



Pankreatik Duktal Adenokarsinomada Ekstrasellüler Matriks Degradasyonu Hedefli Tedavi Yaklaşımları

Extracellular Matrix Degradation Targeted Therapy Approachesin Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Furkan İlker Özbacı¹, Demet Kaçaroğlu¹, Nilgün Gürbüz¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta, Türkiye.

Özet

Pankreatik duktal adenokarsinoma (PDAC) mortalitesi ve morbiditesi en fazla olan kanser türleri arasında yer almaktadır. PDAC'nin kötü prognozunun nedenleri arasında hücre döngüsünü sağlayan moleküler mekanizmaların bozulması, hücrelerin apoptozise ve kemoterapiye direnç geliştirmesi, hücrelerin tümör mikroçevresiyle etkileşimi sonucu yapısının bozulması, hipoksi oluşumu ve stromal yapının değişimi gösterilebilir. Ekstrasellüler matriksteki proteinlerin yapım ve yıkım hızındaki değişikliklerden dolayı oluşan yoğun fibrotik stroma sırasıyla invazyon, migrasyon ve metastaz sürecini hızlandırır. İlk olarak kanser hücreleri tarafından sitokin, peptid, mRNA ve protein inhibitörleri içeren eksozomlar salgılanarak fibroblastların ve kollajenlerin doğal yapısının bozulması sonucu kanser ilişkili fibroblastlar ve düzensiz kollajen örgüsü oluşur. Daha sonra hyaluronan sentaz enzimlerinin aktivitesinin aşırı artmasına bağlı olarak sentezlenen hyaluronan birikimi de stromanın yoğunlaşmasında etkilidir. Matriks morfolojisinin bozulmasıyla gelişen immunsupresif tümör mikroçevresinin oluşumu PDAC tedavisinde kullanılan immunoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin başarı oranını azaltmaktadır. Ekstrasellüler matriks yıkımını arttıran gemcitabin ve paklitaksel gibi kemoterapötik ajanların etkinliğinin artırılmasına dayalı tedavi stratejileri geliştirilmelidir. Bu kapsamda stromada biriken hyaluronanın parçalanması veya sentezinin inhibisyonu, matriks metalloproteinaz inhibitörleri kullanılarak migrasyonun engellenmesi, Hedgehog reseptörlerine antagonist monoklonal antikor ve küçük peptidlerin kullanımı ile fibrotik stromanın oluşumunun engellenmesi, tümör mikroçevresine makrofajların filtrasyonunu arttırmak için CD40 agonistlerinin kullanımı gibi terapötik yaklaşımların geliştirilmesi için faz çalışmaları önem kazanarak devam etmektedir. Bu derlemede, pankreatik tümör mikroçevresinin anlaşılması, ekstrasellüler matriks degradasyonunu etkileyen moleküler mekanizmaların açıklanması amaçlanmış olup, çalışmamızın böylelikle ekstrasellüler matriks hedefli yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi ile ilgili araştırmalara ışık tutacağına inanmaktayız.

Anahtar kelimeler: PDAC, Ekstrasellüler Matriks, ECM, Metastaz, Terapötik Yaklaşım.

Abstract

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the cancers with the highest mortality and morbidity. The causes of poor prognosis of PDAC underline the dysregulation of the molecular mechanisms including cell cycle, resistance of apoptosis and chemotherapy, deterioration of cell structure as a result of interaction with the tumor microenvironment, hypoxia formation and change of the stromal structure. Due to the impairment of balance between production and degradation of extracellular matrix proteins, the fibrotic stroma is concentrated and accelerated the invasion, migration and metastasis mechanisms. Once cancer cells are secreted exosomes containing cytokines, peptides, mRNA and protein inhibitors, cancer associated fibroblasts and irregular collagen weave are formed as a result of the disruption of the natural structure of fibroblasts and collagen. Followed by this, the increase in hyaluronan synthase enzyme activity and also accumulation of hyaluronan in extracellular matrix cause to enhance the concentration of stroma. The generation of immunosuppressive tumor microenvironment resulting in impairment of matrix morphology lead to decrease to treat PDAC patients having immunotherapy and chemotherapy. Therefore, the novel therapeutic approaches targeted extracellular matrix degradation are needed to develop to increase the efficiency of chemotherapeutic drugs gemcitabine and paclitaxel. For this purpose, phase studies are ongoing to develop therapeutic approaches targeted the prevention of migration using matrix metalloproteinase inhibitors, the blocking of fibrotic stroma mediated antagonistic monoclonal antibodies and small peptides to Hedgehog receptors, the usage of CD40 agonists to increase macrophage filtration into the tumor microenvironment. In this review, it was aimed to understand pancreatic tumor microenvironment and explain the molecular mechanisms affecting extracellular matrix degradation. Given the reports in literature, our review will help to light on future investigations related to extracellular matrix degradation targeted novel therapeutic strategies.

Keywords: PDAC, Extracellular Matrix, ECM, Metastasis, Therapeutic Approach.

Giriş

Pankreas kanseri, şu anda gelişmiş ülkeler içerisinde kansere bağlı ölümler arasında dördüncü sırada yer almakta olup bu sıranın 2030'a kadar ikinci sıraya yükselmesi öngörülmektedir (1). Sigara kullanımı, tip 2 diyabet, kronik pankreatitis, kalıtsal polipozis olmayan kolon kanseri, ataksi telanjiektazi ve von Hippel-Lindau sendromu, pankreas kanseri için risk faktörleri olarak kabul edilir (2). Spesifik semptomların ve belirteçlerin eksikliği, anatomik lokalizasyon zorluğu ve erken erken tanı için tarama yöntemlerinin yetersizliği nedenleriyle pankreas kanserinin tanısı ancak geç evrede konulmaktadır (3). Lenf nodlarına ve uzak organlara metastaz potansiyelinin yüksek olması nedeniyle progresyonu oldukça agresif olan pankreas kanseri için, standart olarak uygulanan kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi gibi yaygın tedaviler yeterli olamayıp yüksek sağ kalım yeterince sağlanamamaktadır (4). Son yıllarda moleküler hedefli etkili yeni tedavi yaklaşımları melanoma, akciğer ve kolorektal kanserlerde gözlense de benzer başarı pankreas kanserinde gerçekleşmemiştir (5).

Pankreas kanserinde 10 tip majör neoplazm vardır. Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAC) tüm pankreatik kanserlerin yaklaşık %85'ini oluşturur ve duktal epitel hücrelerinden köken alır (6). Ayrıca PDAC, kanserler arasında en yüksek perinöral invazyon insidansına sahiptir. Bunun nedeninin, pankreasın anatomik olarak nöral pleksuslara yakın olması ve kanser hücrelerinden salgılanan nörotrofik faktörlerin nöron büyümesini perinöryuma yönlendirmesi olduğu düşünülmektedir. Perinöral invazyon, ağrı ve kötü prognozun işaretidir (7). Araştırmalar, pankreas kanserinin tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunu ve onkogenlerin aktivasyonunu içeren bir genetik mutasyon hastalığı olarak kabul edilebileceğini gösterir (8). Pankreas kanserinde; p53, LKB1 ve p16 gibi tümör supresörlerin kaybı, K-Ras, Src, CDKN2A gibi onkogenlerin aşırı ekspresyonu ve ayrıca EGFR, TGF- β gibi proliferatif sinyal yollarının aktivasyonu gibi bazı moleküler mekanizmalarda bozulma gözlenir (9).

Metastaz, PDAC vakalarında primer ölüm nedenlerinin başında gelir. Metastatik lezyonlar organların işlevini bozar, örneğin; pankreas metastazı karaciğeri kolonize ettiği zaman hepatik yetmezliğe yol açar (10). İnvaziv hücrelerin metastaz yapmak için büyük ölçüde tip IV kollajen içeren bazal membran gibi doku engellerini aşmaları gerekir. Bu doku engellerinin yeniden şekillenmesi, tümör hücrelerini çevreleyen kollajen matriksini bozma ve daha sonra göç etme yeteneğine bağlıdır (11). Ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerinin degradasyonu sonucu hücre-hücre bağlantısının ve iletişiminin zayıflamasıyla invazyon ve migrasyon gerçekleşir (12). Bu olay, epitel hücre fenotip belirteçlerinin (β -Katenin, ZO-1, E-Kaderin, Okcludin, Klaudin) azalması ve mezenkimal hücre belirteçlerinin (vimentin, ZEB-1, Twist, Slug, Snail) ekspresyonunun artmasıyla ilişkilidir (13, 14). Metastatik kanserlerde matriks metalloproteinazlar (MMP) ve uPAR / uPA ekspresyonlarının artmasına bağlı olarak ECM degradasyonu kolaylaşarak metastaz süreci hızlanır (14). Metastaz, TGF- β ve Wnt / β -Katenin sinyal yolları ile uyarılabilen epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) mekanizmasını da içeren çok komplike ve aşamalı bir

biyolojik süreçtir (13). Hücre fenotipi etkileyen bu süreçler klinik progresyon ile yakından ilişkilidir (14).

ECM, yapısal olarak glikozaminoglikanlar (GAG) ve proteinden oluşan proteoglikanları içeren kompleks bir ağ yapısındadır (15). ECM ayrıca, doku fonksiyonu ve mekanik bütünlük için yapısal bir temel sağlar, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin varlığını düzenler, mikroçevrenin hidrasyonunu ve pH'sını korur (16). ECM bileşenleri hücre sinyal reseptörleri ile doğrudan ilişkide olduğu için invazyon, migrasyon, proliferasyon, anjiyogenez gibi dinamik süreçlerde hücre olayları etkiler. Kanser hücrelerinde bulunan proteoglikanlar ve glikoproteinler, sıklıkla yapısal ve kantitatif değişikliklerle sonuçlanan anormal glikozilasyonlara maruz kalırlar (17). Önemli bir tümör supresör olan kaderinler, glikoprotein yapısında olup kanserde ortaya çıkan anormal glikozilasyon sonucunda hücre-hücre bağlanmalarının sağlanmasında homofilik kaderin etkileşimlerinde kayıp meydana gelir (6).

İntegrinler, α ve β alt birimlerinden oluşan heterodimer yapıda transmembran glikoproteinlerdir ve bu alt birimlerin kombinasyonu çeşitli ligandlara özgüllüğü belirler. Kollajenler, PDAC hücrelerinin yüzeyindeki integrin reseptörleri için sinyal molekülleri veya ligandlar olarak işlev görmektedirler (18). ECM'de en fazla bulunan protein olan kollajenlerin, şu ana kadar 28 farklı türü tanımlanmıştır. Bazal membranda kollajen IV, nidogen ve laminin bulunurken fibril oluşturan kollajen I, III ve V ise interstisyel boşlukta yer alır (19).

PDAC Tümör Mikroçevresi

PDAC mikroçevresi yoğun fibrotik stroma ile karakterizedir. Bu yoğun fibrotik stroma pankreatik tümör kütesinin yaklaşık %90'ını oluşturmakla beraber içerisinde stromal hücreleri ve ECM'yi bulundurmaz. PDAC gelişimi esnasında hyaluronan ve GAG konsantrasyonu artar (20). Hyaluronanın kendi reseptörü olan CD44'e bağlanması sonucu kanser hücrelerinin proliferasyonu ve yaşam süreleri artar. Yapılan araştırmalar sonucu PDAC vakalarında CD44 ekspresyonunun arttığı görülmüştür (19). Kanser ilişkili fibroblastlar (CAF), endotelial hücreler, pankreatik yıldız hücreler (PSC) ve immün sistem hücrelerinin hepsi stromal hücreleri oluşturur. CAF'lar, epitel, endotelial, fibroblast ve mezenkimal kök hücre progenitorlarından köken alan pankreatik tümör mikroçevresinin en önemli hücrelerinden biridir. CAF'ları normal fibroblastlardan ayırt etmek için α -SMA belirteç olarak kullanılır (20). TGF- β , Sonic Hedgehog (SHH), TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-10 gibi ligandlar normal fibroblastların CAF'lara dönüşümünü sağlar. TGF- β sinyali ile CAF'larda bulunan filopod sayısı artar, böylelikle CAF'lar migrasyon yeteneği kazanır. Bu nedenle TGF- β , PDAC'de metastazı indükler. C-C motif kemokin ligand 2 (CCL2), hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ile uyarılan CAF'lar salgıladıkları kollajen I, kollajen III, GAG, fibronektin ve proteoglikanlarla ECM yoğunluğunu artırarak migrasyon sürecini hızlandırır (21).

Yoğunlaşan ECM nedeniyle kanser hücreleri içerisine oksijen perfüzyonu ve glikoz geçişi azalır. Bu ortam şartlarına karşı kanser hücrelerinde bulunan transkripsiyon

faktörü olan HIF-1 α aktifleşerek anjiyogenezi indükler ve kanser hücrelerinin metabolizmalarını yeniden düzenler. Metabolizmanın düzenlenmesiyle beraber kanser hücreleri oksidatif fosforilasyon yerine aerobik glikolizi tercih eder. HIF-1 α glikolizi indükleyerek hücrelerin içine glikoz alımını artırır. Aerobik glikoliz ile birlikte laktat miktarı artar ve tümör mikroçevresinin pH'ı düşer (22). Oluşan asidik ortam sistein, aspartat ve treonin proteazları aktifleştirerek ECM degradasyonunu başlatır (23). ECM'nin degradasyonun başlamasıyla birlikte PSC, tümör ilişkili makrofaj (TAM), CAF hücreleri tarafından matriks metalloproteinaz (MMP) ekspresyonu artar. MMP'ler, çinko bağımlı endopeptidazlardır ve ECM'nin yeniden modellenmesinde önemli rol oynarlar (24). MMP-2 ve MMP-9, sahip oldukları Tip II fibronektin benzeri alt birimleriyle kollajenlere bağlanırken Zn⁺², Fe⁺² içeren katalitik alt birimleriyle de kollajenleri parçalarlar. MMP-3 ve MMP-10 ise, laminlerin ve fibronektinlerin proteolitik parçalanmasını gerçekleştirir. Hücre membranında yer alan MT-MMP'ler ise, hücrelerin ECM'ye tutunmasını sağlayan integrin, fibronektin, kollajen III gibi hücre yüzey adezyon reseptörlerini ve bunların ligandlarını parçalayarak migrasyon sürecini hızlandırır (25). Bu süreçte PDAC'de B-lenfositlerin, T-lenfositlerin, makrofajların ve monositlerin ECM'ye birikmesine bağlı olarak inflamasyon oluşur. Monositlerden türetilen myeloid kökenli supresör hücreler (MDSC) salgıladıkları sitokinler ile, B-lenfositlerin, T-lenfositlerin ve makrofajların immünsupresif özellik kazanmasını sağlar. Ayrıca inflamatuvar yanıtı bağlı olarak kanser hücrelerinin hasarlı dokulara migrasyonu artar ve burada salgıladıkları sitokinler ile bazal membranın yapısını bozarlar. T-lenfositlerin üzerinde yer alan IL-2 reseptörlerini parçalayan MMP'ler, T-lenfositlerin kansere karşı etkinliğini yok ederek immünsupresif tümör mikroçevresi oluşumunu da sebeb olur (26).

Proteolitik denge süreci boyunca metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) tarafından dengelenen MMP'ler, proteolitik dengenin bozulmasıyla birlikte tümör migrasyonuna ve neovaskularizasyona yol açarlar (27). Bazal membran polaritesinin bozulmaya başlamasıyla beraber de EMT indüklenir. Epitelyal form stabil bir yapıda hücreler için bariyer oluştururken aksine mezenkimal form metastatik etki gösterir. EMT programı kompleks epigenetik modifikasyonlar, protein modifikasyonları, alternatif kırılma ve transkripsiyonel kontrol süreçleriyle yönetilir. TGF- β birincil EMT indükleyicisidir (28). EMT süreci TGF- β başta olmak üzere Notch, Wnt, FGF, PDGF, HGF gibi sinyaller ile regüle edilir. TGF- β aracılı SMAD fosforilasyonu ve Snail, ZEB-1, Twist gibi EMT transkripsiyon faktörleri sitoplazmik protein regülasyonu, hücre polarizasyonu ve epitel hücreler arasındaki sıkı bağlantıları değiştirir. ZEB-1 proteinleri, Smadlarla etkileşebildiği için doğrudan represör olarak transkripsiyona girebilir ve Smadların aktivitesini etkileyerek süreci yönlendirir. ZEB-1 proteinin ifadesinin TGF- β , NF- κ B ve hipoksi indüklü sinyalizasyon ile regüle edildiği gösterilmiştir. ZEB ve Twist proteinleri promotörlerinde HRE (Hipoksi Yanıt Elementi) bölgesi içerdiği için hipoksi sırasında HIF-1 α , bu bölgeye bağlanarak E-kaderin

ekspresyonunun baskılanmasına neden olur (29). Twist1 ve Twist2, transkripsiyonel baskılama için histon deasetilasyonu yapar. Snail proteinleri ise E-kaderin proteinini kodlayan CDH1 geninin promotor bölgesindeki E-box bölgesine bağlanarak polikomb baskılayıcı kompleksler aracılığıyla bu genin ekspresyonunu baskılar (30). Sonuç olarak; Snail, ZEB-1 ve Twist transkripsiyon faktörleri E-kaderin, kludin, okludin gibi epitelyal belirteçlerin ekspresyonlarını baskımlarken, mezenkimal karakter oluşumunu da indüklerler. EMT süreci, post-transkripsiyonel olarak ise ayrıca lncRNA ve miRNA'lar tarafından da kontrol edilir. PDAC'de EMT'yi; belirgin olarak miR-200 ailesi, miR-34a, miR-148a, miR-203a ve miR-655 baskımlarken, miR-10b ve miR-197 ise indükler (12). EMT sonucu metastaz artar, bazal membran degrade olur (31).

ECM Degradasyonunda Ekspresyon Seviyeleri Değişen Proteinler

PDAC oluşum sürecinde sıkı bağlantıları oluşturan ZO-1, okludin, kludin gibi proteinlerin ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (32). Bunun yanında PDAC stromasında kollajen fibrillerinin çapraz bağlanmasında görevli lizil oksidaz enziminin de hipoksik koşullar altında ekspresyonunun arttığı görülmüştür. Kollajen fibrilleri arasında çapraz bağlar oluşturan bir diğer enzim olan transglutaminaz 2 (TG2)'nin normal pankreas dokularında düşük düzeyde eksprese edilirken PDAC gelişimi sırasında ekspresyonun aşırı seviyede arttığı rapor edilmiştir. TG2'nin glutamin ve lizin rezidüleri arasına açıl eklemenin yanı sıra CAF'ları kollajen I eksprese etmek üzere uyardığı bilinmektedir (33). ECM yapısının yeniden düzenlenmesinde kilit rol oynayan MMP'ler ise plazminojenlerin asidik şartlarda aktif hale gelen katepsin B tarafından plazmine dönüştürülmesiyle beraber etkin hale geçmekte ve fibronektin, laminin, kollajen gibi ECM bileşenleri parçalamaktadırlar (34). MMP regülasyonundan bağımsız olarak TIMP'lerin ise PDAC hücrelerini kemoterapi veredyoterapiye dirençli hale getirmek üzere ekspresyonlarının arttığı düşünülmektedir. ECM yapısını düzenlemekte rol oynayan bir diğer faktör ROCK kinaz proteinlerinin de ekspresyonunun artmasıyla aktomyozin fiberlerinin elastik ve kontraktıl yapısı değişime uğramaktadır (35). PDAC gelişimi sırasında proteoglikan ve glikoproteinlerin yapısı incelendiğinde ECM'nin bu bileşenlerinin aşırı derecede post-translasyonel glikozilasyona uğradığı görülmektedir. Hücre ve ECM arasında bağlantı kurulmasında önemli rol oynayan integrin heterodimerlerinin, fibronektin ve kollajen ligandları bağlanmasıyla FAK proteinini aktif hale getirdiği gözlenmiştir. FAK / Src sinyalinin sürekli aktif olmasıyla hücrelerin sitoplazmik iskelet yapılarında değişimler ve migrasyonun indüklendiği gözlenmiştir (36).

ECM Hedefli Klinik Denemeler

Kanser hücrelerinin ekstrasellüler matriks ile etkileşimi tümör progresyonunda oldukça önemlidir. Son yıllarda pankreatik tümör mikroçevresinin oluşumu sırasında yoğunluğu artan GAG'nın yapısında bulunan hyaluronik asit inhibisyonunu hedef alan terapötik yaklaşımlar geliştirilmektedir. Hyaluronik asit hedefli terapötik yaklaşımlar hyaluronik asit sentezinin

inhibisyonunu, hyaluronik asit sentez sinyalinin bloklanmasını veya PDAC vakalarında kemoterapötik ilaçların etkinliğinin artırılması için stromal hyaluronik asidin parçalanmasını amaçlamaktadır (37). Hyaluronik asit inhibisyonuna dayalı terapötik yaklaşımda kullanılan 4-metilyumbelliferon'un (4-MU), in vivo ve in vitro çalışmalarda PDAC tümör metastazını ve büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir. Glukuronik asit ve N-asetilglukozamin bileşenlerinden oluşan hyaluronik asitte UDP-glukuronil transferaz enzimi glukuronik asidin hidrofobik moleküllere bağlanmalarını katalizler. Hücre membranında yer alan hyaluronan sentaz (HAS) enzimleri hyaluronik asit üretmek için UDP-N-asetil-D-glukozamin ve UDP-D-glukuronatı substrat olarak kullanır. 4-MU'nun HAS2 ve HAS3 enzimlerine bağlanması sonucu UDP-glukuronil transferaz, HAS2 ve HAS3 enzimlerine hyaluronan üretebilmeleri için gerekli olan UDP-D-glukuronatı bağlayamaz (38). Desmoplastik fibrotik stroma ile karakterize olan PDAC'de hyaluronik asit birikiminin stromada bulunan kılcal damarlara üzerinde baskı yapması nedeniyle enjeksiyonla dolaşım sistemine verilen ilaçların hedefe ulaşmasının zorlaştığı düşünülmüştür. Stromal hyaluronik asitin parçalanmasını sağlamak için kullanılan hyaluronidaz temelli PEGPH20 isimli ajan, PDAC modeli geliştirilmiş farelere tek başına intravenöz olarak verilmesinden ziyade doksorubisin ve gempitabin gibi kemoterapötik ilaçlar ile kombine verildiğinde tümör büyümesinin azaldığı ve hayatta kalma süresinin arttığı gözlenmiştir (39).

SHH ligandlarının aşırı derecede eksprese olması, desmoplastik reaksiyona bağlı olarak kanser başlangıcını ve tümör metastazını indükler. SHH ligandlarının PTCH1 reseptörlerine bağlanması sonucu Smo proteinin ekspresyonu artar. Smo reseptörlerinin inhibisyonu için kullanılan Sarigedib isimli ajanın gempitabin ile kombine edildiğinde desmoplaziyi düşürdüğü, kollajen birikmesini azalttığı ve farelerde yaşam süresini arttırdığı gözlenmiştir. Diğer taraftan faz II aşamasında olan 118 hasta üzerinde yapılan bir pilot çalışmada, Smo antagonisti olan vismodegib'in klinik çalışmalarda beklenen terapötik etkiyi oluşturmadığı gösterilmiştir. Fakat Hedgehog sinyal yolağını hedefleyen terapi yöntemleri, hem desmoplastik stromayı hem de tümör kitlesini etkileyebileceği için iyi bir strateji olarak görünmektedir (40).

Bazal membranın yapısının bozulmasıyla ECM'ye infiltre olan periferik kandaki hematopoietik kök hücrelerin oluşturduğu monositler IL-3, IL-4, IL-10, TGF- β ve VEGF gibi sinyalleri aldıktan sonra farklılaşarak TAM'ları oluştururlar. TAM'lar, CCL2 ve IFN- γ sinyallerine cevap olarak MMP salgılayarak fibrotik stromanın yıkımını artırırlar (41). TAM'ların CCL2 ve IFN- γ sinyallerine cevap verdiği CD40 reseptörlerine özgü agonist IgG1 izotipinde Fc gamma reseptörüne çapraz bağlanan monoklonal antikörlerin kullanımıyla TAM indüklenmesini hedefleyen terapötik ilaçlar geliştirilmektedir. Yapılan çalışmalarda TAM indüklenmesine bağlı olarak kemoterapötik ajanların PDAC'de etkinliğinin arttığı gözlenmiştir (42). PDAC oluşturulan fare modellerinde 100 nm çapında hedeflendirilmiş lipozomlar kullanılarak tümör mikroçevresine denatüre olmadan ulaşan kollajenaz enziminin

paklitaksel miçelleri ile kombine edilmesi sonucunda, tümör boyutunun %87 oranında küçüldüğü rapor edilmiştir. Aynı çalışmada kollajenaz enzimiyle ECM'nin degradasyonu sonucu metastaza uğrayan tümör hücrelerinin sayısının artmaması dikkati çekmiştir (43).

Normal pankreatik hücrelerde hücre proliferasyonunu inhibe ederek tümör baskılayıcı rol oynayan TGF- β , özellikle EMT sürecinde onkojenik etki göstermektedir. Faz I ve Faz II klinik çalışmalarında TGF- β sinyal inhibitörü olarak kullanılan bir ajan olan galunisertibinin, gempitabin ile kombine edildiğinde ileri evre PDAC hastalarında yaşam süresini arttırdığı saptanmıştır (44). Ekstrasellüler matrisin birçok bileşenini proteolitik kesim yoluyla parçalayan MMP'lerin ekspresyonunun artmasıyla beraber tümöral invazyonun, anjiyogenezin ve metastazın arttığı bilinmektedir. PDAC tedavisi için MMP'lerin farmakolojik hedef olarak alındığı çalışmalarda çinko bağımlı MMP birimini hedef alan peptidomimetik çinko şelat yapısındaki Batimastat'ın, pankreatik tümör mikroçevresinde toksisiteyi arttırdığı için Faz III aşamasında başarısız olduğu bilinmektedir. MMP-9'u hedef alan monoklonal antikör formundaki andekaliksimumabın kullanıldığı Faz II ve Faz III çalışmaları ise devam etmektedir (45).

Bilindiği üzere hyaluronan, N-asetilglukozamin ve β -glukuronattan oluşan bir glikozaminoglikandır. N-asetilglukozaminin oluşması için ise glutamin ve fruktoz-6-fosfat gereklidir. Pankreas kanseri hücrelerinde yapılan bir çalışmada 6-diazo-5-oxo-L-Norlösinin, glutamin sentezini inhibe ettiği ve bunun sonucunda da hyaluronan yoğunluğunu azalttığı gösterilmiştir. Hyaluronan yoğunluğunun azalmasına bağlı olarak CD8+ T-hücrelerinin tümör mikroçevresine infiltrasyonunun arttığı, bununla birlikte glutamin sentezi inhibisyonunun ve immün kontrol noktası inhibitörü PD-1 tedavisinin etkinliğinin arttığı gözlenmiştir. Söz konusu çalışma, Faz II aşamasında olup klinik deneme yolunda umut vermektedir (46). Pankreas kanserinde meydana gelen gempitabin gibi kemoterapötik ajanlara karşı direnç gelişiminde, CAF'lardan salgılanan eksozomal miRNA'lar etkili bir rol oynamaktadırlar. Bu miRNA'lardan miR-106b'ye karşı spesifik miR-106b inhibitörünün kullanılması sonucunda, pankreas kanseri hücrelerinde gempitabin direncinin azaldığı gözlenmiştir. Çünkü miR-106b, ilaç direncini arttırdığı için onkojenik etki göstermektedir (47). Pankreatik stromanın oluşumunda önemli bir etkiye sahip olan CAF'ların köken aldığı pankreatik yıldız hücrelerin farklılaşma yeteneklerini düzenleyen miRNA'lardan miR-199a ve miR-214'ün hedef alındığı bir çalışmada ise, bu iki miRNA'ya hedefli inhibitörlerin kullanımı sonucunda önemli sinyal mediyatörleri olan TP53, SMAD1, mTOR'un etkinliğinin azaldığı gözlenmiştir. Buna bağlı olarak pankreas kanseri hücrelerinin farklılaşma, migrasyon ve invazyon yeteneklerinin de azaldığı rapor edilmiştir (48). Başka bir çalışmada miR-145 inhibe edilmesi sonucunda ise, TGF- β sinyalizasyonu üzerinden EMT'nin baskılandığı saptanmıştır (49). Literatürde bulunan tüm bu çalışmalar ve Faz aşamalarına geçmiş birçok klinik denemeler göz önüne alındığında, onkojenik mRNA'ları inhibe edilmesi veya tümör

supresör miRNA'ların mimik ile uyarılması temelli miRNA bazlı hedefsel terapötiklerin, nanolipozomlar içerisinde organizmaya verilmesinin pankreas kanserinin tedavisi için büyük bir potansiyeli olduğu düşünülmektedir (50).

Sonuç

Pankreas kanserinin tedavisi için belirtilen tüm bu başarılı klinik denemelere ilaveten halen birçok araştırmacı tarafından RNAi ve farmakolojik ajanlar tabanlı çok sayıda hedefe yönelik terapötik yaklaşım hem in vitro hem de in vivo düzeyde denenmekte olup oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır. Bu da pankreas kanserinin tedavisinde kullanılabilecek daha fazla sayıda klinik denemenin geliştirilebileceğini göstererek, ilerleyen süreçlerde mortalitesi böylesine yüksek olan pankreas kanseri hastalarının hayatta kalma oranının artacağı yönünde umut vadetmektedir.

Kaynaklar

- Kim VM, Ahuja N. Early detection of pancreatic cancer. *Chin J Cancer Res.* 2015;27(4):321–31.
- Zhang JQ, Chen S, Gu JN, Zhu Y, Zhan Q, Cheng DF, et al. MicroRNA-300 promotes apoptosis and inhibits proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition via the Wnt/ β -catenin signaling pathway by targeting CUL4B in pancreatic cancer cells. *J Cell Biochem.* 2018;119(1):1027-40.
- Provenzano PP, Hingorani SR. Hyaluronan, fluid pressure, and stromal resistance in pancreas cancer. *Br J Cancer.* 2013;108(1):1-8.
- Carr RM, Fernandez-Zapico ME. Pancreatic cancer microenvironment, to target or not to target? *EMBO Mol Med.* 2016;8(2):80-2.
- Feig C, Gopinathan A, Neesse A, Chan DS, Cook N, Tuveson DA. The Pancreas Cancer Microenvironment. *Clin Cancer Res.* 2012;18(16):4266-76.
- Nielsen MFB, Mortensen MB, Detlefsen S. Key players in pancreatic cancer-stroma interaction: Cancer-associated fibroblasts, endothelial and inflammatory cells. *World J Gastroenterol.* 2016;22(9):2678-700.
- Bapat, A. A., Hostetter, G., Von Hoff, D. D., & Han, H. Perineural invasion and associated pain in pancreatic cancer. *Nature Reviews Cancer.* 2011;11(10):695-707.
- Miao F, Zhu J, Chen Y, Tang N, Wang X, Li X. MicroRNA-183-5p promotes the proliferation, invasion and metastasis of human pancreatic adenocarcinoma cells. *Oncol Lett.* 2016;11(1):134-40.
- Gharibi A, Adamian Y, Kelber J. Cellular and molecular aspects of pancreatic cancer. *Acta Histochem.* 2017;118(3):305-16.
- Whatcott CJ, Diep CH, Jiang P, Watanabe A, Lobello J, Sima C, et al. Desmoplasia in primary tumors and metastatic lesions of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(15):3561-8.
- Binker MG, Binker MJ, Binker AA, Binker LI. Microenvironmental Factors and Extracellular Matrix Degradation in Pancreatic Cancer. *Jop.* 2014;15(4):280-5.
- Dhayat SA, Traeger MM, Rehkaemper J, Stroese AJ, Steinestel K, Wardelmann E, et al. Clinical impact of epithelial-to-mesenchymal transition regulating microRNAs in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancers.* 2018;10(9):1-20.
- Xiong J, Wang D, Wei A, Lu H, Tan C, Li A, et al. Deregulated expression of miR-107 inhibits metastasis of PDAC through inhibition PI3K/Akt signaling via caveolin-1 and PTEN. *Exp Cell Res.* 2017;361(2):316–23.
- Ashour AA, Gurbuz N, Neslihan S, Abdel-aziz AH. Elongation factor-2 kinase regulates TG2 / β 1 integrin / Src / uPAR pathway and epithelial mesenchymal transition mediating pancreatic cancer cells invasion. *J Cell Mol Med.* 2014;18(11):2235–51.
- Venning FA, Wullkopf L, Erler JT. Targeting ECM disrupts cancer progression. *Front Oncol.* 2015;5(OCT):1-15.
- Pickup MW, Mouw JK, Weaver VM. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.* 2014;15(12):1243-53.
- Weniger M, Honselmann KC, Liss AS. The extracellular matrix and pancreatic cancer: A complex relationship. *Cancers.* 2018;10(9):1-20.
- Karsdal MA, Nielsen SH, Leeming DJ, Langholm LL, Nielsen MJ, Manon-Jensen T, et al. The good and the bad collagens of fibrosis-Their role in signaling and organ function. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;1(121):43-56.
- Zhao S, Chen C, Chang K, Karnad A, Jagirdar J, Kumar AP, Freeman JW. CD44 expression level and isoform contributes to pancreatic cancer cell plasticity, invasiveness, and response to therapy. *Clin Cancer Res.* 2016;22(22):5592-604.
- Murakami T, Hiroshima Y, Matsuyama R, Homma Y, Hoffman RM, Endo I. Role of the tumor microenvironment in pancreatic cancer. *Ann Gastroenterol Surg.* 2019;3(2):130-7.
- Von Ahrens D, Bhagat TD, Nagrath D, Maitra A, Verma A. The role of stromal cancer-associated fibroblasts in pancreatic cancer. *J Hematol Oncol.* 2017;10(1):76.
- Hao J. HIF-1 is a critical target of pancreatic cancer. *Oncoimmunology.* 2015;4(9):e1026535.
- Vandooren J, Opendakker G, Loadman PM, Edwards DR. Proteases in cancer drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;1(97):144-155.
- Sternlicht MD, Werb Z. How Matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001;17:463-516.
- Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases, the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016;31(Sup1):177-183.
- Kabacaoglu D, Ciecieski KJ, Ruess DA, Algül H. Immune check point inhibition for pancreatic ductal adenocarcinoma: current limitations and future options. *Front Immunol.* 2018;15(9):1878.
- Tjomsland V, Pomianowska E, Aasrum M, Sandnes

- D, Verbeke CS, Gladhaug IP. Profile of MMP and TIMP expression in human pancreatic stellate cells: regulation by IL-1 α and TGF- β and implications for migration of Pancreatic cancer cells. *Neoplasia*. 2016;18(7):447-56.
28. Díaz-López A, Moreno-Bueno G, Cano A. Role of microRNA in Epithelial to mesenchymal transition and metastasis and clinical perspectives. *Cancer Manag Res*. 2014;6(1):205-16.
29. Zheng, H., & Kang, Y. (2014). Multilayer control of the EMT master regulators. *Oncogene*, 33(14), 1755-1763.
- Zheng, H., & Kang, Y. (2014). Multilayer control of the EMT master regulators. *Oncogene*, 33(14), 1755-1763.
30. Paszek MJ, Zahir N, Johnson KR, Lakins JN, Rozenberg GI, Gefen A, et al. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell*. 2005;8(3):241-54.
31. Wellner U, Schubert J, Burk UC, Schmalhofer O, Zhu F, Sonntag A, et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness inhibiting microRNAs. *Nature Cell Biol*. 2009;11(12):1487-95.
32. Paszek MJ, Zahir N, Johnson KR, Lakins JN, Rozenberg GI, Gefen A, et al. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell*. 2005;8(3):241-54.
33. Lee J, Condello S, Yakubov B, Emerson R, Caperell Grant A, Hitomi K, et al. Tissue Transglutaminase Mediated Tumor-Stroma Interaction Promotes Pancreatic Cancer Progression. *Clin Cancer Res*. 2015;21(19):4482-93.
34. Bonnans C, Chou J, Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(12):786-801.
35. Rath N, Olson MF. Rho-associated kinases in tumorigenesis: re-considering ROCK inhibition for cancer therapy. *EMBO Rep*. 2012;13(10):900-8.
36. Begum A, Ewachiw T, Jung C, Huang A, Norberg KJ, Marchionni L, et al. The extracellular matrix and focal adhesion kinase signaling regulate cancer stem cell function in pancreatic ductal adenocarcinoma. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180181.
37. Sato N, Cheng XB, Kohi S, Koga A, Hirata K, Sinica B. Targeting hyaluronan for the treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Acta Pharmaceutica*. 2016;6(2):101-5.
38. Morohashi H, Kon A, Nakai M, Yamaguchi M, Kakizaki I, Yoshihara S, et al. Study of hyaluronan synthase inhibitor, 4-methylumbelliferone derivatives on human pancreatic cancer cell (KP1-NL). *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;345(4):14549.
39. Wong KM, Horton KJ, Coveler AL, Hingorani SR, Harris WP. Targeting the tumor stroma: the biology and clinical development of pegylated recombinant human hyaluronidase (PEGPH20). *Curr Oncol Rep*. 2017;19(7):47.
40. Aslan M, Shahbazi R, Ulubayram K, Ozpolat B. Targeted therapies for pancreatic cancer and hurdles ahead. *Anticancer Res*. 2018;38(12):6591-606.
41. Long KB, Gladney WL, Tooker GM, Graham K, Fraietta JA, Beatty GL. IFN- γ and CCL2 cooperatively direct tumor infiltrating monocytes to degrade fibrosis and enhance chemotherapy efficacy in pancreatic carcinoma. *Cancer Discov*. 2016;6(4):400-13.
42. Vonderheide RH, Martin JG. Agonistic CD40 antibodies and cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2013;19(5):1035-43.
43. Assaf Z, Lilach K, Omer A, Maria P, Mohammed A, Zvi Y, et al. Collagenase nanoparticles enhance the penetration of drugs into pancreatic tumors. *ACS Nano*. 2019;13(10):11008-21.
44. Alvarez MA, Freitas JP, Hussain SM, Glazer ES. TGF- β Inhibitors in Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Gastrointest Cancer*. 2019;50(2):207-13.
45. Winer A, Adams S, Mignatti P. Matrix metalloproteinase inhibitors in Cancer therapy: turning past failures into future successes. *Mol Cancer Ther*. 2018;17(6):1147-55.
46. Sharma, N. S., Gupta, V. K., Garrido, V. T., Hadad, R., Durden, B. et al. Targeting tumor-intrinsic hexosamine biosynthesis sensitizes pancreatic cancer to anti-PD1 therapy. *The Journal of Clinical Investigation*, 2019;130(1).
47. Fang, Y., Zhou, W., Rong, Y., Kuang, T., Xu, X. et al. Exosomal miRNA-106b from cancer-associated fibroblast promotes gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Experimental cell research*. 2019;383(1),111543.
48. Kuninty, P. R., Bojmar, L., Tjomsland, V., Larsson, M., Storm, G. et al. MicroRNA-199a and-214 as potential therapeutic targets in pancreatic stellate cells in pancreatic tumor. *Oncotarget*. 2016;7(13),16396.
49. Chen, S., Xu, J., Su, Y., Hua, L., Feng, C. et al. MicroRNA-145 suppresses epithelial to mesenchymal transition in pancreatic cancer cells by inhibiting TGF- β signaling pathway. *Journal of Cancer*. 2020;11(9),2716.
50. Gurbuz, N., & Ozpolat, B. MicroRNA-based targeted therapeutics in pancreatic cancer. *Anticancer research*. 2019;39(2),529-532.