

MEME KANSERİNDE ONKOGENLER VE TÜMÖR SÜPRESSÖR GENLERİN ROLÜ

Prof. Dr. Yıldız ERHAN (*)

Günümüzde, karsinogenezişte son basamak olarak nitelendirilen progresyonda genomik değişikliklerin önemi üzerinde durulmakta ve bu konuda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Tümör progresyonunu ya da süpresyonunu sağlayan genlerde gelişen mutasyonlar malign sürecin bir parçasıdır ve bunlar tümör gelişiminin özellikle son basamağında önemli bir yere sahip gibi görülmektedir.

Memede de karsinom gelişiminde, bazı proto-onkogenlerin ve tümör süpresör genlerin rolü üzerine durulmakta ve bunların büyük bir kısmının progresyon evresinde rol oynadığı vurgulanmaktadır. Etkili olduğu düşünülen proto-onkogenler içinde; ras, c-erbB-2, c-myc ardır. Tümör süpresör genler içinde ise en çok çalışılan p53'tür.

TÜMÖR SÜPRESSÖR GENLER

Bugüne değin insan meme kanserlerinde 1q, 11p, 13q ve 17p'de heterozigöze kayıpları tanımlanmıştır, ancak çalışmaların özellikle 17. kromozomun kısa kolundaki mutasyonlar ve/veya heterozigotize kayıpları üzerinde yoğunlaştığı görülür.

p53 Süpresör Geni

p53 geni insan kanserlerinin herediter ve sporadik şekillerinde yaygın olarak gösterilmiştir. Örneğin kolon kanserlerinin % 75-80'inde p53 allellerinin her ikisinin kaybolduğu ya da birinde delesyon, diğerinde nokta mutasyonlarının ortaya çıktığı belirtilmektedir. p53 lokusundaki heterozigotize kayıpları akciğer kanserlerinde, beyin ve meme tümörlerinde, blast krizindeki kronik myelositik lösemide de saptanmıştır (1). Bu genin 17p13.1'de lokalize olduğu kabul edilmektedir.

p53 geni başlangıçta, farelerdeki transfeksiyon çalışmaları temel alınarak, dominant bir onkogen olarak kabul edilmiştir. Fakat, daha sonraki araştırmalarda, genin onkojenik aktivitesinin kodlayıcı sekansın mutasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir, p53'ün doğal (wild) tipi bir fosfonükleer protein kodlamaktadır ve tümör süpresör etkiye sahiptir. Buna karşın mutant p53, hücrede diğer proteinlerle stabil kompleksler oluşturma özelliği gösterir ve bu nedenle hücre DNA'sına bağlanamaz. Bu da kontrolsüz bir proliferasyona yol açar. p53 gen mutasyonlarının büyük bir bölümü proteinin tümör süpresör aktivitesini ortadan kaldırmakta, ayrıca proteini stabilize ederek akümülyasyonuna yol açmaktadır. Bu şekilde akümüle olan protein immünohistoşimik yöntemlerle gösterilebilir hale gelir ve nükleus boyanmaları ile karışımıza çıkar. Pek çok tümör belirleyicisinde olduğu gibi, p53'ü göstermeye çalışmadaki en önemli amaç, hastalığın olası seyrini saptamak ve tedavi seçimine yardım edebilmektir.

p53'ün meme kanserlerinde görülme oranı

Bu oranı % 28-82 arasında değişme göstermektedir. burada, kullanılan antikoru ve tespit solüsyonunun niteliği yanısıra pozitif boyanmanın değerlendirilmesi yönünde kullanılan kriterler önem taşımaktadır (2,3).

p53 boyanması ile histolojik tipler arasındaki ilişkiler

Mutant p53'ün en yüksek oranda görüldüğü tümör tipi medüller karsinomdur. Bunu invaziv duktal karsinomlar izlemektedir. Yapılmış olan çalışmalarda müsinöz ve papiller karsinomlarda p53 mutasyonlarına rastlanmadığı vurgulanmaktadır. Lobüler karsinomlar mutasyonların az görüldüğü bir grubu oluşturmaktadır. Ayrıca Domagala ve ark. (2) bu karsinom tipinin ortalama 1/3'ünde diğer karsinomlardan farklı olarak sitoplazmik bir boyanma ile karşılaşmışlardır.

Bilindiği gibi meme kanserleri içinde medüller, müsinöz, papiller ve klasik lobüler karsinomlar prognoz açısından umut veren histolojik tiplerdir. Ancak medüller karsinomlarda yüksek oranda p53 mutasyonlarının görülmesi, p53 akümülyasyonu ile prognoz arasındaki ilişkinin basit bir olay olmadığını ortaya koymaktadır. Burada kötü prognozdan, muhtemelen farklı mutasyonlar sorumludur ve bu konu önümüzdeki günlerde yapılacak çalışmalarda daha açık bir biçimde ortaya konacaktır.

Duktal karsinoma in situ içerisinden büyük, pleomorfik malign hücreler içeren komedo tipte lezyonlarda, nükleer p53 ekspresyonu ile karşılaşılmalıdır. Bilindiği gibi komedo tipteki duktal karsinoma in situ rekürrens ve metastazların görülebildiği in situ karsinom modelleridir. Bu da bize histolojik tipler ile p53'ün nükleer akümülyasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren bir diğer örneği oluşturmaktadır (5,6).

p53 mutasyonlarının tanıdaki yeri

p53 geni ve fazla ekspresyonlarının tanıda bir yeri olabilir. Çünkü, p53 mutasyonlarının normal ve malign olmayan dokularda görülmeyeceği bildirilmektedir. Bu nedenle duktal hiperplazi ve atipik duktal hiperplazileri karsinoma in situ'dan ayırmada p53 mutasyonlarının gösterilmesine başvurulabilir (7).

Lokal nüks ve p53 mutasyonları arasındaki ilişki

Lenf nodu tutulumu olmayan tümörlerde pozitif boyanmanın rekürrensi belirlemede önemli bir kriter olabileceği gösterilmiştir (3).

p53 mutasyonları ile sağ kalım arasındaki ilişkiler

Allred ve ark. (8) 698 hasta örneği üzerinde çalışmışlar ve pozitif p53 boyanmasının beş yıllık hastalısız intervali azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca Thor ve ark. da (6) p53 (+) olgularda daha kısa bir sağ kalım süresi ile karşılaştıklarını vurgulamışlardır. Yine aynı araştırmacılar p53 mutasyonlarının gösterilebilmesinin bağımsız bir prognostik faktör olduğunu da ileri sürmüşlerdir. Sonuç olarak, hastalısız in-

* Ege Ü.T.F. Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

tervali, total sağ kalımı ve rölapstan sonraki sağ kalımı p53 proteininin varlığı önemli ölçüde etkilemektedir (3,8).

Yine son zamanlarda, 17. kromozomun kısa kolu üzerinde Br Ca-2 olarak belirlenen bir genin, erken yaşta ortaya çıkan meme ve over kanseri gelişimine duyarlılığı arttırdığı ve bu malignitelerin herediter tiplerinin büyük bir kısmından sorumlu olabileceği gösterilmiştir. Bu genin en kısa zamanda klonlanacağı ve bunun da bir tümör süpresör gen olduğunun kanıtlanacağı öngörülmüştür. Br Ca-1 anomalileri meme kanseri olma olasılığı olan hastaların az bir kısmından sorumlu olabilir fakat bu genin klonlanması, meme kanseri riski altında olan kadınların genetik taramaları için testler geliştirmede önemli bir adım olabilir.

MEME KANSERLERİNDE ETKİLİ OLDUĞU DÜŞÜNÜLEN PROTO-ONKOGENLER

Ras Onkogeni

Ras geni familyasına ait üyeler insan solid tümörlerinde çok sıklıkla saptanmıştır. Bu genler, 21000 dalton moleküler ağırlıklı, guanozin trifosfat bağlayıcı proteinleri kodlar. Bu proteinler, hücre membranlarının iç yüzünde lokalizedirler ve ekstrasellüler uyarıların nükleusa taşınmasında rol oynarlar.

Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda ras onkogenlerinin özellikle karsinogenezisteki yeri ve ras onkogen anomalileri ile değişik organ tümörlerinin biyolojik davranışları arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Ras genlerinin insan meme karsinogenezisindeki rolü bazı araştırmacılar tarafından tartışmalı olarak kabul edilmektedir. Burada ras protein ekspresyonuna ilişkin gözlemlerin birbirini tutmaması rol oynamaktadır. Bazı çalışmalarda benign parankime oranla karsinomlarda artan bir reaktivitenin bulunduğu belirtilmiştir. Buna karşın, bazı araştırmacıların sonuçları karsinomlardaki pozitivitenin normal parankimden daha az olduğu yönündedir (9). Kuşkusuz farklılıkların bir kısmı kullanılan yöntemlere bağlıdır. Bu arada, deneysel modellerde mutant ras onkogeninin insan meme epitelinde malign transformasyonun fenotipik karakteristiklerini oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca son yıllarda, farklı kanserlerin erken karsinogenezisinde ras onkogeni ve onun ürünü p21'in rolü üzerinde durulmaktadır (10). Normal TDLU epitelinde p21 ekspresyonunda yaşla birlikte azalmanın varlığı, bu genin hücre proliferasyonunu hızlandırıcı bir etkiye sahip olduğunu gösteren bir gözlemdir (11). Ayrıca yapılan çalışmalarda meme epitel hücrelerinde, özellikle TDLU epitelinde hiperplaziden karsinoma in situya kadar giden geniş bir spektrum içinde ras ekspresyonu üzerinde çalışılmış veras ekspresyonunun hiperplaziden karsinoma in situya gittikçe belirgin bir artma gösterdiği saptanmıştır. Tüm bunlar tipki kolon ve serviks lezyonlarında olduğu gibi ras onkogenlerinin memede benign lezyonlardan malign lezyonlara geçişte önemli bir role sahip olduğunu düşündürmekte ve p21'in erken karsinogeneziste önemli bir role sahip olduğu kanısını uyandırmaktadır.

Bu arada meme kanserlerinde lenf nodu tutulumu ve tümör hacmi ile artan p21 ekspresyonu arasında ilişkiler gösterilmiştir. Ayrıca ras onkogenlerinin alıcı hücrelerde iyonizan radyasyona ve kemoterapötik ajanlara rezistansı artırıcı da belirtilmiştir (12).

c-erbB-2 (HER/neu) yada HER-2 onkogeni

c-erbB-2 geni 17q12-21.32 kromozomunda lokalizedir. erbB onkogen familyasının bir üyesidir ve HER-2/neu olarak da bilinir. Epitelial büyüme faktörü reseptörü ile ilgili bir

ürünü kodlar. c-erbB-2 ekspresyonu meme kanserlerinin ortalama % 30'unda gösterilmiştir. Genellikle yayınlarda belirlenen oran % 46 ile 81 arasında değişme göstermektedir. Tipki EGF reseptörünün fazla ekspresyonuna benzer şekilde c-erbB-2 amplifikasyonu çok sıklıkla steroid reseptör negatif tümörlerde görülür, fakat EGF reseptörü seviyesi ile c-erbB-2 amplifikasyonu arasında bir korelasyon bulunamamıştır (13).+

Bu genin amplifikasyonunun klinik önemi, meme kanserlerinde prognostik bir belirleyici olabilmesinden kaynaklanmaktadır. Slamon ve ark. (14) HER-2 amplifikasyonunun lenf nodu metastazı olan hastalarda rölaps zamanını ve total sağ kalımı belirlemede bağımsız bir indikatör olduğunu göstermişlerdir. Bu proteinin ekspresyonu kötü histolojik derece, aksiller lenf noduna yayım ve tutulan lenf nodu sayısı ile birliktelik göstermiştir. Bazı çalışmalarda ise HER-2 ile tümörün hacmi ve nodal tutulum arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak, bu genin ekspresyonu ile steroid hormon reseptörleri arasında ters bir ilişki vardır. Steroid reseptör (-) subgruplarda HER-2 amplifikasyonu ile rekürrens ve hasta ölüm riski arasında (+) bir korelasyon saptanmıştır. Bu da HER-2 amplifikasyonunun özellikle ER(-)/PR(-) tümörlerde daha kuvvetli bir prognostik belirleyici olabileceğini düşündürmektedir (15). Prognozu belirlemede çok değişik çalışmaların yapıldığını ve farklı sonuçlar alındığını da belirtmek gerekmektedir. Önümüzdeki yıllarda yapılmış olan çalışmalarda örneğin; erken evreli, ER (+), düşük dereceli bir tümörde erken rekürrensin ortaya çıkması böyle bir gen amplifikasyonu ile açıklanabilir. cc-erbB-2 amplifikasyonu ile tümörün histolojik derecesini belirlemede kullanılan her kriter (arşitektürel yapı, nükleer atipi ve mitotik figürlerin sayısı) arasında kuvvetli bir korelasyon bulunmuştur. Primer bir tümör c-erbB-2 proteinini eksprese etmese bile, sonradan gelişen metastazlar bu proteini eksprese edebilir. Bunun tersine, bir tümör c-erbB-2 proteinini eksprese edebiliyor ise bu kapasite tüm metastazlarda sürmektedir.

HER-2 amplifikasyon ya da fazla ekspresyonunun prognostik bir değer taşıyabileceğine ilişkin çalışmalar da vardır. Çünkü bu güne değin normal ve malign olmayan meme epitel hücrelerinde HER-2 amplifikasyonu bildirilmemiştir (7). Bu konuya ilişkin çalışmaların artırılması gerekmektedir. Ayrıca, son yıllarda büyük hücreli intraduktal kanserlerde HER-2 ekspresyonu üzerinde yoğun çalışmalar vardır (16). Bu tür in situ lezyonlarda HER-2 amplifikasyonu ile tümörün invazyon ve metastaz riski arasında ilişkiler üzerinde durulmaktadır. Bu da bize yüksek riskli in situ lezyonları belirlemede bu onkogen amplifikasyonunun ya da fazla ekspresyonunun tanıda yardımcı olabileceğini düşündürmektedir.

Bu arada HER-2 fazla ekspresyonunun kemoterapötik ajanlara karşı gelişen rölatif bir rezistansla birlikte olabileceği vurgulanmıştır. Bu bağlamda, HER-2 ekspresyonu gösteren tümörlü hastalar kemoterapötik tedavilerden daha az yararlanırken, HER-2 düzeyleri düşük olan hastaların tedaviden daha fazla yararlandığı gösterilmiştir. Ayrıca HER-2 aşırı ekspresyonunun hormonal tedaviye dirençle birlikte olabileceği de vurgulanmıştır (7).

c-myc proto-onkogeni

c-myc onkogeni nükleus düzenleyici protein kodlayan bir onkogendir. Genel anlamda, ekstrasellüler uyarımlar uyarı iletim yolları aracılığı ile nükleusa girerler ve hücrelerin mitotik siklusu düzenli bir biçimde girmesini ayarlayan büyük bir yanıtlayıcı gen kümesi ile karşılaşılır. Nükleer transkripsiyon faktörlerini kodlayan bu genlerdeki mutasyonlar malign transformasyona yol açarlar. c-myc geni de

bu transkripsiyonu sağlayan genlerden biridir. Bu gen insan tümörlerinde çok sıklıkla görülür. Bu nedenle fonksiyonunun mutlaka açıklığa kavuşması gerekmektedir. Bu genin meme kanserlerindeki amplifikasyonunun görülme oranı % 1-41'dir (17). Berns ve ark. (15) meme kanserlerinin % 20'sinde c-myc gen amplifikasyonuna rastlamışlardır.

c-myc gen amplifikasyonu ya da ekspresyonu ile prognoz arasındaki ilişkiler hakkındaki bilgilerimiz de oldukça sınırlı olduğu söylenebilir. Sonuçların büyük bir kısmı, az sayıda hasta materyalleri üzerinde yapılan çalışma bulgularına dayanmaktadır (18). Genellikle c-myc'nin prognostik bir faktör olduğu kabul edilir. Ancak bunun tersi sonuçları bildiren araştırmacılar da vardır.

Berns ve ark. (15) c-myc amplifikasyonu ile HER-2 amplifikasyonunu kıyaslayarak yaptıkları çalışmada, c-myc amplifikasyonunun özellikle nod (-) ve steroid reseptör (+) meme kanserlerinde bağımsız, önemli bir prognostik faktör olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın HER-2/neu amplifikasyonunun sadece steroid reseptör (-) tümörlerde sınırlı prognostik bir değere sahip olabileceği vurgulanmıştır. Yine aynı çalışmada c-myc amplifikasyonunun tümör çapı büyük ve lenf nodu (+) hastalarda daha sıklıkla izlendiği ve bunun anlamlı olduğu vurgulanmaktadır. Buna karşın c-myc amplifikasyonunun yaş, menapozal durum ya da tümörün diferansiyasyon derecesi yahut steroid reseptör durumu ile birliktelik göstermediği de bildirilmiştir. Aynı çalışmada c-myc amplifikasyonunun HER-2 amplifikasyonu ile (-) bir korelasyon içinde olduğu vurgulanmaktadır. Tek değişkenli analizlerde azalan rölapsiz sağ kalım ve total sağ kalımın önemli bir belirleyicisi olduğu da gözlenmiştir. Rölapsiz sağ kalım için yapılan çok değişkenli analizlerde c-myc amplifikasyonunun tümör hacminin, lenf nodu durumunun ve östrojen reseptör durumunun prognostik değerini anlamlı bir biçimde arttırdığı da belirtilmektedir. Ayrıca immünohistoşimik bir yaklaşımla Pavelic ve ark. (19) c-myc ile Ki-67 işaretleme indeksi arasında bir korelasyon göstermişlerdir. Ancak burada c-myc ekspresyonunun artmış proliferasyon aktivitesinin etkeni olup olmadığını söylemek olası değildir. Çünkü her iki özelliği de bağımsız başka düzenleyiciler etkileyebilir. Bu şekilde Kreip ve ark. da (17) agresif tip meme kanserlerinde c-myc proto-onkogeninin amplifiye olduğunu ve bunun proliferatif aktivite ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Burada c-myc'nin neoplastik hücreler kadar normal epitel hücrelerinde de var olduğunun vurgulanması gerekmektedir (19).

KAYNAKLAR

1. Sager R. Tumor suppressor genes: The puzzle and the promise. *Science* 1989, 246: 1406-12.
2. Domagala W, Harezga B, Szadowska A, et al. Nuclear p53 protein accumulates preferentially in medullary and high-grade ductal but rarely in lobular breast carcinomas. *Am J Pathol* 1993, 142: 669-74.
3. Barnes MD, Dublin EA, Fisher CJ, et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma. *Hum Pathol* 1993, 24: 469-476.
4. Marchetti A, Butti F, Pellegrini S, et al. p53 mutations and type of invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1993, 53: 4665-9.
5. Walker RA, Dearing SJ, Lane DP, Varley JM. Expression of p53 protein in infiltrating and in-situ-breast carcinomas. *J Pathol* 1991, 165: 203-11.
6. Thor AD, Moore II DH, Edgerton SM, et al. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992, 84: 845-55.
7. Hayes DF. Tumor markers for breast cancer. *Ann Oncol* 1993, 4: 807-19.
8. Allred DC, Clark GM, Brown RW, et al. Mutation of p53 is associated with increased proliferation and early recurrence in node negative breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992, 11: 55.
9. Walker RA, Wilkinson N. p21 ras protein expression in benign and malignant human breast. *J Pathol* 1988, 156: 147.
10. Sagae S, Kudo R, Kuzumaki N, et al. Ras oncogene expression and progression in intraepithelial neoplasia of the uterine cervix. *Cancer* 1990, 66: 295-301.
11. Going JJ, Anderson TJ, Wyllie AH. Ras p21 in breast tissue: associations with pathology and cellular localisation. *Br J Cancer* 1992, 65: 45-50.
12. McKenna WG, Weiss MC, Bakanauskas VJ, et al. The role of the H-ras oncogene in radiation resistance and metastasis. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1990, 18: 849-59.
13. Borresen AL, Ottesad L, Gaustad A, et al. Amplification and protein over-expression of the new/HER-2/c-erbB-2 protooncogene in human breast carcinomas: relationship to loss of gene sequences on chromosome 17, family history and prognosis. *Br J Cancer* 199, 62: 585-90.
14. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987, 235: 177.
15. Berns JJ, Klijn GM, van Putten LJ, et al. c-myc amplification is a better prognostic factor than HER2/neu amplification in primary breast cancer. *Cancer Res* 1992, 52: 1107-13.
16. Somerville JE, Clarke LA, Bigart JD, c-erbB-2 overexpression and histological type of in situ and invasive breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1992, 45: 16-20.
17. Kreipe H, Feist H, Fischer J, et al. Amplification of c-myc but not of c-erbB-2 is associated with high proliferative capacity in breast cancer. *Cancer Res* 1993, 53: 1956-61.
18. Garcia I, Dietrich PY, Aapro M, et al. Genetic alterations of c-myc, c-erbB-2, and c-Ha-ras protooncogenes and clinical associations in human breast carcinomas. *Cancer Res* 1989, 49: 6675-9.
19. Pavelic ZP, Pavelic L, Lower EE, et al. c-myc, c-erbB-2, and Ki-67 expression in normal breast tissue and in invasive and noninvasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1992, 52: 2597-602.