

## Meme kanserinde protein ekspresyon değişimleri ve önemi

### *Protein expression changes in breast cancer and their importance*

Tuğba Semerci Sevimli<sup>1</sup>, Murat Sevimli<sup>2</sup>, Nurten Özçelik<sup>1</sup>

#### ÖZET

Nükleik asitlerle ilgili çalışmalar, Watson ve Crick'in DNA'nın üç boyutlu yapısını yayınladıktan sonra artmıştır. Nükleik asitler kalıtsal moleküllerdir ve proteinlere ait şifreleri taşıyan moleküllerdir. Proteinler; canlı materyalin yapı ve işlevinde temel olan, moleküler dünyanın en önemli elemanlarından. Proteinlerin yer aldığı hücresel olayların aydınlatılması da birçok alanda önem taşımaktadır. Hastalıkların tanısı, tedavilerin belirlenmesi ve yeni ilaçların geliştirilebilmesi bu açıdan oldukça önemlidir. Proteom, protein ve genom terimlerinin birleşimi olup; son zamanlarda üzerinde durulan önemli çalışma alanlarından biridir. Bu alandaki çalışmalar özellikle insan genom projesinin tamamlanmasıyla hız kazanmış, bu projeden elde edilen bilgilerle farklı bir boyut kazanmıştır. Bir proteinin sentezlenmesinde sadece genetik bilgi yeterli değildir. Aynı zamanda protein sentezlendikten sonra, kendine uygun son halini kazanmak için değişim veya değişimlere uğrayarak son halini almasında ve hücrede görev yapacağı yere taşınmasında önem taşımaktadır. Meme kanserindeki malign hücrelerde defektler olduğundan, tedavisinde ilk hedef proteinlerdir. Bu nedenle bu çalışmalar, diyagnostik ve prognostik hastalık belirteçlerinin tanımlanmasına ve yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesini sağlayabilir.

**Anahtar kelimeler:** Genom, proteom, meme kanseri

#### GİRİŞ

Kadınlarda en sık rastlanan kanser, meme kanseridir. Tanı ve tedavide yeni gelişmelerin artmasına rağmen, günümüzde hala önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir.<sup>1</sup>

WHO(World Health Organization)'nun raporuna göre her yıl dünyada 1.000.000 kadında meme kanseri gelişmekte ve bu hastalıktan 370.000 kadın

#### ABSTRACT

Studies about nucleic acids have increased after the publication of DNA's three dimensional structure by Watson and Crick. Nucleic acids are the heritable molecules which contain codes for proteins. Proteins are the most important elements in molecular world because they are the basic structural and functional components of a living organism. Clarifying the cellular events that involve proteins are important in many areas for example diagnosis and treatment determination of diseases or development of new drugs. Proteome that comes from a combination of the terms protein and genome, is one of the important field in these days. The studies in this area have accelerated and gained a different place especially with after the completion of human genome project. In synthesis of a protein just only genetic information is not enough. At the same time the change or changes of a protein after the synthesis, the final version and transporting to final localization of it also important. Because having defects in mailing cells of breast cancer, the first targets of treatment must be proteins. In this way the studies on proteins are important to determine prognostic and diagnostic disease markers and also significant for identifying new treatment strategies.

**Key words:** Genom, proteom, breast cancer

ölmektedir. Dünyada meme kanseri görülme sıklığı yıllık ortalama %0,5 oranında artmaktadır.<sup>2</sup>

#### Genom-proteom

Proteom, Yunanca "proteios" kelimesinden türetilmiş ve "en önemli" anlamındadır. Proteom terimini ilk kez Avustralyalı araştırmacı Marc Wilkins 1994'te kullanmıştır.<sup>3</sup> Proteomik yaklaşım hücreden

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Isparta, Türkiye

<sup>2</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Isparta, Türkiye

**Yazışma Adresi /Correspondence:** Tuğba Semerci Sevimli,

SDÜ Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası Doğu Kampüsü, Isparta, Türkiye Email: nozcelik@med.sdu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 04.10.2012, Kabul Tarihi / Accepted: 05.12.2012

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2013, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

proteinlerin nasıl salgılandığı, hücrede hangi fonksiyonu yerine getirdiği, hücre zedelenmesinden sonra nasıl değiştiği ve hastalıkların spesifik belirteçleri olarak oynayabilecekleri rolü araştırmaktadır. Proteom kavramı, genom kavramından farklıdır: Genom, bir organizma için çok iyi tanımlanırken; proteom iç ve dış uyaranlara yanıt olarak sürekli değişim halindedir.<sup>4</sup> DNA'daki değişimler; proteinler hücrenin fonksiyonel yapı taşları olduğundan, sadece proteinlere çevrilirse etkili olabilmektedir. Bu nedenle, protein düzeyindeki değişiklikler, protein modifikasyonu, protein yerleşimi ve protein aktivitesi hakkındaki bilgiler hastalıkların durumu hakkındaki anlayışın temelini oluşturmaktadır.<sup>5</sup> Meme kanseri proteomik grupları meme kanseri için protein belirteçlerin belirlenmesi amacıyla proteomik teknolojileri ile protein değişimlerine odaklanılmışlardır.<sup>6</sup>

Bu bilgiler ışığında hazırladığımız bu derlemede, meme kanserinde çeşitli proteinlerin ekspresyon değişimleri ve bunların klinik açıdan önemi ele alınmıştır. Bu amaçla geniş bir literatür taraması sonucu öne çıkan on proteine burada değinilmiştir.

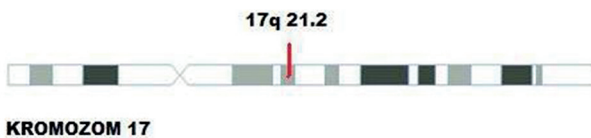
### 1. Meme kanserinde cavin ailesi proteinleri

Caveolarlar, birçok memeli hücre tipinde hücre yüzeyinde çok sayıda bulunan; sinyal iletimi, lipid düzenlenmesi, endositoz, tümörögenез gibi çeşitli fizyolojik süreçlerle ilişkili membran yüzeyleridir. Caveolanın major komponentleri caveolin ailesi proteinleri ve cavin ailesi proteinleridir.

Caveolin ailesi proteinleri: caveolin 1, caveolin 2, caveolin 3'tür.

Cavin ailesi proteinleri ise; cavin1, cavin 2, cavin 3, cavin 4'tür.

Cavin proteinlerinin kromozomal lokalizasyonları sırasıyla; 17q21.2, 2q32.3, 11p15.4, 9q31.1'dir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Cavin 1 geninin 17q21.2 kromozomal lokalizasyonu

Caveola bileşenlerinin genlerindeki değişimler veya bozulmalar meme kanseriyle ilişkilendi-

rilmıştır. Örneğin; meme kanserini de içeren çeşitli karsinomların çoğunda kaybı gözlenen bir tümör süpresör lokus D7S522/7q31.1 caveolin 1 geninde gösterilmiştir.<sup>7</sup> İnsan cavin 1 mutasyonları önceki çalışmalarda daha çok lipodistrofi ile ilişkili bulunmuştur.<sup>8</sup> Bazı çalışmalar caveolanın bir tümör süpresör olarak fonksiyon görebileceği ve cavin ailesi proteinlerinin ekspresyonunun meme kanseri progresyonunun bir belirteci olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır. Devam eden çalışmalarda da meme kanseri hücrelerindeki cavin-1 down regülasyonun promoter metilasyonu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.<sup>9</sup> Caveolin1'in rapor edilen tümör baskılayıcı fonksiyonları Caveolanın ve ilişkili sinyal iletim mekanizmalarının bozulması nedeniyledir.<sup>10</sup> Sonuç olarak caveola potansiyel bir tedavi hedefidir ve Cavin ailesi proteinlerinin ekspresyonu meme kanseri progresyonunun kullanışlı bir prognostik işareti olabilir.

### 2. Meme kanserinde Kin 17 proteini

Kin 17 insan dokularında-neredeyse tüm dokularda düşük seviyelerde eksprese edilir ve çok önemli fizyolojik fonksiyonlarla ilişkilidir. DNA replikasyon kompleksinin bir komponentidir ve replikasyon, mRNA işlenmesi, transkripsiyon ve hücre döngüsü ile ilişkilidir. Aynı zamanda genotoksik strese genel cevapta yer alır.<sup>11</sup> Bu proteinin kromozomal lokalizasyonu 10p14'tür (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Kin 17 geninin 10p14 kromozomal lokalizasyonu

Çalışmalarda benign ve malign meme tümörlerinde Kin 17 ekspresyonu araştırılmıştır. Kin 17 ekspresyonunun neoplastik hücrelerde ve ilerlemiş tümörlerde kuvvetli ekspresyonu Kin 17'nin meme tümörögenезinde potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Kin 17'nin susturulması DNA replikasyon ve tamirini inhibe etmiş, tümör hücresi büyümesini ve koloni oluşumunu azaltmıştır.<sup>12</sup> Meme epitel hücreleri ve meme kanser hücrelerinin çoğalma ve yapısal fenotipi üzerine Kin 17'nin etkilerini analiz etmek için Kin 17 susturulmuştur. Kin17 susturulması belirgin olarak hücrelerde çoğalmayı

inhibe etmiş ancak normal hücrelerin çoğalması üzerine küçük bir etki gözlenmiştir. Bu durum Kin 17 susturulmuş hücrelerin S fazında durdurulduğu ve hücre bölünmesi için G2 fazına giremediğini düşündürmektedir.

Bir çalışmada artan Kin 17 düzeyinin meme kanser hücrelerinde DNA tamiri için gerekli olabileceği düşünülmüş ve bu amaçla Kin 17 susturulmuş, sonuçta; Kin 17 susturulması hem normal hem de kanserli hücrelerinde DNA hasarına neden olmuştur. Ancak Kin 17 down regülasyonu sonrasında kanserli hücrelerde, normal hücrelere kıyasla daha fazla DNA hasarı tespit edilmiştir.<sup>13</sup>

### 3. Meme kanser hücrelerinde ve meme kanser dokularında GLUT 5 ekspresyonu

Meme kanser hücreleri yüksek düzeyde glukoz alımı ve metabolizmasına sahiptir. Bu durum birçok kanser hücresinin ortak karakteristiğidir. Artmış glukoz alımı ve aerobik metabolizma tümör metabolizmasının ve FDG aracılı yapılan pozitron emisyon tomografisi (PET) görüntülemesi ile yapılan tedaviye yanıtın temel değerlerini oluşturmaktadır.<sup>14</sup> Glukoz, galaktoz ve fruktoz birçok hücre için temel yakıt molekülü görevi görür ve bu moleküller hücrelere girip çıkabilmek için taşıyıcılara ihtiyaç duymaktadır. Üç farklı hekzos taşıyıcı grubu onların hücrel enerjiye bağımlılığına dayanarak tanımlanmış ve sınıflandırılmıştır. İlk taşıyıcı sınıfı GLUT 1-4 tür ve temel olarak farklı doku dağılımları ile asıl olarak glukoz taşıyıcılarıdır. GLUT-1 taşıyıcısının varlığı tümör ve inflamatuvar dokuların FDG ile gösterilmesi açısından önemlidir. Çünkü FDG esas olarak GLUT1 tarafından taşınmaktadır. İkinci sınıf taşıyıcılar ise; GLUT5, GLUT7, GLUT9 ve GLUT11 gibi örneklerden oluşan önceden fruktoz taşıyıcıları olarak bilinen taşıyıcılarıdır.<sup>15</sup>

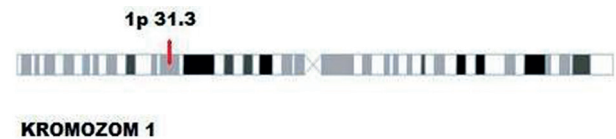
Fruktoz alımının temel olarak GLUT5 aracılığı ile olduğu düşünülmektedir. Bu proteinin kromozomal lokalizasyonu 1p36.2'dir. Kanser hücrelerinde çoğunlukla GLUT ailesi üyelerinin aşırı ekspresyonu gözlenir bu muhtemelen ileride gerçekleşecek kontrolsüz çoğalma ve metastaz için gerekli enerjiyi sağlamak içindir.<sup>16</sup> Bunun için meme kanser hücre hatları ve normal ve insan meme kanser dokusunda glukoz taşıyıcılarının ekspresyon ve fonksiyonu araştırılmıştır.<sup>17</sup>

Çalışmaların sonucuna göre GLUT 1'e ek olarak insan meme dokusu fruktoza yüksek afiniteli

GLUT5'i seçici olarak eksprese etmektedir. Aynı grubun farklı bir çalışmasına göre bu durum daha sonra geniş bir immünohistokimyasal çalışma ile doğrulanmıştır. GLUT5'in knockdownunun meme hücrelerinde çoğalmayı inhibe ettiği gözlenmiştir. Ayrıca meme kanseri, melanoma, kolon kanseri, ve lösemileri içeren farklı kanser hücre hatlarında aktif GLUT5 taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu gösterilmiştir.<sup>18</sup> GLUT 1 normal memede bulunurken ve meme kanserinde over ekspresyonu gözlenirken; GLUT5 normal dokularda bulunmamakta, insan meme kanser dokularında yüksek seviyelerde eksprese edilmektedir. GLUT5'e karşı 3 farklı siRNA ve negatif kontrol siRNA'sı kullanılmış ve test edilmiştir. Bazı hücre hatlarının yüksek GLUT5 mRNA düzeyine, bazı hücre hatlarının düşük GLUT5 mRNA düzeylerine sahip olduğu gözlenmiştir. Fruktoz taşıyıcısı GLUT5'in meme kanser hücreleri ve hasta dokularında ekspresyonu doğrulanmaya çalışılmıştır. Deneyler sonucunda meme kanser dokusu ile normal meme dokusu arasında belirgin GLUT5 aşırı ekspresyonu gözlenmemiştir. Diğer fruktoz taşıyıcıları olan GLUT2, GLUT7 ve GLUT11'in meme kanser dokularında veya hücre hatlarında ekspresyonu çalışılmamıştır. Bu nedenle fruktoz görüntüleme araştırmacıları tarafından daha önce yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi (üzerinde durulan bir substrat olabilir) ve muhtemelen meme kanser hücrelerinde artmış olan fruktoz alımı bu taşıyıcılardan biri tarafından yapılmaktadır.<sup>19</sup> İlerleyen çalışmalar in vivo meme kanser hayvan modellerinde gerçekten de fruktozun glukozdan daha iyi alınıp alınmadığı C14 işaretli fruktoz biyodağılım çalışmalarıyla araştırılmalıdır.

### 4. İnsan meme kanserlerinde ROR 1 ekspresyonu

Reseptör-tirozin-kinaz-benzeri orphan reseptör 1 (ROR1) ve 2 (ROR2) tirozin kinaz benzeri nörotropik reseptörlerin araştırılması sırasında bulunmuşlardır. Bu proteinlerin kromozomal lokalizasyonları sırasıyla 1p31.3, 9q22.31'dir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 ROR1 geninin 1p31.3 kromozomal lokalizasyonu

Bu proteinler temel olarak embriyogenez boyunca eksprese edilirler ve çoğunlukla yüz, dudaklar, kalp ve akciğerlerin gelişiminde etkilidir.<sup>20</sup> Diğer taraftan ROR1 kusurlu farelerin, embriyogenez süresince herhangi bir morfolojik anormallik sergilemezken doğumdan sonraki 24 saat içinde solunum kaslarının yetersiz gelişimine bağlı solunum yetmezliği nedeniyle öldükleri gözlenmiştir.<sup>21</sup> Önceki çalışmalarda ROR1'in lösemi hücreleri ve bazı kanser hücre hatları tarafından eksprese edildiği ve hayatta kalımla bağlantısı gösterilmiştir. Sonuçlar insan meme kanserlerinin ROR1 ekspresyonu aracılığı ile tümör hücre büyümesi ve sağ kalıma katkıda bulunduğunu göstermiştir.<sup>22</sup> İnsan meme kanseri neoplastik hücreleri ROR1 eksprese etmektedirler. Birçok meme kanser hücre hattının da yüzeylerinde ROR1 eksprese ettikleri görülmekte iken diğer taraftan bazı meme kanser hücre hatlarının da tespit edilebilir bir ROR1 ekspresyonundan yoksun olduğu gözlenmiştir. Primer meme kanserlerinin kötü differansiye olanlarının aynı zamanda östrojen reseptör ekspresyonundan yoksun olduğu veya üçlü negatif olduğu, genellikle bu kötü prognostik faktörleri taşımayan primer meme kanser dokularından daha yüksek seviyede ROR1 eksprese ettiği gösterilmiştir. Bu bilgiler meme kanserinde ROR1 ekspresyonunun genellikle kötü klinik gidişatı olan kötü differansiye meme kanseriyle ilişkili özellikler olduğunu ortaya koymaktadır. ROR1 tümör hücresi yaşamını ve büyümesini desteklemektedir. ROR1 ekspresyonu CREB aktivasyonunu artırmaktadır. ROR1 için susturulan hücrelerde gen ekspresyon profili araştırılmıştır. ROR1 susturulan hücrelerin kontrol hücrelerine göre CREB tarafından indüklenen proteinleri kodlayan genleri daha az oranda eksprese ettikleri gözlenmiştir. ROR1 için susturulan hücrelerde bütün CREB ilişkili genlerin transkripsiyonel ekspresyon düzeylerinin azaldığı gözlenmiş böylece hücre proliferasyonu veya apoptozis ile ilgili CREB ilişkili kodlayıcı proteinlerde azalmıştır.<sup>23</sup> Bazı çalışmalarda CREB fosforilasyonunun AKT aktivasyonunu artırdığı gözlenmiştir. Bir çalışmada AKT'nin ROR1 eksprese eden kanser hücrelerinde aktive edildiğini fakat sessizleştirilen ROR1 de olmadığı gözlenmiştir.<sup>24</sup> Toplu olarak bu çalışmalar ROR1'in ekspresyonunun kanser hücre büyümesine yardım ettiğine işaret etmektedir.<sup>23</sup> ROR1'in

neoplastik hücrelerle ekspresyonu ve tümör hücre büyümesini destekleyen rolü yüzünden anti kanser tedavilerin gelişiminde potansiyel hedef olarak görülebilir.

### 5. Meme kanserinde özel bir sentromer protein olan CENP-A

Protein A (CENP-A) 17 kDa ağırlığında Histon H3 değişkenidir ve tüm aktif sentromerlerde bulunmaktadır.<sup>25</sup> Bu proteinin kromozomal lokalizasyonu 2p23.3'tür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 CENP-A geninin 2p23.3 kromozomal lokalizasyonu

CENP-A'nın aşırı ekspresyonu anormal lokalizasyonlu multisentrik kromozomların oluşumuna ve fonksiyonel kinetokorlara neden olmaktadır. Aksine CENP-A azalması apoptozisi desteklemektedir ve hücre döngüsü duraklamasını artırmaktadır.<sup>26</sup> Bir çalışma CENP-A'nın normal hücrelere kıyasla tümör hücrelerinde arttığını göstermiştir. Artmış CENP-A ekspresyonu artmış tümör derecesi ve invazyon yeteneği ile ilişkilidir. Bu gözlemler artmış CENP-A düzeylerinin kötü hasta sonuçları ile ilişkili olabileceğini önermektedir. Son çalışmalar ayrıca CENP-A'nın DNA'nın hasarlı bölgelerinde toplandığını ve çift iplik DNA kırık tamirinde yer alabileceğini düşündürmektedir.<sup>27</sup>

CENP-A düzeyleri östrojen reseptör (ER) negatiflerde ER-pozitiflere göre yüksek bulunmuştur. Çalışmada CENP-B düzeyleri ER-pozitif ve ER-negatif tümörler arasında karşılaştırılmış, ER-pozitif ve ER-negatif tümörler arasında CENP-B düzeyinde farklılık gözlenmemiştir.<sup>28</sup>

### 6. İnsan meme kanserlerinde kromatin helikaz dna bağlayıcı protein 5 (CHD5)

Protein fare modellerinde son çalışmalarda bir tümör süpresör olarak tanımlanmıştır. Meme kanserinde 1p36 daki CHD5 lokusu delesyona uğramış ve mutasyonlar tespit edilmiştir.<sup>29</sup> Bu proteinin kromozomal lokalizasyonu 1p36.13'tür (Şekil 5.1).





**Şekil 5.1** CHD5 geninin 1p36.13 kromozomal lokalizasyonu

CHD5'in insan kanserlerinde tümör süpresör bir rolü olduğunun belirtileri temel olarak nöroblastomalar ile yapılan çalışmalardan gelmektedir ki, bu tümörde promoter metilasyonu sonucu CHD5 mRNA'sında downregülasyon gözlenmektedir ve yüksek seviyede CHD5 ekspresyonu bu hastalarda sağ kalımla bağlantılıdır. Ayrıca nöroblastoma hücre hatlarında CHD5'in ektopik ekspresyonu kolonileşme yeteneğini ve tümör büyümesini baskılamaktadır.<sup>30</sup> (CHD5'in meme kanserinde tümör süpresör bir gen olduğu hipotezi kurulmuştur ve test edilmiştir)

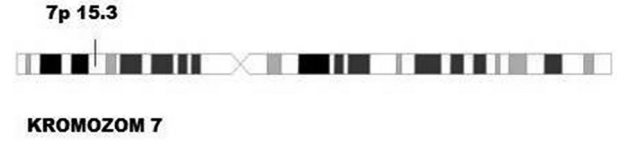
Proteinin in vitro ve in vivo koşullarda hücre çoğalması üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmalarda CHD5 mutasyonlarının görece seyrek olmasına karşın, sıklıkla downregülasyona, delesyona ve promoter metilasyonuna nedeni gözlenmiştir. Çalışmaların sonuçları CHD5'in meme kanserinde tümör süpresör rolü olduğunu kuvvetle desteklemektedir.<sup>31</sup> Fonksiyonel olarak meme kanser hücrelerinde CHD5'in ektopik ekspresyonu hücre çoğalmasını ve invazyonunu inhibe etmiştir. İnvazyonun inhibisyonu ile tutarlı olarak CHD5 meme kanser hücrelerinde mezenkimal marker vimentini, N caderini ve ZEB1'i de down regüle etmiştir.<sup>32</sup>

## 7. Meme kanser hücrelerinde transglutaminaz 2 ve IL-6 ilişkisi

İmmün/inflamatuar cevap tümör hücrelerine karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır. Günümüzde birçok kanserin patogeneğinde inflamasyonun yer aldığı kabul edilmektedir. İnfeksiyon, obezite veya tümörün neden olduğu ya da tetiklediği inflamasyon, inflamatuvar hücrelerin tümör stromasına katılımına neden olmaktadır. Bu katılan hücrelerle birlikte tümör hücreleri tümör gelişimini artırıcı mikro çevre oluşturmaktadır.<sup>33</sup>

Meme kanseri, akciğer kanseri, karaciğer kanseri, kolon kanseri gibi kanserlerde artmış IL-6 seviyeleri kötü hastalık gidişatı ve azalmış klinik prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Epitelyal kanser

hücrelerinde uzak metastaz ve kanser kök hücre özellikleri ile IL-6 artışı arasındaki moleküler bağlantılar araştırılmaktadır.<sup>34</sup> Proteinin kromozomal lokalizasyonu 7p15.3'tür (Şekil 6.1).



**Şekil 6.1** IL-6 geninin 7p15.3 kromozomal lokalizasyonu

IL-6'nın inflamatuvar olmayan uyarısı TG2 yoluyla ile pulmoner hücrelerde fibrozise yol açmaktadır. İnvazyon ve fibrozisin ortak özellikleri nedeniyle epitelyal kanser hücrelerinde eksprese edilen TG2'nin invazyondan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca TG2 b-integrin ve fibronektin aracılığı ile hücre bağlantılarını ve metalloproteinaz 2'leri artırarak migrasyon ve tümör hücre invazyonuna neden olmaktadır. Proteinin kromozomal lokalizasyonu 20q11.23'tür. Meme kanserinde tümör agresifliği ve tümör büyüklüğünün TG2 ekspresyonu ve TG2 aracılı IL-6 sekresyonu ile ilişkisi ve TG2 ile IL-6'nın meme kanserinde uzak metastazdaki kritik rolünün araştırılması amacıyla immün sistemi baskılanmış farelerde; TG2/IL-6 susturulması yapılmıştır. Sonuçlarda; TG2 ekspresyon seviyeleri IL-6 üretimi ile koroledir. TG2 knockdownu meme kanser hücrelerinde IL-6 üretimini azaltmaktadır. Metastatik tümörlerde TG2 ekspresyonu yüksek seviyelerde olduğundan uzak metastaz için önemli bir mediatör veya prognostik işaretir.<sup>35</sup> Kanser epitel hücrelerindeki TG2'nin araştırılması, tümör metastazlarının kontrolü için önemli bir araç olarak kullanılabilir.

## 8. EpCAM bağımlı meme kanserinde aktivatör protein-1 (AP1)

EpCAM; Tip 1 transmembran proteindir. Epitel hücrelerinin bazolateral kenarında yer alır. Epitelyal bir adhezyon molekülüdür. Çalışmalar; hücre iletişimi, çoğalması ve proliferasyonda rolü olduğunu göstermiştir. EpCAM'ın kolorektal, meme, mide, prostat, over, akciğer kanseri gibi insan epitelyal kanserlerinde aşırı ekspresyonu bilinmektedir. Monoklonal antikor aracılığı ile tespit edilen insan tümör ilişkili ilk proteindir. Monoklonal antikorlarla yapılan tedavide de hedef olarak kullanılan ilk protein olmuştur.<sup>36</sup> Bu proteinin kromozomal lokalizasyonu

yonu 2p16.3'tür. Literatürde EpCAM ekspresyonu bazı primer kanser tiplerinde iyi prognoz bazılarında ise kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.<sup>37</sup> Örneğin, meme primer kanserinde EpCAM ekspresyonu azalmış hasta sağkalımı ile ilişkililiken kolorektal kanserlerde ise tam tersi durum tespit edilmiştir.<sup>38</sup>

İn vitro ve in vivo ortamda EpCAM ekspresyonunun artmış meme kanser invazyonu ile ilişkili olduğu bilgisinin desteklenmesi, EpCAM ekspresyonunun JNK/AP-1 sinyal transdüksiyon yolları ve hedef genler ile düzenlendiğinin gösterilmesi, EpCAM sinyallerini baskılayan mediatörlerin ve EpCAM ekspresyonunun meme kanser prognozuna etkilerini göstermek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Sonuçta; in vitro ve in vivo ortamlarda EpCAM ekspresyonu meme kanser invazyonu ile ilişkili bulunmuştur.<sup>39,40</sup> Meme kanser hücrelerinde EpCAM ekspresyonu artmış AP-1 transkripsiyon faktör aktivitesi ile ilişkilidir. EpCAM ekspresyonu AP-1 protein alt birimi olan c-Jun'un artmış fosforilasyonu ile ilişkilidir. JNK transdüksiyon yolağı EpCAM bağımlı AP-1 transkripsiyon aktivitesine katkı sağlamaktadır.<sup>41-43</sup>

EPCAM ekspresyonu artmış invazyon ve kötü prognozla bağlantılı olduğu için, EpCAM tarafından düzenlenen sinyal yolları üzerinden geliştirilen moleküler tedaviler belki meme kanseri tedavisinde ayrı bir başarı elde edebilirler.

### 9. Üçlü negatif meme kanserlerinde ID 4 proteini

Üçlü negatif meme kanserleri (TNBCs), östrojen (ER), progesteron (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü 2 (HER2) reseptörlerinin ekspresyonunun olmadığı tümörler olarak tanımlanır, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %10-15' ini oluşturmaktadır.<sup>44</sup> ID 4, DNA bağlanma inhibitörleri (ID) protein ailesinin bir üyesidir.

ID proteinleri; memeli embriyogenezinde, anjiyogenezde ve kanser kök hücresi devamlılığında önemli roller üstlenmektedir. Bu proteinin kromozomal lokalizasyonu 6p22.3'tür. BRCA1 germline mutasyon taşıyıcılarında gözlenen kanserler ve sporadik üçlü negatif meme kanserleri arasındaki benzerlikler BRCA1 inaktivasyonunun bazı sporadik tümörlerde rol oynadığını göstermiştir. ID 4 temel heliks kıvrımlı heliks grubu transkripsiyon faktörlerinin negatif düzenleyicisidir ve in vitro koşullarda BRCA1 promotörünü down regüle etmektedir. Son çalışmalar ID4 ile miR335 ve miR9'u içeren miR-

NA'lar ve p53 ile olan etkileşimini göstermiştir.<sup>45</sup> miRNA-335'in overekspresyonu, BRCA1 mRNA seviyelerinde belirgin bir artış ve ID4 mRNA'sında belirgin bir azalma göstermiştir.<sup>46</sup> Sonuç olarak üçlü negatif meme kanserlerinde intranükleer ID4 proteininin üçlü negatif olmayan meme kanserlerindeki göre daha yüksek oranda eksprese edildiği ortaya konmuştur.<sup>47</sup> ID4'ün aşırı ekspresyonu sporadik üçlü negatif meme kanserlerinde BRCA1 germline mutasyonu olmaksızın yeni bakış açıları sağlamaktadır.

### 10. Meme kanserinde trefoil factor 3 (TFF3) ekspresyonu

Trefoil faktör 3, önceden intestinal trefoil faktör adıyla TFF1 ve TFF2 gibi diğer iki üyeyi de içeren trefoil faktör ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmıştır. Her üç trefoil faktör proteinleri mukozal membranları döşeyen epitelium hücrelerinde genellikle goblet hücrelerinde eksprese edilmektedir. Bu proteinin kromozomal lokalizasyonu 21q22.3'tür.

TFF1 baskın olarak mide ve kolonda, TFF2 ekspresyonu temel olarak midede lokalize iken, TFF3 ekspresyonu asıl olarak incebağırsaklarda gerçekleşmektedir.<sup>48</sup> TFF3'ün koruyucu ve tamir edici etkilerine ek olarak deneysel ve klinik çalışmalardan neoplastik hastalıklarda TFF3'ün önemli bir rolü olduğu gözlenmiştir. Bir grup insan kanserlerinde TFF3 over eksprese olmaktadır. Bunlardan başlıcaları meme, mide, prostat, hepatoselüler ve endometrial karsinomlardır. Kanser hücrelerinde yaşamı, invazyonu ve anjiyogenik aktiviteyi destekleyici özellikleri bulunmaktadır.<sup>49</sup> TFF3 mRNA'sı normal meme bezinin kanal lümenal hücrelerinde lokal olarak eksprese edilir ve hem in situ hem de invaziv meme karsinomlarında artmış ekspresyonu gözlenmektedir. İnsan meme kanserlerinde, TFF3 ve TFF1 birlikte eksprese olmaktadır ve pozitif feedback bir döngü içerisinde birlikte düzenlenmektedir. TFF1 son çalışmalarda insan meme kanser hücrelerinde onkojenik olarak gösterilmiştir.<sup>50</sup> siRNA ile TFF3'ün susturulmasının meme kanser hücrelerinde onkojeniteyi azalttığı gözlenmiştir. Meme kanserli hastalarda ER durumuyla TFF3 ekspresyonu arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, TFF3 mRNA ekspresyonu ile ER-pozitif meme kanseri arasındaki kuvvetli bağlantıyı ortaya koymuştur. TFF3 meme kanser hücreleri için güçlü bir yaşamsal faktördür. TFF3 ekspresyonuna zorla-

nan MCF-7 hücrelerinde apoptozis belirgin olarak azalmaktadır.<sup>51</sup>

## SONUÇ

İnsan proteomu insan genomundan daha büyüktür. 20.000-25.000 protein kodlayan genlerden 1.000.000'dan fazla farklı proteinin üretildiği tahmin edilmektedir. Genlerin tek bir protein formu bile, karsinogenez ile ilişkili olsun ya da olmasın, işlemsel çevrimler sırasında yüz binlerce parçacığa dönüşebilmektedir. Proteinler hücrenin fonksiyonel yapı taşları olduğundan DNA'daki değişiklikler proteinlere çevrilirse etkili olabilmektedir. Bu nedenle; protein düzeyindeki değişiklikler, protein modifikasyonu, protein yerleşimi ve protein aktivitesi hakkındaki bilgiler hastalıkların durumu hakkındaki anlayışın temelini oluşturmaktadır. Kalıtsal materyal ile proteinler arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için konuya hem genomik hem de proteomik açıdan yaklaşılmalıdır. Gen ve protein profili ile yeni moleküler hedefler saptanarak, hasta takibinde tedavi yanıtızlığına veya prognozun belirlenmesine katkı sağlanabilir. Yapılan çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmekle birlikte, kanser hücrelerinin profilinin çıkarılmasında önümüzde hâlâ aşılması gereken uzun bir yol vardır.

## KAYNAKLAR

1. Işıkdöğen A, Zincirođlu SB, Dirier A, Ayyıldız O. Metastatik meme kanserinde birinci basamak tedavide antrasiklin içeren kombinasyon kemoterapi sonuçlarımız. *Dicle Tıp Dergisi* 2003;30:1-4.
2. Goldberg JI, Borgen JI. Breast cancer susceptibility testing: past, present and future. *Expert Rev Anticancer Ther* 2006;6:1205-14.
3. Wilkins MR, Williams KL, Appel RD, Hochstrasser DF. *Proteome Research: new frontiers in functional genomics*, 1st edn. Germany,1997:1
4. Anderson NL, Anderson NG. Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new word. *Electrophoresis* 1998;19:1853-61.
5. Jungblut PR, Zimny-Arndt U, Zeindl-Eberhart E, et al. Proteomics in human disease: cancer, heart and infectious diseases. *Electrophoresis* 1999; 20:2100-10.
6. Lee KH. Proteomics: a technology-driven and technology-limited discovery science. *Trends Biotechnol* 2001; 19: 217-222.
7. Bai L, Deng X, Li J, Wang M, Li Q, An W et al. Regulation of cellular senescence by the essential caveolar component PTRF/cavin-1. *Cell Res* 2011;21:1088-1101.
8. Hansen CG, Nichols BJ. Exploring the caves: Cavins, caveolins and caveolae. *Trends Cell Biol* 2010;20:177-186.
9. Sotgia F, Rui H, Bonuccelli G, Mercier I, Pestell RG, Lisanti MP. Caveolin-1, mammary stem cells, and estrogen-dependent breast cancers. *Cancer Res* 2006;66:10647-51.
10. Bai L, Deng X, Li Q, et al. Down-regulation of the cavin family proteins in breast cancer. *J Cell Biochem* 2012;113:322-8.
11. Mazin A, Milot E, Devoret R, Chartrand P. KIN17, a mouse nuclear protein, binds to bent DNA fragments that are found at illegitimate recombination junctions in mammalian cells. *Mol Gen Genet* 1994;244:435-38.
12. Carlier L, Couprie J, le Maire A, et al. Solution structure of the region 51-160 of human KIN17 reveals an atypical winged helix domain. *Protein Sci* 2007;16:2750-55.
13. Zeng T, Gao H, Yu P et al. Up-regulation of kin17 is essential for proliferation of breast cancer. *PLoS One* 2011;6:e25343.
14. Trayner BJ, Grant TN, West FG, Cheeseman CI. Synthesis and characterization of 6-deoxy-6-fluoro-D-fructose as a potential compound for imaging breast cancer with PET. *Bioorg Med Chem* 2009;17:5488-95.
15. Gould GW, Holman GD. The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem J* 1993;295:329-41.
16. Joost HG, Thorens B. The extended GLUT-family of sugar/polyoltransport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members. *Mol Membr Biol* 2001;18:247-256.
17. Salas-Burgos A, Iserovich P, Zuniga F, Vera JC, Fischbarg J. Predicting the three dimensional structure of the human facilitative glucose transporter glut1 by a novel evolutionary homology strategy: insights on the molecular mechanism of substrate migration, and binding sites for glucose and inhibitory molecules. *Biophys J* 2004;87:2990-9.
18. Chan KK, Chan JY, Chung KK, Fung KP. Inhibition of cell proliferation in human breast tumor cells by antisense oligonucleotides against facilitative glucose transporter 5. *J Cell Biochem* 2004;93:1134-42.
19. Gowrishankar G, Zitzmann-Kolbe S, Junutula A, et al. GLUT 5 is not over-expressed in breast cancer cells and patient breast cancer tissues *PLoS One* 2011;6:e26902.
20. Nomi M, Oishi I, Kani S et al. Loss of mRor1 enhances the heart and skeletal abnormalities in mRor2-deficient mice: redundant and pleiotropic functions of mRor1 and mRor2 receptor tyrosine kinases. *Mol Cell Biol* 2001;21:8329-35.
21. Yoda A, Oishi I, Minami Y. Expression and function of the Ror-family receptor tyrosine kinases during development: lessons from genetic analyses of nematodes, mice, and humans. *J Recept Signal Transduct Res* 2003;23:1-15.
22. Mayr B, Montminy M. Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:599-609.
23. Zhang S, Chen L, Cui B, et al. ROR1 is expressed in human breast cancer and associated with enhanced tumor-cell growth *PLoS One* 2012;7:e31127.1-12.
24. Kani S, Oishi I, Yamamoto H, et al. The receptor tyrosine kinase Ror2 associates with and is activated by casein kinase Iepsilon. *J Biol Chem* 2004;279: 50102-9.

25. Zeitlin SG, Baker NM, Chapados BR, Soutoglou E, Wang JY, Berns MW. Cleveland DW: Double-strand DNA breaks recruit the centromeric histone CENP-A. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:15762-67.
26. Zeitlin SG. Centromeres: the wild west of the post-genomic age. *Epigenetics* 2010;5:34-40.
27. Li Y, Zhu Z, Zhang S et al. ShRNA-targeted centromere protein A inhibits hepatocellular carcinoma growth. *PLoS One* 2011;6:e17794.
28. McGovern SL, Qi Y, Pusztai L, Symmans WF, Buchholz TA. CENP-A, an essential centromere protein, is a prognostic marker for relapse in estrogen receptor-positive breast cancer *Breast Cancer Res* 2012;14:R72.
29. Bagchi A, Papazoglu C, Wu Y et al. CHD5 is a tumor suppressor at human 1p36. *Cell* 2007;128:459-75.
30. Fujita T, Igarashi J, Okawa ER et al. CHD5, a tumor suppressor gene deleted from 1p36.31 in neuroblastomas. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:940-49.
31. Neve RM, Chin K, Fridlyand J et al. A collection of breast cancer cell lines for the study of functionally distinct cancer subtypes. *Cancer Cell* 2006;10:515-27.
32. Wu X, Zhu Z, Li W, et al. Chromodomain helicase DNA binding protein 5 plays a tumor suppressor role in human breast cancer *Breast Cancer Res* 2012;14:R73.
33. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010;140:883-99.
34. Knüpfer H, Preiss R. Significance of interleukin-6 (IL-6) in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2007;102:129-35.
35. Oh K, Ko E, Kim HS, et al. Transglutaminase 2 facilitates the distant hematogenous metastasis of breast cancer by modulating interleukin-6 in cancer cells *Breast Cancer Res* 2011;13:R96.
36. Baeuerle PA, Gires O. EpCAM (CD326) finding its role in cancer. *Br J Cancer* 2007;96:417-23.
37. Osta WA, Chen Y, Mikhitarian K, et al. EpCAM is overexpressed in breast cancer and is a potential target for breast cancer gene therapy. *Cancer Res* 2004;64:5818-24.
38. Maetzel D, Denzel S, Mack B et al. Nuclear signalling by tumour-associated antigen EpCAM. *Nat Cell Biol* 2009;11:162-71.
39. Tai KY, Shiah SG, Shieh YS, et al. DNA methylation and histone modification regulate silencing of epithelial cell adhesion molecule for tumor invasion and progression. *Oncogene* 2007;26:3989-97.
40. Cimino A, Halushka M, Illei P, Wu X, Sukumar S, Argani P. Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) is overexpressed in breast cancer metastases. *Breast Cancer Res Treat* 2010;123:701-8.
41. Ventura A, Meissner A, Dillon CP, et al. Cre-lox-regulated conditional RNA interference from transgenes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:10380-85.
42. Gostner JM, Fong D, Wrulich OA et al. Effects of EpCAM overexpression on human breast cancer cell lines. *BMC Cancer* 2011;11:45.
43. Sankpal NV, Mayfield JD, Willman MW, Fleming TP, Gillanders WE. Activator protein 1 (AP-1) contributes to EpCAM-dependent breast cancer invasion *Breast Cancer Res* 2011;13:R124.
44. Desprez PY, Sumida T, Coppé JP. Helix-loop-helix proteins in mammary gland development and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003;8:225-39.
45. Dell'Orso S, Ganci F, Strano S, Blandino G, Fontemaggi G. ID4: a new player in the cancer arena. *Oncotarget* 2010;1:48-58.
46. Heyn H, Engelmann M, Schreek S et al. MicroRNA miR-335 is crucial for the BRCA1 regulatory cascade in breast cancer development. *J Cancer* 2011;129:2797-806.
47. Wen YH, Ho A, Patil S, et al. Id4 protein is highly expressed in triple-negative breast carcinomas: possible implications for BRCA1 downregulation. *Breast Cancer Res Treat* 2012;134:13-20.
48. Madsen J, Nielsen O, Tornøe I, Thim L, Holmskov U. Tissue localization of human trefoil factors 1, 2, and 3. *J Histochem Cytochem* 2007;55:505-13.
49. May FE and Westley BR. Expression of human intestinal trefoil factor in malignant cells and its regulation by oestrogen in breast cancer cells. *J Pathol* 1997;182:404-13.
50. Perry JK, Kannan N, Grandison PM, Mitchell MD, Lobb PE. Are trefoil factors oncogenic? *Trends Endocrinol Metab* 2008;19:74-81.
51. Kannan N, Kang J, Kong X, et al. Trefoil factor 3 is oncogenic and mediates anti-estrogen resistance in human mammary carcinoma. *Neoplasia*. 2010;12:1041-53.