

Kanser Hücrelerinde Hücre İçi Kalsiyum Hareketlerinin Bileşenleri

Components of Intracellular Calcium Movements in Cancer Cells: Review

Leman YALÇINTEPE GÜNEŞTUTAR^a

^aBiyofizik AD,
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 17.02.2017
Kabul Tarihi/Accepted: 11.04.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:
Leman YALÇINTEPE GÜNEŞTUTAR
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi,
Biyofizik AD, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY

ÖZET Kanser apoptozdan kaçış, büyüme sinyalinde kendine yeterlilik, büyümeyi önleyici sinyallere duyarsızlık, invazyon ve metastaz kapasitesi, "sınırsız" replikasyon potansiyeli ve devam eden anjiogenez gibi özellikler ile karakterize edilir. Kalsiyum sinyali bu süreçlerin her biri ile doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkilidir. Hücre içi kalsiyum iyon derişimi ($[Ca^{2+}]_i$), hayatın başlangıcından son anına kadar birçok hücrel işlevi düzenleyen bir ikincil habercidir ve bu nedenle derişimi denetimli bir şekilde düzenlenmektedir. Kanser hücrelerinde ise kalsiyum homeostazı yeniden biçimlenmektedir. Kalsiyum sinyalindeki değişiklikler kanserin başlatılması için bir gereklilik olmasa da kanser hücrelerinde değişmiş Ca^{2+} taşınımının getirdiği sonuçlar, kanser oluşuma katkısı açısından önemlidir. Bu derlemede, kalsiyum sinyalinin yeniden biçimlenmesinin bazı kanser tiplerinin de özellikleri arasında olduğu tartışılırken, aynı zamanda kalsiyum pompa ve kanallarının değişmiş ekspresyonuna bağlı olarak bu yeniden şekillenmenin nasıl sağlandığı ile ilgili örnekler verilmektedir. Özellikle farklı kanser türlerinde, hücre içine Ca^{2+} girişinde rol oynayan TRP (geçici reseptör potansiyeli) kanalları ve ORAI aracılı depo kontrollü kanallarda meydana gelen değişiklikler üzerinde durulmaktadır. TRP ve ORAI kanalları, tümör ortamındaki ekstraselüler ligand ile reseptörün aktivasyonunu içeren çoklu sinyal yolağının bir parçasını oluşturur. Yapılan çalışmalar sayesinde, kanser hücrelerinin plazma zarı ve hücre içi organellerde bulunan kalsiyum pompalarının (Ca^{2+} -ATPaz) protein ekspresyonlarında da farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Kalsiyum kanal ve pompalarının farmasötik olarak aktive ve/veya inhibe edilebilmesi, bu kanal ve pompaları prognoz ile ilişkili terapötik hedef haline getirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum kanalları; geçici reseptör potansiyel kanalları

ABSTRACT Cancer is characterized by such features as escape of apoptosis, self-sufficiency in growth signal, insensitivity to growth inhibitory signals, invasion and metastasis capacity, "unlimited" replication potential and ongoing angiogenesis. The calcium signal is directly or indirectly associated with each of these processes. The intracellular calcium ion concentration ($[Ca^{2+}]_i$) is a secondary messenger that regulates many cellular functions from the beginning to the end of life, and therefore its concentration is regulated in a controlled manner. In cancer cells, calcium homeostasis is remodeled. Although changes in the calcium signal are not a requirement for cancer initiation, the consequences of altered Ca^{2+} transport in cancer cells are important for contribution of tumor forming. In this review, while it is discussed that the remodeling of the calcium signal is also among the characteristics of some types of cancer, there are also examples of how this remodelling is achieved due to the altered expression of the calcium pump and its channels. In particular, the changed TRP (transient receptor potential) channels and ORAI-mediated store-controlled channels which play a role in the Ca^{2+} influx into the cell are focused on the different cancer types. TRP and ORAI channels form part of a multiple signaling pathway involving the activation of the receptor by the extracellular ligand from the tumor environment. The differences in protein expression of calcium pumps (Ca^{2+} -ATPase) found in plasma membrane and intracellular organelles of cancer cells have been determined through the studies done. Pharmacologically activated and/or inhibited calcium channels and pumps make these channels and pumps a therapeutic target associated with prognosis.

Keywords: Calcium channels; transient receptor potential channels

KANSER HÜCRELERİNDE CA²⁺ TAŞINIMI

Kanser hücreleri malign olmayan hücreler ile aynı kalsiyum kanal, pompa ve değiş-tokuş mekanizmalarını kullanırlar. Bununla birlikte, kanser hücrelerindeki kalsiyum kanal ve pompalarında kritik değişiklikler olmaktadır. Aynı hücre tipinin benign formunda görülmeyen ancak kanser

hücrelerinin kalsiyum kanal ve pompalarında belirlenen bu değişikliklerden bazıları Tablo 1’de verilmektedir. Bunları ekspresyon seviyelerindeki değişimler, translasyon sonrası modifikasyonlardaki bozulmuş aktiviteler, bozulmuş hücresel yerleşim, gen mutasyonları ve kanser ile ilgili işlevlerdeki ekspresyon ve aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler (göç, migrasyon vb.) olarak sıralayabiliriz.¹⁻⁶

TABLO 1: Bazı kanser tiplerinde ekspresyonu değişmiş kalsiyum kanal ve pompalar için verilen örnekler.

Kalsiyum pompa ve kanallar					
TRP (Transient receptor potential) kanalları	Kanser tipi	mRNA	Protein	Kaynak	
TRPC1	Meme kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	83	
TRPC3	Yumurtalık kanseri: hasta doku örnekleri		↑	26	
	Meme kanseri: hasta doku örnekleri	↑		25	
TRPC6	Özofagus kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	27	
	Glioma: hasta doku örnekleri	↑	↑	28	
	Karaciğer kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	84	
	Meme kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	25, 83	
TRPM7	Pankreas kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	33	
	Meme kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	84	
TRPM8	Meme kanseri: hücre soyları (mRNA) ve hasta doku örnekleri	↑	↑	83	
	Prostat kanseri: hücre soyları ve hasta doku örnekleri	↑	↑	9,18,85	
	Meme kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	9,84	
	Melanoma: hasta doku örnekleri	↑		9	
	Kolorektal kanser: hasta doku örnekleri	↑		9	
	Akciğer kanseri: hasta doku örnekleri	↑		9	
TRPV1	Mesane kanseri: hasta doku örnekleri	↓	↓	86	
	Prostat kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	89	
TRPV6	Meme kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	19,22,83,87	
	Prostat kanseri: hasta doku örnekleri	↑	↑	19,88	
	Tiroid kanseri: hasta doku örnekleri		↑	88	
	Kolon kanseri: hasta doku örnekleri		↑	88	
	Yumurtalık kanseri: hasta doku örnekleri		↑	88	
Depo-kontrollü kalsiyum kanalları					
ORAI1	Meme kanseri: hücre soyları	↑	↔	40,44	
ORAI3	Meme kanseri: hücre soyları ve hasta doku örnekleri (mRNA)	↑,↔	↑	40,44,45	
Plazma membran kalsiyum ATPaz					
PMCA2	Meme kanseri: hücre soyları (mRNA) ve hasta doku örnekleri	↑	↑	53, 54	
PMCA4	Kolon kanseri: hasta doku örnekleri	↓		57	
SR/ER kalsiyum ATPaz					
SERCA2	Ağız kanseri: hücre soyları (mRNA) ve hasta doku örnekleri	↓	↓	89	
SERCA3	Kolon kanseri: hücre soyları ve hasta doku örnekleri		↓	70	
	Meme kanseri: hasta doku örnekleri		↓	71	
Salgı yolağı kalsiyum ATPaz					
SPCA1	Meme kanseri: hücre soyları ve klinik örnekler	↑		90	
SPCA2	Meme kanseri: hücre soyları ve hasta doku örnekleri	↑	↑	42	

CA⁺² GİRİŞİ

Plazma zarı kanalları, plazma zarından derişim gradyanı boyunca hücre içine Ca⁺² girişini destekler. Voltaj kapılı kalsiyum kanalları (Ca_v) gibi çeşitli kanallar Ca⁺² girişinde rol oynayabilmektedir. Bu protein ailesinin ekspresyonu uyarılabilir hücrelerin bir karakteristiğidir ve bu kanallar plazma zarı depolarizasyonunda gereklidirler. Bunun yanında düşük voltaj ile aktive olan Ca_v3 kanalları gibi bazı kanallar ise birçok kanser hücre soyunda eksprese edilir ve çoğalmayı düzenlerler.⁷ Uyarılmayan hücrelerdeki Ca⁺² girişi ise genellikle voltaj kapılı olmayan kanallar ile olmaktadır. Bu kanallar, ligand kapılı kanallar (P2X pürinerjik iyonotropik reseptör ailesi...); reseptör kontrollü kanallar (ROC) veya GPCR (G proteini kenetli reseptörler) aktivasyonu ile ilgili ikincil haberci kontrollü kanallar (SMOC:ORAI ailesi ve TRP kanal ailesi; depo kontrollü kanallar (SOC: ORAI ailesi ve TRPC kanal ailesi); ve TRP kanal ailesi olarak sıralanabilirler. Farklı kanser hücrelerinde bu kanalların bir veya birkaçında ekspresyon ve aktivitelerin değiştiği ve malign fenotipe giden patofizyolojik süreçte rol oynadığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu derlemede daha çok bazı kanser türlerinde bozulmuş Ca⁺² giriş yolağına örnek olarak seçilen TRP kanallar ve ORAI aracılı depo-kontrollü Ca⁺² (ORAI-mediated store-operated) girişi üzerinde durulacaktır.

TRP KANALLARI

TRP iyon kanallarının çoğu Ca⁺²'a geçirgen olmak üzere altı alt tipi bulunmaktadır. Bu alt tipleri; 1) TRP kanonik (TRPC) 7 alt kanal grubu, 2) TRP vanilloid (TRPV) 6 alt kanal grubu, 3) TRP polisistein (TRPP) 3 alt kanal grubu, 4) TRP mukolipin (ML) 3 alt kanal grubu, 5) TRP ankirin (TRPA) 1 alt kanal grubu, 6) TRP melastatin (TRPM) 8 alt kanal grubu vardır. TRP kanalları Ca⁺² iyonları için spesifik olan TRPV5 ve TRPV6 kanalları ile bir değerlikli katyonlara seçici olan TRPM5 ve TRPM4 kanalları dışında hem bir değerlikli hem de iki değerlikli iyonlara geçirgendir. Bu kanalların çoğunun ağrı, tat alma, sıcaklık ve basınç gibi duyuların ayırımında rolleri olmasının yanında, TRP kanalları

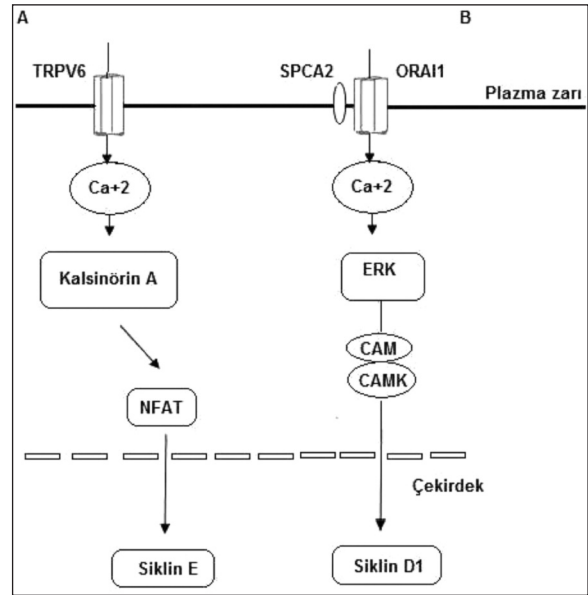
kanserde en çok çalışılan iyon kanallarıdır.⁸ Kalsiyum sinyalinin kanserde değişimi hakkında yapılan ilk önemli çalışmalar daha çok prostat bezi ve Ca⁺² geçirgen olan TRPM8 iyon kanalları üzerine yoğunlaşmıştır.⁹ TRPM8 kanalı daha çok mentol varlığına veya sıcaklık değişikliğine cevap veren bir *cold receptor* olarak bilinse de, başlangıçta bazı prostat kanserlerindeki fazla ekspresyonu ile dikkat çekmiştir.^{10,11} Zhang ve Barritt tarafından yapılan TRPM8'in susturulması (siRNA) ve mentol aracılı TRPM8'in aktivasyonu deneyleri sonucunda, TRPM8'in LNCaP prostat kanseri hücrelerinde canlılığı azalttığı, ancak hücre çoğalması üzerinde etkisi olmadığı belirlenmiştir.¹² TRPM8'in deneysel olarak aktivasyon ve inhibisyonu sonuçlarından yola çıkılarak kalsiyum sinyalinin prostat kanseri hücreleri için olası bir terapötik ajan olduğu önerilmektedir.¹³ Bradikinin reseptör aracılığı ile prostat spesifik antijen (PSA) ile aktive olan TRPM8, reseptör aracılı bir kanal olarak davranır. Bu sayede PC3 prostat kanser hücrelerinin göçünü inhibe ederek terapötik kanal aktivatörlerinin rolüne diğer bir örneği teşkil etmektedir.¹⁴ Prostat kanseri, ileri evrelerde olmamakla birlikte erken evrelerde androjen bağımlıdır. İleri evre prostat kanserlerinde farmakolojik ve cerrahi yollar ile androjen deprivasyon tedavisi yapılır. Ancak, kalsiyum homeostazında meydana gelen değişiklikler ile androjen bağımlılığına karşı prostat kanser hücre direnci gelişir. LNCaP prostat kanser hücrelerinde TRPM8 ile yapılan daha detaylı bir çalışmada, bu hücrelerde TRPM8'deki artışların androjen aracılı olduğu görülmüştür.^{12,15} Bu sonuçlar, LNCaP prostat kanser hücre soyunda Ca⁺² geçirgen iyon kanalının ekspresyonundaki hormon aracılı değişikliklere ilk örnekleri teşkil etmektedir.

TRPM8'in normal hücre plazma zarındaki lokalizasyonu çoğalma için gerekli kalsiyum sinyalinde önemlidir. Buna karşılık prostat kanserlerinde TRPM8'in endoplazmik retikulumdaki (ER) lokalizasyonu, ER Ca⁺² seviyelerinin azalmasına ve bunun sonucunda da apoptoza direnç kazanmasında etkili olmaktadır.^{12,16} Prostat kanserinin yanında kolon, akciğer, meme, pankreas kanserleri ve melanoma gibi diğer kanser türlerinde de

TRPM8'in fazla ekspresyonu görülebilmektedir (Tablo 1). TRPM8'in kanser tedavisinde hedef olarak kullanımını, detaylı olarak tümörlerdeki kanal ekspresyon bilgilerine ihtiyaç duyulmasından ötürü sınırlıdır. Bunu prostat kanser hücrelerinin androjen-bağımlı olduğu durumdan androjen-bağımsız olduğu duruma geçişi boyunca TRPM8 ekspresyonunun azalıp, hastalığın agresifliğinin artması olarak örnekleyebiliriz.^{17,18}

TRPV6, prostat kanseri ile bağlantılı diğer bir TRP kanalıdır. İleri evre prostat kanserinde TRPV6'nın mRNA ekspresyonunun yüksek olması nedeniyle, TRPV6 seviyeleri tümör gelişiminin ve invazivliğin güçlü bir belirteci olarak önerilmektedir.^{19,20} TRPV6 kanalları prostat hücrelerinde Ca^{+2} seçici akışları destekler. Prostat kanser hücrelerinden elde edilen bazı verilere göre ise, TRPV6 kanalları temelinde açık ve herhangi bir spesifik aktivasyon olmaksızın Ca^{+2} girişinde aracıdır. TRPV6 ekspresyonu susturulması ile, LNCaP prostat kanser hücrelerinde Ca^{+2} girişi inhibe olmuş ve sonucunda da NFAT (nuclear factor of activated T cells transcription factor) aktivasyonu düşmüştür.²⁰ Diğer bir çalışmada ise, TRPV6 ekspresyonunun susturulmasının Ca^{+2} bağımlı NFAT aracılı sinyal yolağı üzerinden hücre döngü belirteçlerini (CDK4, siklin 1 ve PCNA gibi) etkilediği ve bu nedenle hücre çoğalmasında rolü olduğu gösterilmiştir (Şekil 1A).²¹ Bu sonuç da bize Ca^{+2} bağımlı transkripsiyon yolağının, hücre çoğalması ve tümör gelişiminin bir mekanizması olarak önemini göstermektedir.^{20,21}

TRPV6 ekspresyonundaki değişiklikler sadece prostat kanser hücreleri ile sınırlı değildir. Meme, yumurtalık, kolon ve tiroid kanserlerinde de TRPV6 seviyelerinde artma görülmektedir (Tablo 1). Yüksek TRPV6 seviyeleri daha çok östrojen reseptör negatif gruba ait meme kanseri biyopsilerinin bir alt grubu olarak belirlenmiştir.²² T47D meme kanseri hücrelerinde TRPV6'nın susturulması ile elde edilen sonuçlarda tümörlerdeki TRPV6'nın fazla ekspresyonunun Ca^{+2} girişini ve hücre canlılığını azalttığı gösterilmiştir.²³ Bu sonuçlar ile hücrelerin 24 saat boyunca G1 fazında yığıldıkları görülmüş ve bunun nedenin de G1 fazından S fazına geçişi tetikleyen Ca^{+2} 'un hücre içine girişindeki azalma olduğu gösterilmiştir.



ŞEKİL 1: TRP kanal ve ORAI aracılı Ca^{+2} girişinin hücre çoğalması üzerine etkisi.

A. Ca^{+2} 'a bağımlı fosfatase kalsinörin A'nın aktive ettiği NFAT ile prostat kanser hücrelerinin çoğalmasında artma olur. Hücre döngü işlevi NFAT yolağının kontrolü altındaki Siklin E tarafından düzenlenir.

B. Meme kanseri hücrelerinde ORAI1 kanalı SPCA2 membran proteininin kontrolü altında yapısal bir Ca^{+2} girişi gerçekleştirir. Bu Ca^{+2} girişi, ERK yolağı ile hücre çoğalmasını ve ERK yolağının kontrolü altında olan Siklin D1 ile hücre döngü işlevini düzenler. ERK fosforilasyonu Ca^{+2} bağımlı kalmodilin-CAMK yolağı tarafından düzenlenebilir.

ROC veya SMOC, hücre dışı bir agoniste veya PLC-yolak aktivasyonuna cevapta oldukça önemli Ca^{+2} girişi araçlarıdır. TRPC ailesi ROC ve SMOC kanallarını oluşturmaktadır. Prostat kanserli dokularda TRPC6 protein ve mRNA ekspresyonlarının benign prostatik hiperplazyaya vakaları ile mukayese edildiğinde anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. TRPV6'da olduğu gibi, TRPC6 çoğalma ve NFAT yolaklarını kontrol etmektedir. Alfa 1-adrenerjik reseptör (AR), TRPC6 bağımlı Ca^{+2} giriş tetikleme ve bunu takiben NFAT'nin aktivasyonu ile insan primer prostat epitelyum kanser hücrelerinin çoğalma hızını arttırmıştır.²⁴ Antisens ile TRPC6'nın susturulması hem hücre çoğalmasını hem de AR tetiklediği Ca^{+2} girişini azaltmıştır.²⁴ TRPC6 seviyeleri aynı zamanda meme, karaciğer, mide ve özofagus kanserlerinde ve gliomalarda da artmaktadır. TRPC6'nın susturulduğu diğer çalışmalarda ise bazı özofageal ve meme kanseri hücrelerinde ve aynı zamanda glioma hücre soyunda proliferasyon azal-

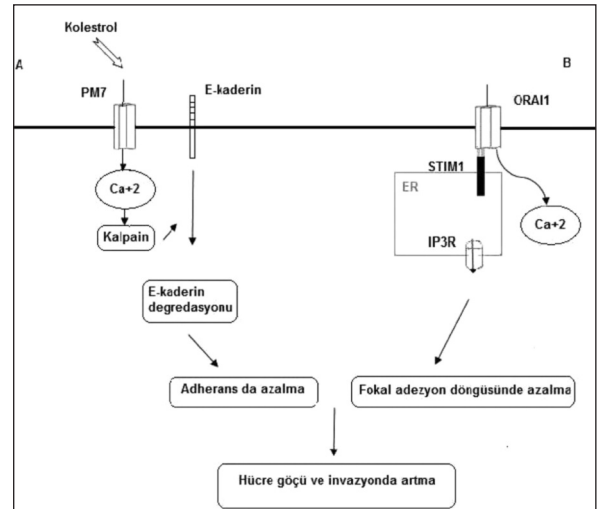
mıştır.^{25,27,28} Özofageal ve glioma hücre soyları için bu etki G2/M hücre döngüsünün durdurulması nedeniyle.^{27,28} TRPC3 kanalı ise bazı meme ve yumurtalık epitelyum tümörlerinde artmaktadır.²⁵ Susturulması ile de *in vivo*'da tümör oluşumu, *in vitro*'da ise yumurtalık hücrelerinin çoğalması azalmaktadır.²⁶

Meme kanseri endotel hücrelerinin bir TRPV4 aktivatörü olan 4- α -forbol 12,13-didekanoat ile muamelesi sonucunda, göç eden hücrelerin göç etmeyen hücrelere göre daha fazla $[Ca^{+2}]_i$ gösterilmiştir.²⁹ Yine aynı çalışmada, kanser dokusundan çıkarılan endotel hücrelerdeki TRPV4 ekspresyonu, normal dokudan çıkarılanlar ile mukayese edildiğinde TRPV4'ün anjiogenezde meme kanseri ile ilişkili esas öge olabileceği görülmüştür.²⁹

TRP kanalları yolu ile hücre içine Ca^{+2} girişi, kanser hücrelerinin göçüne katkıda bulunan bölgesel kalsiyum sinyallerinin oluşumu ile sonuçlanabilir.³ Örnek olarak basınç ile aktif olan TRPM7 kanalları, hücrelerin göçünde rol oynayan ve Ca^{+2} flicker denilen bölgesel (5 mikron çapı) ve geçici (4-10sn) Ca^{+2} meydana getirmek için gerekli olan Ca^{+2}/Mg^{+2} geçirgen kanallardır.³⁰ TRPM7 kanalları, Ca^{+2} dan bağımsız şekilde kinaz aktivitelerindeki rolleri sayesinde (MAPK yolağının aktivasyonu ve adhezyon hücrelerinin regülasyonu) meme kanser hücrelerinde hücre göçü ve metastaz gelişiminde de rol almaktadırlar.^{31,32} TRPM7'nin inhibisyonu çalışmalarının sonuçlarına göre pankreas, akciğer ve nazofarenksi de içeren birçok kanser hücrelerinin göçünde bir azalma olmuştur.³³ AKT ve/veya ERK yolaklarının aktivasyonunu tetikleme ile prostat hücre çoğalmasını artıran TRPM7 kanalı kolesterol Ca^{+2} girişini artırır. Bu ise, dolaşımdaki yüksek kolesterol seviyelerinin niçin tüm agresif prostat kanseri risklerini artırdığını açıklayabilecek bir mekanizma olabilir (Şekil 2A).³⁴

DEPO KONTROLLÜ Ca^{+2} (SOCE) GİRİŞİ

SOCE, diğer bir Ca^{+2} giriş yolağıdır ve uyarılmayan hücrelerdeki esas Ca^{+2} giriş mekanizmasını temsil eder.³⁵ SOC, ER Ca^{+2} azalmasına cevap sırasında aktive olan plazma zarı iyon kanallarıdır ve aynı zamanda ER Ca^{+2} deposunun dolması için de Ca^{+2} sağlar.³⁵⁻³⁷ Depo kontrollü Ca^{+2} girişinin esas mole-



ŞEKİL 2: TRP kanal ve ORAI1 aracılı Ca^{+2} girişinin hücre göçü ve invazyon üzerine etkisi.

A. TRP kanal tetikli kalsiyumdaki yükselmeler, hücrelerin yapışmasının azalmasına (veya kaybı) ve bu nedenle hücre göçündeki artışlara neden olur. Prostat kanser hücrelerinde kolesterol, Ca^{+2} bağımlı bir protein olan kalpainin stimülasyonunu artıran TRPM7 kanalını aktive etmektedir. Kalpain bağımlı proteolizis ise E-kaderin degradasyonuna dahil olur.

B. Meme kanseri hücrelerinde ORAI1 veya STIM1'in susturulması ile depo kontrollü Ca^{+2} girişinde azalma olmaktadır. Bu ise fokal adhezyon döngüsü ve hücre göçündeki azalma ile birlikte.

küler bileşenleri, plazma zarı Ca^{+2} giriş kanalı olan ORAI1 ve ER Ca^{+2} azalmasını algılayan STIM1'dir (STIM1: stromal interaction molecule 1).^{38,39} ER Ca^{+2} azalmasını takiben, STIM1 molekülü ORAI1 ile etkileşir ve aktive edeceği plazma zarına doğru yerini değiştirir. Bu yolağı birçok meme kanserinde etkili Ca^{+2} giriş mekanizmalarından biri olması yanında, normal bir meme fonksiyonu olan laktasyon boyunca da bir Ca^{+2} giriş yolu olarak görünmektedir.⁴⁰

SOCE'nin üyelerinden olan ORAI1 ve STIM1'in insan invaziv hücre soyu olan MDA-MB-231 meme kanser hücrelerinin direkt olarak hücre göçü ve invazyonuna karıştığı gösterilmiştir. ORAI1 ve STIM1'in susturulması ve farmakolojik muamele ile inhibisyonu deneyleri sonucunda, MDA-MB-231 hücrelerinin göç ve invazyonunun engellendiği *in vitro* ve *in vivo* olarak gösterilmiştir (Şekil 2B). Ayrıca depo kontrollü Ca^{+2} giriş inhibitörünün (SKF96365) NOD/SCID farelere enjeksiyonu sonrasında, akciğer metastazında bir azalma olduğu görülmüştür.⁴¹ ORAI1 ve STIM1'in

susturulmasıyla ortaya çıkan antimetastatik etki, fokal adezyon döngüsünün (turnover) sorun oluşturan SOCE bağımlı $[Ca^{+2}]_i$ artışları ile bağlantılı olmasından dolayıdır.⁴¹ Bununla birlikte, ER ve Golgi Ca^{+2} depo ve Ca^{+2} depo sensörlerinden ayrı olarak ORAI1 ve SPCA2'nin aktivasyonu için yeni bir mekanizma ortaya atılmıştır. Bu depo bağımsız endojen ORAI1 aktivasyonu için kalsiyum sinyalinin esas olduğu vurgulanmaktadır. Bu düzenleme RAS-ERK yoluyla sağlanmaktadır. SPCA2 ve ORAI1 aracılı Ca^{+2} girişindeki artış ile RAS sinyalinin etkinleşmesinde bir artış olmaktadır (Şekil 1B).⁴² Yine aynı çalışmada ORAI1'in susturulması sonucunda ortaya çıkan etkiler, sadece hücrelerin göçündeki önemli işlevlerin inhibisyonu ile kalmamaktadır. MCF-7 hücreler ile yapılan *in vivo* çalışmalar, bu hücreler üzerindeki çoğalmayı engelleyici etkiyi de göstermiştir. Bu değişiklikler ERK1/2 fosforilasyon ve siklin D1 ekspresyonunun azalmasının sonucu ortaya çıkan Ca^{+2} girişlerindeki azalmalar ile meydana gelebilir.⁴²

SOCE'nin spesifik bileşenlerinin ekspresyonlarındaki değişimler, aynı zamanda bazı meme kanserlerinin de temel özellikleri arasındadır. ORAI1 mRNA seviyeleri bazı meme kanserlerinde, normal meme hücre soylarına göre daha yüksektir.⁴⁰ Gen ekspresyonu ile meme kanseri alt tiplerinin sınıflandırıldığı durumlarda, bazal meme kanserleri (kötü prognozu ve tedavi edilememesi) STIM1/STIM2 oranındaki artış ile karakterize edilir. STIM1/STIM2 oranı yüksek veya STIM1 seviyesi yüksek meme kanserli hastalarda ise sağkalım anlamlı olarak düşmektedir.⁴⁰ Sonuçlar bize STIM1 proteininin, meme kanser progresyonu belirteci veya potansiyel bir düzenleyicisi olarak rol alabileceğini göstermektedir. Meme kanserlerinden başka servikal kanser hücrelerinin göçündeki rolü ile STIM1 oldukça önemlidir.⁴³ Artmış ORAI1 aracılı Ca^{+2} girişi için sorumlu mekanizma meme kanserlerinde oldukça karışıktır ve kanser alt tipleri ile de ilgilidir. STIM1 aracılı ORAI1'in aktivasyonuna ilave olarak, SPCA2'nin ekspresyonundaki artış, bazı meme kanserlerinde artmış ORAI1 aracılı Ca^{+2} akışı ile karakterize edilebilir.

ORAI1 isoform, sadece kanser ile ilişkili olan tek bir ORAI proteini değildir. ORAI3 protein se-

viyeleri ve ORAI3 bağımlı depo kontrollü Ca^{+2} girişi, östrojen reseptör pozitif meme kanseri hücreleri için doğal bir SOCE'dir.⁴⁴ Kanser sebebi olarak gösterilebilecek asıl bilgi ise, MCF-7 meme kanseri hücrelerinde ORAI3'ün susturulması ile G1 hücre döngüsünün durduğu ve proliferasyonun inhibe olduğu çalışmadan gelmektedir.⁴⁵ Verilen bu örnekler ORAI-aracılı Ca^{+2} girişinin bir yukarı regülasyon olduğunu işaret eder iken, apoptotik direnç kazanması ile birlikte bu yolağın aşağı regülasyon olduğunu gösteren bazı kanser tipleri de mevcuttur.⁶ LNCaP prostat kanser hücrelerinde ORAI izoformlarının susturulması, hücre çoğalmasını azaltmıştır ve G1 hücre fazında yer alan ve onkogenik hücre döngü proteini olan siklin D1'in aşağı regülasyonuna aracı olmuştur.⁴⁶ Son yapılan çalışmalarda ise küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde ORAI3'ün AKT yolu üzerinden, hücre çoğalmasını ve hücre döngü işlevini kontrol ettiği bir SOC yoluyla da oluşturduğu belirlenmiştir.⁴⁷

■ Ca^{+2} ÇIKIŞI

Plazma zarından Ca^{+2} çıkışı, hem Na^+/Ca^{+2} değiş-tokuş mekanizması hem de plazma zarı Ca^{+2} -ATPaz (PMCA) yolu üzerinden aktif transport ile olabilmektedir. Ancak, kanser hücrelerinde Ca^{+2} çıkış yoluyla yapılan birçok çalışma, daha çok PMCA mekanizmasına odaklanmaktadır. PMCA'lar Na^+/Ca^{+2} değiş-tokuş mekanizmasının olmadığı veya az ekspres edildiği epitelyum gibi uyarılmayan hücrelerde esas Ca^{+2} çıkış yolağıdır. PMCA'lar dinlenim halindeki $[Ca^{+2}]_i$ düşük seviye de (yaklaşık 100 nM) tutmaktan sorumlu uygun bir kalsiyum pompasını oluşturmak üzere işlenen (splicing) dört gen tarafından kodlanırlar.^{48,49} PMCA'ların aynı zamanda PMCA2 vasıtasıyla süt içine Ca^{+2} 'un transportu gibi spesifik hücre fonksiyonlarında da payı vardır.⁵⁰

PMCA'ların kanserde kritik olarak önem taşıdığı konu, hücre ölümünün düzenlenmesidir. PMCA izoformlarının fazla ekspresyonunun CHO (chinese hamster ovary) hücrelerinde $[Ca^{+2}]_{ER}$ seviyelerini düşürdüğü, bu düşmenin bir yansımasının da ayrıca anti-apoptotik etkilere neden olacağı

düşünülen mitokondrial Ca^{+2} birikimini de azalttığı gösterilmiştir.⁵¹ PMCA'nın fazla ekspresyonu HeLa hücrelerinde de seramid ile tetiklenen hücre ölümüne direnci artırmıştır.⁵² T47D meme kanseri hücreleri ile yapılan son çalışmalarda ise PMCA2'nin fazla ekspresyonunun, $[Ca^{+2}]_i$ düşürüp, hücreleri apoptozdan koruduğu gösterilmiştir. PMCA2 bazı meme kanser hücre soylarında fazla ekspresyonu belirlenmiş bir izoformdur ve bazı hasta gruplarında zayıf prognoz ile birlikte görülmektedir.^{53,54} Sonuç olarak bu çalışmalar PMCA ekspresyonundaki artışlar ile birlikte olan Ca^{+2} çıkışı, kanser hücrelerindeki anti-apoptotik fenotipi yeniden biçimlendirdiği sonucunu ortaya koymaktadır.

Meme kanseri hücrelerinde görülen PMCA izoform ekspresyonlarının yeniden biçimlenmesi kolon kanser hücre farklılaşması boyunca da görülmektedir. Örneğin, PMCA1 ekspresyonu insan kolon kanser (HT29) hücrelerinde farklılaşma boyunca oldukça sabit kalırken, PMCA4 ekspresyonu farklılaşma ile birlikte artmaktadır.^{55,56} Bu çalışmalar sonucunda, kolon kanser hücrelerindeki PMCA4'ün aşağı regülasyonu, apoptozu tetikleyen $[Ca^{+2}]_i$ 'da bir artış olmaksızın çoğalma uyarıcıları için yeterli Ca^{+2} artışlarının sağlanmasına yardım edebilmektedir.⁵⁷ Farklılaşma modellerinde görülen PMCA4 ekspresyonundaki değişiklikler insan kolon kanser klinik örnekleri ile bir korelasyon içindedir.⁵⁷ Meme kanserlerindeki PMCA2'nin yukarı regülasyonu ve kolon kanserlerindeki PMCA4'ün aşağı regülasyonu bir çelişki gibi görünmesine rağmen her iki durumda da PMCA ekspresyonundaki değişiklikler kanser hücreleri için bir avantaj olarak ortaya çıkar. PMCA2 örneğinde bu avantaj meme kanser hücrelerinde daha fazla direnç kazanımı ile ortaya çıkmakta iken PMCA4 örneğinde ise kolon kanser hücrelerindeki çoğalma sinyallerine artmış cevaplardır.

HÜCRE İÇİ ORGANELLERDEKİ KALSİYUM KANALLARI/ POMPALARI

$[Ca^{+2}]_i$ 'un düzenlenmesi veya organel içinde bulunan ve Ca^{+2} tarafından düzenlenen proteinlerin

modülasyonu ile, hücre içi organeller Ca^{+2} tarafından düzenlenen işlevlerde önemli rol oynarlar. Kanserlerde en çok ER ve Golginin, kalsiyum kanal ve pompaları çalışılmıştır. Mitokondrial Ca^{+2} girişi ve çıkışında rol oynayan proteinlerin belirlenmesi ile birlikte, endosom (TPC1) ve lizozomda (TPC2) iki gözenekli kanal proteinlerinin tanımlanması kanserlerde tekrar biçimlenen kalsiyum sinyalini anlamada büyük fırsatlar oluşturmuştur.^{58,61} Bu çalışmalar gelecekteki araştırmaların merkezine oturacaktır.⁶²

ENDOPLAZMİK RETİKULUMUN Ca^{+2} SEVİYELERİNİN DÜZENLENMESİ

$[Ca^{+2}]_{ER}$ ve kanser arasındaki bağlantıyı gösteren ilk bulgular, anti-apoptotik Bcl-2 protein (B hücre lenfoma-2) çalışmalarından gelir. Bir pro-apoptotik faktör olan sitokrom c'nin salınmasının Bcl-2 tarafından inhibe edildiği bulgusunun ardından, $[Ca^{+2}]_{ER}$ içeriğini de azalttığı sonucu gösterilmiştir.^{52,63,65-67} Mekanizmaya baktığımız zaman, Bcl-2 ve diğer anti-apoptotik proteinlerin inositol 1,4,5 trifosfat (IP_3) reseptör ile etkileşimi, mitokondride apoptotik hücre ölümü için gerekli ve yeterli Ca^{+2} seviyesinin sağlanmasını engellemektedir.^{68,69} ER'un kalsiyum kanal ve pompalarının ekspresyonlarındaki değişiklikleri gösteren bazı örnekler Tablo 1'de verilmiştir. Yukarıda verilen PMCA4 örneğine benzer olarak, kolon kanser hücre farklılaşması boyunca sarko/endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz3 (SERCA3) pompasının da ekspresyonu artmakta ve aşağı regüle olmaktadır.⁷⁰ Bu sonuç bize kolon kanserinde aktif Ca^{+2} taşınmasında SERCA3'ün büyük oranda yeniden biçimlendiğini düşündürmektedir. SERCA3'ün aşağı regülasyonu kolon kanserlerinin yanında meme kanserlerinde ve iyi huylu lezyonlar da bile gösterilmiştir.⁷¹ Kanserde SERCA'nın aşağı regülasyonunun anlamı SERCA2 için yapılmış fare haplodeficient çalışmalarında gösterilmiştir.^{72,73} Bu fareler artmış sıklıktaki skuamöz hücreli karzinom ile karakterize edilirler. Değişmiş kalsiyum sinyali ve sonucunda deri epitel mikro çevresindeki farklılıklar ise altında yatan mekanizmayı oluşturur.⁷²

GOLGİNİN CA⁺² SEVİYELERİNDEKİ DÜZENLEMELER

SPCA'lar (secretory pathway Ca⁺²-ATPases) Ca⁺² ve Mg⁺² iyonlarını sitozolden Golgi lumenine götüren ve ATP kullanan pompalardır. SPCA1 canlılarda yaygın bir şekilde ifade edilirken ve SPCA2 izoformunun ekspresyonu daha sınırlıdır.^{74,75} Bazal-benzeri bir meme kanser hücre soyu olan MDA-MB-231 hücre soyunda SPCA1'in susturulması ile (SPCA2 ekspresyonu yok) [Ca⁺²]_i'da değişiklik olmaksızın çoğalma inhibe edilmiştir. Böyle bir sonuç birçok hücrede SPCA'ların [Ca⁺²]_i'un yapılındaki rollerinin küçük olduğu sonuçları ile uyum göstermektedir. SPCA1'in susturulmasının çoğalmayı inhibe ettiği mekanizma ise, Ca⁺² ile düzenlenen enzimlerin bulunduğu Golgi lümeni içindeki Ca⁺² seviyelerinde olan değişiklikleridir. Bu durum hücre içi organellerin zarları üzerinde bulunan diğer kalsiyum kanal ve pompalar için geçerli olabilir. SPCA'nın diğer bir izoformu olan SPCA2, laktasyon boyunca süt içine Ca⁺²'un transportunda görev almaktadır.⁷⁶ Feng ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, SPCA2'nin ORAI1 aracılı kalsiyum sinyal oluşumunu artırdığını ve bu artışın ise meme kanseri hücrelerinde onkojenik aktiviteyi de artırdığını gösterdiler. Fazla ifade edildiği MCF-7 gibi meme kanseri hücre soylarında SPCA2'nin susturulması ile bazal Ca⁺² seviyeleri ve tümörjenitesi azalmıştır.⁴² Golgideki rolünün aksine, kalsiyum sinyali onun pompa aktivitesinden bağımsızdır ve depo tüketimi veya STIM proteinler ile aktive olmamaktadır. SPCA2 amino terminal ucundan ORAI1 ile etkileşir ve C terminal ucundan Ca⁺² girişini aktive eder.

KALSİYUM SİNYALİ VE KANSER

Bu alandaki asıl gelişmeler, kalsiyum sinyalinin kanser hücrelerinde nasıl yeniden biçimlendiği ve spesifik kalsiyum kanal ve pompalarının onkolojide nasıl terapötik hedef olarak sunulduğunu anladığımız son 10 yılda olmuştur. Bununla birlikte, Hanahan ve Weinberg tarafından tanımlanan kanserin karakteristik özellikleri ile kalsiyum sinyali arasındaki ilişki halen tam olarak açıklanamamıştır.

değildir.⁷⁷ Bunun nedeni, Otto Warburg'un 100 yıl önce tanımladığı kanser hücrelerinin enerji metabolizmalarını glikolize çevirmeleriyle, hücresel enerji metabolizmasının yeniden programlanması olabilir.⁷⁸⁻⁸⁰ Glikolizin düzenlenmesinde kalsiyum sinyalinin muhtemel rolü üzerine yapılan çalışmalarda, glikolize dönüşüm ve kanser hücrelerinin kalsiyum pompa yakıtı olarak glikoz-üretimli ATP kullanımı gerektiği görülmüştür.⁷⁸ Kalsiyum sinyalinin oldukça kritik olduğu savunulan fakat tam olarak henüz aydınlatılmayan diğer bir kanser biyoloji konusu tümör mikro çevredir. Tümör mikro çevrede aktif durumda olan ve kanser hücreleri ile dinamik sinyal etkileşiminde bulunan kanser ilişkili fibroblastlar için oldukça anlamlıdır.^{77,79} Servikal kanser hücreleri ve kanser ilişkili fibroblastlar arasındaki sinyalde PDGF'nin (trombosit türevi büyüme faktörü) önemi ile PDGF'nin diğer hücre tiplerinde [Ca⁺²]_i yükseltme özelliği sayesinde, kalsiyum bu mikro çevredeki sinyalde kritik rol oynayabilir.^{81,82}

Birçok sinyal iletim yolağının ve moleküllerinin kanser oluşum mekanizmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir ve kalsiyum sinyali de bu sinyal iletim mekanizmalarının çoğunda önemli rol oynamaktadır. Bazı kanserlerin kalsiyum kanal ve pompaların ekspresyonlarındaki büyük değişiklikler ile birlikte olması ve bu proteinlerin bazılarının inhibisyonunun kanser hücrelerinin çoğalması ve/veya metastazını inhibe etmesi son dönemde yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Önümüzdeki dönemde kalsiyumu kanserde daha fazla tanıyıp rolünü göreceğiz ve kanser tedavisinde hedef olarak kalsiyum kanal ve pompaları kullanan ajanları tanımlayabileceğiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Yazar Katkıları

Makalenin yazımı, tartışılması, kaynak bulunması: Leman Yalçın-tepe Güneştutar; **Fikir, tasarım, analiz, yazım:** Leman Yalçın-tepe Güneştutar; **Eleştirel inceleme:** Leman Yalçın-tepe Güneştutar.

KAYNAKLAR

- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100(1):57-70.
- Roderick HL, Cook SJ. Ca²⁺ signalling checkpoints in cancer: remodelling Ca²⁺ for cancer cell proliferation and survival. *Nat Rev Cancer* 2008;8(5):361-75.
- Prevarskaya N, Skryma R, Shuba Y. Calcium in tumor metastasis: new roles for known actors. *Nat Rev Cancer* 2011;11(8):609-18.
- Fiorio Pla A, Avanzato D, Munaron L, Ambudkar IS. Ion channels and transporters in cancer. 6. Vascularizing the tumor: TRP channels as molecular targets. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012;302(1):C9-15.
- Rizzuto R, Pinton P, Ferrari D, Chami M, Szabadkai G, Magalhães PJ, et al. Calcium and apoptosis: facts and hypotheses. *Oncogene* 2003;22(53):8619-27.
- Lehen'kyi V, Shapovalov G, Skryma R, Prevarskaya N. Ion channels and transporters in cancer. 5. Ion channels in control of cancer and cell apoptosis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011;301(6):C1281-9.
- Prevarskaya N, Skryma R, Shuba Y. Ion channels and the hallmarks of cancer. *Trends Mol Med* 2010;16(3):107-21.
- Ramsey IS, Delling M, Clapham DE. An introduction to TRP channels. *Annu Rev Physiol* 2006;68:619-47.
- Tsavalier L, Shapero MH, Morkowski S, Laus R. Trp-p8, a novel prostate-specific gene, is up-regulated in prostate cancer and other malignancies and shares high homology with transient receptor potential calcium channel proteins. *Cancer Res* 2001;61(9):3760-9.
- McKemy DD, Neuhauss WM, Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature* 2002;416(6876):52-8.
- Knowlton WM, Daniels RL, Palkar R, McCoy DD, McKemy DD. Pharmacological blockade of TRPM8 ion channels alters cold and cold pain responses in mice. *PLoS One* 2011;6(9):e25894.
- Zhang L, Barritt GJ. Evidence that TRPM8 is an androgen-dependent Ca²⁺ channel required for the survival of prostate cancer cells. *Cancer Res* 2004;64(22):8365-73.
- Monteith GR, McAndrew D, Faddy HM, Roberts-Thomson SJ. Calcium and cancer: targeting Ca²⁺ transport. *Nat Rev Cancer* 2007;7(7):519-30.
- Gkika D, Flourakis M, Lemonnier L, Prevarskaya N. PSA reduces prostate cancer cell motility by stimulating TRPM8 activity and plasma membrane expression. *Oncogene* 2010;29(32):4611-6.
- Bidaux G, Roudbaraki M, Merle C, Crépin A, Delcourt P, Slomianny C, et al. Evidence for specific TRPM8 expression in human prostate secretory epithelial cells: functional androgen receptor requirement. *Endocr Relat Cancer* 2005;12(2):367-82.
- Bidaux G, Flourakis M, Thebault S, Zholos A, Beck B, Gkika D, et al. Prostate cell differentiation status determines transient receptor potential melastatin member 8 channel subcellular localization and function. *J Clin Invest* 2007;117(6):1647-57.
- Henshall SM, Afar DE, Hiller J, Horvath LG, Quinn DI, Rasiah KK, et al. Survival analysis of genome-wide gene expression profiles of prostate cancers identifies new prognostic targets of disease relapse. *Cancer Res* 2003;63(19):4196-203.
- Prevarskaya N, Skryma R, Bidaux G, Flourakis M, Shuba Y. Ion channels in death and differentiation of prostate cancer cells. *Cell Death Differ* 2007;14(7):1295-304.
- Fixemer T, Wissenbach U, Flockerzi V, Bonkhoff H. Expression of the Ca²⁺-selective cation channel TRPV6 in human prostate cancer: a novel prognostic marker for tumor progression. *Oncogene* 2003;22(49):7858-61.
- Lehen'kyi V, Flourakis M, Skryma R, Prevarskaya N. TRPV6 channel controls prostate cancer cell proliferation via Ca(2+)/NFAT-dependent pathways. *Oncogene* 2007;26(52):7380-5.
- Raphaël M, Lehen'kyi V, Vandenberghe M, Beck B, Khalimonchik S, Vanden Abeele F, et al. TRPV6 calcium channel translocates to the plasma membrane via Orai1-mediated mechanism and controls cancer cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(37):E3870-9.
- Bolanz KA, Hediger MA, Landowski CP. The role of TRPV6 in breast carcinogenesis. *Mol Cancer Ther* 2008;7(12):271-9.
- Peters AA, Simpson PT, Bassett JJ, Lee JM, Da Silva L, Reid LE, et al. Calcium channel TRPV6 as a potential therapeutic target in estrogen receptor-negative breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2012;11(10):2158-68.
- Thebault S, Flourakis M, Vanoverberghe K, Vandermoere F, Roudbaraki M, Lehen'kyi V, et al. Differential role of transient receptor potential channels in Ca²⁺ entry and proliferation of prostate cancer epithelial cells. *Cancer Res* 2006;66(4):2038-47.
- Aydar E, Yeo S, Djamgoz M, Palmer C. Abnormal expression, localization and interaction of canonical transient receptor potential ion channels in human breast cancer cell lines and tissues: a potential target for breast cancer diagnosis and therapy. *Cancer Cell Int* 2009;9:23.
- Yang SL, Cao Q, Zhou KC, Feng YJ, Wang YZ. Transient receptor potential channel C3 contributes to the progression of human ovarian cancer. *Oncogene* 2009;28(10):1320-8.
- Shi Y, Ding X, He ZH, Zhou KC, Wang Q, Wang YZ. Critical role of TRPC6 channels in G2 phase transition and the development of human esophageal cancer. *Gut* 2009;58(11):1443-50.
- Ding X, He Z, Zhou K, Cheng J, Yao H, Lu D, et al. Essential role of TRPC6 channels in G2/M phase transition and development of human glioma. *J Natl Cancer Inst* 2010;102(14):1052-68.
- Fiorio Pla A, Ong HL, Cheng KT, Brossa A, Bussolati B, Lockwich T, et al. TRPV4 mediates tumor-derived endothelial cell migration via arachidonic acid-activated actin remodeling. *Oncogene* 2012;31(2):200-12.
- Wei C, Wang X, Chen M, Ouyang K, Song LS, Cheng H. Calcium flickers steer cell migration. *Nature* 2009;457(7231):901-5.
- Meng X, Cai C, Wu J, Cai S, Ye C, Chen H, et al. TRPM7 mediates breast cancer cell migration and invasion through the MAPK pathway. *Cancer Lett* 2013;333(1):96-102.
- Guilbert A, Gautier M, Dhennin-Duthille I, Rybarczyk P, Sahni J, Sevestre H, et al. Transient receptor potential melastatin 7 is involved in oestrogen receptor-negative metastatic breast cancer cells migration through its kinase domain. *Eur J Cancer* 2013;49(179):3694-707.
- Rybarczyk P, Gautier M, Hague F, Dhennin-Duthille I, Chatelain D, Kerr-Conte J, et al. Transient receptor potential melastatin-related 7 channel is overexpressed in human pancreatic ductal adenocarcinomas and regulates human pancreatic cancer cell migration. *Int J Cancer* 2012;131(6):E851-61.
- Pelton K, Freeman MR, Solomon KR. Cholesterol and prostate cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2012;12(6):751-9.
- Parekh AB, Putney JW Jr. Store-operated calcium channels. *Physiol Rev* 2005;85(2):757-810.
- Roberts-Thomson SJ, Peters AA, Grice DM, Monteith GR. ORAI-mediated calcium entry: mechanism and roles, diseases and pharmacology. *Pharmacol Ther* 2010;127(2):121-30.
- Hogan PG, Rao A. Dissecting ICRAC, a store-operated calcium current. *Trends Biochem Sci* 2007;32(5):235-45.
- Feske S, Gwack Y, Prakriya M, Srikanth S, Puppel SH, Tanasa B, et al. A mutation in Orai1 causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function. *Nature* 2006;441(7090):179-85.

39. Roos J, DiGregorio PJ, Yeromin AV, Ohlsen K, Lioudyno M, Zhang S, et al. STIM1, an essential and conserved component of store-operated Ca^{2+} channel function. *J Cell Biol* 2005;169(3):435-45.
40. McAndrew D, Grice DM, Peters AA, Davis FM, Stewart T, Rice M, et al. ORAI1-mediated calcium influx in lactation and in breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2011;10(3):448-60.
41. Yang S, Zhang JJ, Huang XY. Orai1 and STIM1 are critical for breast tumor cell migration and metastasis. *Cancer Cell* 2009;15(2):124-34.
42. Feng M, Grice DM, Faddy HM, Nguyen N, Leitch S, Wang Y, et al. Store-independent activation of Orai1 by SPCA2 in mammary tumors. *Cell* 2010;143(1):84-98.
43. Chen YF, Chiu WT, Chen YT, Lin PY, Huang HJ, Chou CY, et al. Calcium store sensor stromal interaction molecule 1-dependent signaling plays an important role in cervical cancer growth, migration, and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(37):15225-30.
44. Motiani RK, Abdullaev IF, Trebak M. A novel native store-operated calcium channel encoded by Orai3: selective requirement of Orai3 versus Orai1 in estrogen receptor-positive versus estrogen receptor-negative breast cancer cells. *J Biol Chem* 2010;285(25):19173-83.
45. Faouzi M, Hague F, Potier M, Ahidouch A, Sevestre H, Ouadid-Ahidouch H. Down-regulation of Orai3 arrests cell-cycle progression and induces apoptosis in breast cancer cells but not in normal breast epithelial cells. *J Cell Physiol* 2011;226(2):542-51.
46. Flourakis M, Lehen'kyi V, Beck B, Raphaël M, Vandenberghe M, Abeele FV, et al. Orai1 contributes to the establishment of an apoptosis-resistant phenotype in prostate cancer cells. *Cell Death Dis* 2010;1:e75.
47. Ay AS, Benzerdjeb N, Sevestre H, Ahidouch A, Ouadid-Ahidouch H. Orai3 constitutes a native store-operated calcium entry that regulates non small cell lung adenocarcinoma cell proliferation. *PLoS One* 2013;8(9):e72889.
48. Strehler EE, Zacharias DA. Role of alternative splicing in generating isoform diversity among plasma membrane calcium pumps. *Physiol Rev* 2001;81(1):21-50.
49. Brini M, Carafoli E. Calcium pumps in health and disease. *Physiol Rev* 2009;89(4):1341-78.
50. Reinhardt TA, Lippolis JD, Shull GE, Horst RL. Null mutation in the gene encoding plasma membrane Ca^{2+} -ATPase isoform 2 impairs calcium transport into milk. *J Biol Chem* 2004;279(41):42369-73.
51. Brini M, Coletto L, Pierobon N, Kraev N, Guerini D, Carafoli E. A comparative functional analysis of plasma membrane Ca^{2+} pump isoforms in intact cells. *J Biol Chem* 2003;278(27):24500-8.
52. Pinton P, Ferrari D, Rapizzi E, Di Virgilio F, Pozzan T, Rizzuto R. The Ca^{2+} concentration of the endoplasmic reticulum is a key determinant of ceramide-induced apoptosis: significance for the molecular mechanism of Bcl-2 action. *EMBO J* 2001;20(11):2690-701.
53. VanHouten J, Sullivan C, Bazinet C, Ryou T, Camp R, Rimm DL, et al. PMCA2 regulates apoptosis during mammary gland involution and predicts outcome in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(25):11405-10.
54. Lee WJ, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR. Plasma membrane calcium-ATPases 2 and 4 in human breast cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;337(3):779-83.
55. Ribiczey P, Tordai A, Andrikovics H, Filoteo AG, Penniston JT, Enouf J, et al. Isoform-specific up-regulation of plasma membrane Ca^{2+} -ATPase expression during colon and gastric cancer cell differentiation. *Cell Calcium* 2007;42(6):590-605.
56. Aung CS, Kruger WA, Poronnik P, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR. Plasma membrane Ca^{2+} -ATPase expression during colon cancer cell line differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;355(4):932-6.
57. Aung CS, Ye W, Plowman G, Peters AA, Monteith GR, Roberts-Thomson SJ. Plasma membrane calcium ATPase 4 and the remodeling of calcium homeostasis in human colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2009;30(11):1962-9.
58. De Stefani D, Raffaello A, Teardo E, Szabò I, Rizzuto R. A forty-kilodalton protein of the inner membrane is the mitochondrial calcium uniporter. *Nature* 2011;476(7360):336-40.
59. Palty R, Silverman WF, Hershinkel M, Caporale T, Sensi SL, Parnis J, et al. NCLX is an essential component of mitochondrial Na^{+}/Ca^{2+} exchange. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(1):436-41.
60. Drago I, Pizzo P, Pozzan T. After half a century mitochondrial calcium in- and efflux machineries reveal themselves. *EMBO J* 2011;30(20):4119-25.
61. Zhu MX, Ma J, Parrington J, Calcraft PJ, Galione A, Evans AM. Calcium signaling via two-pore channels: local or global, that is the question. *Am J Physiol Cell Physiol* 2010;298(3):C430-41.
62. Wenner CE. Targeting mitochondria as a therapeutic target in cancer. *J Cell Physiol* 2012;227(2):450-6.
63. Cotter TG. Apoptosis and cancer: the genesis of a research field. *Nat Rev Cancer* 2009;9(7):501-7.
64. Cory S, Adams JM. The Bcl-2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002;2(9):647-56.
65. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, et al. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* 1997;275(5303):1129-32.
66. Pinton P, Ferrari D, Magalhães P, Schulze-Osthoff K, Di Virgilio F, Pozzan T, et al. Reduced loading of intracellular Ca^{2+} stores and downregulation of capacitative Ca^{2+} influx in Bcl-2-overexpressing cells. *J Cell Biol* 2000;148(5):857-62.
67. Palmer AE, Jin C, Reed JC, Tsien RY. Bcl-2-mediated alterations in endoplasmic reticulum Ca^{2+} analyzed with an improved genetically encoded fluorescent sensor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(50):17404-9.
68. Rong YP, Aromolaran AS, Bultynck G, Zhong F, Li X, McColl K, et al. Targeting Bcl-2-IP3 receptor interaction to reverse Bcl-2's inhibition of apoptotic calcium signals. *Mol Cell* 2008;31(2):255-65.
69. Giacomello M, Drago I, Pizzo P, Pozzan T. Mitochondrial Ca^{2+} as a key regulator of cell life and death. *Cell Death Differ* 2007;14(7):1267-74.
70. Gélébart P, Kovács T, Brouland JP, van Gorp R, Grossmann J, Rivard N, et al. Expression of endomembrane calcium pumps in colon and gastric cancer cells. Induction of SERCA3 expression during differentiation. *J Biol Chem* 2002;277(29):26310-20.
71. Papp B, Brouland JP. Altered Endoplasmic Reticulum Calcium Pump Expression during Breast Tumorigenesis. *Breast Cancer (Auckl)* 2011;5:163-74.
72. Prasad V, Boivin GP, Miller ML, Liu LH, Erwin CR, Warner BW, et al. Haploinsufficiency of *Atp2a2*, encoding the sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase isoform 2 Ca^{2+} pump, predisposes mice to squamous cell tumors via a novel mode of cancer susceptibility. *Cancer Res* 2005;65(19):8655-61.
73. Liu LH, Boivin GP, Prasad V, Periasamy M, Shull GE. Squamous cell tumors in mice heterozygous for a null allele of *Atp2a2*, encoding the sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase isoform 2 Ca^{2+} pump. *J Biol Chem* 2001;276(29):26737-40.
74. Xiang M, Mohamalawari D, Rao R. A novel isoform of the secretory pathway Ca^{2+} , Mn^{2+} -ATPase, hSPCA2, has unusual properties and is expressed in the brain. *J Biol Chem* 2005;280(12):11608-14.
75. Van Baelen K, Dode L, Vanoevelen J, Callewaert G, De Smedt H, Missiaen L, et al. The Ca^{2+}/Mn^{2+} pumps in the Golgi apparatus. *Biochim Biophys Acta* 2004;1742(1-3):103-12.
76. Faddy HM, Smart CE, Xu R, Lee GY, Kenny PA, Feng M, et al. Localization of plasma membrane and secretory calcium pumps in the mammary gland. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;369(3):977-81.
77. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5):646-74.

78. Koppenol WH, Bounds PL, Dang CV. Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(5):325-37.
79. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004;4(1):891-9.
80. James AD, Chan A, Erice O, Siriwardena AK, Bruce JI. Glycolytic ATP fuels the plasma membrane calcium pump critical for pancreatic cancer cell survival. *J Biol Chem* 2013; 288(50):36007-19.
81. Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006;6(5):392-401.
82. Murata T, Mizushima H, Chinen I, Moribe H, Yagi S, Hoffman RM, et al. HB-EGF and PDGF mediate reciprocal interactions of carcinoma cells with cancer-associated fibroblasts to support progression of uterine cervical cancers. *Cancer Res* 2011;71(21):6633-42.
83. Dhennin-Duthille I, Gautier M, Faouzi M, Guilbert A, Brevet M, Vaudry D, et al. High expression of transient receptor potential channels in human breast cancer epithelial cells and tissues: correlation with pathological parameters. *Cell Physiol Biochem* 2011;28(5): 813-22.
84. El Boustany C, Bidaux G, Enfissi A, Delcourt P, Prevarskaya N, Capiod T. Capacitative calcium entry and transient receptor potential canonical 6 expression control human hepatoma cell proliferation. *Hepatology* 2008; 47(6):2068-77.
85. Schmidt U, Fuessel S, Koch R, Baretton GB, Lohse A, Tomasetti S, et al. Quantitative multi-gene expression profiling of primary prostate cancer. *Prostate* 2006;66(14):1521-34.
86. Kalogris C, Caprodossi S, Amantini C, Lambertucci F, Nabissi M, Morelli MB, et al. Expression of transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) in urothelial cancers of human bladder: relation to clinicopathological and molecular parameters. *Histopathology* 2010;57(5):744-52.
87. Czifra G, Varga A, Nyeste K, Marincsák R, Tóth BI, Kovács I, et al. Increased expressions of cannabinoid receptor-1 and transient receptor potential vanilloid-1 in human prostate carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135(4):507-14.
88. Zhuang L, Peng JB, Tou L, Takanaga H, Adam RM, Hediger MA, et al. Calcium-selective ion channel, CaT1, is apically localized in gastrointestinal tract epithelia and is aberrantly expressed in human malignancies. *Lab Invest* 2002;82(12):1755-64.
89. Endo Y, Uzawa K, Mochida Y, Shiiba M, Bukawa H, Yokoe H, et al. Sarcoendoplasmic reticulum Ca(2+) ATPase type 2 downregulated in human oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2004;110(2):225-31.
90. Grice DM, Vetter I, Faddy HM, Kenny PA, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR. Golgi calcium pump secretory pathway calcium ATPase 1 (SPCA1) is a key regulator of insulin-like growth factor receptor (IGF1R) processing in the basal-like breast cancer cell line MDA-MB-231. *J Biol Chem* 2010;285(48): 37458-66.