili TRAF (TNF reseptör ilişkili faktör) ailesindedir. Bu aileden 5 üye tespit edilmiştir. TRAF bölgesi yaklaşık 230 amino asitlidir. Bu ailenin üyeleri arasında olan TRAF2, direkt olarak TNFR-2 ve CD30'a, indirekt olarak da TNFR-1, TRADD ve RIP'e bağlanır. TRAF2, TNF ilişkili NF-kB aktivasyonunu bloke ederken apoptozisi bloke etmez. NF-kB, aktivasyonu proteinlerin artmasına neden olur ve bu da TNF ilişkili sitotoksitesiteyi inhibe eder. TNF sitotoksitesiteyi potansiyelize eden siklofosamid ve adriamisin D gibi kemoterapötik ilaçlar, NF-kB'nin neden olduğu gen ekspresyonunu inhibe eder (5).

b-İnterlökin-1 β Konverting Enzim (ICE)

Proteaz Kaskadını Oluşturan Kaspaz Ailesi

FasL ve TNF ligandın ilgili reseptörleri ile bağlanması ile tetiklenen ölüm sinyalinin ölüm bölgeleri (FADD/MORT-1 ve TRADD) aracılığı ile kaspaz-8'e iletilmektedir (5,7,8). Kaspazlar, interlökin-1B konverting enzim (ICE) prokürsörüdür. İnsanlarda 14 ayrı ICE prokürsörü tespit edilmiş ve Kaspazlar olarak adlandırılmışlardır (5) (Tablo II). ICE, sistein proteazdır ve aspartik asitten sonraki peptid bağı-

nı kırarak prokürsörlerini matür forma dönüştürür. Kaspazlar, kaspaz-8'den başlayarak bir kaskad halinde ölüm sinyalini birbirine aktararak hücre çekirdeğine kadar iletilirler (4) (Şekil-2A ve 2B).

Tablo II: İnsan ICE Proteaz ailesi (5).

Proteazlar	Alternatif isimleri
Kaspaz-1	ICE
Kaspaz-2	ICH-1
Kaspaz-3	CPP32, Yama, Apopain
Kaspaz-4	ICErel-II, TX, ICH-2
Kaspaz-5	ICErel-III, TY
Kaspaz-6	Mch2
Kaspaz-7	Mch3, ICE-Lap3, CMH-1
Kaspaz-8	FLICE, MACH, Mch5
Kaspaz-9	ICE-LAP6, Mch6
Kaspaz-10	Mch4
Kaspaz-11	ICH-3
Kaspaz-12	-
Kaspaz-13	ERICE
Kaspaz-14	MICE

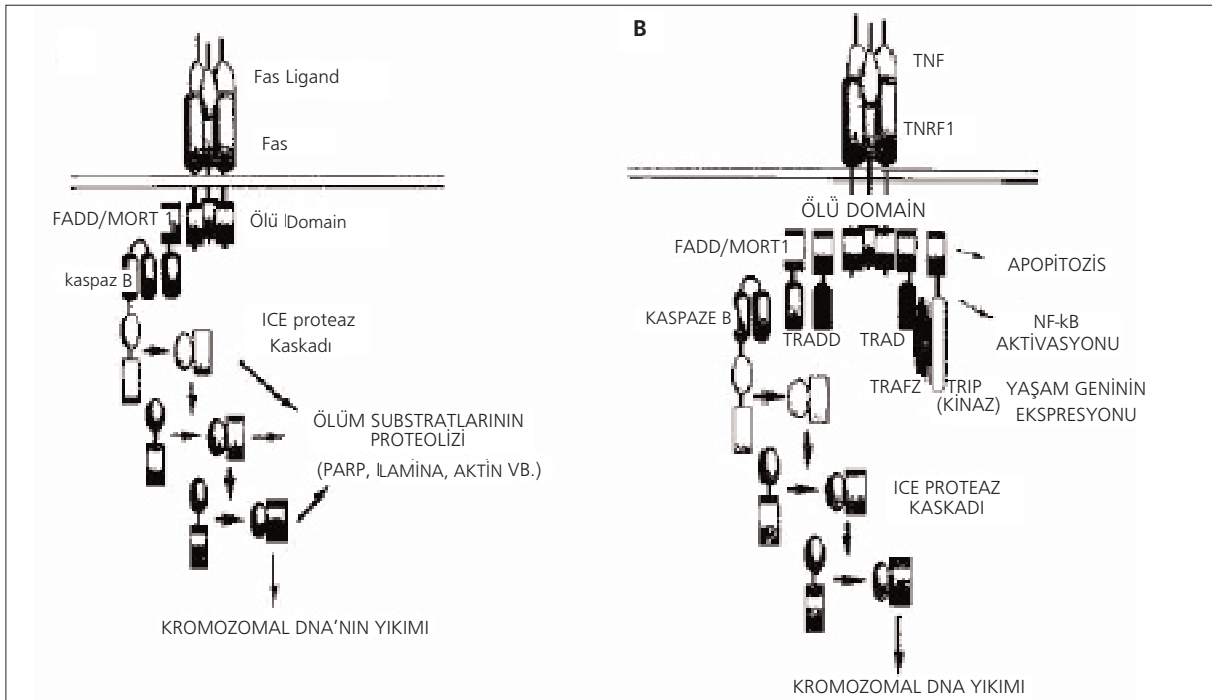
Kaspazlar ve ICE ilk kez *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) üzerinde genetik çalışmalarda tespit edilmiştir ve *ced-3* olarak adlandırılmıştır. *ced-3* geninin memelilerdeki karşılığı ICE (interlökin -1 β converting enzim) olarak adlandırılmıştır (4,5,6). Bazı proteinler ve bazı viral genlerin (Cytokin response-modified gen = *crmA*), ICE ailesinin üyelerini inhibe ettiği bilinmektedir. Kaspaz-1 veya 3'ün inhibisyonu Fas ve TNF bağımlı apoptozisi bloke eder (7).

4- Sinyal Yolunun Diğer Regülatörleri

Apoptozis sinyalini iletimini kontrol eden, baskılayan veya aktive eden bir çok regülatör mevcuttur. Bcl-2 ailesi bu regülatörlerden biridir.

Bcl-2 ailesi, apoptozis sinyalini indükleyici ve baskılayıcı olabilen iki ayrı gruptan oluşmaktadır. İlk kez *C. elegans* üzerinde yapılmış genetik çalışmalarda *Ced-9* adı verilen bir molekülün programlanmış hücre ölümünü engellediği bulunmuştur. *Ced-9*'un memelilerdeki eşdeğeri Bcl-2 olarak adlandırılmıştır (2,4,6,8,21).

Bcl-2 ailesi, birbirine zıt etkileri olan iki gruptan oluşur. Bu gruplardan biri proapoptotik yani apop-



Şekil 2: Fas ve TNFR-1 reseptörleri ile tetiklenen apoptozis mekanizması (5)

A: Fas bağımlı apoptozis. FasL'in, Fas reseptörüyle bağlanması ile FADD/MORT1 ölüm bölgelerinin aktivasyonu sonucu kaspaz sisteminin aktive olması ve kromozomal DNA yıkımı.

B: TNF bağımlı apoptozis. TNF'nin TNFR1 reseptörüyle bağlanması ile TRADD ve FADD/MORT1 ölüm bölgelerinin aktivasyonu sonucu kaspaz sisteminin aktive olması ve kromozomal DNA yıkımı.

tozisi indükleyici etkiye sahip iken diğeri antiapoptotik yani apoptozisi baskılayıcı etkiye sahiptir. Örneğin Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-W ve Mcl-1 apoptozisi inhibe ederken, Bax, Bik, Bak, Bad ve Bcl-xs apoptozisi aktive etmektedir (7,9). İnhibitör ve aktivatör üyelerin oranı apoptozisin dengesini sağlar.

Radyasyon, Bcl-2 üretimini artırarak memeli hücrede apoptozisi bloke eder ve kanser gelişimine neden olabilir. Bcl-2 ve Bcl-xL, Fas ile ilişkili apoptozisi de in vitro ve in vivo olarak inhibe edebilir.

Fas ile ilişkili apoptozisin regülasyonunda başka bir çok protein de rol almaktadır. Örneğin c-abl tirozin kinaz, FAP tirozin fosfat ve küçük stres proteinleri (HSP 24) inhibe eden süreç, Fas ilişkili protein p59fyn kinaz ve FAF, Fas ile ilişkili apoptotik sinyali aktive eder (5).

Efektör Sitotoksik T Hücreleri ve Natural Killer (NK) Hücrelerin Apoptoziste Rolü

Sitotoksik T lenfositler (CTL), virüs veya bakteri ile enfekte olmuş hücreleri ve tümör hücrelerini tanı ve öldürürler (3). Aynı şekilde NK hücreleri de tümör hücrelerini öldürür. CTL ve NK'ların hedef hücreleri nasıl öldürdüğü uzun zamandan beri tartışılmaktadır. Çünkü bilinen perforin/granzim bazlı mekanizma CTL ile olan ölümlerin hepsini açıklamamaktadır. Fakat aktive T hücrelerinin membran yüzeyindeki FasL bulunduğunda bu problem çözülmüştür (3). Perforin/granzim ve FasL sistemi CTL'ye bağlı sitotoksitede major yollardır. CTL, aktive olduğunda membran yüzeyindeki T hücre reseptörü virüs ile enfekte hücrenin MHC/antijeni ile etkileşir. İki ayrı yolla hedef hücre ortadan kaldırılır. Birinci yolda; CTL membran yüzeyindeki FasL geni aktive olur ve çoğalır. Artmış FasL, hedef hücredeki Fas ile bağlanır ve ölüm emri verilir. Kasaplarında aktive olması ile hücre ölümü gerçekleştirilir (3,5,22,23) (Şekil-3A ve 3B).

İkinci yolda; CTL hücrelerinde meydana gelen uyarılma, perforin ve granzim içeren granüllerde sekresyona neden olur. Perforinin, hedef hücre plazma membranında porlar açtığı ve granziminde buna yol gösterdiği düşünülmektedir (8). Perforin/granzim ve FasL hücre ölüm programını bağımsız olarak tetiklenmektedir. Her iki süreçte apoptoziste rol oynar.

CD8 (sitotoksik T lenfositler) hücreler ve NK hücreleri perforin/granzim ve FasL/Fas yolunun her iki

sini de kullanırlar. Fakat Th1-CD4 +T hücreleri sadece FasL sistemini kullanırken, CD8 hücrelerin ve NK'ların hedef hücrede perforin/granzim veya Fas/FasL sisteminin hangisini tercih ettiği konusunda yeterli bilgi yoktur ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir (5).

İmmün Ayrıcalık

Vücuda giren her türlü yabancı virüs, bakteri gibi mikroorganizmalara karşı ve tümör hücrelerine karşı immün yanıt geliştirilerek ortadan kaldırılmaya çalışılır.

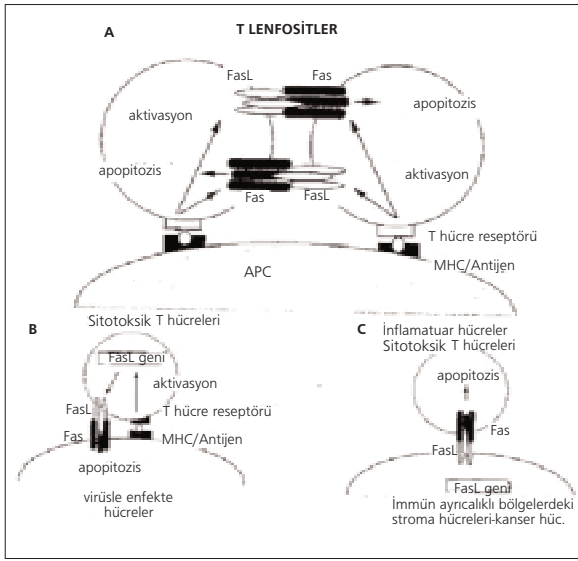
Hücresele immün yanıt reaksiyonları ve enflamatuvar yanıt sonucunda yakındaki dokularda da nonspesifik hasar meydana gelir. Bazı organlar bu enflamasyonu tolere ederken göz ve testis gibi organlar tolere edemez. Bu organlarda, immün reaksiyonlardan kendilerini koruyan koruma mekanizmaları vardır. Bu organlara 'immün ayrıcalıklı bölgeler' denir (5,24). Bu bölgelerden allogenetik ve ekzogenik organ transplantasyonları yapılabilir. İmmün ayrıcalıklı bu organlar, transplantasyon sonrası yeni ortamlarında da sitostatik hücre aktivitesini önlemeyi sürdürür. Uyarılmış sitotoksik hücreler, immün ayrıcalıklı bu organlar ile aynı ortamda bulunduğunda immün ayrıcalıklı organda FasL ekspresyonu meydana gelir (5) (Şekil 3C). Artmış FasL, sitotoksik hücre membranı üzerindeki Fas reseptörünü aktive ederek CTL ve NK hücrelerinin ölmesine neden olur. Fonksiyonel FasL artışı, gözde kornea epiteli ve endotelinde, iris ve silia hücrelerinde, testiste sertoli hücrelerinde beyinde ve plasentada bulunmuştur. Bu mekanizma, bu organların immün sistemden kaçışını açıklamaktadır.

Bir çalışmada, farelerin gözleri Herpes simplex virüsü (HSV-1) ile enfekte edildiğinde retinada çok az inflamasyon hücresi olduğu tespit edilmiştir (6). FasL defekti olan jeneralize lenfoproliferatif hastalığın (gld) farelerde retinada masif inflamasyon olduğu tespit edilmiştir. Bütün bunlar transplantasyon sonrası tedavide hedef efektör hücrede immünsüpresan olarak FasL'in kullanılabileceğini akla getirmektedir (3,24,25).

Normalde tümör hücrelerinin de immün sistem aracılığı ile yok edilmesi beklenir. Ancak tümör hücrelerinin buldukları yerde ve hematogen yolla ulaştıkları metastaz bölgelerinde yerleşip çoğalmalarının immün ayrıcalıklı organlar gibi immün

sistemin sitotoksik hücrelerinden kaçışları ile mümkün olduğu düşünülmektedir.

Bazı tümör hücrelerinin, Fas-FasL ilişkili apoptozise rezistan olduğu ve bu yolla immün sistemden kaçarak çoğalmaya devam ettiği bulunmuştur (26,27). Tümör hücre membranında FasL artar, tam ters bir şekilde CTL ve NK hücre membran yüzeylerindeki Fas ile bağlanır ve sitotoksik hücrelerde apoptozisi tetikleyerek ölmelerine neden olur. Bu mekanizma, tümör hücrelerinin immün sistemden nasıl kurtularak çoğalmaya ve yayılmaya de-



Şekil 3: Fas-FasL aktivasyonu ile 3 tip hücre ölümü (5).

A: Matür T lenfosit, antijen sunan hücrenin yüzeyindeki T hücre reseptörleri ile bağlanır. FasL ekspres eden T hücre, Fas ekspres eden T hücre ile bağlanır ve apoptozisi indükler.

B: CTL ile hedef hücrenin öldürülmesi. Virüs ile enfekte hücre, viral antijeni MHC kompleksi ile sunar. CTL antijen T hücre reseptörü aracılığı ile etkileşir ve FasL ekspres olur. FasL, hedef hücredeki Fas'a bağlanarak hedef hücrede apoptozisi aktifler.

C: İnflamatuvar hücrelerin immün ayrıcalıklı bölgeler ve tümör hücreleri tarafından öldürülmesi. İmmün ayrıcalıklı göz, testis gibi organlar ve bazı tümör hücrelerinde FasL ekspres olur. Aktive T lenfositler ve nötrofiller üzerindeki Fas ile bağlanarak bu hücrelerin ölmesine neden olur. Benzer şekilde CTL ve NK hücreler tümör hücreleri ile karşılaştıklarında tam ters bir biçimde bu hücrelerde apoptozisi aktifleyerek immün sistemden kaçmaktadırlar.

vam ettiğini açıklamaktadır (24,28,29).

FasL'in solubl formu, membrana bağlı FasL'dan metalloproteinaz benzeri enzim aracılığı ile ayrılması ile oluşur. Solubl Fas ise membrana bağlı Fas'ın mRNA'sındaki transmembran bölgesini kodlayan exon 6'da delesyon gelişmesi ile oluşur (5,10,11,12,13). Fas ve FasL'in solubl formlarının da immün ayrıcalıklı organlarda ve bazı tümör hücrelerinde membrana bağlı Fas ve FasL gibi fonksiyon görebilen immün sistemden kaçışta rol aldıkları düşünülmektedir. Ancak solubl formların membrana bağlı formlara göre apoptozisi indüklemeye daha zayıf etkiye sahip oldukları düşünülmektedir (14,30).

Ölüm faktörleri uygun bir şekilde çoğaldığı sürece homeostazis sürdürülebilir. Eğer sistem çok veya az fonksiyon görürse çok tehlikeli sonuçlara neden olabilir. Düşük fonksiyonda hiperplazi ve lenfoproliferasyon meydana gelir. Fas geninde heterozigot mutasyon olan bazı ailelerde Hodgkin lenfoma öyküsü de bildirilmiştir (31). Lenfositlerdeki anormal yaşam süresi mutasyonlu hücrelerin toplanmasına izin verir ve bu da kanser gelişiminde başrol oynar. Ölüm faktörü geni ve onun reseptörü FasL ve Fas, bu yüzden tümör süpresör gen sayılır. Diğer taraftan sistem fazla fonksiyon gördüğünde doku hasarı ve hayvanlarda ölüm meydana gelir. Farelere, agonistik anti-Fas antikor veya rekombinan FasL, Fas sistemini aktive etmek üzere enjekte edildiğinde farelerin fulminan hepatite benzeyen karaciğer yetmezliği semptomları ile çok hızlı öldükleri görülmüştür (32). Hepatit B ve C virusunun, Fas ekspresyonunu artırdığı, anormal T hücre aktivitesi sonucu fulminan hepatit meydana geldiği saptanmıştır (28).

Çeşitli kanser hastalarında solubl form TNF-alfa üretilmektedir. TNF-alfa, kaşektin gibi çalışıp sistemik doku hasarı meydana getirir. Benzer şekilde solubl form FasL, lenfomalı, NK tipli veya T hücre tipli büyük granüler lökositik lösemili (LGL) hastaların serumlarında bulunmuştur (13). Lösemik hücrelerin membran yüzeylerinde fonksiyonel FasL ekspresyonu olduğu bulunmuştur. Bu hastalarda sıklıkla hepatit ve nötropeni gibi sistemik doku hasarı olduğu görülmüştür. Hepatosit ve nötrofiller özellikle Fas ilişkili apoptozise duyarlıdır. Sistemik doku hasarı gözlemlenen bu hastaların serumlarında FasL artmış olarak bulunmuştur (28).

Tümör Gelişim ve Defansında Fas/FasL İlişkili Apoptozis

Malign transformasyon ve tümör gelişimi kompleks genetik değişiklikler sonucu meydana gelir. Apoptozis/proliferasyon dengesindeki bozulma tümör gelişiminde rol oynamaktadır. Apoptozis mekanizmasının tetiklenememesi (p53 gen defektleri) veya mekanizmanın herhangi bir basamağında meydana gelen değişiklik (Bcl-2'nin artışı, Fas gen defektleri gibi) tümör gelişiminde rol almaktadır. Ayrıca tümör hücrelerinin doğal immün mekanizmalarla ortadan kaldırılamamasının da tümör gelişiminde özellikle tümör hücrelerinin yayılımında önemli olduğu düşünülmektedir. Tümör hücrelerinin membran yüzeyinde bulunan antijenler direkt tümör hücrelerine karşı immün cevabı aktive eder. Genellikle tümör hücreleri sitotoksik T lenfositler veya natural killer hücreler tarafından Fas/FasL bağımlı apoptozis yoluyla ortadan kaldırılır. Fakat tümör hücrelerinin, tam ters bir biçimde immün sistemden kaçabildiği de bilinmektedir (24,28,29). Malign hücrelerin, konak immünitesinden kaçışı ve sitotoksik immün sistem hücrelerinin tümör hücreleri tarafından ortadan kaldırılması kanser gelişimi ve progresyonu açısından çok önemlidir. Bu olgularda tümör hücrelerinin, ölüm faktörü üreterek (FasL) sitotoksik T lenfositlerde ve NK hücrelerde apoptozisi başlattığı düşünülmektedir. Testis, göz, beyin ve plesanta gibi immün ayrıcalıklı organların hücre membranlarında FasL'in arttığını ve FasL artışının, bu organların lenfosit infiltrasyonu ile ortadan kaldırılmasını engellediği bilinmektedir. Aynı şekilde FasL'in, melanoma (33), astrositoma (29,34), akciğer kanser hücreleri (35,36,37), kolon (38), tiroid (28), böbrek (39) ve pankreas (40) kanser hücrelerinde de arttığı gösterilmiştir. Tümör hücre membran yüzeylerinde artan FasL'in, sitotoksik etkili Fas ekspresyon lenfositlerin (CTL, NK) öldürülmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizma, "Kontratak modeli" olarak adlandırılmaktadır (5).

Tümör hücrelerinin membran yüzeyinde FasL artışı ile birlikte, Fas reseptör düzeyinin azalmasının da immün sistemden kaçışta ve tümör progresyonunda etkili olduğu ileri sürülmüştür. Tümör hü-

resinde membrana bağlı Fas reseptör düzeyinde azalma veya kayıp nedeniyle sitotoksik hücrelerin yüzeyinde bulunan FasL, Fas reseptörüne bağlanamaz ve tümör hücreleri apoptozis ile ortadan kaldırılamaz.

Kanser ile Fas-FasL apoptozis arasındaki ilişkiyi inceleyen bazı çalışmalar değerlendirildiğinde örneğin; benign pankreatik duktal epitelin sitoplazmik membranında, Fas düzeyinin artmış olduğu fakat pankreasın invaziv adenokarsinomunda Fas ekspresyonunun parsiyel veya komplet olarak yok olduğu görülmüştür. Bu çalışmada Fas ekspresyonundaki kaybın, tümörün diferansiyasyonu ve evresi ile korele olduğu saptanmıştır (40). Fas ekspresyonundaki bu azalma, pankreatik karsinoma hücrelerinin Fas ile ilişkili apoptozis yolu ile yok edilmesini engellemektedir. Pankreas kanser hücrelerinde Fas ekspresyonundaki kaybın prognostik olduğu da gösterilmiştir (40). Kanser hücre membranına bağlı Fas reseptör düzeyindeki bu azalmanın bir örneği de renal hücreli karsinomanın erken evrelerinde gösterilmiştir. Ancak renal hücreli karsinomanın ileri evresinde ise Fas düzeyi tekrar yüksek saptanmıştır (39).

Akciğer kanserli olgularda yapılan bir araştırmada Koomagi ve ark.ları (41); Fas pozitif tümörün, Fas negatif tümöre göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde uzun yaşam süresi sağladığını ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmada, FasL'in toplam yaşam süresine etkisi saptanmamıştır. Lenf nodu tutulumunun, Fas ve FasL negatif tümörde, Fas ve FasL pozitif tümöre göre daha fazla olduğu da gösterilmiştir.

Tümör hücrelerinin apoptozise rezistans geliştirilmesinin sebebi olarak sitoplazmik membranda FasL artışı ve Fas reseptör düzeyinde azalmanın yanında, başka potansiyel mekanizmalarda tanımlanmıştır. Bunlardan biri de Fas gen defektleridir. Fas gen defekti tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında defektlere yol açmaktadır. Bir çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda % 7.7 oranında Fas geni mutasyonu (4 vakada Fas ölüm bölgesinde, 1 vakada transmembran bölgesinde) saptanmıştır (42).

Sonuç olarak, Fas-FasL bağımlı apoptozis mekanizması iki tarafı keskin kılıç gibidir. Bu sistem doğru

regüle edildiği takdirde viral enfeksiyonların ve kanser hücrelerinin ortadan kaldırılmasında görev alır. Sistemin yeterli çalışmaması, tümör hücrelerinin ortadan kaldırılamaması nedeni ile kanser gelişimi ve yayılımına neden olurken sistemin fazla çalışması ise doku hasarına neden olur. Bugün kanser patogenezi hakkında hala bilinmeyen pek çok mekanizma mevcuttur. Kanser gelişiminin önlenmesi, erken tanı ve etkin tedavi için patogeneze yönelik daha çok çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Halilçolar H, Tatar D, Ertuğrul G, et al. Epidemiyoloji. Akciğer Kanseri Multidisipliner Yaklaşım. Akkoçlu A, Öztürk C (ed). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1999.17-23.
- Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.
- Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 1995; 267: 1449-56.
- Cooper GM. Programmed cell death. The cell. In: Cooper GM (ed) Chapter 14. Washington: ASM Pres;1994. 592-6.
- Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88: 355-65.
- Perkins AS, Stern DF, Apoptosis. *Cancer Principle and Practice of Oncology*. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. 96-100.
- Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Lung infections: Role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. *Chest* 2000; 117: 1771-7.
- Lewin B. Apoptosis. Genes VI. In: Lewin B (ed). Chapter 36. New York: Oxford University Press; 1997. 1122-9.
- Kastan MB. Implications for cancer. *Apoptosis. Cancer Principle and Practice of Oncology*. Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (ed). Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. 131-3.
- Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP et al. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 1994; 263: 1759-62.
- Knox PG, Milner AE, Green NK, et al. Inhibition of metalloproteinase cleavage enhances the cytotoxicity of Fas Ligand. *J Immunol* 2003; 170: 677-85.
- Kuwano K, Kawasaki M, Maeyama T, et al. Soluble form Fas and Fas Ligand in BAL fluid from patients with pulmonary fibrosis and bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Chest* 2000; 118: 451-8.
- Tanaka M, Suda T, Haze K, Nakamura N, et al. Fas ligand in human serum. *Nature Med* 1996; 2: 317-22.
- Grell M, Douni E, Wajant H, Löhden M, et al. The transmembrane form of the tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1995; 83: 793-802.
- Itoh N, Yonehara S, Ishii A, Yonehara M, et al. The polipeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell* 1991; 66: 233-43.
- Oehm A, Behrmann I, Falk W, Pawlita M, et al. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily: sequence identity with the Fas antigen. *J Biol Chem* 1992; 267: 10706-15.
- Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Yu GL, Lyons RH, et al. Signal transduction by DR-3, a death domain-containing receptor related to TNFR-1 and CD95. *Science* 1996; 274: 990-2.
- Kiston J, Raven T, Jiang YP, Goeddel DV, et al. A death-domain-containing receptor that mediates apoptosis. *Nature* 1996; 384: 372-5.
- Montgomery RI, Warner MS, Lum BJ, Spear PG. Herpes simplex virus-1 entry into cells mediated by a novel member of the TNF/NGF receptor family. *Cell* 1996; 87: 427-36.
- Brojatsch J, Naughton J, Rolls MM, Zingler K, Young JAT. CAR1, a TNFR-related protein is a cellular receptor for cytopathic avian leucosis-sarcoma viruses and mediates apoptosis. *Cell* 1996; 87: 845-55.
- Hengartner MO, Horvitz HR, C. *Elegans* cell survival gene *ced-9* encodes a functional homolog of the mammalian protooncogene *Bcl-2*. *Cell* 1994; 76: 665-76.
- Ju ST, Panka DJ, Cui H, Ettinger R, et al. Fas (CD95)/FasL interactions required for programmed cell death after T-cell activation. *Nature* 1995; 373: 444-8.
- Dhein J, Walczak H, Baumler C, et al. Autocrine T-cell suicide mediated by APO-1/(Fas/CD95). *Nature* 1995; 373: 438-41.
- Griffith TS, Ferguson TA. The FasL-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995; 270: 1189-92.
- Fukunaga WR, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Nagata S. Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature* 1992; 356: 314-7.

26. Hahne M, Rimoldi D, Schröter M, Romero P, et al. Melanoma cell expression of Fas(APO-1/CD95) ligand: Implications for tumor immune escape. *Science* 1996; 274: 1363-6.
27. Strand S, Hofmann WJ, Hug H, Müller M, Otto G, et al. Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/Fas) ligand expressing tumor cell-A mechanism of immune evasion. *Nature Med* 1996; 2: 1361-6.
28. Mitsiades N, Poulaki V, Mastorakos, et al. Fas ligand expression in thyroid carcinomas: a potential mechanism of immune evasion. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:2924-32.
29. Walker PR, Saas P, Dietrich PY. Role of Fas Ligand (CD95L) in immune escape the tumor cell strikes back. *J Immunol* 1997;158: 4521-24.
30. Owen-schaub LB, Angelo LS, Radinsky R, Ware CF et al. Soluble Fas/ APO-1 in tumor cells: a potential regulator of apoptosis. *Cancer Lett* 1995; 94: 1-8.
31. Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE, Dale JK, et al. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 1995; 81: 935-46.
32. Tanaka M, Suda T, Yotomi T, Nakamura N, et al. Lethal effect of recombinant human Fas ligand in mice pretreated with propionibacterium acnes. *J Immunol* 1997; 158: 4525-32.
33. Hahne M, Rimoldi D, Schröter M, Romero P, et al. Melanoma cell expression of Fas (APO-1/CD95) Ligand: Implications for tumor immune escape. *Science* 1996; 274: 1363-6.
34. Saas P, Walker PR, Hahne M, Quiquerez AL, et al. Fas ligand expression by astrocytoma in vivo : maintaining immune privilege in the brain? *J Clin Invest* 1997; 99: 1173-8.
35. Nihans GA, Brunner T, Frizelle SP, Liston JC et al. Human lung carcinomas express Fas Ligand. *Cancer Res* 1997;57: 1007-12.
36. Nihans GA, Brunner T, Frizelle SP, Liston JC et al. Human lung carcinomas express Fas Ligand. *Cancer Res* 1997; 57: 1007-12.
37. Kawasaki M, Kuwano K, Nakanishi Y, et al. Analysis of Fas and Fas ligand expression and function in lung cancer cell lines. *Eur J Cancer* 2000; 36: 656-63.
38. O'Connell J, O'Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J Exp Med* 1996; 184: 1075-82.
39. Kim YS, Kim KH, Choi JA, Lee JH, et al. Fas (APO-1/CD95) Ligand and Fas expression in renal cell carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124: 687-93.
40. Bernstorff WV, Glickman JN, Odze RD, Farraye FA, et al. Fas (CD95/APO-1) and Fas ligand expression in normal pancreas and pancreatic tumor. *Cancer* 2002; 94: 2552-60.
41. Koomagi R, Volm M. Expression of Fas (CD95/APO-1) and Fas Ligand in lung cancer, its prognostic and predictive relevance. *Int J Cancer* 1999; 84:239-43.
42. Lee SH, Shin MS, Park WS, Kim SY et al. Alterations of Fas (APO-1/CD95) gene in non-small cell lung cancer. *Oncogene* 1999;18: 3754-60.