

Meme Kanserinde Onkogenler ve Tümör Süpresör Genler

Oncogenes and Tumor Suppressor Genes in Breast Carcinoma

Prof. Dr. Yıldız Erhan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

Özet: Meme kanserinin gelişiminde *proto-onkogenler* ve tümör süpresör genlerin rolü üzerinde durulmaktadır. Etkili olduğu düşünülen *proto-onkogenler* ras, c-erbB-2 ve c-myc genleridir. Tümör süpresör genlerden en çok üzerinde durulanı p53 genidir. Bu çalışmada meme karsinogenezisi ile ilgili güncel bilgiler özetlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: meme kanseri, karsinogenezis, *proto-onkogenler*, tümör süpresör genler

Günümüzde, karsinogeneziste 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 proçesin bir parçasıdır ve bunlar tümör gelişiminin özellikle son basamağında önemli bir yere sahip gibi görülmektedir.

Meme karsinomunun gelişiminde de bazı *proto-onkogenlerin* ve tümör süpresör genlerin rolü üzerinde durulmakta ve bunların büyük bir kısmının progresyon evresinde rol oynadığı vurgulanmaktadır. Etkili olduğu düşünülen *proto-onkogenler* içinde; ras, c-erbB-2, c-myc vardır. Tümör süpresör genler içinde ise en çok inceleneni p53'tür.

Tümör Süpresör Genler

Bu güne değin insan meme kanserlerinde 1q, 11p, 13q ve 17p'de heterozigozite kayıpları tanımlanmıştır,

Summary: *The role of proto-oncogenes and tumor suppressor genes in breast carcinogenesis is under investigation. The effective proto-oncogenes are thought to be ras, c-erbB-2 and c-myc genes. The p53 gene is the best known one among the tumor suppressor genes. In this article, the recent data on mammary carcinogenesis are summarized.*

Key Words: breast cancer, carcinogenesis, *proto-oncogenes, tumor suppressor genes*

ancak çalışmaların özellikle 17 kromozomun kısa kolundaki mutasyonlar ya da heterozigozite kayıpları üzerinde yoğunlaştığı görülür.

p53 süpresör geni:

p53 geni insan kanserlerinin herediter ve sporadik biçimlerinde 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 heterozigozite kayıpları akciğer kanserlerinde, beyin ve meme tümörlerinde, blast krizindeki kronik myelositik lösemide de (KML) saptanmıştır. Bu genin 17p13.1'de lokalize olduğu kabul edilmektedir.

p53 geni başlangıçta, farelerdeki translokasyon 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 karşılık 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 akümüülasyonuna yol açmaktadır. Böylece akümüle olan protein immünodokümyasal yöntemlerle gösterilebilir duruma gelir ve nukleus boyanmaları ile karşımıza çıkar. Pek çok tümör belirleyicisinde olduğu gibi, p53'ü göstermeye çalışmadaki en önemli amaç, hastalığın olası seyrini saptamak ve sağaltım seçimine yardım edebilmektir.

p53'ün meme kanserlerinde görülme oranı:

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

p53 boyanması ile histolojik tür ilişkisi:

Mutant p53'ün en yüksek oranda görüldüğü tümör türü 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 Domgala ve ark. (2) bu karsinom tipinin ortalama 1/93'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 türlerdir. Ancak medüller karsinomlarda yüksek oranda p53 mutasyonlarının görülmesi, p53 akümüülasyonu ile prognoz arasındaki ilişkinin basit bir olay olmadığını ortaya koymaktadır. Burada kötü prognozdan olası farklı mutasyonlar sorumludur ve bu konu önümüzdeki günlerde yapılacak çalışmalarda daha açık bir biçimde ortaya konacaktır.

Duktal karsinoma in situ içerisindedir büyük, pleomorfik malign hücreler içeren komedo türde lezyonlarda, nükleer p53 ekspresyonu ile karşılaşmıştır. Bilindiği gibi komedo türdeki duktal karsinoma in situ rekürrens

ve metastazların görülebildiği in situ karsinom modelleridir. Bu da bize histolojik türler ile p53'ün nükleer akümüülasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren bir diğer örneği oluşturmaktadır (5, 6).

p53 mutasyonlarının tanıdaki yeri:

p53 geni ve aşırı ekspresyonlarının tanıda bir yeri olabilir. Çünkü, p53 mutasyonlarının normal ve malign olmayan dokularda görülmediği 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 sağkalım arasındaki ilişkiler:

Allerd ve ark. (8) 698 hasta örneği üzerinde çalışmışlar ve pozitif p53 boyanmasının beş yıllık hastaliksız intervali azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca Thor ve ark. (6) p53 (+) olgularda daha kısa bir sağkalım süresi ile karşılaştıklarını vurgulamışlardır. Yine aynı araştırmacılar p53 mutasyonlarının gösterilebilmesinin bağımsız bir prognostik faktör olduğunu da ileri sürmüşlerdir. Sonuç olarak, hastaliksız intervali, total sağkalımı ve relapstan sonraki sağkalımı p53 proteininin varlığı önemli ölçüde etkilemektedir (3, 8).

Yine son zamanlarda, 17. kromozomun kısa kolu üzerinde Br Ca-1 olarak belirlenen bir genin, erken yaşta ortaya çıkan meme ve over kanseri gelişimine duyarlılığı artırdığı ve bu malignitelerin herediter türlerinin 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 Kanserlerinde Etkili Olduğu Düşünülen Proto-onkogenler

Ras Onkogeni:

Ras geni familyasına ait üyeler insan solit tümörlerinde çok sıklıkla saptanmıştır. Bu genler, 210000 dalton moleküler ağırlıklı, guanizin 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 karsinogenezdeki yeri ve ras onkogen anomalileri ile değişik organ tümörlerinin biyolojik davranışları arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Ras genlerinin insan meme karsinogenezindeki rolü bazı araştırmacılar tarafından tartışılabilir olarak kabul edilmektedir. Burada ras protein ekspresyonuna ilişkin gözlemlerin birbirini tutmaması rol oynamaktadır. Kimi çalışmalarda, benign parankime oranla, karsinomlarda artan bir reaktivitenin bulunduğu belirtilmiştir. Buna karşılık, kimi araştırmacıların sonuçları karsinomlardaki pozitifitenin normal parankimden daha az olduğunu 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 karsinogenezinde 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 in situ karsinoma dek giden geniş bir spektrum içinde ras ekspresyonu üzerinde çalışılmış ve ras ekspresyonunu hiperplaziden in situ karsinoma gittikçe belirgin bir artma gösterdiği saptanmıştır. Tüm bunlar tıpkı kolon ve serviks lezyonlarında olduğu gibi ras onkogenlerinin memede benign lezyonlardan malign lezyonlara geçişte önemli bir role sahip olduğunu düşündürmekte ve p21'in erken karsinogenezde önemli bir yeri olduğu kanısını uyandırmaktadır.

Bu arada meme kanserlerinde lenf düğümü tutulumu ve tümör hacmi ile artan p21 ekspresyonu arasında ilişkiler gösterilmiştir. Ayrıca ras onkogenlerinin alıcı hücrelerde

lyonizan radyasyona ve kemoterapötik ajanlara rezistansı arttırdığı da belirtilmiştir (12).

c-erbB-2 (HER/neu) ya da 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 belirtilen oran % 46 - 81 arasındadır. Tıpkı EGF reseptörünün aşırı ekspresyonuna benzer biçimde c-erbB-2 amplifikasyonu çok sıklıkla steroid reseptör negatif tümörlerde görülür, fakat EGF reseptörü düzeyi ile c-erbB-2 amplifikasyonu arasında bir korelasyon bulunmamıştır (13).

Bu genin amplifikasyonunun klinik önemi, meme kanserlerinde prognostik bir belirleyici olabilmesinden kaynaklanmaktadır. Slamon ve ark. (14) HER-2 amplifikasyonunun lenf düğümü metastazı olan hastalarda relaps zamanını ve total sağkalımı belirlemede bağımsız bir indikatör olduğunu göstermişlerdir. Bu proteinin ekspresyonu kötü histolojik derece, aksiller lenf düğümüne yayılım ve tutulan lenf düğümü sayısı ile birlikte göstermiştir. Bazı çalışmalarda ise HER-2 ile tümörün hacmi ve lenf düğümü tutumu arasında bir ilişki bulunmamıştır. 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 çalışmalar yapıldığını ve farklı sonuçlar alındığını da belirtmek gerekmektedir. Örneğin; erken evreli, ER (+), düşük dereceli bir tümörde erken rekürrens ortaya çıkması böyle bir gen amplifikasyonu ile açıklanabilir. c-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 proteini 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 amplifikasyonu ya da aşırı ekspresyonunun di-agnostik 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 aşırı ekspresyonunun tanıda yardımcı olabileceğini düşündürmektedir.

Bu arada HER-2 aşırı ekspresyonunun kemoterapötik ajanlara karşı gelişen rölatif bir rezistansla birlikte olabileceği vurgulanmıştır. Bu bağlamda, HER-2 ekspresyonu gösteren tümörlü hastalar kemoterapötik sağaltımdan daha az yararlanırken, HER-2 düzeyleri düşük olan hastaların sağaltımdan daha çok yararlandığı gösterilmiştir. Ayrıca HER-2 aşırı ekspresyonunun hormonal sağaltıma 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 siklusa düzenli bir biçimde girmesini ayarlayan büyük bir yanıtlayıcı gen kümesi ile karşılaşırlar. 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 bilgilerimizin de oldukça sınırlı olduğu söylenebilir. Sonuçların büyük bir

kısmı, az sayıda hasta materyalleri üzerinde yapılan çalışma bulgularına dayanmaktadır (18). Genellikle c-myc'in 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 lenf düğümü (-) ve steroid reseptör (+) meme kanserlerinde bağımsız, önemli bir prognostik faktör olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşılık HER-2/neu amplifikasyonunun yalnız steroid reseptör (-) tümörlerde sınırlı prognostik bir değere sahip olabileceği vurgulanmıştır. Yine aynı çalışmada c-myc amplifikasyonunun tümör çapı büyük ve lenf düğümü (+) hastalarda daha sıklıkla izlendiği ve bunun anlamlı olduğu vurgulanmaktadır. Buna karşın c-myc amplifikasyonunun yaş, menapozal durum ya da tümörün diferansiyasyon derecesi ve 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 rölapsız sağkalım ve total sağkalımın önemli bir belirleyicisi olduğu da gözlenmiştir. Rölapsız sağkalım için yapılan çok değişkenli analizlerde c-myc amplifikasyonunun tümör hacminin, lenf düğümü durumunun ve östrojen reseptör durumunun prognostik değerini anlamlı bir biçimde arttırdığı da belirtilmektedir. Ayrıca immünohistokimyasal bir yaklaşımla Pavelik 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. (17) da agresif tür meme kanserlerinde c-myc proto-onkogeninin amplifiye olduğunu ve bunun proliferatif aktivite ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Burada c-myc'in 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, Herezga B, Szadowska A, et al. Nuclear p53 protein accumulates preferentially in medullar 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: 469-76.
4. Marchetti A, Buttita F, Pellegrini S, et al. p53 mutations and type of invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1993; 469-76.
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 IID 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 localization. *Br J Cancer* 1990; 66: 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, Ottasad L, Gaustad A, et al. Amplification and protein over-expression of the neu/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* 1990; 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: 17.
15. Berns JJ, Klijn 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.
16. Somerville JE, Clarke LA, Biggart 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 carcinoma. *Cancer Res* 1992; 52: 2597-602.
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.