

Kolon kanserinin moleküler biyolojisi

Molecular biology of colon cancer

Dr. Serhan KARVAR

Würzburg Üniversite Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Asistanı, Würzburg, Almanya

ÖZET: Son 10 yılda yapılan moleküler biyolojik incelemeler kolon kanserinin gelişiminde bazı genetik değişikliklerin de rolü olduğunu ortaya koymuştur. Onkogen, tümör süpresör gen ve mutator genlerde meydana gelen değişiklikler kolon karsinogenezinde çok önemli bir yere sahiptirler. Kolon kanserinde ayrıca normal epitelden kansere kadar olan bir süreç içerisinde bir tümör progresyon modeli geliştirilmiştir. Moleküler biyolojideki devam eden gelişmeler geleceğe yönelik erken teşhis ve tedavi potansiyelinden dolayı çok önemlidir.

Anahtar kelimeler: Kolon kanseri, moleküler biyoloji, genetik

KOLON kanseri Dünya çapında kansere bağımlı ölümler arasında ilk üç içerisinde yer alır (1). Kolorektal kanserler tüm Batılı endüstri Ülkeleri ile ABD'de oldukça sık görülmektedir. Avrupa'da son yıllarda, yılda ortalama 130.000 yeni hasta teşhis edilmiş, bu hastalardan 90.000'i ölürken ABD'de ise yaklaşık yılda 157.000 yeni hasta teşhis edilmiş ve bunların da 61.000'i ölmüştür. Teşhis ve tedavideki modern imkanlara rağmen 5 yıllık yaşama şansı Dukes klasifikasyonuna göre A grubunda %90, B grubunda %60, C grubunda %30 ve D grubunda da %1 oranındadır (2). Kolon kanserinin etiyopatogenezi çok karışıktır. Beslenme ve çevresel faktörlerin yanında kalıtsal faktörlerin de etiyopatogeneze önemli bir role sahip olduğu uzun süredir bilinmektedir. Özellikle moleküler biyolojideki çok hızlı gelişmeler kolon kanserinin etiyopatogenezi konusunda hızlı bir ilerleme sağlamıştır. Kolon kanserinde kalıtsal faktörlerin %10 oranında bir rol oynadığı tahmin edilmektedir (3). Genetik predispozisyonun aşağıda belirtilen sendromlarla ilişkisi tespit edilmiştir. Bu sendromlar şu şekilde sıralanabilir:

Familiyal Adenomatöz Polipozis (FAP) Gardner Sendromu, Turcot Sendromu, Juvenil polipozis, Peutz-Jeghers Sendromu, Hereditör Nonpolipozis Kolon Kanseri (HNPCC), Cowden Sendromu.

SUMMARY: During the past decade, a great deal of progress in molecular biology has been made toward identifying some of the genetic alterations that play role in colon cancer development. Some genetic alterations in oncogenes, tumor suppressor genes and mutator genes have an important role in carcinogenesis. A tumor progression model has been developed in colon cancer from normal epithel to carcinoma. The developments in molecular biology are very important because of their potential use for early tumor diagnosis and treatment.

Key words: Colon cancer, molecular biology, genetics

Bu sendromlardan başka Kolitis Ülseroza, Crohn ve iyonize radyasyona maruz kalma gibi durumlarda da kolon kanseri ortaya çıkabilmektedir (3-8).

FAMİLYAL ADENOMATÖZ POLİPOZİS (FAP)

FAP otozomal dominant olarak geçen ve kolon ve rektumda birçok polibin bulunduğu prekanseröz bir lezyondur (9). FAP'tan sorumlu olan Adenomatöz Polipozis Coli (APC) geni 5. kromozomun uzun kolunda (5q21) yer alır (10,11). Kolonlanmış olan bu gen 330 kD'luk bir proteini kodlar, bu proteinin ise fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Bu APC genindeki mutasyonlar yaklaşık FAP'lı hastaların %90'ında tespit edilmiştir (9). Bu mutasyonlar ya nokta mutasyonlar şeklinde ya da nükleotidlerin transversiyonu veya delesyonları şeklindedirler (12). Bu mutasyonlar sonucu oluşan gen ürünleri inaktive olmakta ve normal fonksiyonlarını yapamamaktadırlar.

HEREDİTER NONPOLİPOZİS KOLOREKTAL KANSER (HNPCC)

HNPCC (Warthin-Lynch sendromu) tip I ve tip II olmak üzere iki çeşittir. Tip I'de sadece kolon kanseri görülürken, Tip II'de kolon kanserine ek olarak mide, endometrium ve üretra epiteli kanserleri birlikte görülürler (13). HNPCC otozomal dominant geçen ve genç yaşta birçok kolorektal poliplerle karakterize prekanseröz bir lezyondur. HNPCC'den sorumlu gen 2. kromozomun kısa kolunda yer alır (2p15-16) (5). HNPCC'lı hastalarda yapılan moleküler biyolojik çalışmalarda Dinükle-

Tablo 1. Kolon kanserinde belirtilen bazı genetik değişiklikler (16)

Gen	Kromozom	Sıklığı	Gen tipi	Etki Mekanizması
HNPCC	2	%15	Mutatör	DNA replikasyonunun düzenlenmesi
neu	17	%2	Onkogen	Büyüme faktörü reseptörü
K-ras	12	%50	Onkogen	Hücre içi sinyal iletim molekülü
myc	8	%2	Onkogen	Gen aktivitesinin regülasyonu
APC	5	>%70	Tümör-süpresör	Bilinmiyor
DCC	18	>%70	Tümör-süpresör	Hücre adezyon molekülü
p53	17	>%70	Tümör-süpresör	Gen aktivitesinin regülasyonu

otid-Repeat bölgesindeki çok sayıdaki mutasyonlar sonucu oluşan replikasyon defekti tespit edilmiştir. Bu defekt sonucu DNA tamiri yapılamamaktadır (14). HNPCC'li hastalarda son iki yıl içerisinde yapılan çalışmalarda mutasyona uğrayan hMLH1 ve hMSH2 genleri bulunmuştur. Bu genler DNA'nın zarar görmesi halinde DNA'nın tamirinden sorumludurlar. HNPCC'li hastalarda hMLH1 gen mutasyon oranı %30 iken, hMSH2 gen mutasyon oranı %60'tır. HNPCC'den sorumlu bu genler ne onkogen ne de tümör süpresör genler olarak sınıflandırılabilmişlerdir. Bu genler ancak Mutatör genler olarak ayrı bir grup olarak sınıflandırılabilmişlerdir (15).

KOLON KANSERİNDE ONKOGEN ve TUMÖR SÜPRESÖR GENLER

Tümörler ya normal hücrelerde bulunan proto-onkogenlerin onkogene dönüşerek aktif hale geçmesi ya da tümör süpresör genlerin normal fonksiyonlarını kaybetmesi sonucu ortaya çıkarlar. Bu genlerde meydana gelen genetik değişiklikler nokta mutasyonları, insersiyonlar, delesyonlar veya translokasyonlar şeklindedir. Proto-onkogenler hücrenin normal akışı içerisinde yer alırlar ve bunlar tümör süpresör genlerle bir denge halinde çalışırlar (15-17).

Proto-onkogenler hücre çoğalması, hücre diferansiasyonu ve hücre ölümünden sorumludurlar. Proto-onkogenler retroviral insersiyon veya mutasyonlar gibi genetik değişiklikler sonucu aktif hale geçerler. Bu genler genellikle dominant etki gösterirler (15,17).

Tümör süpresör genler hücrenin normal gelişim

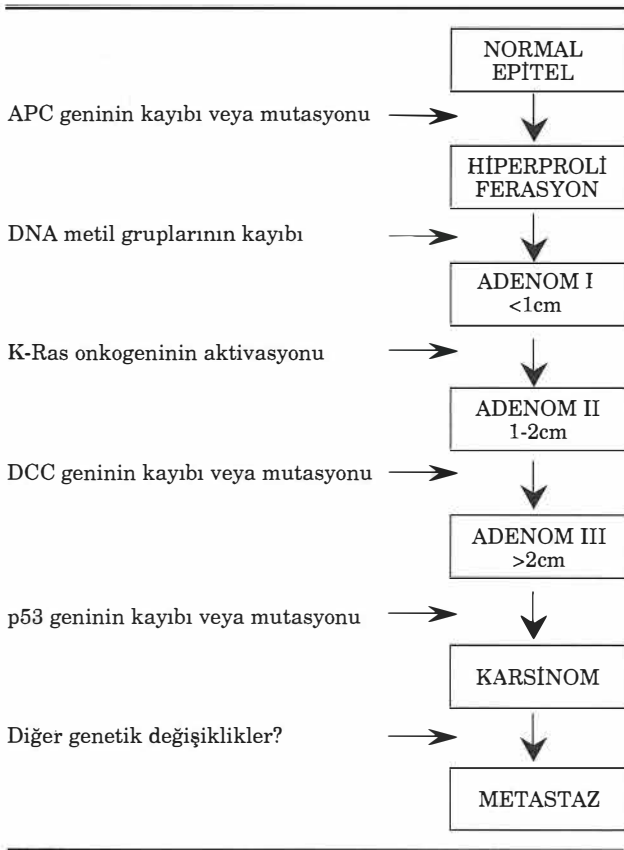
süreci içerisinde hücre siklusunun kontrolünde ve hücre çoğalmasında rol oynarlar. Bu genler tümör gelişiminde resesif etkiye sahiptirler (9,13).

Genetik değişiklikler sebebiyle proto-onkogenlerin aktif hale geçmeleri ve tümör süpresör genlerin de inaktif hale geçmeleri sonucu, hücre büyümesinin kontrolü sağlanamamakta, hücre diferansiasyonu ve programlı hücre ölümü (apoptozis) olmamakta ve sonuçta tümör gelişmektedir (9,13,17).

Kolon kanserindeki bazı genetik değişiklikler Tablo 1'de gösterilmiştir (13).

Bugüne kadarki yapılmış olan birçok in vitro ve hayvan deneylerinde RAS adı verilen bir proto-onkogene rastlanmıştır. Ras gen ailesi K-ras, H-ras, ve N-ras olmak üzere üçe ayrılır. Ras geni 12. kromozom üzerinde yer alır ve 21kD'luk bir proteini kodlar. Bu protein hücre membranından stoplazmaya doğru sinyal iletiminde çok önemli bir role sahiptir (9,18). Yaklaşık olarak kolorektal tümörlerin %70'inde ve 1cm'den büyük adenomaların %50'sinde, 1cm'den küçük adenomaların ise %10'unda Ras gen mutasyonları tespit edilmiştir (19-22). Ras gen mutasyonları 12,13 ve 61. kodonlarda olmaktadır. Mutasyonların yaklaşık %88'i K-ras geninin 12. kodonunu tutarlar. N-ras genindeki mutasyon frekansı çok düşük ve H-ras mutasyonları ise kolon kanserinde tespit edilmemiştir. Ayrıca kolitis ülserozada da %24 oranında Ras gen mutasyonları tespit edilmiştir (13). HNPCC'de ise K-Ras geninde %61 oranında nokta mutasyonları tespit edilmiştir (19,23).

Kolon kanserinde Ras geninden başka diğer onko-

Tablo 2. Kolon kanserinin oluşum modeli (13)

genlerdeki mutasyon oranı myc geninde %2, myb geninde %9, erb-B geninde %4, ve src geninde ise %62'dir (24,26).

Familiyal Adenomatöz Polipozis (FAP)'ten sorumlu olan APC geni bir tümör süpresör genidir. FAP'ta 5. kromozom üzerinde yer alan bu genin mutasyonu söz konusudur (13,27). APC geninin ürettiği proteinin fonksiyonu hakkında çok az bilgiye sahip olmamıza rağmen APC geninin ürettiği protein ile hücre adezyon molekülü olan E-cadherin ve bununla bağlantılı alfa ve beta-catenin'in ilişkisi saptanmıştır (28,29). APC geninin ürettiği protein ile mikrotubuluslar arasında da bir ilişki saptanmıştır (30,31). Bu araştırmalar APC ile tümör invazyonu ve metastaz arasında bir ilişki olabileceğini akla getirmektedir.

Bir diğer tümör süpresör gen ise Mutated in Colorectal Cancer (MCC)'dir. MCC geni APC geni gibi 5. kromozom üzerinde yer alır ve 150 kbp'lik bir protein üretmektedir. Kolon kanserinde MCC gen mutasyonları %15 oranındadır (9,13,32). MCC geninin fonksiyonu ile APC geninin fonksiyonu arasında birçok benzerlik olduğu tahmin edilmektedir.

Diğer bir tümör süpresör gen ise p53'tür. 17. kromozomun kısa kolu (17p13) üzerinde yer alan bu gen, 393 aminoasitten oluşan bir proteinin yapısında sorumludur (9,33). p53 genindeki delesyon ve mutasyonlar kolon kanserinin dışındaki birçok kanserde de tespit edilmiştir. p53 geninin biyolojik etkileri ilk olarak son yıllarda anlaşılmıştır. Bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapan p53 geni programlı hücre ölümü olan apoptozis ve hücre proliferasyon programı çerçevesinde DNA tamir programı sürecinde etkilidir (13,23). p53 geni ultraviyole ışınlarına maruz kalma, çeşitli kemoterapi ilaçları, gama radyasyon gibi hücreye zarar veren durumlarda aktif hale geçerek DNA'yı tamir sürecini başlatır, veya DNA tamir edilir ya da hücre apoptozise gider (9). Bu gendeki bir delesyon veya mutasyon DNA'nın tamir edilememesine ve genetik değişikliklerin yavru hücreye aktarılmasına ve sonuçta tümör gelişimine neden olurlar. Kolon kanserinde p53 gen mutasyonu ve/veya delesyonu sık görülmektedir. Moleküler biyolojik olarak incelenen kolon kanserlerinin %75'inde bir p53 allel kaybı tespit edilmiştir (9,13,15,17,23,34,35).

Diğer bir tümör süpresyon geni olan Deleted in Colon Cancer (DCC) 18. kromozomun uzun kolu olan (18q21) üzerinde yer alır (36). Kolorektal tümörlerin %70'inde ve 2cm'den büyük adenomların da %50'sinde DCC gen mutasyonlarına rastlanmıştır. Allel kayıpları ise ancak 2cm'den küçük adenomlarda gösterilmiştir (19). DCC geninin ürettiği protein, nöronal hücre-adezyon proteini (NCAM) ile homologtur. NCAM hücreler arası ilişkide ve hücre ile ekstraselüler matrix ilişkisinde çok önemli bir role sahiptir (15,36,37). Bu sonuçlarla bağlantılı olarak DCC geni ile kanser invazyonu ve metastaz arasında ilişki olabileceği akla gelmektedir.

KOLON TÜMÖRLERİNİN OLUŞUM MODELİ

Normal bir hücre birçok aşamalardan geçtikten sonra içerdiği genetik materyalin mutasyonlar, delesyonlar ve insersiyonlar sonucu değişikliğe uğramasıyla kanser hücresine dönüşmektedir. Bu genetik değişiklikler onkogenlerin aktif ve tümör süpresyon genlerinin de inaktif hale geçmesini sağlar. Bu süreç için kolonun normal epitelinden metastaza kadar süren bir tümör progresyon modeli geliştirilmiştir (15). Bu model Tablo 2'de gösterilmiştir (13,15). Kolon kanserinde ilk aşama normal epiteliden hiperproliferatif faza geçiştir. Kolon epitelinde proliferasyon mukoza kriptlerinin 1/3'lük yukarı kısmından başlar. Bu proliferasyonun nedeni tam olarak bilinmemektedir (38). Bu aşamada yaklaşık olarak %30 oranında 5. kro-

mozomda yer alan APC gen mutasyonu ve aynı aşamada DNA hipometilizasyonu tespit edilmiştir. Bu hipometilizasyonun sebebi DNA-metiltransferaz enziminin yüksek düzeyde olmasıdır ve bu yüksek enzim aktivitesi kolon kanserli hastalarda tespit edilmiştir (15). Aynı şekilde 0.5 cm'den büyük erken dönem adenomlarda ve hiperprolifere epitelde yaklaşık olarak %60 oranında APC gen mutasyonları ve allel kayıpları tespit edilmiştir (13,15,39).

Hiperprolifere epitel ve erken adenom, benign lezyonlar oldukları için bu aşamada hafif veya orta derecede displazi söz konusudur. Bazı polipler vardır ki bunlarda yüksek derecede displazi vardır. Bu aşamada proto-onkogenlerin özellikle Ras geninin önemli bir rolü vardır. Erken adenomlarda K-Ras mutasyonları hiç bulunmadığı halde, displazi derecesi yüksek olan poliplerde ise sıktır (17,19). Yaklaşık 1cm'den küçük poliplerde Ras mutasyon oranı %10 iken, 1cm'den büyük ve displazi derecesi yüksek olan poliplerde ise %50 oranındadır (12,23).

KAYNAKLAR

1. Boring, CC, Squires TS., and Tong, T.: Cancer
2. Güller R.: Kolon Rektum Karzinom: Screening und Prävention. Schwetz. Med. Wochenschr. 1994; 124: 461-467.
3. Burt, RW and Samowitz, WS.: The adenomatous polyp and the heredity polyposis syndromes. Gastroenterol. Clin North America. 1988; 17: 657-678.
4. Friedl, W. (1994) Familiäre adenomatöse polyposis. Deutsches Aerzteblatt. 1994; 3: 128-130.
5. Aaltonen, LA., Peltomäki, P., Leach FS, Sistonen, P, Pylkkanen, L, Mecklin, JP, Jarvinen, H, Powell, SM, Jen J, Hamilton SR, Petersen, GM, Kinzler, KW., Vogelstein, B, da la Chapelle, A. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. Science. 1993; 260: 812-816.
6. Silverman AL, Desai TK, Dhar R, Ehrinpreis MN, Kinzie JL and Luk GD.: Clinical features, evolution and detection of colorectal cancer. Gastroenter. Clin. N. Am. 1988; 17(4): 713-725.
7. Spurr NK: Molecular genetic approaches to the analysis of colorectal cancer.: Bailliere's Clinical Gastroenterology. 1990; 4(1): 171-189.
8. Hamilton SR.: The molecular genetics of colorectal neoplasia. Gastroenterology. 1993; 105: 3-7.
9. Kelly, MJ and Johnson BE.: Genetic mechanisms of solid tumor oncogenesis. Advances in Internal medicine. 1994; 39: 93-117.
10. Kinzler, KW, Nilbert MC, Su LK, Vogelstein B, Bryan T.M.: Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. Science. 1991; 253: 661-665.
11. Groden J, Thliveris A, Samowitz W and Carlson M.: Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. Cell. 1991; 66: 589-600.
12. Miyaki M, Seki M, Okamoto M, Yamanaka A, Maeda Y and Koike M.: Genetic changes and histopathological types in colorectal tumors from patients with familial adenomatous polyposis. Cancer Res. 1990; 50: 7166-7173.
13. Fearon E.R.: Molecular genetic studies of the adenoma-carcinoma sequence. Advances in Internal medicine. 1994; 39: 123-148.
14. Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF., Watson P., Lynch H.T., and Boyd J.: Genetic instability of microsatellites in endometrial carcinoma. Cancer Res. 1993; 5100-5103.
15. Hahn S.A., Kern S.E. and Schmiegel W.H.: Molekularbiologische Veränderungen bei gastrointestinalen Tumoren. Deutsches Aerzteblatt. 1995; 92: 137-143.
16. Walter E and Lüthy R.: Molekularbiologie in der hepatogastroenterologie und infektologie. Internist. 1994; 35: 155-162.
17. Brach M.A., Scott C, Belka C and Hermann, F.: Molekulare Grundlagen der Tumorentstehung. Dtsch. med. Wschr. 1995; 120: 73-79.
18. Barbacid M.: Ras genes. Annu. Rev. Biochem. 1987; 56: 779-827.
19. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR and Carren SE. Genetic alterations during colorectal tumor development. N. Eng. J. Med. 1988; 319: 525-532.
20. Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR and Vogelstein B.: Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancer. Nature. 1987; 327: 293-297.
21. Bos J.L.: Ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer Res. 1989; 49: 4682-4689.
22. Forrester K., Almoguera C, Han K, Grizzle WE and Perucho M.: Detection of high incidence of K-ras oncogenes during human colon tumorigenesis. Nature. 1987; 327: 298-303.
23. Dippold W.: Endogene und exogene Faktoren der Tumorentwicklung und Zelldifferenzierung bei gastrointestinalen Tumoren. Z. Gastroenterol. 1993; 31: 24-27.
24. Meltzer SJ, Ahnen DJ, Battifora H, Yokota J and Cline M.J.: Proto-oncogene abnormalities in colon cancers and adenomatous polyps. Gastroenterology. 1987; 92: 1174-1180.
25. Cartwright C.A., Kamps M.P and Meister A.I.: pp60 c-src

- activation in human colon carcinoma. *J. Clin. Invest.* 1989; 83: 2025-2032.
26. Tal M, Wetzler M, and Josefberg Z.: Sporadic amplification of HER2/neu proto-oncogene in adenocarcinomas of various tissues. *Cancer Res.* 1988; 48: 1517-1520.
 27. Scott N, and Quirke, P.: Molecular biology of colorectal neoplasia. *Gut.* 1993; 34: 289-292.
 28. Rubinfeld B, Souza B, Albert I, Müller O, Chamberlain SH, Masiarz F.R., Munemitsu S and Polakis P.: Association of APC gene product with beta-catenin. *Science.* 1993; 262: 1731-1734.
 29. Su L.K., Vogelstein B and Kinzler K.W.: Association of the APC tumor suppressor protein with catenins. *Science.* 1993; 262: 1734-1738.
 30. Munemitsu S, Souza B, Uller O, Albert I, Rubinfeld B and polakis P.: The APC gene product associates with microtubules in vivo and promotes their assembly in vivo. *Cancer Res.* 1994; 54: 3676-3681.
 31. Smith K.J., Levy D.B., Maupin p., Pollard T.D., Vogelstein B and Kinzler, K.W.: Wild-type but not mutant APC associates with the microtubule cytoskeleton. 1994; 54: 3672-3675.
 32. Kinzler K.W., Nilbert M.C., and Vogelstein B.: Identification of a gene located at chromosome 5q21 that is mutated in colorectal cancer. *Science.* 1991; 251: 1366-1369.
 33. Baker S.J., Preisinger A.C., Jessup J.M and Vogelstein B.: p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res.* 1990; 50: 7717-7722.
 34. Baker S.J., Fearon E.R., Nigro J.M. and Vogelstein B.: Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science.* 1989; 249: 217-221.
 35. Kim H., Jen J., Vogelstein B and Hamilton S.R.: Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *American J. Pathol.* 1994; 145: 148-156.
 36. Fearon E.R., Cho K.R., Nigro J.M. and Ruppert J.M.: Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science.* 1990; 247: 49-56.
 37. Edelman G.M.: Morphoregulatory molecules. *Biochemistry.* 1988; 27: 3533-3543.
 38. Boland C.R.: The biology of colorectal cancer. *Cancer Supplement.* 1993; 71(12): 4180-4186.
 39. Powell S.M. Zilz N., Beazer-Barkly Y., Brayn T.M., Hamilton S.R., Thibodeau S.N., Vogelstein B. and Kinsler, K.W.: APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature.* 1992; 359: 235-237.
 40. Shirasawa S.: Analysis of molecular mechanisms in colorectal tumorigenesis. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 1993; 84: 25-35.