Over Kanserinde Sıcak Şok Proteinleri (HSP) ve Progesteron Reseptörleri (PR)

Sibel Akyol

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Over kanserinde sıcak şok proteinleri (HSP) ve progesteron reseptörleri (PR)

Sıcak şok proteinleri (Heat Shock Protein, HSP), proteinlerin birbiriyle etkileşimini sağlayan, iç etkileşimde denge rolü oynayan, protein yapılarını modifiye eden, güçlü sitokin benzeri fonksiyonları olduğu düşünülen yapılardır.

İmmun sistemin hastalıklı hücreleri tanıyabilmesi için, HSP'le intraselüler (hafıza depoları ve red flag hücreleri oluşturarak) ve ekstraselüler (danger signal vererek) immun cevaplar oluştururlar.

HSP'ler molekül ağırlıklarına göre gruplara ayrılırlar. Küçük HSP'ler olarak adlandırılan HSP 27,60, 70 ve 90 ile malign tümörlerin değişik tipleri arasında bağlantılar gösterilmiştir. HSP'nin aktivasyon faktörleri (AF) ile etkileşiminde, steroid hormon reseptörleri (progesteron reseptörü, PR) özellikle HSP90 içeren, HSP'lerle kompleks oluştururlar. Progesteron reseptörleri (PR) ile HSP fonksiyonları arasındaki ilişkinin bozulması, gen aktivasyonunu bozarak malign yapıların oluşumuna etki eder. Kanserde HSP ler hala sır niteliğindedir. Kanser çeşidine göre aynı HSP'nin etkisi kötü prognoz veya iyi prognoz şeklinde gelişmektedir. HSP tayini, kanserin teşhisi, tedavisi ve önlenmesinde büyük fayda sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Sıcak şok proteinler, immunsupresyon, kanser, progesteron reseptör, CD3 zeta

ABSTRACT

Heat shock proteins (HSP) and progesterone (PR) receptors in ovarian cancer

Heat shock proteins (HSP), are structures thought to have functions similar to those of strong cytokines, which govern interactions between proteins, maintain balance in these interactions and modify their structure.

HSP's identify immune system disease cells intracellularly by developing memory storages and red flags and extracellularly by sending danger signals. HSP's are classified into two groups according to molecular weight. The small HSP's, denoted as HSP 27, 60, 70 and 90 have been found to bind to various types of malignant tumors. Interactions with HSP activation factor (AF) have been found to cause steroid hormone receptors i.e. progesterone receptors (PR) to form complexes with HSP's especially those containing HSP90. Any breakdown in the relationship between progesterone receptors (PR) and HSP, by impairing gene activation affects the formation of malignant growths. The role of HSP's in cancer is still a mystery. The same HSP can, according to cancer type, lead to positive or negative prognoses.

Key words: Heat shock proteins, immunosupression, cancer, progesterone receptor, CD3 zeta

Bakırköy Tıp Dergisi 2009;5:83-91

GİRİŞ

İnsan vücudunda mutasyonla farklı yapıda hücreler oluşmaktadır. Organizmaya yabancı olan bu hücrelerin temizlenmesinde immün denetim mekanizması aktif rol oynamaktadır.

İmmün sistem tümör oluşumunu denetlemekte, tümör hücrelerine ve antijenlere karşı immün cevap oluşturmaktadır. Vücuttaki hücrelerin "immün denetimden" çıkıp vücudun diğer bölümlerine bağımsız ve kontrolsüz yayılımı ile hücresel immün cevapların baskılanması kanser oluşumunu tetiklemektedir (1).

Günümüzde kanser tedavisinde çok önemli gelişmeler olmasına rağmen, uygulanan tedavi yöntemlerine direncin gelişmesi klinik olarak hastalığın ilerlemesine ve tekrarlayan tümörlerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu durum oluşan direncin immün sistem tarafından yok edilmesini amaçlayan immünolojik çalışmaları gündeme getirmektedir (1,2,3).

Klasik olarak immün sistem iki temel kısımdan oluşmaktadır:

a- Doğuştan gelen savunma mekanizmaları (Innate Immune System-Doğal İmmün Sistem): Deri, mukoza, gözyaşı gibi fiziksel bariyerler ile nonspesifik savunma hücrelerini (makrofajlar, NK hücreleri) içeren sistemdir (2,3).

b- Sonradan gelişen immün savunma mekanizmaları (Acquired Immune System-Spesifik İmmün Sistem): Do-

Yazışma adresi / *Address reprint requests to*: Dr. Sibel Akyol
İÜ, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, İstanbul-Türkiye
Telefon / *Phone*: +90-212-414-3000/21610
Elektronik posta adresi / *E-mail address*: sibelakyol@gmail.com
Geliş tarihi / *Date of receipt*: 28 Temmuz 2009 / July 28, 2009
Kabul tarihi / *Date of acceptance*: 2 Ağustos 2009 / August 2, 2009

ğumla birlikte gelişmeye başlayan immün sistem, antijenlerle karşılaştıkça eğitilerek kendi kendine savunma mekanizması geliştirmeye başlar. Bu öğrenilen bilgiler kazanılmış (spesifik, acquired) immün sistemde fonksiyonel hale getirilirler.

Adaptif immün sistemin hücresel (spesifik) ve humoral mekanizmaları, kanser tedavisinde tümör hücrelerinin kontrolünde kullanılmaktadır (2,3). Ancak T hücreler ve subgruplarının fonksiyonları tümör kontrolünde rol oynayan en önemli immün sistem mekanizmasını oluşturmaktadır.

T hücre aktivasyonunda;

1- MHC antijenleri,

2- Antijen sunan hücre (APC) sistemi,

3-İmmün sitokin yanıtları temel rol oynayan faktörlerdir.

1- MHC antijenleri 3 tiptir;

a- MHC-I: 8-9 aminoasitlik intraselüler antijenlerin CD8 T- lenfositlere sunulmasını sağlayan moleküllerdir.

b- MHC-II: 12-15 amino asitlik ekstraselüler antijenlerin CD4 T-lenfositlere sunulmasında rol oynayan moleküllerdir.

c- MHC-III: Heat-shock proteinler (özellikle HSP-70 tümör dokusunda fazlaca ekspresse edilmekte ve bu nedenle aşı çalışmalarında kullanılmaktadır), TNF-α gibi immünolojik olarak aktif moleküllerdir (3,4).

2- Antijen sunan hücre (APC) sistemi;

Bu sistem içinde monositler, makrofajlar, granülositler, endotel hücreler yer almaktadır. Bu sistem içinde dentritik hücreler (DH) diğerlerinden tümü ile farklı yapıya sahiptir. Çünkü aktiviteleri diğer APC'den 100 kat daha hızlıdır (3,4,5).

3- İmmün sitokin yanıtlar, temelde 3 tiptir;

a- Th1 sitokin yanıt: IFN-γ, IL-2, IL-12 kombinasyonundan oluşmaktadır ve hücresel immünitenin uyarılmasını ve T-lenfositlerin, özellikle de sitotoksik T-lenfositlerin aktivasyonunu sağlamaktadır.

b- Th2 sitokin yanıt: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 aracılığı ile gelişmektedir ve humoral immünitenin uyarılmasını indüklerken sitotoksik yanıtı baskılar.

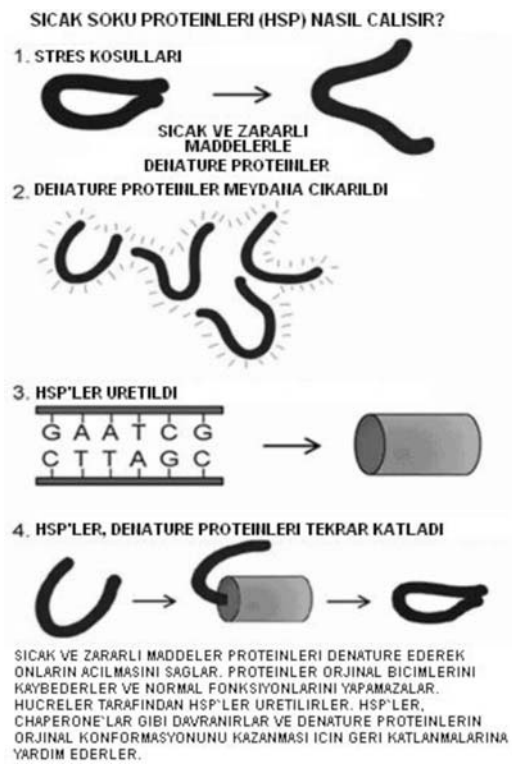
c- Th3 sitokin yanıt: IL-10 ve TGF-ß kombinasyonunu tanımlar güçlü immünosupressif özellik gösterir (5,6).

Yapılan son çalısmalarda, kanserde immün sistemin tümör gelisimini günlük olarak kontrol altında tuttuğu, ancak immün sistemdeki geçici zayıflamanın tümör hücrelerinin yayılmasına neden olduğu, tümör hücrelerinin salgıladığı Th2 ve Th3 tip sitokinleriyle immün sistemi tümöre karşı baskıladığı gösterilmiştir (5,6). Zayıflayan immün sistemden kendini değişik mekanizmalarla gizleyen tümör hücreleri, hızla çoğalmaya devam etmektedir. Tümör kontrolünde, T hücre aktivasyonu ve saldırılarında rol oynayan faktörler arasında Heat-shock proteinleri (HSP) immünolojik olarak en aktif moleküller olarak kabul edilmektedir (6,7).

SICAK ŞOK PROTEiNLERi (HSP-Heat Shock Protein)

Sıcak Şok Proteinleri (HSP) aşırı sıcaklık, oksijen yetmezliği gibi değişik stresler altında sentezlenirler. HSP'ler molekül ağırlıklarına göre adlandırılan bu proteinler, ilk kez yüksek ısıya maruz kalan hücrelerde bulunduklarından "sıcak şoku proteinleri (HSP)" denmiştir (7,8).

HSP'ler değişik protein gruplarını destekleyen, fiziksel ve kimyasal streslerden hızlı etkilenen proteinlerdir. HSP'ler, protein moleküllerinin gerekli zamanda gerekli şekilde bulunmalarını sağlayarak, diğer proteinlerin birbiriyle etkileşmesini ve yapılarını modifiye eden yaygın "molecular chaperonelar" gibi davranırlar (9).



Şekil 1: HSP'lerin çalışma mekanizması

Genellikle sitoplazmik proteinler olup, değişik hücre içi süreçlerde fonksiyon yaparlar. HSP'ler katlanarak uygun ve uyumlu protein oluşmasına yardımcı olurlar ve aynı zamanda proteinlerin çökmesine engel olarak proteinlerin kendi iç etkileşimlerinde denge rolü oynarlar. Strese karşı cevabın oluşmasına neden olan HSP'lerin bulunması, denatüre proteinlerin birikimi ile olmaktadır (8,9).

HSP'lerin aktivasyonu, proteinlerin denatürasyonu, çökmesi, fonksiyonel uyum dengelerinin değişmesi, sıcak şoku, oksidatif stres ya da proteinlere zarar veren sebeplerle yapılarının bozulması ile olmaktadır (Şekil 1) (10,11).

HSP'ler proteinlerin fonksiyonel olabilmeleri için doğru şekilde katlanmalarına yardım ederler. HSP'ler proteinleri, hücre bölümleri arasında "shuttle" gibi taşırlar ve eski proteinleri hücre içindeki "çöp alanları (garbage disposals)" na ulaştırırlar. Son yapılan çalışmalarda immün sistemin hastalıklı hücreleri tanıyabilmesi için, HSP'lerin protein veya peptid parçalarının hücre yüzeyinde sergilemesi gerektiği vurgulanmaktadır (9,10,11).

HSP'ler immün cevabın oluşumunda nasıl rol oynarlar?

Hücre içindeki (intracellular) ve hücre dışındaki (extracellular) immün cevapları tetiklerler (12).

1-Hücre içindeki (intracellular) faaliyetler: HSP'ler normal hücre içindeki fonksiyonlarını (proteinlerin katlanmasına yardım etmek, deforme proteinlerin atılımını sağlamak vs.) yerine getirerek, son evrede hücredeki bütün proteinleri bağlarlar. Yani herhangi bir zamanda büyük bir peptide bağlanmış HSP'ler bulunabilir. Bu peptid çeşidi bütün hücrelerin "memory storage (hafıza deposu)" veya "kütüphanesini" oluşturmaktadır. Bu hafıza depoları hem bütün hücrelerin, hem de hastalarda bulunan anormal hücrelerin bilgilerini içerirler (13).

Son yapılan araştırmalarda HSP'lerin, peptidleri alıp başka moleküllere teslim ettiği gösterilmiştir. Bu moleküller sadece hasta hücrelerde bulunan antijenik peptidleri hücrenin içerisinden alıp hücre yüzeyine götürmektedir. Antijenik peptidler bu şekilde hücre yüzeyinde sergilendiğinde "kırmızı (uyaran) bayrak (red flag)" gibi olup, hücrenin hastalanmış olduğunu bildirirler (13,14).

2-Hücredışı (Ekstraselüler) faaliyetler: Ekstraselüler HSP' lerin oluşması, immün sistemin uyarılması ve saldırıya geçmesi için en önemli "tehlike sinyali (danger signal)" olarak kabul edilmektedir. HSP ler, hücre dışında aktive olduklarında hücrenin programlanmamış bir şekilde parçalandığı, içeriğinin boşaldığı ve o bölgenin nekroze olduğu anlaşılmaktadır (12,13,14).

HSP'lerin subgrupları:

Bütün hücrelerin yakınında bulunan, yüksek koruyucu özellikli HSP'ler, moleküler ağırlıklarına göre gruplara ayrılmaktadır. Küçük HSP'ler; HSP 27, HSP 60, HSP 70 ve HSP 90'ı içerir. Malign tümörlerin değişik tiplerinin zayıf prognozu ile HSP 27, HSP 70 ve HSP 90 gibi küçük HSP'lerin ekspresyonu arasında hücresel fonksiyonların temelini oluşturan bağlantılar olduğu gösterilmiştir (15,16).

HSP 70, hücre döngüsü, protein translokasyonu, proteoliz ve protein katlanması, çökmenin inhibisyonu ve denatüre olmuş proteinlerin tekrar aktive olması gibi işlemlerde rol oynamaktadır. HSP 70 aktivitesi chaperone koaktivitesiyle düzenlenmekte olup, sıcak çarpması ya da şiddetli travmaya maruz kalanlarda HSP 70 seviyelerinin artmış olduğu bilinmektedir.

HSP 90, yüksek ısılarda oligomerik şekilde artan bir aktiviteye sahip, hedef proteinle kompetitif fazda etkileşen, moleküler chaperone olarak tanımlanır. Fonksiyonları bivalan katyon konsantrasyonuna hassastır. HSP90, hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde, çok sayıdaki hücresel kinazın kompleks formu oluşturmasında, transkripsiyon faktörlerinin oluşmasında, diğer moleküllerle çok yönlü bağlantıda rol oynar. HSP 90, aynı zamanda HSP 82, HSP 83 ve HSP 89 olarak da bilinir. İnsanlarda, sitozol içersinde HSP 90α ve HSP 90ß olmak üzere izoformu vardır. Her iki iziform da stresle uyarılmakta ve aktivitelerinde bir farklılık gözlenmemektedir. HSP 70 ve HSP 90 hücre içerisinde düzenleyici proteinlerle etkileşimde anahtar rol oynarlar (17,18,19).

HSP 28, 40, 70 ve 110 genleri, streste etkili mRNA stabilizasyonu ve selektif mRNA çevriminde etkili bir mekanizma oluşturur ve stres sonrası dominant hale gelir (20). HSP 10 ve HSP 60, protein katlanmasına aracılık eden ve kofaktörleri içeren multiprotein komplekslerdir.

HSF GEN AiLESI (Sıcak şoku transkripsiyon faktörü-hsf)

Yapılan çalışmalarda Hsf'lerle birlikte hücrelerde sıcağın neden olduğu çok sayıda HSP'lerin varlığı gösterilmiştir. Hsf'ler 3 subgrup içermektedir. Bunlar:

1. Sıcak şoku transkripsiyon faktörü 1 (hsf 1) (sıcak soku cevabının moleküler koordinatörü)
2. Sıcak şoku transkripsiyon faktörü 2 (hsf 2) (daha az karakterize edilmiş olan ikinciyi)
3. Sıcak şoku transkripsiyon faktörü 4 (hsf 4)'üdür (15,16).

HSP VE SİTOKİN FONKSİYONU

HSP'lerin peptid bağlama nitelikleri, antijenlere ve chaperone (şaperon) fonsiyonlarına bağlıdır. Son yıllarda yapılan araştırmalara göre HSP'lerin peptide bağlanmaktan bağımsız olarak sitokin gibi güçlü fonsiyonları da olabileceği düşünülmektedir.

HSP 60, HSP 70, HSP 90 gibi HSP'lerin ve bir çok organizma (bakteri, rekombinant bakteri, memeli ve insan) ürünlerinden oluşan gp 96'in çok güçlü immun sistem aktivatörleri oldukları gösterilmiştir (21,22,23). Bu tür HSP'yi içeren maddeler, tümör nekroz faktör (TNF)-α, interlökin IL-1, IL-6 ve IL-12 gibi proinflamasyona neden olan sitokinlerin üretimini arttırdıkları gibi monositler, makrofajlar ve dendritik hücrelerden nitrik oksid (NO) ve C-C kemokinlerin salgılanmasına neden olurlar (21,22).

HSP'ler dendritik hücrelerin olgunlaşmasına neden olurlar. Bu davranış MHC Klass I ve II'nin moleküllerinin ve CD 86, CD 40 ve benzerlerinin up-regülasyonu tarafından gösterilmektedir. Yapılan son çalışmalarda HSP'lerin hem moleküler chaperone, hem de sitokin olarak çift fonksiyonunu adlandırmak için "chaperokin" ifadesi kullanılmaktadır (23).

Ayrıca HSPlerin sitokin etkilerinin CD14/Toll-gibi reseptörler aracılığı ile olan (hem TLR2 hem de TLR4) kompleks sinyal yollarının bulunduğu gösterilmiştir. Bu yolun uyarılmasıyla Nükleer faktör-kappa B (NF-κB) ve mitojen olarak aktiflendirilmiş protein kinazlar (MAPKs), yani ERKs (p42 ve p44 ekstraselüler sinyallerle denetlenen kinazların), JNK (c-Jun NH2-terminal kinaz) ve p38 kinazın aktive olmaktadır (22,23,24). CD14 ve TLR reseptör kompleksleri, doğal immun sistemde rol oynayan reseptörlerdir. Görevleri patojeni tanımak ve konakçıyı savunmaktır (25,26).

Bir lipopolisakkarid (LPS) olan CD14, bir glikofosfatidil inositol (GPI) membran proteinine sıkı bağlanmış olan, transmembran veya intraselüler bölgesi olmayan bir reseptördür (27).

TLR (tool like receptor)'ler Tip 1 transmembran protenleridir. IL-1 reseptörlerine (IL-1R) benzer lösin aminoasidinden zengin tekrarlayan bölgeler ve sitoplazmik alanlar içeren ekstraselülar yapıya sahiptirler (26).

Adaptör protein olan MyD88 (myeloid differentiation protein 88) Toll/IL-1R homologu olan TIR aracılığıyla bağlanır. Terminal bölgedeki COOH molekülüyle IL-1 reseptör bağlantılı kinaz kompleksi (IRAK) ile birleşir (28). Sonra IRAK otofosforile olup kompleksten çıkarılır. TRAF 6'yı (TNF receptor associated factor 6) bağlar, bu bağlanma sonucunda NF-κ, ß ya da MAPK ları aktive eder (26). CD14 ve MD2 TLR4 yardımcı proteinleri, LPS'e cevap verecek sinyal kaskadlarını tetikler ancak TLR2, bakteriyel lipoproteinler, Gram-pozitif bakteriler, maya ve spiroketlere cevap veren sinyal basamaklarını tetikler (26,29,30).

Doğal immun sistem aktivasyonunda HSP'lerin yeri çok geniş biyolojik araştırmalarla vurgulandı. Proinflamatuar sitokinlerin otoimmun hastalıklarda ve kronik inflamasyon patogenezinde HSP60 ve HSP70'in etkisinde olabileceği gösterildi (31).

HSP ve Aktivasyon Faktörlerinin Fonksiyonu

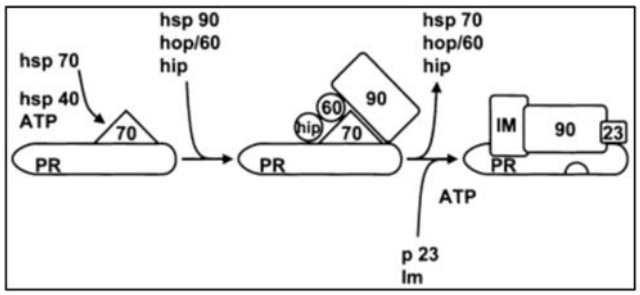
PR (Progesteron Reseptörü) transkripsiyonel düzenleyici protein ailesinin ilk örneğidir. Progesteron aktivasyonunda hedef genin mRNA seviyesinin düzenlenmesi birincil derecede önemlidir. RNA transkripsiyonu, progesteron fonksiyonlarında karmaşık bir etkileşim serisi olup, hormonların ilgili reseptörlere bağlanmasıyla başlar. Bu reseptörler homodimer ya da heterodimer yapıdadır. Ligandın sınırlandırılmasıyla HSP 90,70 ve 20 salınımı olur. Reseptör komplekleri HSP 40,70 ile Hop ve Hip chaperonlarını kapsar (Şekil 2) (32,33,34).

Progesteron yokluğunda, progesteron reseptörleri fonksiyonel olarak inaktif olup, chaperon proteini HSP 90 ile birlikte bulunurlar. Steroid reseptörlerin inaktif durumda bulunması ile HSP 90'ın chaperone fonksiyonu başlar (32).

Progesteron reseptörlerinin aktivasyonu ise karboksil içeren ucuna aktivasyon fonksiyonu 2 (AF-2)'nin bağlanması ile olur. Bu etkileşim, HSP90 salınımını da içeren moleküler sınırlamaları değiştirerek düzenlenir. Chaperone proteinlerinin ve koreseptor proteinlerin salınımını olduğu kadar, ko-aktivatör proteinlerin salınımını da etkileyen bu değişiklikler DNA'ya bağlı bölgeye giriş iznini de artırır. Aktif PRG reseptörünü stabilize eden HSP 90 sentezi, hücre içi konsantrasyonun artması, çevresel faktörler ve stres tarafından etkilenir.

HSP90'ın daha yüksek konsantrasyonlarının genelde seks streoidlerine bağımlı transkripsiyonu baskıladığı görülmektedir (9,17).

HSP90'nın bağlanacağı çok sayıda reseptör olmasına rağmen, HSP90'ın bağlanma süreci bunlardan sadece birkaçı ile uyumludur. Bu çoklu protein sürecidir. PR'ın ilk tanınması HSP40 ve HSP70 ile olup, her ikisi de PR'u bağlayarak HSP30 tarafından yapılan ATP hidrolizi de içeren ortak bir adımda yer alır (32,33). Bu ise geniş bir protein kompleksinin montajına ve orada HIP ve p60/Hop, HSP70 ve HSP90'a



Şekil 2: HSP90'nın progesteron reseptörüne bağlanma modeli (34).

bağlanarak p60/Hop ile etkileşim için toplanmasına neden olur. Son adımda, Hip ve p60/Hop'un kaybı, HSP70'ın fazlasının ve iki HSP90 bağlayan proteinin (p23 ve immunophillin proteinlerinin) toplanması gerçekleşir. Bu adımda HSP90 ile ATP nin etkileşimi gerekli olup, uyumlu değişikliklerle aktif hormon bağlanım bölgesinde bir PR üretilir (34,35). Bu kompleks dinamik olup devamlı bir yapılanma ve parçalanma halindedir. Hormon bağlanım bölgesinde PR, chaperone düzeneği tarafından tanınmamak için uyumlu bir birleşik oluşturur. HSP90 seviyeleri kısmi olarak bağlanan sıcak şoku faktörü-1(HSF) aracılığı ile düzenlenir. HSF, normalde HSP90'a bağlı bir transkripsiyon faktörü olup inaktiftir. Stres şartlarında HSF, HSP90'dan ayrılıp, proteinkinaz tarafından fosforlanarak trimer formunu alır. HSP90 ve diğer HSP genlerinin destekleyici bölgesi içersinde şok elementlerini bağlamak için çekirdeğe girer (15,16,34).

HSF'nün ayrıca fosforilasyonundan sonra HSP90 mRNA transkribe olup çekirdeği bırakarak yeni HSP90 chaperone kompleksinin monte olduğu sitozole girer. Steroid hormon reseptörleri HSP90 bağımlı işaret yolunun en iyi karekterize edilmiş örneğidir. Steroid hormon reseptörleri, HSP90'da içeren HSP' lerle birlikte bir kompleks olarak bilinir. HSP90, steroid hormon sentezine gereksinim göstermezse de, hormona bağlanma yetkinliği uyumunda reseptörün korunması gereklidir (32,33).

Geldanamycin (GA), HSP90 kompleksinin bozulmasına aracılık ederek, ileri evrede ligand bağlayan hormon reseptörlerinin korunması ile ilgili komplekslerin oluşumunu engeller (10,11). PR'larda HSP90 fonksiyonlarının ilaçların etkisiyle bozulması, yüksek affiniteli hormon bağlanma aktivitesinin ve ligandların neden olduğu gen aktivasyonunun hızla kaybolmasına neden olur (33,34).

Kanserde bulunan, hücrelerarası ve membrana bağlı olan HSP'ler

Hücrelerarasında bulunmayan molekuler ağırlığı 60, 70 ve 90 (gp96) kDa olan HSP'ler, malign haline getirilmiş hücrelerin plazma membranında ve hücreler arasında bulundu (13,36). İlk olarak, hem HSP90 hem de HSP70 peptid komplekslerin adaptif immun sistemlerine çok güçlü stimulasyon etkisine sahip olduklarını gösterdi. HSP-chaperonlu peptidler, monosit, makrofaj, dendritik hücreleri ve aracı reseptör olan endositoz yolundan gelen B hücreleri dahil olmak üzere profesyonel ve profesyonel olmayan antijen-sunan hücreler tarafından emilir. Dolaysıyla, bu HSP-chaperonlu peptidler, MHC Klass I moleküllerinde bulunan CD8-pozitif sitotoksik hücrelerde klasik antijen olarak "cross-present (çapraz sunum)" haline gelir (36,37).

HSP'lerin kanserle ilişkisi nedir?

Normal durumlarda HSP'ler hücre dışında bulunmaz. Ancak, eğer kanserli veya enfekte olmuş bir hücre patlarsa, peptide bağlı olan HSP'ler dahil hücrelerin bütün içerikleri dökülür.

Bu hücrenin dışında olan HSP'ler immün sisteme, hasta hücrelerin yok edilmesini emreden çok kuvvetli bir "tehlike mesajı" gönderir (38).

Bu mesajdan sonra hasta bir hücre ölüp patlar, antijenik peptide bağlı olan HSP komplekslerini döker. Hücre dışında olan bu HSP kompleksleri, sirkülasyondaki APC (antijen sunan hücreler) tarafından farkedilir. HSP kompleksleri APC hücreleri yüzeyindeki CD91 reseptörüne bağladıktan sonra APC, HSP komplekslerini içereye alır. HSP komplekslerini içeren APC'ler lenf nodlarına gider. Lenf nodlarında APC'ler, HSP'lere önceden bağlanmış olan antijenik peptidlerini alıp, onları yeniden APC hücrelerin yüzeyinde sergiler. Bu antijenler, immünolojik cevabı tetikler. Lenf nodlarında, spesifik immün sisteme ait olan tüm hücreler antijenlerin yok edilmesi için özel olarak programlanırlar. Her hastanın durumu ve kanserin gelişimi farklı olduğu için, antijenik hücreler kanser hastasının bireysel spesifik "parmak izi" ni taşırlar (37,38,39).

Kanserlerde HSP'ler hala bir sır niteliğindedir.

Tümör mikroçevresinin fizyopatolojik özelliklerinin (düşük glukoz, pH ve oksijen) HSP oluşumuna meyili arttırdığı düşünülmektedir.

Doğrudur ya da değildir! Bunu bilmiyoruz....

Son çalışmalarda malignitelerde artan HSP seviyelerinin doku kültürlerinde hücreler gelişirken sabit kaldığı,

bunlarında tümör ilerlemesi ve genetik değişimlerle ilgili olduğu vurgulanmaktadır (8,15).

Voellmy ve arkadaşları (20), mutasyona uğramış p53 gibi onkoproteinlerin karsinogenez boyunca görülebileceğini, bu mutasyona uğramış ve uyumlu değişkenlik gösteren proteinlerin HSP cevabını ortaya çıkarabileceğini göstermiştir.

Kanserli hastaların serumunda HSP'ler ve HSP'lere karşı antikorların varlığı henüz açıklanamamış bir araştırma konusudur. Diferansiyasyon ile HSP ilişkisinin, belli dokularda farklılaşmanın derecesi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (9,19).

Yüksek diferansiyasyonla ilgili olan HSP'ler: endometrium kanserinde HSP27 ve HSP90; uterus, serviks ve oral epitelin squamöz kanserinde HSP27; cildin keratinosit diferansiyasyonunda HSP 27'dir.

Zayıf diferansiyasyonla ilgili olan HSP'ler; meme, over ve oral epitel kanserlerinde HSP70; akciğer karsinomada Grp 78; astrositomalarda HSP27'dir (9,40).

Kanser çeşitlerine göre, aynı HSP'nin etkisi kötü prognoz veya iyi prognoz seklinde gelişmektedir. Kanser türüne, moleküler profillerine ve birbirleriyle karşılıklı etkileşimlerine göre, HSP'ler hastalık hakkında daha düşük tahmin gücü oluşturabilir (9,19,41).

Akciğer kanserinde HSP70' in başka moleküllere göre daha düşük bir prognoz gücüne sahip olduğu gösterilmiştir (42). Ancak osteosarkomlarda HSP70'in, neoadjuvant kemoterapiye daha iyi bir cevap oluşturacağı öne sürülmüştür (43).

Tümörün türüne göre moleküllerin yanıtları farklı olmaktadır. HSP70, sadece kötü tümör diferansiyasyonu ile birlikte olmayıp, artmış hücre proliferasyonu (meme, uterus, serviks), lenf nodu metastazı (meme, kolon), artmış tümör boyutu (uterus, serviks), mutasyona uğramış P53 varlığı (meme, endometrium) ve ileri klinik evre (ağız, kolon, melanoma) ile ilişkilidir (44,45).

Belli HSP'ler diğer moleküllerle anlamlı ilişki içersindedir. Örneğin: HSP27 meme kanserindeki ve endometrium kanserindeki ERα ile ilişkili bulunmuştur.

HSP27, over, mide, karaciğer ve prostat kanserinde ve osteosarkomlarda kötü prognoza, endometrium adenokarsinomlarında, özefagus kanserinde ve malign fibröz histiyositomlarda da iyi prognoza işarettir (9,16,23,24).

HSP70'in meme kanseri, endometrium kanseri, uterus serviks kanseri ve mesane kanserinde kötü prognoz ile ilgili olduğu gösterilmiştir. HSP70'in over kanseri prognozu ile ilişkisi görülmemiştir (33,34,40).

HSP90'ın endometrium kanserinde iyi prognoz gösterdiği, otoantikorların varlığında ve göğüs kanserinde zayıf prognoz ile korele olduğu gösterilmistir. HSP90'ın over kanserinde ise prognostik bir değeri yoktur (8,34,41).

Endometrium kanserinde HSP90, progesteron reseptörlerini chaperon aracılığıyla ve olgunlaşmaya katkı sağlayarak daha diferansiye ve daha az saldırgan bir tümör fenotipi oluşmasına yardımcı olur. Böylece tümörün sentetik ajanlara daha iyi cevap vermesine yol açar. Kanserin tipine bağlı olarak bir HSP hastalığın prognozu ile birlikte tek bir ilişkiye sahiptir (32,33,34).

Over tümörlerinde, küçük HSP27, HSP70 ve HSP90 ekspresyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, HSP 27 salgılananların hayatta kalma sürelerinin salgılanmayanlardan daha kısa olduğu gösterilmiştir (40,41,42).

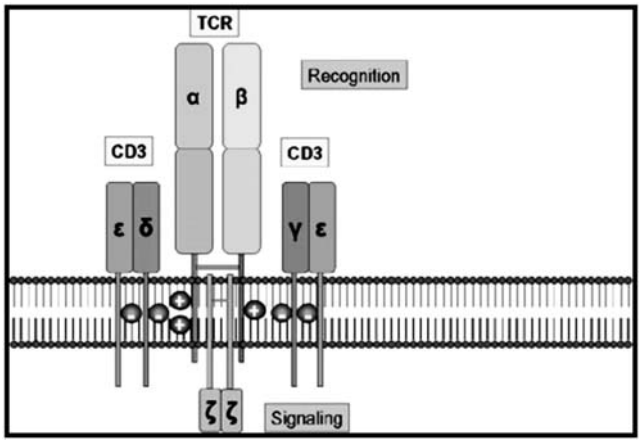
Over kanserinde HSP27'nin değerlendirilmesinin, tümor hücrelerinin gelişimi ve yayılımının önceden belirlenmesinde faydalı olabileceği vurgulanmaktadır. Buna karşılık HSP70 ve HSP 90 ekspresyonunun over kanser prognozunun önceden belirlenmesinde etkin olmadığı savunulmaktadır (33,34,35,42). HSP70'in antikanser ajanların duyarlılığını değiştirerek, yaşam süresi üzerinde olumsuz etki yaptığı, HSP 90'nın ise olumlu etkisinin olduğu düşünülmektedir (34,36,42).

"Over tümörleri HSP10'u sentez edip salgılar, bu işlem T hücre aktivasyonu için önemli olan komponentlerin azalmasına neden olur" hipotezi ile daha önce yaptığımız bir çalışmada "over kanserinde HSP10'nun supresif etkisi" incelenmiştir (45). Giderek bozulan immün cevapların görüldüğü ovaryum kanserinde, immün fonksiyon supresyonu önemli rol oynamaktadır. Son çalışmalar, tümör hücrelerinin immün savunma sistemini baskılamak için mekanizmalar geliştirdiğini göstermektedir. Lenfosit fonksiyonlarının azalması, immün sistem zayıflamalarına neden olmaktadır. Over kanserli hastalarda, hem tümör bağlantılı olarak hem de periferal kan T lenfositlerinde, zayıf sinyaller veren moleküller bulunduğu gösterilmiştir (46,47,48).

ZETA ZİNCİRİ

TCR'le bağlantılı sinyal sağlayan CD3-zeta zincirinin ekspresyonundaki değişiklikler, T hücrelerinin immün cevaplarının zayıflamasından sorumludur. Over tümörlerinden infiltre edilen lenfositlerde zeta ekspresyonunun kaybı, sitokin üretimi ve proliferatif cevapların azalması ile bağıntılıdır. Kanser hastalarının T lenfositlerinde zeta ekspresyonunun azalması, kötü prognoza ve 5 yıldan az sağ

kalıma neden olmaktadır (49,50,51). Serum, peritoneal sıvı ve over kanser hastalarının kültür medyumlarında bulunan bir faktör, CD3–zeta ekspresyonunu suprese ederken T hücre aktivasyonunu modüle etmektedir (Şekil 3).



Şekil 3: T hücre reseptörü; CD3 kompleks

HSP 10

CD3 zeta ekspresyonunun benzeri olan suprese edici ajan, gebe kadınların kan dolaşımında bulunmaktadır. Gebelikte lenfosit proliferasyonunun supresyonu, chaperonin 10 ve HSP10'un benzeri olan Early Pregnancy Factor (Erken Gebelik Faktörü) (EPF)'ün varlığından oluşabileceği düşünülmektedir (52,53).

Trofoblastik tümörler, ürolojik (prostat, idrar torbası, böbrek ve testis) kanserler ve meme kanserlerinde HSP10'un ekspresyonu gösterilmiştir. HSP10'un ekspresyonu kanserlerin oluşumunda ve yayılan fenotiplerinin gelişiminde temel rol oynamaktadır (51,54).

Bizim çalışmamız HSP10'un over kanser hastalarının kanında ve peritoneal sıvılarında bulunduğunu, over tümör hücrelerinin, HSP10'un direkt kaynağı olabileceğini göstermiştir (45). HSP10'u içeren serumun, CD3 zetanın ekspresyonu ile ters korelasyonun(azalması) olduğunun belirlendiği bu çalışma bu olayın T hücrelerinin supresyonuna yol açabileceğini düşündürmektedir. HSP10'nun uzaklaştırılması, bu supresyonu anlamlı derecede azaltsa bile, etkilerinin tam olmadığını gösterdik. Bu olayın ışığında kanser hastalarının serumunda HSP10'nun dışında başka faktörlerinde etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Over kanserli hastaların CD3 zeta seviyelerini modüle etme mekanizmalarının tespit edilmesi, tümörlerin supresif etkilerini hem kontrol etmek hem de belki engellemeyi mümkün kılabilir. Tümör bağlantılı T hücre disfonksiyonunun moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, kanserin teşhisi, tedavisi ve önlenmesinde büyük fayda sağlayacaktır.

HSP Tedavisi ile ilgili sonuçlar

1. İmmünizasyon, tümörden alınan HSP'e bağlı olan spesifik peptidleri (gp96, HSP70 vs) kullanarak uygulanır. Tedavi aşısı olarak enjekte edildiğinde, HSP'ler APC (yani dendritik hücreler, makrofajlar) etkiler. Bu hücreler, sitotoksik T lenfosit cevabını ve proinflamatuar sitokinleri üreterek, aktif immün yanıtı oluşturur (38,41,55).

2. Rekombinant HSP'ler ile birlikte, HER-2/neu gibi onkoproteinler veya HPV'nin E7 onkogenik viruslerden alınan proteinler kullanılmaktadır. HSP veya rekombinant HSP füzyon proteinlerine dayalı tümörden alınan oto-aşılar; sitokin ve onunla birlikte olan molekülün salgılanmasına neden olur, CD4+ ve CD8+ T hücrelerini faaliyete geçirir, tümör hücrelerini öldüren CD11c+ ve NK hücrelerin sayısını artırır (56,57).

Genel Sonuçlar

HSP'ler tümörlerin ilerlemesi ve tedaviye cevap konusunda cok etkili role sahiptir.

HSP'ler teşhiste belirtici değildir. Bazı dokularda etkili biyomarkırlardır.

Bazı kanser türlerinin farklılaşması ve yayılım derecelerini gösterir.

Kanser hastaların serumundaki HSP'ler ve anti-HSP antikorları, tümör tedavisinde kullanilabilir.

HSP'lerin çoğu kanserin kötü prognozunu gösterir.

HSP tayini ile bir çok kanser tedavisi belirlenebilir.

HSP'lerin kötü rol oynaması sonucu tümörlerin ilerlemesi ve tedavinin başarılı olmaması yeni stratejiler geliştirilmesine neden olmuştur (57,58). Bunların içinde HSP salgılamasını veya onun chaperone faaliyetini değiştiren ilacın uygulanması ve immün sisteme tümör antijenlerini sunmak için HSP'in adjuvant olarak kullanılması önemlidir.

HSP hakkındaki bilgiler ümit verici, ama yetersiz! Aşağıdaki sorular hala cevap beklemekte olup araştırılması gerekmektedir:

*Kanserde HSP'lerin denetimi niçin bozulur?

*HSP'lerin denetiminin bozulması, tümörün büyümesi, saldırganlığı ve metastazı ile ilişkili moleküle ait olayları HSP'ler nasıl etkiliyor?

KAYNAKLAR

1. Jiang H, Chess L. How the immune system achieves self-nonself discrimination during adaptive immunity. Adv Immunol 2009; 102: 95-133.
2. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. Altern Med Rev 2003; 8: 223-246.
3. Singh VK, Mehrotra S, Agarwal SS. The paradigm of Th1 and Th2 cytokines: its relevance to autoimmunity and allergy. Immunol Res 1999; 20:147-161.
4. Romagnani G. Cytokines and the Th1/Th2 paradigm. In: Balkwill F (Ed). The Cytokine Network. Oxford: Oxford University Press; 2000.
5. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. Ann N Y Acad Sci 2002; 966: 290-303.
6. Sergio R. The Th1/Th2 paradigm. Immunol Today1997; 18: 263-266.
7. Prasad AS. Effects of zinc deficiency on Th1 and Th2 cytokine shifts. J Infect Dis 2000; 182: S62-S68.
8. Multhoff G. Heat shock proteins in immunity. Handb Exp Pharmacol 2006; 172: 279-304.
9. Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. Cell Stress Chaperones 2005; 10: 86-103.
10. Sittler A, Lurz R, Lueder G, et al. Geldanamycin activates a heat shock response and inhibits huntingtin aggregation in a cell culture model of Huntington's disease. Hum Mol Genet 2001; 10: 1307-1315.
11. Miyata Y. HSP90 inhibitor geldanamycin and its derivatives as novel cancer chemotherapeutic agents. Curr Pharm Des 2005; 11: 1131-1138.
12. Radisky DC, Stallings-Mann M, Hirai Y, Bissell MJ. Single proteins might have dual but related functions in intracellular and extracellular microenvironments. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10: 228-234.
13. Niu G, Chen X. From protein-protein interaction to therapy response: molecular imaging of heat shock proteins. Eur J Radiol 2009; 70: 294-304.
14. Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. J Leukoc Biol 2007; 81:15-27.
15. Tang D, Khaleque AA, Jones ER, et al. Expression of heat shock proteins and HSP messenger ribonucleic acid in human prostate carcinoma in vitro and in tumors in vivo. Cell Stress Chaperones 2005; 10: 46-59.
16. Gyrd-Hansen M, Nylandsted J, Jäättelä M. Heat shock protein 70 promotes cancer cell viability by safeguarding lysosomal integrity. Cell Cycle 2004; 3: 1484-1485.
17. Neckers L, Ivy SP. Heat shock protein 90. Curr Opin Oncol 2003; 15: 419-424.
18. Netzer WJ, Hartl FU. Protein folding in the cytosol: chaperonin-dependent and-independent mechanisms. Trends Biochem Sci 1998; 23: 68-74.
19. Pratt WB, Toft DO. Regulation of signalling protein function and trafficking by the HSP90/HSP70-based chaperone machinery. Exp Biol Med 2003; 228: 111-133.
20. Voellmy R. On mechanisms that control heat shock transcription factor activity in metazoan cells. Cell Stress Chaperones 2004; 9: 122-133.
21. Asea A, Kabingu E, Stevenson MA, Calderwood SK. HSP70 peptide-bearing and peptide-negative preparations act as chaperokines. Cell Stress Chaperones 2000; 5: 425-431.
22. Bulut Y, Faure E, Thomas L, et al. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through Toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway. J Immunol 2002; 168: 1435-1440.
23. Asea A, Kraeft SK, Kurt-Jones EA, et al. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependent pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. Nat Med 2000; 6: 435-442.
24. Asea A, Rehli M, Kabingu E, et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. J Biol Chem 2002; 277: 15028-15034.
25. Antal-Szalmas P. Evaluation of CD14 in host defense. Eur J Clin Invest 2000; 30: 167-179.
26. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. Nat Rev Immunol 2001; 1: 135-145.
27. Stelter F. Structure/function relationships of CD14. Chem Immunol 2000; 74: 25-41.
28. O'Neill LA, Dunne A, Ejdeback M, Gray P, Jefferies C, Wietek C. Mal and MyD88: adapter proteins involved in signal transduction by Toll-like receptors. J Endotoxin Res 2003; 9: 55-59.
29. Beutler B. Tlr4: central component of the sole mammalian LPS sensor. Curr Opin Immunol 2000; 12: 20-26.
30. Jones BW, Heldwein KA, Means TK, Saukkonen JJ, Fenton MJ. Differential roles of Toll-like receptors in the elicitation of proinflammatory responses by macrophages. Ann Rheum Dis 2001; 3: 6-12.
31. Pockley AG. Heat shock proteins in health and disease: therapeutic targets or therapeutic agents? Expert Rev Mol Med 2001; 3: 1-21.
32. Hernandez MP, Chadli A, Toft DO. HSP40 binding is the first step in the HSP90 chaperoning pathway for the progesterone receptor. J Biol Chem 2002; 277: 11873-11881.
33. Cintron NS, Toft D. Defining the requirements for HSP40 and HSP70 in the HSP90 chaperone pathway. J Biol Chem 2006; 281: 26235-26244.
34. Goetz MP, Toft DO, Ames MM, Erlichman C. The HSP90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy. Ann Oncol 2003; 14:1169-1176.
35. Young JC, Moarefi I, Hartl FU. HSP90: a specialized but essential protein-folding tool. J Cell Biol 2001; 154: 267-273.
36. Radons J, Multhoff G. Immunostimulatory functions of membrane-bound and exported heat shock protein 70. Exerc Immunol Rev 2005; 11:17-33.
37. Javid B, MacAry PA, Lehner PJ. Structure and function: heat shock proteins and adaptive immunity. J Immunol 2007; 179: 2035-2040.
38. Facciponte JG, MacDonald IJ, Wang XY, Kim H, Manjili MH, Subjeck JR. Heat shock proteins and scavenger receptors: role in adaptive immune responses. Immunol Invest 2005; 34: 325-342.
39. Basu S, Matsutake T. Heat shock protein-antigen presenting cell interactions. Methods 2004; 32: 38-41.
40. Hsu PL, Hsu SM. Abundance of heat shock proteins (HSP89, HSP60, and HSP27) inmalignant cells of Hodgkin's disease. Cancer Res 1998; 58: 5507-5513.
41. Sherman M, Multhoff G. Heat shock proteins in cancer. Ann N Y Acad Sci 2007; 1113: 192-201.
42. Langdon SP, Rabiasz GJ, Hirst GL, et all. Expression of the heat shock protein HSP27 in human ovarian cancer. Clin Cancer Res 1995; 1: 1603-1609.
43. Trieb K, Lechleitner T, Lang S, Windhager R, Kotz R, Dirnhofer S. Heat shock protein 72 expression in osteosarcomas correlated with good response to neoadjuvant chemotherapy. Human Pathol 1998; 29: 1050-1055.
44. Joerger AC, Fersht AR. Structural biology of the tumor suppressor p53. Annu Rev Biochem 2008; 77: 557-582.
45. Akyol S, Gercel-Taylor C, Reynolds LC, Taylor DD. HSP-10 in ovarian cancer: expression and suppression of T-cell signaling. Gynecol Oncol 2006; 101: 481-486.
46. Rabinowich H, Suminami Y, Reichert TE, et all. Expression of cytokine genes or proteins and signaling molecules in lymphocytes associated with human ovarian carcinoma. Int J Cancer 1996; 68: 276-284.
47. Maccalli C, Pisarra P, Vegetti C, Sensi M, Parmiani G, Anichini A. Differentiation loss of T cell signaling molecules in metastatic melanoma patients' T lymphocyte subsets expressing distinct TCR variable regions. J Immunol 1999; 163: 6912-6923.
48. Reichert TE, Strauss L, Wagner EM, Gooding W, Whiteside TL. Signaling abnormalities, apoptosis, reduced proliferation of circulating and tumor infiltrating lymphocytes in patients with oral carcinoma. Clin Cancer Res 2002; 8: 3137-3145.
49. Eblen AC, Gercel-Taylor C, Nakajima S, Taylor DD. Modulation of T-cell CD3 zeta chain expression in early pregnancy. Am J Reprod Immunol 2002; 47: 167-73.

50. Athanasas-Platsis S, Somodevilla-Torres MJ, Morton H, Cavanagh AC. Investigation of the immunocompetent cells that bind early pregnancy factor and preliminary studies of the early pregnancy factor target molecule. Immunol Cell Biol 2004; 82: 361-369.
51. Guo J, Yang EC, Desouza L, et all. A strategy for high resolution protein identification in surface enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry: calgranulin A and chaperonin 10 as protein markers for endometrial carcinoma. Proteomics 2005; 5: 1953-1966.
52. Johnson BJ, Le TT, Dobbin CA, Banovic T, Howard CB. Heat shock protein 10 inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory mediator production. J Biol Chem 2005; 280: 4037-4047.
53. Morton H, McKay DA, Murphy RM, et all. Production of recombinant form of early pregnancy factor that can prolong allogeneic skin graft survival time in rats. Immunol Cell Biol 2000; 78: 603-607.
54. Cappello F, Rappa F, David S, Anzalone R, Zummo G. Immunohistochemical evaluation of PCNA, p53, HSP60, HSP10 and MUC-2 presence and expression in prostate carcinogenesis. Anticancer Res 2003; 23: 1325-1332.
55. Srivastava PK, Menoret A, Basu S, Binder RJ, Mc Quade KL. Heat shock proteins come of age: primitive functions acquire new roles in an adaptive world. Immunity 1998; 8: 657-665.
56. Rivoltini L, Castelli C, and Carrabba M. Human tumor-derived heat shock protein 96 mediates in vitro activation and in vivo expansion of melanoma- and colon carcinoma-specific T cells. J Immunol 2003; 171: 3467-3474.
57. Chu CS, Kim SH, June CH, Coukos G. Immunotherapy opportunities in ovarian cancer. Expert Rev Anticancer Ther 2008; 8: 243-257.
58. Bolhassani A, Rafati S. Heat-shock proteins as powerful weapons in vaccine development Expert Rev Vaccines 2008; 7: 1185-1199.