

Meme Kanser Kök Hücre Fenotipi ve Tümör Hipoksisi ile İlişkisi

Mehtap Kılıç Eren¹

Özet: Kanser kök hücreleri, bir tümör içindeki nadir ölümsüz hücrelerdir ve bölünerek kendiliğinden yenilenebilir ve tümörü oluşturan birçok hücre türüne köken oluşturabilir. Bu hücreler çeşitli insan tümörlerinde bulunmaktadır ve kanser tedavisi için hedefler olarak ilgi çekmektedirler.

Günümüzde konvansiyonel kanser terapilerinin başarısız olma nedenlerinin temelinde kemoterapi ya da radyoterapiye karşı aşırı direnç gösteren ve daha yavaş proliferasyon kapasitesine sahip kanser kök hücrelerini hedefleyememeleri yatmaktadır. Bunun sonucunda da dormant, yani uyuyan kanser kök hücreleri yeniden proliferatif faza girmekte ve bu da sıklıkla relapsla sonuçlanmaktadır. Kanser kök hücrenin hedeflenmesinin kanserin hedeflenmesinde ve tedavisinde çok önemli ve devrimsel nitelikte ilerlemeler sağlayacağı düşünülmektedir.

Kanser kök hücrelerin regülasyonunda, Wnt/ β -catenin, Notch ve Hedgehog gibi epitelyal mezenkimal dönüşüm sinyal yollarının aktivasyonunun etkili olduğu bilinmektedir. Deneysel çalışmalar, hipoksinin ve Hypoxia Inducible Factor-1 α 'nın (HIF-1 α) kanser kök hücre fenotipini teşvik ettiği ve HIF-1 α 'nın hedeflenmesinin de kanser kök hücreleri azalttığı veya elemine ettiği konusunda kanıtlar sağlamıştır.

Meme kanseri dünya genelinde kadınlarda en yaygın diagnozu olan kanser formudur ve dünya kadın popülasyonunun %10'unu etkilemektedir. İnvaziv meme kanserine sahip olan hastaların %25-%30 'u halen bu hastalık sebebiyle ölmektedirler. Tedaviden sonraki ilk 3 yıl içerisinde hastalığın rekürans sıklığı ise %60-%80 arasında değişmektedir.

Meme kanser kök hücrelerinin daha etkin bir şekilde hedeflenebilmesi için, tümör içerisinde özellikle kök hücre üretim alanı gibi davranan hipoksik alanlar, aynı zamanda bu hücreleri terapiye dirençli hale getirebilir ve hipoksi indüklü faktörlerin bu dirençte rollerinin ortaya çıkarılması önemlidir. Bu bilgiler ışığında, gelecekte yeni ve etkili tedavi stratejileri geliştirmek için, ilaç direncinin tersine çevrilebilir olup olmadığının ve HIF-1 α inhibitörleri ve kök hücre hedefleme ajanlarının kombinasyon tedavileri ile meme kanser kök hücrelerin elimine edilip edilemeyeceğinin araştırılması özellikle önem kazanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Kanser kök hücre, meme kanseri, Salinomycin, Everolimus, HIF-1 α , hipoksi*

Breast Cancer Stem Cell Phenotype and Its Relation to Tumor Hypoxia

Abstract: Cancer stem cells are rare immortal cells within a tumour that can both self-renew by dividing and give rise to many cell types that constitute the tumour, and can therefore form tumours. Such cells have been found in various types of human tumours and might be attractive targets for cancer treatment.

Today, the reasons for the failure of conventional cancer therapies lie in the fact that they are unable to target cancer stem cells, which are over-resistant to chemotherapy or radiotherapy and have a slower proliferation capacity. As a result, the dormant cancerous stem cells re-enter the proliferative phase which often results in

¹ Doç. Dr., Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. mkiliceren@gmail.com

relapse. Targeting the cancer stem cell is thought to provide a very important and revolutionary advance in cancer therapy

Activation of epithelial mesenchymal signaling pathways such as Wnt / b-catenin, Notch and Hedgehog is known to be effective in the regulation of cancer stem cells. Experimental studies have provided evidence that also hypoxia and HIF-1 α promote the cancer stem cell phenotype and targeting of HIF-1 α may reduce or eliminate cancer stem cells.

Breast cancer is the most common form of cancer worldwide in women and affects 10% of the world's female population. 25% to 30% of patients with invasive breast cancer still die from this disease. The recurrence frequency of the disease varies between 60% and 80% within the first 3 years after treatment.

In order to target breast cancer stem cells more effectively, it is important to reveal whether or not the hypoxic conditions in the tumor, which act as the stem cell production area, consequently creates resistance to therapy and whether or not hypoxia inducible factors play a role in this resistance.

In the light of this data, in the future, in order to develop new and effective treatment strategies, it is especially important to find out whether or not drug resistance is reversible and stem cells can be eliminated by combination of treatments by HIF-1 α inhibitors and stem cell targeting agents.

Keywords: *Cancer stem cell, breast cancer, HIF-1 α , hypoxia*

GİRİŞ

Kanser tüm dünyada halen en sık rastlanılan ölüm nedenlerinden birisi olarak yerini korumaktadır. Kanserın moleküler temelının anlaşılmasında, teşhisinde ve tedavisinde büyük ilerlemeler sağlanmasına rağmen, mortalite oranı halen çok yüksek olup, tam bir iyileşme gerçekleşmemektedir. Günümüzde kullanılan tedavi rejimlerinin etkinliğinin de özellikle ilerlemiş düzeyde kanserler göz önüne alındığında, sağ kalım için oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bunun en temel nedenlerinden biri olarak, bu tedavilerin genellikle kanser kök hücrelerini değil de, tümör kitlesinin tümünü hedef almasından kaynaklandığına işaret etmektedir. Gerçekten de konvansiyonel kanser terapileri, çoğunlukla hızla çoğalan neoplastik hücreleri hedeflerken, ilaca karşı aşırı direnç gösteren ve daha yavaş proliferasyon kapasitesine sahip kanser kök hücrelerini sağ bırakmaktadır. Uzun süreli tedavi çıktıkları göz önüne alındığında, tüm bilinen kanser terapi yöntemlerinin (cerrahi, hormonal terapi, anti-anjiyogenez terapisi ve immünterapi dahil) kanser kök hücreyi hedefleyememeleri ve normal hücreler üzerinde de non-spesifik etkiler nedeniyle oluşan toksisite sebebiyle etkin olmadıkları görülmektedir. Bu nedenle kanser kök hücrelerinin yok edilmesi, başka bir deyişle kanser orjininin ve rekürans' ın (yinelenme) kökünün ortadan kaldırılması, kanserde sağ kalımı ve hasta iyileşme oranını oldukça arttıracakı düşünülen umut verici bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Alison et al., 2008).

Kanser Kök Hücre Kavramı

Tümör kitlesi bir ‘hiyerarşi’ içinde bir araya gelen ‘heterojen kanser hücreleri’ olarak değerlendirilmektedir. Bu ‘hiyerarşi hipotezi’ bize bir tümör kitlesi içinde genel yığından daha farklı özelliklere sahip, sayıca az olan bir alt hücre popülasyonu olduğunu anlatmaktadır. Tümör kitlesi içinde çok az sayıdaki bu hücreler normal kök hücreye benzer şekilde ‘kendi kendini yenileme kapasitesi’ ne sahip olup, aynı zamanda da tümör oluşturmak için çok büyük eğilim göstermektedirler. Bu nedenle bu hücreler, ‘kanser kök hücre (cancer stem cells)’ veya ‘kanser kök-benzeri hücreler (cancer stem-like cells)’ ya da ‘tümör-başlatan hücreler (tumor-initiating cells)’ olarak adlandırılmaktadırlar. “Kanser kök hücre teorisi” olarak da bilinen bu durum, kısaca bir tümör kitlesinin kök hücre özellikleri gösteren bir alt kanser hücre popülasyonundan ortaya çıktığını ileri sürmektedir. (Gil et al., 2008).

Kanser kök hücrelerinin ortaya çıkışına çeşitli kaynakların neden olabileceği ileri sürülmektedir. Bunlar, normal adipozdan türemiş stroma hücrelerinden, progenitor (öncül) hücrelerden, hatta daha farklılaşmış hücrelerden bile ortaya çıkabilirler. Diğer bir olasılık da, aktif halde kendini yenileme sinyal yollarına sahip olan normal kök hücrelerinin mutasyonların hedefi olması ve kanser kök hücreye sebebiyet vermesidir (Alison et al., 2008; Gil et al., 2008) .

Kanser Kök Hücre Belirteçleri

İlk kanser kök hücresi 1997’de sıklığı 10.000 de 1’den daha az olarak, insan akut myeloid lösemide saptanmıştır. Diğer kanser hücrelerinden özellikle CD34+ ve CD38- olarak ayırt edilen bu hücreler, birkaç transplantasyondan sonra, farede orijinal hastalığı olduğu gibi yeniden oluşturmuşlardır (Bonnet and Dick, 1997). Solid tümörlerde ise kanser kök hücreler ilk olarak meme kanserinde olmak üzere, kolon karsinoma, glioma, pankreatik kanser, ovaryum kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri, hepatokarsinoma, melanoma, osteosarcoma ve hatta malin mezotelyoma gibi birçok tümörde saptanmış ve izole edilmiştir (Hu and Fu, 2012). Bundan sonra, kanser kök hücre kavramı, kanser alanında özellikle heyecan ve ilgi odağı haline gelmiştir çünkü kanser kök hücrenin hedeflenmesinin kanserin hedeflenmesinde çok önemli ve devrimsel nitelikte ilerlemeler sağlayacağı düşünülmektedir.

Kanser kök hücrelerin hematolojik ya da solid tümörlerde tanınması ve izolasyonu tipik olarak hücrelerin yüzey belirteçleri sayesinde gerçekleşmektedir. Tümör kütlesi içerisinde kanser kök hücrelerini izole etmede sıklıkla kullanılan teknikler aşağıdaki gibi özetlenebilir (D'Angelo and Wicha, 2011):

- a) Hücre yüzey proteinlerinin (CD24, CD44, CD47, CD133) ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi,
- b) Aldehit dehidrogenaz (ALDH) enziminin ekspresyon düzeyinin flow sitometri ile ölçülmesi,

- c) Hoechst gibi boyaların hücre dışına pompalanması gibi hücrel aktivitelere flow sitometri ile ölçülmesi ve yan popülasyon da denilen (side popülasyon) pozitif popülasyonun fluoresans aktive edilmiş hücre ayırıcısı (FACS) ile seçilmesi,
- d) Sphere kültürü (mamosphere kültürü) gibi tekniklerdir.

Çizelge 1.' de insan kanser kök hücreleri için kullanılan hücre yüzey markerları özetlenmiştir (Al-Hajj et al., 2003, Boman and Huang, 2008; Das et al., 2008; Klonisch et al., 2008).

Çizelge 1. Kanser kök hücre markerleri

Tümör	Kök hücre markeri
Akut myeloid lösemi	CD34+/CD38-/CD45-low, CD32+/CD35+, CD44+
Akut lenfoblastik lösemi	CD90+/CD110+, CD9+, CD133/CD19-/CD38-
Meme Kanseri	CD44+/CD24-, ALDH+
Beyin Kanseri	CD133+
Prostat Kanseri	CD133+/CD44+
Kolon Kanseri	CD133+, CD44+, ALDH+
Karaciğer Kanseri	CD133+/ALDH+
Pankreatik Kanseri	CD133+
Baş ve boyun kanserleri	CD44+/CD17+

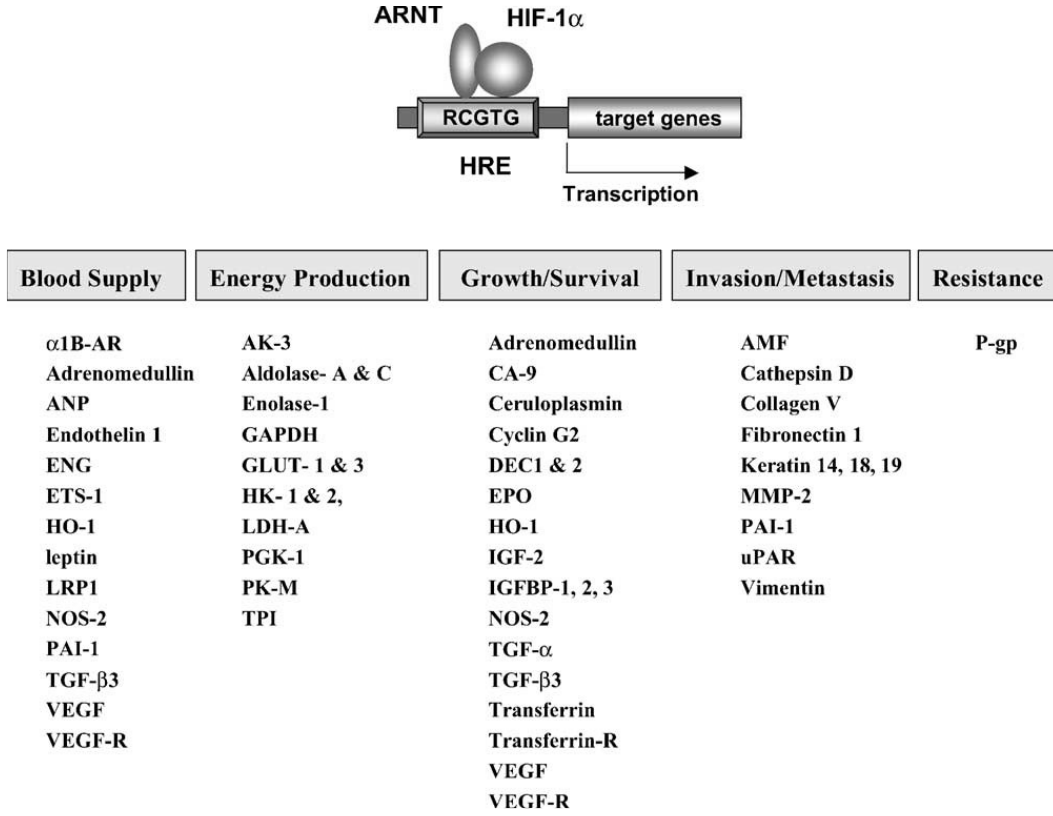
Kanser kök hücre regülasyonunu sağlayan mekanizmaların araştırılmasından elde edilen veriler, kanser kök hücrelerinin kendilerini yenilemelerinde ve varlıklarını devam ettirmede Wnt/ β -catenin, Notch ve Hedgehog gibi epitelyal mezenkimal dönüşüm (epithelial mesenchymal transition) sinyal yollarının önemli rol oynadıklarını göstermektedirler (Korkaya and Wicha, 2010). Özellikle metastatik kanser hücreleri epitelyal mezenkimal dönüşüme uğramışlardır ve kanser kök hücre fenotipi göstermektedirler. Wnt/ β -Catenin sinyal yolağının kanser kök hücreler için önemi myeloid lösemide gösterilmiştir ve bundan başka melanoma, meme, kolon, karaciğer ve akciğer gibi kanserlerde de kanser kök hücrelerinin devam ettirilmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Notch sinyal yolağı da oldukça korunmuş ve gelişim sürecinde etkin bir sinyal yolağı olup özellikle glioblastoma ve meme kanser kök hücreleri ve bazı diğer tümörlerde kanser kök hücrelerinin kalıcılığının sürdürülmesinde rol oynamaktadır. Hedgehog (Hh) sinyal yolağı ise glioblastoma, pankreatik adenokarsinoma, meme kanseri, multiple myeloma ve kronik myeloid lösemi gibi birçok tümör tipinde kanser kök hücre regülasyonunda görev almaktadır (Hu and Fu, 2012).

Yukarıda sözü edilen sinyal yollarının aktivasyonunun yanı sıra, kanser kök hücrelerin fonksiyonlarını görebilmeleri ve varlıklarını sürdürebilmeleri için hipoksik ortama ve hipoksiye bağlı olarak indüklenen faktörlere de ihtiyaç duymaktadırlar (Keith and Simon, 2007).

Tümör Hipoksisi ve HIF-1 Yolağı

Solid tümörlerin hemen hemen hepsinde görülen bir karakteristik olan tümör hipoksisi, kanser tedavisine cevabın yetersiz ya da zayıf olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Tümör hücrelerinin aşırı proliferasyonu hücreleri damarlardan uzaklaştırır ve böylece kan dolaşımının yeterince olmadığı bu alanda, besin ve oksijen yetersizliği görülmeye başlar. Böyle bir oksijen yetersizliği (hipoksi), hem normal hücrelerde hem de neoplastik hücrelerde, sonunda hipoksiye bağlı olarak indüklenen majör transkripsiyon faktörü HIF-1'in aktivasyonunu indükleyen bir moleküler cevaba neden olur. HIF-1 ise tümör hücrelerinin hayatta kalmalarını, tedaviye direnç kazanmalarını ve besin olmayan bu alandan kaçmak için kullanılacak olan oldukça geniş bir panelde genlerin regülasyonunu sağlar (Semenza, 2003, 2012). Halen kanser gelişiminin ve tedavide başarısızlığın temel katkıcılarından olarak tanınsa da hem hipoksi sinyalinde, hem kanser gelişiminde, hem de prognozda detaylı rolleri konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle mekanizmanın daha iyi anlaşılmasının alternatif ve daha etkili terapi yaklaşımlarının geliştirilmesine yol açacağı umut edilmektedir.

Kanser hücrelerinin hipoksi durumuna adaptasyonları transkripsiyonel regülasyonu etkilemekte, glikolizis ve glukoz alınımını arttırmakta, anjiyogenezi teşvik etmekte, apoptozisi regüle etmekte ve invazyon ve metastaza da yol açmaktadır. HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor-1alpha), hipoksi koşullarında aktive olan en önemli transkripsiyon faktörü olup, hücrenin bu koşullara adaptasyonunu sağlamakta etkili olan çeşitli genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu sağlar. HIF-1'in, oksijen yetersizliğine bağlı olarak aktive edilen bir alfa (α) ve bir de her zaman aktif halde bulunan beta (β , ARNT olarak da bilinir) alt ünitesi bulunmaktadır. Normoksi koşullarında HIF-1 α çok hızlı bir şekilde prolin hidroksilazlar tarafından hidroksillenerek VHL (Von hippel lindau) kompleksine bağlanır ve E-3 ubiquitin ligaz kompleksinin hedefi haline getirilip, proteozomal degradasyona uğrar. Hipoksi koşullarında ise HIF-1 α stabilize olup, nükleusa transloke olur ve burada transkripsiyonel koaktivatörlerden HIF-1 β ve p300/CBP ile etkileşime geçerek gerekli DNA'ya bağlanarak, özellikle anjiyogenik faktörler (örn. vasküler endotelial büyüme faktörü), büyüme faktörleri (insulin-like büyüme-faktörü-II, IGF-II) ve glikolitik enzimler, (AldolazA/C gibi), antiapoptotik proteinler (örn. Bcl-2) gibi çok sayıda genin transkripsiyonunu sağlar (Şekil 1.), (Kilic et al., 2007; Semenza, 2003, 2012). Böylece HIF-1 α solid tümörler anjiyogenezi teşvik ederek, büyüme faktörlerinin ifadesini artırarak, apoptozisi önleyerek ve anaerobik metabolizmayı artırarak hipoksiye karşı korumaktadır. HIF-1 α 'nın insan kanserlerinde aşırı ifade edildiği, kötü prognoz ve radyoterapi ve kemoterapiye karşı dirençle korelasyon gösterdiği de bilinmektedir (Semenza, 2012).



Şekil 1. HIF-1 α 'ya bağılı olarak transkripsiyonu indüklenen genler ve bunların görev aldığı hücresel süreçler (Alıntı, Yeo et al., 2004).

HIF-1 α hemen hemen her dokuda bulunurken, HIF-2 α 'nın ekspresyonu sadece vasküler organlar ve endotelial hücrelerle sınırlandırılmıştır (Keith and Simon, 2007).

Son zamanlarda artan deneysel çalışmalar, hipoksinin ve HIF'lerin kanser kök hücreleri regüle ettiği ve kök hücre fenotipini teşvik ettikleri konusunda kanıtlar sağlamıştır. Örneğin hipoksi koşullarında kültüre edilen kanser kök hücrelerinde HIF-1 α 'nın aktivasyonuna bağılı olarak, CD133 (kanser kök hücre markeri) pozitif hücre popülasyonunda artış görülmüştür (Iida et al., 2011; Schwab et al., 2012). Hipoksi koşullarında kanser kök hücre markeri olan CD44+ popülasyonunda da artış görülmüştür. Bundan başka hipoksi koşullarının ya da HIF'lerin sadece kök hücre için CD133+ fraksiyonu artmakla kalmamış, aynı zamanda gen ekspresyonlarını (Notch, Sox2, Oct4 gibi) stimüle ederek, 'proliferasyon', 'kendini yenileme' ve 'multipotensi' gibi kök hücre özelliklerinin kazanılmasını kanser kök hücre ve kanser hücre popülasyonlarını da teşvik ettiği görülmüştür (Conley et al.; Liang et al., 2012). Buna göre, hipoksik tümör bölgeleri, kanser kök hücreleri için tam bir üretim alanı gibi görülmektedir. Bunu destekler şekilde Li et al. tarafından, özellikle HIF-2 α 'nın hipoksiyle indüklediği ve glioma kök hücrelerinin tümörigenik özellik kazanmasında kritik olduğu gösterilmiştir (Li et al., 2009). 2011 yılında hematolojik malignansiler de kanser kök hücrelerin devamlılığının sağlanmasında, HIF-1 α -Notch sinyal yolağının mutlak olduğu ve bu hücrelerin elimine edilmesi için HIF-1 α 'nın mutlak hedeflenmesi gerektiği gösterilmiştir (Wang et al., 2011). 2012 yılı içerisinde yapılan bir çalışmada,

antiangiogenik ajanların meme kanserlerinde tümör hipoksisinin oluşmasına yol açarak, meme kanser kök hücre popülasyonunu arttırdığı ve görülen hipoksi güdümlü bu artışa, HIF-1 α 'nın aracılık ettiği gösterilmiştir (Conley et al., 2012). Ayrıca, HIF inhibitörlerinin meme kanser kök hücrelerinin kemoterapi ile indüklenen zenginleşmesini bloke ettikleri bilinmektedir ve bu tip inhibitörlerin kullanımının kemoterapi yanıtını arttırabileceğini ve meme kanseri hastalarının hayatta kalma oranını arttırabileceğini düşündürmektedir (Semenza 2015).

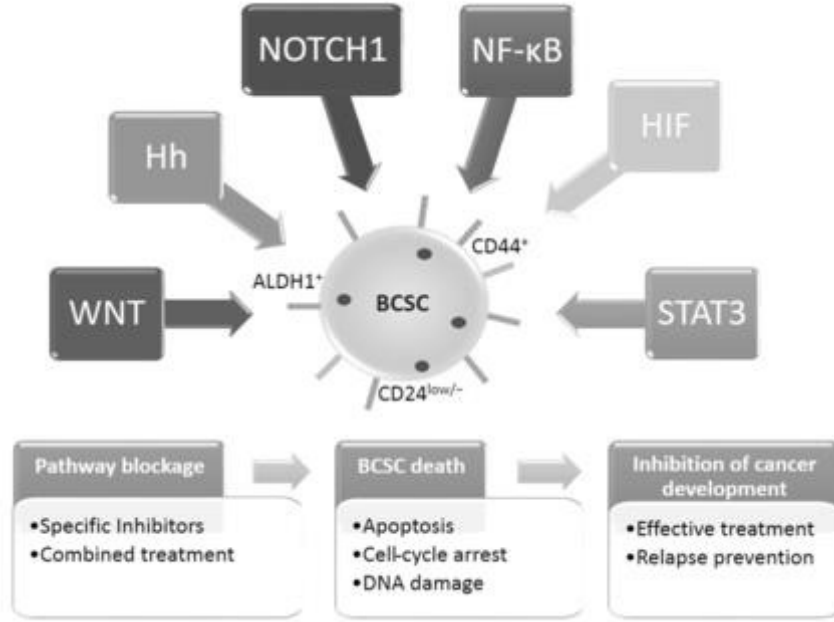
Görülen odur ki tümör hipoksisi, anjiyogenezin sürdürülmesi, kanser hücre metabolizmasının modülasyonu ve hücre yaşamının sürdürülmesindeki kritik rollerinin daha da ötesine geçmiştir.

Meme Kanserinde Kanser Kök Hücrelerinde Wnt/ β -Catenin ve Notch Sinyal Yolağı

Wnt/ β -katenin sinyal yolağı, gelişimsel süreçte hücre kaderinin belirlenmesinde ve paternleşmede önemli rol oynayan bir yolaktır. Salınmış Wnt palmitollenmiş bir Porcupindir ve ko-reseptörler olan Frizzled ve low-density lipoprotein reseptör-ilişkili protein 5 ve 6'ya (LRP5/6) bağlanır. Wnt-reseptör interaksyonu Axin ve Dishelved proteinlerinin hücre membranına toparlanmasına yol açar ve glikojen sintaz kinaz (GSK)-3 β 'in inhibisyonuna yol açar. GSK-3 β , β -katenin tarafından fosforilasyonla proteozomal degradasyona yönlendirilen Wnt yolağının negatif regülatörüdür. GSK-3 β inhibe edilince β -katenin sitoplazmada birikir ve nukleusa doğru hareket eder ve cAMP response elemente bağlanan proteine (CREB) bağlanan protein (CBP) ve T-hücre faktör/lenfoid enhancing faktör (TCF/LEF) transkripsiyon faktörleriyle birlikte, bir ko-transkripsiyonel aktivatör olarak davranır. β -katenin–CPB–TCF/LEF kompleksi beraberce, *c-myc*, *Cyclin D1* ve *Wnt* genleri gibi onkogenlerin up-regüle edilmesine yol açar. Meme kanserinde Wnt sinyal yolağı otokrin bir mekanizmayla konstitütif olarak aktive olmuştur. Meme kanser kök hücrelerinde, Wnt sinyal yolağının kök hücre özelliklerinin sağlanması ve sürdürülmesiyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Wnt1'in inhibisyonu CD44⁺CD24⁻ALDH1⁻, fenotipi değiştirmekte ve in vitro ve in vivo tümör oluşumunu ve migrasyonunu azaltmaktadır (Pires et. Al.2016).

Translokasyonla ilişkili Notch protein sinyali normal kök hücrelerde kendi-kendini yenileme (self-renewal) ve asimetric bölünmeyi kontrol ettiği ve kanserin erken fazlarında epitel hücrelerde yeniden aktive edilerek, tümörigeneze katkı sağlamakta olduğu görülmektedir. Notch sinyalleşmesi temelde hücre-hücre interaksyonu ile teşvik edilmekte: alıcı hücrenin yüzeyinde yer alan Notch reseptörlerin (NOTCH1, 2, 3) gönderici hücrelerin yüzeyinde bulunan Delta or Jagged proteinlerle kontağı sonucu indüklenmektedir. Delta/Jagged–Notch interaksyonu A-disintegrin ve metalloproteinase (ADAM) proteazlar ve enzimatik kompleks γ -secretase tarafından kesilerek serbest bırakılan Notch interaselüler domain (NICD)'in serbest bırakılmasını teşvik eder. NICD kesilince çekirdeğe difuze olur ve Notch hedefi genleri regüle etmek için ko-aktivatörler Mastermind (MAM) ve p300'le interaksyona geçer. NotchI ekspresyonunun meme epitel kök hücrelerinde asimetric hücre bölünmesini regüle ettiği ve meme kanser kök hücrenin kaynağı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca NotchI

ekspresyonunun $CD44^+CD24^{low/-}$ meme kanser hücrelerinde arttığı görülmüş ve radyoterapiye dirençle ilişkilendirilmiştir. **Meme kanser kök hücre oluşumunda etkili olan Wnt, Notch1 ve HIF sinyal yollarıyla beraber kanser kök hücre gelişiminde önemli rolleri olan NF- κ B, STAT3 ve hedgehog sinyal yollarının da bloke edilmesiyle kanser hücre ölümünün indüklenebileceği** ve böylece hem etkili bir tedavi yöntemi hem de relapsı önleyici bir strateji geliştirmenin mümkün olduğu düşünülmektedir (Şekil 2). (Pires et. Al.2016).



Şekil 2. Meme kanser kök hücre oluşumunda etkili olan Wnt, Notch1, NF- κ B, HIF1, STAT3, hedgehog sinyal yollarının hücre ölümü ve kemoterapiye dirençte rolleri (Alıntı, Pires et. Al.2016).

Meme Kanseri Kanser Kök Hücre'nin Hedeflenmesi

Kanser kök hücrenin kökünün kazınması, kanser tedavisinde oldukça artan bir hedef haline gelmişken, HIF sinyal yolları da terapötik girişimler için özellikle çekici hale gelmiştir. Kanser kök hücrelerinin var olmasında, HIF aktivitesi eğer vazgeçilmezse, HIF'i hedef alan ajanlar tek başına ya da kanser kök hücreyi hedef alan ajanlarla kombine olarak kullanıldığında, kanser kök hücresi daha etkili bir şekilde elimine edilebilir. Ayrıca yine kanser kök hücrelerinde HIF aktivitesinin azaltılması, kanser kök hücrelerinin farklılaşmasını teşvik edebilir ve böylece de kemo ya da radyo terapiden sonra tekrar tümör oluşturma kabiliyetlerini azaltabilir.

Kanser kök hücreleri kemo- ve radyoterapiye direnç göstermekte ve sıklıkla konvansiyonel terapilerin başarısız olmasına yol açmaktadır. Genellikle hücre çoğalmasını inhibe edici ilaçlar uzaklaştırıldıktan sonra, dormant yani uyuyan kanser kök hücreleri yeniden proliferatif faza girmekte ve bu da sıklıkla relapsla sonuçlanmaktadır. Kanser kök hücrelerinde özellikle apoptozisin başlatılması ve sürdürülmesinde görevli genlerin ifadelerinde meydana gelen değişiklikler, yaşamı sürdürmede aracılık eden sinyal yollarının aktivasyonu, özellikle DNA tamir mekanizmasını teşvik eden

transmembran proteinlerinin artışı, çoklu-ilac direnci sağlayan membran pompalarının ekspresyonu ve mikroçevre gibi çeşitli mekanizmalar kanser kök hücrelerinin tedaviye dirençli hale gelmesinde etkili gibi görünmektedirler (Hambardzumyan et al., 2008). Kanser kök hücre teorisi her ne kadar tedavideki başarısızlığı açıklasa da, halen kanser kök hücreyi direkt olarak hedefleyen herhangi bir klinik tedavi stratejisi bulunmamaktadır. Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda Parthenolide (lösemi, meme ve prostat kanserleri), Metformin (meme kanseri), Lapatinib (meme kanseri), MitoVes (meme kanseri, mezotelioma) gibi ilaçların kanser kök hücreyi öldürebildiği gösterilmiştir (Gupta et al., 2009; Hu and Fu, 2012; Kawasaki et al., 2008; Korkaya et al., 2011). Ancak, kanser kök hücreyi hedefleyen ajanların üretilmesi ve etkili olarak kullanılması için, kanser kök hücrenin normal kök hücreden ayırt edici özelliğinin olması gerekmektedir ve halen en büyük problemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum özellikle kanser kök hücrelerine özgü olan moleküler hedeflerin ortaya çıkarılmasını gerektirmektedir.

Meme kanseri dünya genelinde kadınlarda en yaygın diagnozu olan kanser formudur ve dünya kadın popülasyonunun %10'unu etkilemektedir. Batılı ülkelerde erken teşhis sayesinde meme kanseri sebebiyle ölüm oranı oldukça düşmesine rağmen, gelişmiş ülkelerde son 10 yılda meme kanseri görülme sıklığı %30 oranında artmıştır (Ercan et al., 2011). Solid tümörlerde kanser kök hücre için gelen ilk kanıt 2003 yılında ilk defa meme kanserinde Al-Haji ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (Al-Hajj et al., 2003). Bu çalışmada meme tümörlerinden CD44+ ve CD24- olarak izole edilen çok küçük bir kanser hücre alt popülasyonu NOD/SCID (immünyetmez özellikli) farelerde tekrar tümör oluştururken, *in vitro* mamosphere oluşturabilmişlerdir (Al-Hajj et al., 2003). Meme kanser kök hücreleri çok sayıda araştırmacı tarafından özellikle spesifik bir marker bulma amacıyla oldukça yoğun çalışılmıştır. Bunun sonucunda özellikle ALDH1 (aldehit dehidrogenaz) ekspresyonundaki artışa sahip olan ve CD44(+)CD24(-) hücrelerin yüksek tümörjenik aktiviteye sahip oldukları ve *in vitro* mamosphere oluşturabildikleri bulunmuştur (Liu and Wicha, 2010). 2009 yılında kanser kök hücrelerin hedeflenmesi ve öldürülmesi için potansiyel ajanların taramasının yapıldığı ve yaklaşık 16.000 farklı ajanın test edildiği bir çalışmada, özellikle meme kanser kök hücrelerinin eliminasyonunda, Salinomycin adlı potasyum iyonoforun oldukça etkili olduğu bulunmuştur (Gupta et al., 2009).

SONUÇ

Meme kanseri tüm dünya da gelişmekte olan ve gelişen ülkelerde en temel sağlık sorunları arasındadır. Kanser araştırmaları arasında kanser-kök hücre hipotezi gelişmiş ve oldukça yaygın hale gelmiştir. Kanser kök hücre popülasyonu tumor popülasyonu içinde oldukça küçük bir alt popülasyonu temsil etmektedir ve yapılan çalışmalarda tümör gelişiminden, reküranstan ve metastazdan sorumlu olduğu gösterilmektedir. Kanser kök hücrelerinde gen ekspresyonu kontrolü çok sayıda sinyal yolağı, ekstraselüler sinyaller ve epigenetik kontroller tarafından sağlanmaktadır. Bazı sinyal yolakları meme kanser kök hücre fenotipiyle özellikle ilişkilendirilmiştir ve bunlar arasında nükleer factor-kappa B

(NFK-B), wingless-type MMTV integration site family (Wnt)/ β -catenin, Hedgehog ve NOTCH sinyalleri sayılabilir. Ayrıca kanser kök hücreleri tümör mikroçevresi tarafından da etkilenmektedirler örneğin, tümör içi hipoksik alanlar kanser kök hücreyi etkileyenlerin en başında gelmektedir. Kanser kök hücre gelişiminde etkili olan bu sinyal yolları ve tümör içi hipoksik alanların önemi göz önüne alındığında, kanser kök hücre'nin hedeflenmesi için bunların regülasyonu ve etkisini ortaya çıkarmak, meme kanser kök hücrelerinin elimine edilmesi ve bu sayede meme kanser tedavisi için daha etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yol gösterici rol oynama potansiyeli bulunduğundan oldukça önemlidir. Ayrıca bu tür mekanizmaların aydınlatılması ve özellikle belirli sinyal moleküllerinin hedeflenmesine yönelik deneysel çalışmalar, ileriye yönelik hedeflenmiş terapilerin geliştirilmesine büyük katkı sağlayacaktır.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için finansal destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (ADÜ-BAP13024 nolu Proje) ve çalışmanın deneysel anlamda yapıldığı ADÜ-Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

- Al-Hajj, M., Wicha, M. S., Benito-Hernandez, A., Morrison, S. J., and Clarke, M. F., 2003, Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells, *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(7):3983-8.
- Alison, M. R., Murphy, G., and Leedham, S., 2008, Stem cells and cancer: a deadly mix, *Cell Tissue Res* 331(1):109-24.
- Boman, B. M., and Huang, E., 2008, Human colon cancer stem cells: a new paradigm in gastrointestinal oncology, *J Clin Oncol* 26(17):2828-38.
- Bonnet, D., and Dick, J. E., 1997, Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell, *Nat Med* 3(7):730-7.
- Conley, S. J., Gheordunescu, E., Kakarala, P., Newman, B., Korkaya, H., Heath, A. N., Clouthier, S. G., and Wicha, M. S., 2012, Antiangiogenic agents increase breast cancer stem cells via the generation of tumor hypoxia, *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(8):2784-9.
- Conley, S. J., Gheordunescu, E., Kakarala, P., Newman, B., Korkaya, H., Heath, A. N., Clouthier, S. G., and Wicha, M. S., 2012, Antiangiogenic agents increase breast cancer stem cells via the generation of tumor hypoxia, *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(8):2784-9.
- D'Angelo, R. C., and Wicha, M. S., 2011, Stem cells in normal development and cancer, *Prog Mol Biol Transl Sci* 95:113-58.
- Das, S., Srikanth, M., and Kessler, J. A., 2008, Cancer stem cells and glioma, *Nat Clin Pract Neurol* 4(8):427-35.
- Ercan, C., van Diest, P. J., and Vooijs, M., 2011, Mammary development and breast cancer: the role of stem cells, *Curr Mol Med* 11(4):270-85.
- Gil, J., Stembalska, A., Pesz, K. A., and Sasiadek, M. M., 2008, Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy, *J Appl Genet* 49(2):193-9.

- Gupta, P. B., Onder, T. T., Jiang, G., Tao, K., Kuperwasser, C., Weinberg, R. A., and Lander, E. S., 2009, Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening, *Cell* 138(4):645-59.
- Hambardzumyan, D., Becher, O. J., and Holland, E. C., 2008, Cancer stem cells and survival pathways, *Cell Cycle* 7(10):1371-8.
- Hu, Y., and Fu, L., 2012, Targeting cancer stem cells: a new therapy to cure cancer patients, *Am J Cancer Res* 2(3):340-56.
- Iida, H., Suzuki, M., Goitsuka, R., and Ueno, H., 2011, Hypoxia induces CD133 expression in human lung cancer cells by up-regulation of OCT3/4 and SOX2, *Int J Oncol* 40(1):71-9.
- Kawasaki, B. T., Hurt, E. M., Mistree, T., and Farrar, W. L., 2008, Targeting cancer stem cells with phytochemicals, *Mol Interv* 8(4):174-84.
- Keith, B., and Simon, M. C., 2007, Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer, *Cell* 129(3):465-72.
- Klonisch, T., Wiechec, E., Hombach-Klonisch, S., Ande, S. R., Wesselborg, S., Schulze-Osthoff, K., and Los, M., 2008, Cancer stem cell markers in common cancers - therapeutic implications, *Trends Mol Med* 14(10):450-60.
- Korkaya, H., Liu, S., and Wicha, M. S., 2011, Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment, *J Clin Invest* 121(10):3804-9.
- Korkaya, H., and Wicha, M. S., Cancer stem cells: nature versus nurture, *Nat Cell Biol* 12(5):419-21.
- Korkaya, H., and Wicha, M. S., 2010, Cancer stem cells: nature versus nurture, *Nat Cell Biol* 12(5):419-21.
- Li, Z., Bao, S., Wu, Q., Wang, H., Eyler, C., Sathornsumetee, S., Shi, Q., Cao, Y., Lathia, J., McLendon, R. E., Hjelmeland, A. B., and Rich, J. N., 2009, Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells, *Cancer Cell* 15(6):501-13.
- Liang, D., Ma, Y., Liu, J., Trope, C. G., Holm, R., Nesland, J. M., and Suo, Z., 2012, The hypoxic microenvironment upgrades stem-like properties of ovarian cancer cells, *BMC Cancer* 12:201.
- Liu, S., and Wicha, M. S., 2010, Targeting breast cancer stem cells, *J Clin Oncol* 28(25):4006-12.
- Schwab, L. P., Peacock, D. L., Majumdar, D., Ingels, J. F., Jensen, L. C., Smith, K. D., Cushing, R. C., and Seagroves, T. N., 2012, Hypoxia-inducible factor 1 α promotes primary tumor growth and tumor-initiating cell activity in breast cancer, *Breast Cancer Res* 14(1):R6.
- Pires BR, DE Amorim ÍS, Souza LD, Rodrigues JA, Mencialha AL., 2016 Targeting Cellular Signaling Pathways in Breast Cancer Stem Cells and its Implication for Cancer Treatment, *Anticancer Res.* ;36(11):5681-5691.
- Semenza, G. L., 2009, HIF-1 inhibitors for cancer therapy: from gene expression to drug discovery, *Curr Pharm Des* 15(33):3839-43.
- Semenza G. L., 2015, Regulation of the breast cancer stem cell phenotype by hypoxia-inducible factors, *Clinical Science* Sep 24, 129 (12) 1037-1045;
- Wang, Y., Liu, Y., Malek, S. N., and Zheng, P., 2011, Targeting HIF1 α eliminates cancer stem cells in hematological malignancies, *Cell Stem Cell* 8(4):399-411.