

BÖLÜM 17

KANSER KÖK HÜCRE HİPOTEZİ ve TEDAVİ STRATEJİLERİNDEKİ ÖNEMİ

Hüsnü Ümit LÜLEYAP¹

KANSER KÖK HÜCRE HİPOTEZİ

Kanser tedavisinde kaydedilen ilerlemelere rağmen kanser, dünya çapında en yaygın ölüm nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Kanser büyük oranda; cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel yaklaşımlarla tedavi edilmeye çalışılmakla birlikte, bu klasik tedavi stratejilerine ilave olarak son yıllarda immünoterapi de eklenmiştir. Kanser konusunda yapılan çalışmalar, tümör dokusunda bulunan hücrelerin tek tipten ziyade, heterojen yapıda olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunun diğer bir anlamı, tümör dokusunun; farklı moleküler özelliklere sahip, tedaviye farklı hassasiyet seviyeleri gösteren çeşitli hücre koleksiyonlarından oluştuğu gerçeğidir (1). On yıllar boyunca, kanser heterojenliğini açıklamak için kullanılan iki ana hipotez (model) vardır. Bunlardan birincisi, mutasyon veya klonal seçim olarak tanımlanan stokastik model ve diğeri ise kanser kök hücre hiyerarşisine dayanan hiyerarşik hipotezdir (2-4).

Mutasyon hipotezinin temelini anlamaya yönelik ilk girişimler; 1914 yılında ortaya çıkmış olmakla birlikte, DNA ve kromozom yapısıyla ilgili bilgilerin şekillenmesine paralel olarak, aslında kanserin, kromozomal kusurların bir kombinasyonu olabileceği düşüncesini gündeme getirmiştir(5). Bundan sonra, Carol O. Nordling tarafından bir dizi mutasyona uğramış genin, kanserli hücrelerin tümör oluşturmaya neden olabileceğini gösteren çalışmaları izlemiştir (6). Bu çalışmalardan sonra, kansere neden olmak için gereken mutasyonel değişikliklerin sayısı araştırılmış ve yaklaşık üç ila yedi mutasyonun, büyük ölçüde kanser gelişimi için gerekli olduğu ileri sürülmüştür(7). Sonuç olarak Weinberg, en az üç veya dört mutasyonun malignansi için yeterli olacağını, yaptığı in vitro çalışmalar ile doğrulamıştır. Bu çalışmalarla birlikte; stokastik modelin temelini oluşturan söz konusu seri mutasyonların, tümör dokusunda yer alan hücresel heterojeniteyi oluşturduğu ve kanserin ilerlemesine katkı sağladığı düşüncesi bilimsel çevrelerde büyük oranda kabul görerek bir paradigmaya dönüşmüştür. Bu hipotezin temel

¹ Prof. Dr., (PhD) Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. umitulleyap@gmail.com

dayanağı, kanserin zamana bağlı olarak tek bir hücrede DNA mutasyonları birikiminden kaynaklanması nedeniyle, tek bir mutant hücreden türemiş monoklonal karakterde homojen bir doku olduğu sonucunu doğurmaktadır (8). Eş zamanlı olarak bazı bilim insanları, DNA yapısında, mutasyonlar olmasına rağmen kanseri başlatamadıklarını ve bu nedenle mutasyonel değişikliklerin, kanserin başlaması için yeterli tek neden olamayacağını ileri sürmelerine neden olmuştur. Bu düşünceye destek olarak; kalıtsal özellik gösteren kanserlerin sadece %5 -%10'ünün mutasyonlar tarafından tetiklenebileceğini gösteren çalışmalar, hipotezler arası görüş farklılıklarının şekillenmesine anlam katmıştır (9, 10, 11),

Birçok kanser türünde gösterildiği gibi, kanserin ilerlemiş formu olarak diğer organlara metastaz yaptığı ileri bir aşamada, teşhis edilebilmesi, tedavi başarısızlığının en önemli nedeni olarak varsayılmaktadır. Ayrıca, erken evrede teşhis edilip tedavi edilebiliyor gibi görünse bile, bir süre sonra tümörün nüksetmesine neden olan bazı kalıntı hücreler nedeniyle, daha agresif hale gelerek metastazla sonuçlanabiliyor olması da bir gerçektir. Artan kanıtlar, tedavi direncinden sorumlu olan ve kanser ilerlemesinin herhangi bir aşamasında bulunabilen bu kalıntı hücrelerin, stokastik model veya mutasyon temeline dayanan klonal seçim hipotezinin temel aldığı tedavi stratejileriyle tedavi edilemeyeceği yönündedir. Kanser oluşumu ve ilerlemesindeki bu yetersizliğe alternatif olarak, kanser hücrelerinin sahip olduğu; tedavi direnci, köklülük ile ilgili genlerin ifade düzeyindeki artışa dayalı farklılaşma potansiyeli, değişen koşullara göre kendini yeniden programlama ve kendini yenileme gibi temel kök hücre özelliklerinin bulunması, dikkatlerin; kanser ve kök hücre ilişkisi üzerine yoğunlaşmasını sağlamıştır.

Kanser Kök Hücre görüşünün ortaya çıkmasındaki temel esin kaynağı olan Hematopoetik kök hücrelerin (HKH) özellikleri, günümüzden yaklaşık 60 yıl önce tanımlanmıştır. Hematopoetik hiyerarşinin en üstünde az sayıda bulunan HKH'ler, seyrek olarak bölünmeleri nedeniyle genellikle sessiz olarak tanımlanır. Çünkü hücre cephesinde bölünme demek; metabolizma artışına paralel serbest radikal artışı ve bunun yanı sıra, DNA replikasyonu ve mutasyon gibi risklerin de artışı anlamına gelir. HKH bölündüğünde, bunu asimetric bir şekilde yaparak bir tane aktif olarak bölünebilme yeteneğinde olan progenitör yavru hücre ve bir tane de yeni hareketsiz kök hücre oluşturur. Kök hücrenin 'kendini yenileme' anlamında benzersiz bir kapasitesini tanımlayan bu özelliği, aynı zamanda tüm kan soylarını da üretebildiği anlamına gelir. Bu nedenle, HKH'ler; multipotent ve progenitör özelliklerinin bir sonucu olarak, bölünmeye devam ettikçe, hiyerarşide aşağı doğru göç ederek, farklılaşma açısından aşamalı şekilde soy kısıtlı hale gelirler. Bir dizi farklı adımda gerçekleşen bu organize süreç sonunda, çeşitli olgun kan hücresi türleri oluşur. Bu bilgiler, diğer yetişkin kök hücre türlerini incele-

menin mümkün olmadığı on yıllar öncesine dayanmakla birlikte, diğer memeli dokularının ve kanserin ilerlemesi ve nüks etmesine ilişkin deneysel gözlemlerin yorumlanması açısından önemli bir şablon olarak hizmet etmiştir. Kanser kök hücreleri (KKH'ler) ilk olarak 1997 yılında John Dick ve arkadaşları tarafından akut miyeloid lösemide (AML) tanımlanmış olup, 21. yüzyılın başından beri, kanser araştırmalarında bu konu, yoğun bir şekilde hep gündemde olmuştur.

Şimdiye kadar KKH'lerin kökenini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda; meme, akciğer, pankreas, karaciğer, prostat, kolon, beyin ve böbrek gibi çok sayıda solid tümörlere ilişkin KKH leri tanımlanmış olmakla birlikte, tüm kanser türlerine ait tümör dokularının hepsinde KKH'lerin tanımlanması henüz yapılamamıştır (3, 4, 5). Bunda, embriyonik kök hücrelerin (EKH) etik nedenlerle kök hücre ve KKH araştırmalarında kullanılamamasının etkisi bulunmakla birlikte, uyarılmış pluripotent kök hücrelerin (iPKH'ler) keşfiyle birlikte, kök hücre araştırmalarında yeni bir sayfa açılmasıyla yeniden ivme kazanmıştır. EKH'lerin özelliklerini anlamak için tamamen farklılaşmış hücrelerin yeniden programlanması olarak tanımlanabilecek iPKH uygulamaları sayesinde, vücuttaki tüm hücre tiplerine dönüşebilecekleri anlaşılmıştır. Bu yeniden programlama işleminde ilk olarak farklılaşmış fibroblastların; c-myc, Klf4, Nanog ve SOX2 gibi kök hücre özelliği açısından dört temel transkripsiyon faktörüyle (Yamanaka faktörleri) yeniden programlanabileceği anlaşılmıştır (12). Ayrıca, bir fare deri karsinogenezi modelinde, Blapain ve meslektaşları, melanomun başlaması ve ilerlemesinde, SOX2 transkripsiyon faktörünün anahtar role sahip olduğunu göstermiştir. Normal deride eksprese edilmeyen SOX2'nin, tümör oluşumuyla birlikte ifade edilmesi ve SOX2 geninin silinmesi ile tümörün önlenemediğinin gösterilmesi de oldukça dikkat çekicidir. Buna ek olarak; SOX2 eksprese eden hücrelerin, tümör çoğaltan hücreler olduğunun anlaşılması, tümörlerden SOX2-pozitif hücrelerin çıkarılmasıyla tümör gelişiminin geriletilmesi gibi araştırmalar, SOX2'nin; köklülük, çoğalma, hayatta kalma ve istila gibi onkogenezi sürecinde yer alan genleri doğrudan düzenleyerek hem tümörün başlamasına hem de ilerlemesine katkıda bulunduğunun gösterilmesi oldukça önemlidir.

Klasik KKH hipotezine göre, KKH olmayanların KKH üretmediği tek yönlü bir farklılaşma hiyerarşisi söz konusudur. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar, farklılaşmış hücrelerin de KKH'lerine dönüşebileceğini ortaya çıkararak, plastisite bakımından daha esnek ve dinamik bir kök hücre hiyerarşisinin olduğunu destekleyen kanıtlar sunmuştur. KKH'ler, tümörün büyük kısmını oluşturan heterojen, farklılaşmış kanser hücrelerine yol açan kendi kendini yenileme ve farklılaşma yeteneği de dahil olmak üzere normal kök hücrelerle benzer özellikleri paylaşır. Bu benzerlikler nedeniyle, her doku için spesifik olan yüzey işaretleri

tespit edilerek KKH'leri tanımlanmış olup, yaygın olarak, CD133, CD44, CD90 ve yan popülasyon hücreleri (SP) gibi kök hücrelerle ilişkili yüzey belirteçlerinin ekspresyonu ile karakterize edilir ve bunlar tarafından zenginleştirilmiş in vitro ve in vivo olarak izole edilebildikleri gösterilmiştir. Ancak, yapılan çalışmalar, normal kök hücreler ile KKH olduğu düşünülen kök hücreler arasındaki farklılığı tam olarak gösterebilecek ayırıcı özelliklerin tanımlanmasında henüz eksiklikler bulunduğunu ve bu nedenle, normal kök hücre işaretlerinin KKH ile ortak olmasından kaynaklanan yanlışlıklar olabileceği ihtimalini göz önünde bulundurmanın gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bu eksikliği giderebilmek adına günümüzde, KKH popülasyonlarını tanımlamak için tek bir hücre belirteci yerine genellikle birden fazla kök hücre işareti kullanılarak sorun minimize edilmeye çalışılsa da, kök hücre tanımlamasının daha ayırıcı ve net şekilde yapılmasını sağlayacak araştırmalara duyulan gereksinim kaçınılmazdır. (2). Aynı zamanda, KKH'nin yeniden tümör oluşturabilme kapasitesinin anlaşılması amacıyla, düşük klonal yoğunlukta bile bağımsızlığı yetersiz farelere (SCID) nakledilerek orijinal tümörü yeniden oluşturabilme yetenekleri ölçülmeye çalışılır. Bunlara ek olarak, in vitro koşullarda; orijinal dokulara ait kök hücrelerinin zenginleştirilmesi ve KKH elde etmek amacıyla bir deney modeli olarak küre oluşturma deneyi kullanılır. Örneğin bu model kapsamında katı tümörlerden; beyin, meme, kolon gibi sırasıyla; nörosfer, mammosfer ve kolonosferler kullanılmıştır (3).

Tümör dokusunda yer alan hücre popülasyonuna karşı tedavi amacını taşıyan ancak tümör saldırganlığına yol açan KKH'nin varlığı, tümörü sürdürmede tümör kütlesi içindeki kritik alt kümeyi temsil edip etmediği ekseninde yapılan tartışmalar günümüzde de hala devam etmektedir. Son yıllarda KKH konusunda çalışan bilim insanları, bu hipotezin kanser ilerlemesi sırasında, hücresel ve moleküler olayları anlamamız konusunda devrim yaratacak; terapi direnci, nüks ve metastaz konularının daha iyi anlaşılmasına çok önemli katkılar sağlayacağını ileri sürmüşlerdir.

KKH hipotezi, tümör kütlesini küçültmekten ziyade, kanser kök hücrelerinin uzun vadeli büyümesini durduran ve onu yok etmeyi amaçlayan yenilikçi tedavi stratejilerinin tasarımına ilham vermiştir. Bu derlemenin amacı; normal kök hücre biyolojisi üzerine eski bildiklerimizi akılda tutarak, KKH alanında ortaya çıkan görüşleri ve son gelişmeleri tartışmak ve tedavi stratejilerine yansımaları konusundaki düşünceleri paylaşmaktır. Geçtiğimiz birkaç yıl içinde, tümör dokusu içinde soy izleme ve hücre ablasyonunu içeren çalışmalar, bu tümörlerin çoğunun özel nişlerde kök hücreler barındırdığını doğrulamıştır (8-12, 13, 14). KKH'lerin (normal kök hücrelere benzer şekilde) mutlaka nadir ve/veya hareket-siz olması gerekmediği de anlaşılmaya başlamıştır. Çünkü yapılan bazı çalışmalar; KKH'nin, normal kök hücrelerin aksine bol miktarda olabileceklerini ve hızlıca

çoğalabileceklerini göstermiştir. Ayrıca, kök hücre hiyerarşilerinin, KKH'lerin tanımlanmasını ve ortadan kaldırılmasını zorlaştıran bir fenomen olarak, önceden tahmin edilenden çok daha esnek olabileceğini de ortaya çıkarmıştır (15).

KKH'LERİN PLASTİSİTESİ

Kök hücre biyolojisi konusunda başlangıçta yapılan çalışmaların ağırlıklı olarak HKH ile yapılmış olması nedeniyle, kanser kök hücrelerinin de hiyerarşi bakımından hemotopoitik merkezli yorumuna neden olmuştur. Ancak artan kanıtlar, belirli bir yetişkin kök hücre hiyerarşisi ve sonuç olarak KKH güdümlü bir tümör hiyerarşisi için genel olarak uygulanabilir bir şablonun, şu an için elimizde bulunmadığını, bunun yerine plastisitesi yüksek bir kök hücre hiyerarşisine dikkat çekilmektedir.

Kendini yenileme kapasitesi yüksek epitel ve bağırsak gibi dokularda yetişkin kök hücrelerin doğal nişlerinde bol miktarda bulunabildiği öngörüsünden yola çıkılarak yapılan çalışmalarda; bağırsak kript hücrelerinin %10'a kadarının, Lgr5 ifade eden bağırsak kök hücreleri olduğu gösterilmiştir (16). Aynı zamanda bu yetişkin kök hücrelerin zorunlu olarak hareketsiz olmayıp, mide pilorunda (17) ve bağırsak kriptlerinde görüldüğü gibi yaşam boyunca aktif olarak bölünebildikleri de gösterilmiştir. Kök hücre dinamiklerinin dikkatlice ölçüldüğü durumlarda, kök hücre nesillerinin temelde farklı kaderler göstermediği, bunun yerine, bir kök hücre bölünmesinin, duruma bağlı olarak sıfır, bir veya iki yeni kök hücre ile sonuçlanabileceği saptanmıştır. Bu mekanizma, her kök hücre bölünmesinin değişmez bir şekilde bir yeni kök hücre ve bir yavru hücre oluşturduğu, asimetric bölünme modeliyle tezat oluşturur. Nötr rekabet olarak tanımlanan bu model, her ne kadar epidermis, mide ve bağırsak kriptlerinde (18,19). tanımlanmışsa da kök hücre hiyerarşisinin büyük ölçüde yüksek plastisiteye sahip olduğu gerçeğini değiştirmemektedir. Bu derleme, her ne kadar birçok yaygın tümör tipinde KKH varlığını destekleyen kanıtları göstermeye çalışsa da, kök hücre tanımlamalarındaki eksiklik veya yetersizlikler nedeniyle her kanserin KKH modeline uymadığına dair bir gerçeği de göz önünde bulundurmanın uygun olacağını hatırlatır. Örneğin, optimal koşullar altında, insan melanom hücrelerinin %25'e kadarının ksenograftlar aracılığıyla yeni tümör oluşturabildiğinin gösterilmesi, iki şekilde yorumlanabilir. Birinci olarak, buradaki kök hücrelerin klasik kök hücre hiyerarşisi izlemediğidir. İkincisi de, ilerlemiş melanomlardaki çoğu hücrenin KKH'ler gibi davranması olarak yorumlanabilir. (20)

Başka bir örnek olarak, pankreas kanseri örneklerinin seri ksenotransplantasyonu sırasında klonal dinamiklerin analizi, uzun vadeli büyümenin KKH'ler tarafından değil, geçici olarak aktif tümör başlatan hücrelerin art arda aktivas-

yonu tarafından yönlendirildiğini göstermiştir (21). Sınırlı sayıda çalışma, hem KKH'lerin hem de KKH olmayanların plastisite göstererek uygun uyaranlara yanıt olarak fenotipik geçişler yapabildiğini ortaya çıkarmıştır. Bu düşünce; kök hücre, bazal hücre veya lümen benzeri fenotipler sergileyen hücre popülasyonlarının meme kanseri hücre hatlarından izole edilmesine dayanan bir çalışma ile ortaya çıkarılmıştır. Örneğin belirli çevresel uyaranlar değiştirildiğinde (tümör hücreleri ışınlanmış hücrelerle birlikte aşılandığında), kök hücre, bazal ve lümen benzeri hücre fenotiplerinin eşit derecede tümörjenik olduğu ve her tümör hücresi alt popülasyonunun ksenograftlar üretebildiği saptanmıştır. Sonuç olarak; İn vitro yapılan çalışmalarda, üç alt hücre popülasyonunu temsil eden her bir hücre tipinin, diğer iki fenotipin hücrelerini üretebilmesinin yanı sıra, her birinin başarılı ksenograftlar oluşturması da oldukça önemlidir. Tümör hiyerarşisinin tepesinde bulunan Klasik KKH modelinden farklılık gösteren bu bulgular, Kanser Kök Hücre hipotezinin umulandan daha esnek olabileceğini göstermesi bakımından yeni bir bakış açısı sunmaktadır.

KKH'LER VE EPİTELYAL-MEZENKİMAL GEÇİŞ

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT);embriyonik gelişim (gastrulasyon), çeşitli organ ve dokuların oluşumu ve yara iyileşmesinde oldukça önemli bir süreç olmakla birlikte, normal hücrelerde EMT disfonksiyonu, kanser ve fibrozisle sonuçlanır. Kanser ilerlemesi olarak tanımlanan metastaz ve invazyon özelliklerinin kazanılması için EMT oluşumunun önemi, tümörün kan damarlarıyla taşınmasının önünü açacak bir geçişe olanak sunması nedeniyle oldukça önemlidir. Bununla ilgili olarak; epitelyal kanser hücreleri, Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT) olarak bilinen bir süreç sonunda; metastaz ve invazyonu kolaylaştıran bir mezenkimal gen programı başlatabilir mi? sorusu son birkaç yılda, KKH'ler ve EMT arasındaki bağlantı açısından büyük ilgi görmüştür (22-24). Çünkü, EMT dönüşümüne olanak sağlayan transkripsiyon faktörlerinin aşırı ekspresyonu, sadece bir mezenkimal göç fenotipini zorlamakla kalmayıp, aynı zamanda hücre hatlarının tümör başlatma potansiyelini de şiddetlendirdiği gösterilmiştir (25-27). Bu alanda yapılan önemli çalışmalar; EMT için ana transkripsiyon faktörü olarak yer alan SNAI1'e sahip tümör hücrelerinin, fare ve insan modellerinde gelişmiş tümör başlatma kapasitesi ve metastatik potansiyel sergilediğini ortaya çıkarmıştır. Ancak pek çok karsinom tipindeki metastazların epitelyal bir organizasyona sahip olması ve mezenkimal özelliklerden yoksun olması, prensipte, metastatik tümör hücrelerinin hedef organa ulaştıktan sonra epitelyal duruma geri döndüğünü ve hatta bazı durumlarda EMT'nin metastaz için gerekli olmadığını ima eden şüpheler doğurmuştur. Oysa EMT indükleyicilerinin susturulmasını hedefleyen de-

neysel modellerde, metastatik büyüme için bunların gerekli olduğu gösterilmiştir (28,29). Gerçekten de, meme kanseri ksenograftlarının intravital görüntülemesi ile, EMT'ye maruz kalan migrasyon yapan hücrelerin, metastatik bölgeye ulaştıktan hemen sonra, epitel orjinlerine geri döndükleri saptanmıştır (30) Buna ek olarak, EMT ana transkripsiyon faktörü olan TWIST1'in farklı seviyelerinin de, fare deri kanseri modellerinde KKH özelliklerini ve tümör ilerlemesini düzenlediği gösterilmiştir. Tüm bu bulgular, EMT'nin KKH fenotipini sürdürmek için gerekli olduğu hipotezini desteklemektedir. Ancak, hiyerarşik model kapsamında ileri sürülen klasik KKH hipotezinde ileri sürülen; esnek olmayan tek yönlü farklılaşma hiyerarşisi yerine, çevresel uyarılara bağlı olarak daha esnek bir KKH fenotipinin, son çalışmalardan elde edilen bulgularla daha uyumlu olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak. bu ve diğer çalışmalar birlikte ele alındığında, birçok kanser türünde; KKH hiyerarşisinin eskiden önerildiği gibi çok da katı olmadığı ve değişen koşullara göre KKH'lerin yüksek bir plastisiteye sahip olduğu anlaşılmıştır.

KKH VE HİPOKSİ

Düşük oksijen miktarından kaynaklanan, azalmış oksijen seviyeleri (<%2) ile karakterize edilen hipoksi, çoğalan kanser hücrelerinin yüksek oksijen ihtiyacından ve tümör damarlanmasındaki düzensizlikler veya destekleyici kan damarlarından uzaklık nedeniyle solid tümörlerin en temel özelliklerinden biridir. Hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF'ler) arasında; HIF1 α ve HIF2 α dahil olmak üzere, kanserin ilerlemesi sırasında; hayatta kalma, proliferasyon, metabolizm, EMT, anjiyogenez ve metastaz dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçleri düzenleyerek hipoksik duruma hücresel yanıtın birincil araçlarını temsil eder. HIF1 α ve HIF2 dahil olmak üzere hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF'ler), kanserin ilerlemesi sırasında; hayatta kalma, proliferasyon, metabolizma, EMT, anjiyogenez ve metastaz dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçleri düzenleyerek hipoksik duruma hücresel yanıtın birincil araçlarını temsil eder. Bu nedenle, HIF'lerin yüksek ekspresyonu, çeşitli tümör tiplerindeki kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda hipoksik koşullar; kendi kendini yenileme/köklülük, EMT, sessizlik ve ilaca direnç özelliklerinin korunması dahil olmak üzere KKH'lerin biyolojisinin düzenlenmesinde oynadığı roller nedeniyle dikkatleri çekmektedir.

KKH METABOLİZMASI

Farklı dokuların biyolojik ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla yeterli enerjinin üretilmesi ve enerji verimliliği açısından Oksidatif fosforilasyona (OxPhos) dayalı metabolizma oldukça önemlidir. Ancak bu süreç, aynı zamanda, kök hücre gibi

önemli fonksiyonlara sahip yapılarda, olumsuz etkilere sahip reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini de gündeme getirir. Bu nedenle, geleneksel görüş; kök hücrelerin OxPhos'tan kaçındığını ve ROS'a karşı bir koruma biçimi olarak glikolizi tercih ettiğini savunur. Bu görüşe dayanak oluşturan gözlemler; stabil ve nispeten hipoksik nişlerde bulunan ve glikolitik metabolizmayı kullanan HKH'lerden ortaya çıkmıştır (31,32). Nitekim uzun ömürlü HKH'lerde artan OxPhos reaksiyonlarının, HKH havuzunun hareketsiz kalmasına ve tükenmesine yol açtığı gösterilmiştir (33, 34). Ancak metabolik yollar ve tercihler konusunda tüm kök hücreleri kapsayacak bir genellemeden şu an için söz etmek pek mümkün görünmemektedir. Kanser ayırt edici temel özelliklerinden birisi olan, değişken ve esnek metabolizma, aynı zamanda yeni terapötik stratejilerin de ilham kaynağıdır. Bu alandaki çalışmaların çoğu, normal dokulara benzer şekilde, kanserlerin de metabolik olarak farklı hücre popülasyonları içerdiğini göz önünde bulundurmaz. Bir örnek olarak, KRASG12D-mutant pankreas tümörleri, esas olarak glikolizi kullanır. Genetik fare modellerinde KrasG12D alelinin aşağı regülasyonu, büyük tümör gerilemesine neden olurken, dirençli hücrelerin küçük bir alt kümesinin, nüks'e neden olduğu saptanmıştır (35). Yapılan detaylı analizlerde; tümör külesinin genelinden farklı davranan bu hücrelerin, KKH' özelliklerini gösterdikleri ve glikolize alternatif olarak OxPhos'u kullandıkları saptanmıştır. Oksidatif metabolizma inhibitörlerinin, kullanıldığı bu deneysel modelde, tümörün nüksetmesi engellenmiştir. Sonuç olarak; KKH' lerini KKH olmayanlarla karşılaştıran çalışmalarda, evrensel bir metabolik model ortaya konulamamıştır. KKH'ler ve KKH olmayanlar, kullanılan tümör tipine ve model sistemine bağlı olarak tercihen glikoliz veya OxPhos kullanır (36, 37). Çoğu çalışma kanserlerin glikoz metabolizmasına odaklansa da, son çalışmalar, bazı yayılmış tümör hücrelerinin, oldukça agresif KKH'lerin bir alt kümesinde yağ asitleri yoluyla enerji elde ettiğini ortaya koyarak, değişen koşullara göre metabolizmayı modüle edebilme kapasitesine sahip KKH ne dikkat çekmişlerdir (38, 39), Bu nedenle, metastaz sırasında tümör hücrelerinin ve özellikle KKH'lerin spesifik enerji gereksinimleri, hastalığın geç evrelerini tedavi etmek için bir fırsatı temsil edebilir.

KKH'LER VE TERAPİ DİRENCİ

Kanser hücrelerini ortadan kaldırmayı amaçlayan mevcut terapötik stratejilerin büyük çoğunluğu, genellikle sınırlı faydaları olan standart anti-proliferatif kemoterapi ile tedaviyi kapsar. Ancak, heterojen yapıdaki tümör dokusu içinde hastalığı yeniden oluşturabilen (nüks) kemoterapiye dirençli tümör hücrelerinin kalıntı popülasyonu olarak tanımlanan ve neredeyse tanım gereği-KKH'ler bakımından zengin bir ortamı hedeflemekten ziyade, mutasyonlarla oluşmuş tek tip tümör dokusu varsayımıyla hareket eder. Bu bakış açısı düzleminden hareketle, kemoterapi

ve radyasyona karşı ortaya çıkan dirençle ilgili olarak; ilaç pompalarının yukarı regülasyonu, üstün bir DNA onarım kapasitesi, ROS'a karşı gelişmiş koruma ve değişen metabolizma gibi çok sayıda tümör dokusuna ait özellik, birbirinden bağımsız mekanizmalar şeklinde savlamıştır (40-44), Ancak, kök hücre plastisitesi ve özellikle KKH'lerin değişen koşullara uyum modülasyonu gibi özelliklerin anlaşılmasıyla birlikte, büyük resim değişmeye başlamıştır. Bu değişen algının ayak sesleri olarak nitelendirilebilecek çalışmalar 1970'lerde ortaya çıkmaya başlamış olup, özellikle hematolojik tümörlerin hiyerarşik organizasyonu ve proliferatif heterojenliği üzerine yayınlanan çalışmalar, yavaş döngülü lösemik kök hücrelerin, kemoterapiden sonra normal kök hücreler gibi hücre döngüsüne girebildiklerini göstermiştir(45-50). Daha sonraki yıllarda, standart kemoterapiden sonra ortaya çıkan nüks'ün, sessiz KKH'lerin kalıcılığından kaynaklandığı fikri şekillenmiş ve çok sayıda solid tümör tipinde genetik-soy haritalamasıyla da bu görüş desteklenmiştir. Bu konuda yapılan bir çalışma, oksaliptin tedavisinin, tedaviden sonra baskın hale gelen uyuyan klonların, hayatta kalmasını seçici olarak desteklediğini göstermiştir. Son olarak, mide ve bağırsak gibi yüksek oranda çoğalan dokuların repopülasyon kinetiğinin analizi, kemoterapi ve radyoterapinin hızla çoğalan kök hücre ve progenitör havuzunu yok ettiğini, ancak hücre döngüsünde tutuklanmış farklılaşmış hücreleri yedeklediğini ortaya çıkarmıştır (51, 52). Bu gözlemler, farklılaşmış KKH soyunun, tedaviden sonra nüksün tekrarlamasına katkıda bulunan kemoterapiye dirençli sessiz hücrelerin bir kaynağını temsil edebileceğini göstermesi bakımından oldukça önemlidir. (53, 54). Normalde embriyonik ve somatik kök hücrelerin sahip olduğu Wnt/ β -katenin sinyal yolağı, doku homeostazisi için önemli olan çok yönlü farklılaşmayı sağlarken, aynı zamanda kök hücre nişinin ve tümör oluşumunun korunmasında da rol oynayan önemli bir yol olarak dikkat çekmektedir. Kanser tedavisindeki önemli başarısızlıklardan birisi olarak karşılaşılan ilaç direnciyle, Wnt β -katenin sinyal yolağı arasında da yakın bir bağlantı bulunur. Çünkü bu sinyal yolağı, spesifik olarak kök hücrelerde eksprese edilen çoklu ilaç direnciyle ilgili genler olan ABCB1/MDR-1 transkripsiyonunu sağlayarak etkili olmaktadır. Ayrıca, Wnt, β -katenin aktivasyonu; metastaz ve EMT' için de önemli fonksiyonlara sahiptir. Nitekim, bu yol düzensiz hale geldiğinde, neoplastik çoğalma meydana geleceğinden dolayı, Wnt, β -katenin yolaklarını inhibe etmek, terapötik ajanların bir başka potansiyel hedefi olarak karşımıza çıkmaktadır [55].

KKH'LERİN TERAPÖTİK HEDEFLEMESİ

Anti-KKH tedavisi fikri, 1970'lerde ve 1980'lerde lösemik hücrelerin farklılaşmamış bir durumda bloke edildiği gözleminde ortaya çıkmış ve KKH'lerin uç farklılaşmasını indüklemek için all-trans retinoik asidin kullanılmasıyla örneklenmiştir. anti-KKH tedavilerinin tasarımına yönelik hücre plastisitesini göz

önünde bulunduran birkaç ilaç şirketi, bu tümör hücresi popülasyonunu ortadan kaldırmayı amaçlayan programlar başlatmıştır. Bir örnek olarak, MLL-AF9 onkogen güdümlü lösemi modellerinde, lösemik kök hücrelerde tümörjenik programı sürdürmek için lizine özgü demetilaz LSD1 hedeflenmiştir. Tranilsipromin analogları kullanılarak LSD1'in yıkımı veya farmakolojik inhibisyonu ile KKH farklılaşmasını indükleyerek, kayda değer yan etkilere neden olmadan lösemi yayılmasını bloke ettiği gösterilmiştir (56). Şu anda, LSD1 inhibitörleri, AML'li bireylerde faz 1 ve 2 denemelerinde test edilmektedir. Epigenetik düzenleyicilerin inhibisyonu, aynı zamanda, kromatin yeniden düzenlenmesi ile transkripsiyonu kontrol eden policomb-represör kompleksi 1'in bir alt birimi olan BMI1'in genetik aşağı regülasyonunu hedefleyen bir çalışmada gösterildiği gibi, kolorektal kanser solid tümörlü KKH'lerin hedeflenmesinde başarı sağlanmıştır. Bu etki, kanserde BMI1 protein seviyelerini azaltarak hareket eden küçük bir molekül olan PTC-209 kullanılarak da doğrulanmıştır (57). Tek yönlü KKH hiyerarşisi sergileyen tümörlerde, hastalığı tedavi etmek için KKH'lerin ortadan kaldırılması yeterli gibi görünmekle birlikte, yüksek hücre plastisitesine sahip KKH'lerin varlığı durumunda; tümör niş'i; KKH kaybindan sonra progenitör veya farklılaşmış hücrelerin kök hücre özelliklerini yeniden kazanmalarını sağlayarak, terapi başarısızlığı ile sonuçlanacaktır. Tümör niş'ini ve kullanılan sinyalleri hedefleyen çalışmalara örnek olarak WNT sinyallerinin hedef alındığı yeni nesil ilaç benzeri inhibitörler söz konusu olmuştur (58, 59). Bu kapsamda, hücre dışı WNT sinyalini kolorektal ve pankreatik organoidlerde etkili şekilde bloke eden çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca, WNT'ye bağlı bir KKH popülasyonunun yenilenmesi bloke edildiğinde, genetik fare modellerinde akciğer adenokarsinomlarının ilerlemesinin de baskılandığı gösterilmiştir(60).

GELECEKTEKİ YÖNLENDİRMELER

Artık birçok kanser türünde KKH'lerin varlığını destekleyen çok büyük kanıtlar bulunmakla birlikte, tümör dokusunda bulunan hücre hiyerarşileri hakkındaki anlayışımız büyük ölçüde bağısıklığı baskılanmış SCID farelere aktarılmış tümör hücrelerinden yapılan gözlemlerle şekillenmektedir. KKH'lerini, bozulmamış ortamlarında analiz etmek için; CRISPR-Cas9, tümör organoidleri ve intravital görüntüleme gibi yeni teknolojilerin uygulanmasıyla birlikte, KKH'lerin özellikleri ve davranışları hakkındaki algılarımızı değiştirmeye başlamıştır(15). Sağlıklı kök hücrelerin doğası hakkındaki değişen görüşe paralel olarak, KKH'lerin de mutlaka nadir, sessiz ve hiyerarşik olmasının gerekmediği ortaya çıkmıştır. Nitekim kök hücre biyolojisine ilişkin yeni anlayışlar, esastan ödün vermemekle birlikte, tümör hücrelerinin plastisitesi konusunda KKH'leri hedef alan terapi tasarımlarını oldukça karmaşıklştırmıştır. Klasik olarak KKH'lerini hedefleyen tedavi stra-

tejilerinin de kanseri kökten tedavi edebileceği ihtimali konusunda daha temkinli olunması gerektiğini gündeme getirmiştir. Normal dokularda ve tümörlerde hücre plastisitesinin temeline ilişkin artan anlayış, KKH'leri hedeflemeyi amaçlayan daha akıllı tedavilerin tasarımı için esas olmakla birlikte, bazı soruları da beraberinde getirmiştir. Örneğin; Tümör nişi KKH durumunu nasıl belirler, Tümör hücresi fenotipleri ne ölçüde tersine çevrilebilir veya değiştirilebilir? Bir tümörde KKH kaybı üzerine ne tür 'rejeneratif' tepkiler oluşur ve bunlar nasıl kontrol edilir? EMT sırasında tümör hücreleri tarafından benimsenen ara durumlar ve kök hücrelerin metabolik durumları nasıl kontrol edilir ve etkileri nelerdir? Bunlar hem KKH hem de yetişkin kök hücre alanlarında cevap arayan önemli sorulardır.

Kanser hücrelerinin doğasında var olan değişkenliğin yanı sıra, tümör içi plastisite göz önüne alındığında, içsel KKH özelliklerine dayanan tedavileri sürdürmek yerine kök hücre-niş fonksiyonlarını modüle etmek daha çekici görünmektedir (61). Bu strateji, şimdiden umut verici sonuçlar veriyor olsa da, en agresif biçimleriyle KKH'lerin normal niş sinyallerinden bağımsız hale gelebileceği ihtimalinden dolayı, doğrulama gerektiren çalışmalara ihtiyaç göstermektedir (62- 64).

Hipoksi ile indüklenen hücre sinyalinin birincil aracısı, genellikle tümör gelişimi ve azalmış hasta sağ kalımı ile ilişkili olan hipoksi ile indüklenebilir faktör-1'dir (HIF-1). HIF proteinleri, anjiyogenezde kritik bir rol oynayarak, tümör dokusu için ihtiyaç duyulan damar sisteminin büyümesini kolaylaştırır. Hipoksik koşullar altında KKH'lerinin yalnızca tercih edilmekle kalmayıp aynı zamanda seçici olarak zenginleştirildiği göz önüne alındığında, HIF'leri ve ilgili yolları hedefleyen terapötiklerin geliştirilmesi, bu popülasyonları hedeflemek için çekici bir yaklaşımı temsil etmektedir

Ne kadar çok bilersen, O kadar az emin olabilirsin.

Voltaire

KAYNAKLAR

1. Clevers, H. *The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment.* Cell 154, 274–284 (2013)..
2. Doulatov, S., Notta, F., Laurenti, E. & Dick, J.E. *Hematopoiesis: a human perspective.* Cell Stem Cell 10, 120–136 (2012).
3. Uckun, F.M. et al. *Leukemic cell growth in SCID mice as a predictor of relapse in high-risk B-lineage acute lymphoblastic leukemia.* Blood 85, 873–878 (1995).
4. Lapidot, T. et al. *A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID*
5. Bonnet, D. & Dick, J.E. *Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell.* Nat. Med. 3, 730–737 (1997).
6. *Conversion of Stem Cells to Cancer Stem Cells: Undercurrent of Cancer Initiation, Cancers 2019, 11(3), 345;*
7. Ricci-Vitiani, L. et al. *Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells.* Nature 445, 111–115 (2007)
8. Driessens, G., Beck, B., Caauwe, A., Simons, B.D. & Blanpain, C. *Defining the mode of tumour growth by clonal analysis.* Nature 488, 527–530 (2012)
9. Schepers, A.G. et al. *Lineage tracing reveals Lgr5+ stem cell activity in mouse intestinal adenomas.* Science 337, 730–735 (2012).

10. Kozar, S. et al. Continuous clonal labeling reveals small numbers of functional stem cells in intestinal crypts and adenomas. *Cell Stem Cell* 13, 626–633 (2013)
11. Zomer, A. et al. Intravital imaging of cancer stem cell plasticity in mammary tumors. *Stem Cells* 31, 602–606 (2013)
12. Tian, H. et al. A reserve stem cell population in small intestine renders Lgr5-positive cells dispensable. *Nature* 478, 255–259 (2011).
13. Chen, J. et al. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature* 488, 522–526 (2012).
14. Oshimori, N., Oristian, D. & Fuchs, E. TGF- β promotes heterogeneity and drug resistance in squamous cell carcinoma. *Cell* 160, 963–976 (2015)
15. Clevers, H. STEM CELLS. What is an adult stem cell? *Science* 350, 1319–1320 (2015)
16. Barker, N., et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 449, 1003–1007 (2007).
17. Barker, N. et al. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell* 6, 25–36 (2010)
18. Snippert, H.J. et al. Intestinal crypt homeostasis results from neutral competition between symmetrically dividing Lgr5 stem cells. *Cell* 143, 134–144 (2010)
19. Lopez-Garcia, C., Klein, A.M., Simons, B.D. & Winton, D.J. Intestinal stem cell replacement follows a pattern of neutral drift. *Science* 330, 822–825 (2010)
20. Quintana, E. et al. Efficient tumour formation by single human melanoma cells. *Nature* 456, 593–598 (2008).
21. Ball, C.R. et al. Succession of transiently active tumor-initiating cell clones in human pancreatic cancer xenografts. *EMBO Mol. Med.* 9, 918–932 (2017).
22. Batlle, E. et al. The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nat. Cell Biol.* 2, 84–89 (2000).
23. Cano, A. et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat. Cell Biol.* 2, 76–83 (2000).
24. Savagner, P., Yamada, K.M. & Thiery, J.P. The zinc-finger protein slug causes desmosome dissociation, an initial and necessary step for growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition. *J. Cell Biol.* 137, 1403–1419 (1997)
25. Mani, S.A. et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 133, 704–715 (2008)
26. Morel, A.P. et al. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 3, e2888 (2008).
27. Puisieux, A., Brabletz, T. & Caramel, J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nat. Cell Biol.* 16, 488–494 (2014)
28. Tsai, J.H., Donaher, J.L., Murphy, D.A., Chau, S. & Yang, J. Spatiotemporal regulation of epithelial-mesenchymal transition is essential for squamous cell carcinoma metastasis. *Cancer Cell* 22, 725–736 (2012).
29. Ocaña, O.H. et al. Metastatic colonization requires the repression of the epithelial-mesenchymal transition inducer Prrx1. *Cancer Cell* 22, 709–724 (2012)
30. Beerling, E. et al. Plasticity between epithelial and mesenchymal states unlinks EMT from metastasis-enhancing stem cell capacity. *Cell Reports* 14, 2281–2288 (2016).
31. Suda, T., Takubo, K. & Semenza, G.L. Metabolic regulation of hematopoietic stem cells in the hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 9, 298–310 (2011).
32. Simsek, T. et al. The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 7, 380–390 (2010).
33. Maryanovich, M. et al. An MTCH2 pathway repressing mitochondria metabolism regulates haematopoietic stem cell fate. *Nat. Commun.* 6, 7901 (2015)
34. Tothova, Z. et al. FoxOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress. *Cell* 128, 325–339 (2007)
35. Viale, A. et al. Oncogene ablation-resistant pancreatic cancer cells depend on mitochondrial function. *Nature* 514, 628–632 (2014)

36. Peiris-Pagès, M., Martinez-Outschoorn, U.E., Pestell, R.G., Sotgia, F. & Lisanti, M.P. Cancer stem cell metabolism. *Breast Cancer Res.* 18, 55 (2016).
37. Sancho, P., Barneda, D. & Heeschen, C. Hallmarks of cancer stem cell metabolism. *Br. J. Cancer* 114, 1305–1312 (2016).
38. Pascual, G. et al. Targeting metastasis-initiating cells through the fatty acid receptor CD36. *Nature* 541, 41–45 (2017)
39. Ye, H. et al. Leukemic stem cells evade chemotherapy by metabolic adaptation to an adipose tissue niche. *Cell Stem Cell* 19, 23–37 (2016)
40. Borst, P. Cancer drug pan-resistance: pumps, cancer stem cells, quiescence, epithelial to mesenchymal transition, blocked cell death pathways, persists or what? *Open Biol.* 2, 120066 (2012).
41. Holohan, C., Van Schaeybroeck, S., Longley, D.B. & Johnston, P.G. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nat. Rev. Cancer* 13, 714–726 (2013)
42. Diehn, M. et al. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *Nature* 458, 780–783 (2009)
43. Li, X. et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy. *J. Natl. Cancer Inst.* 100, 672–679 (2008)
44. Bao, S. et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 444, 756–760 (2006).
45. Clarkson, B., et al. Studies of cellular proliferation in human leukemia .3. Behavior of leukemic cells in three adults with acute leukemia given continuous infusions of 3H-thymidine for 8 or 10 days. *Cancer* 25, 1237–1260 (1970).
46. Killmann, S.A., Cronkite, E.P., Robertson, J.S., Flidner, T.M. & Bond, V.P. Estimation of phases of the life cycle of leukemic cells from labeling in human beings in vivo with tritiated thymidine. *Lab. Invest.* 12, 671–684 (1963)
47. Clarkson, B.D. Review of recent studies of cellular proliferation in acute leukemia. *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 30, 81–120 (1969)
48. Clarkson, B. The survival value of the dormant state in neoplastic and normal populations. in *Control of Proliferation in Animal Cells.* (eds. Clarkson, B., Baserga, R.) 945–972 (Cold Spring Harbor Laboratory, New York, NY, 1974)
49. Clarkson, B.D. & Fried, J. Changing concepts of treatment in acute leukemia. *Med. Clin. North Am.* 55, 561–600 (1971).
50. Cronkite, E.P. Acute leukemia: is there a relationship between cell growth kinetics and response to chemotherapy? *Proc. Natl. Cancer Conf.* 6, 113–117 (1970).
51. van Es, J.H. et al. Dll1+ secretory progenitor cells revert to stem cells upon crypt damage. *Nat. Cell Biol.* 14, 1099–1104 (2012).
52. Buczacki, S.J. et al. Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing Lgr5. *Nature* 495, 65–69 (2013)
53. Stange, D.E. et al. Differentiated Troy+ chief cells act as reserve stem cells to generate all lineages of the stomach epithelium. *Cell* 155, 357–368 (2013)
54. Wei, L. et al. Inhibition of CDK4/6 protects against radiation-induced intestinal injury in mice. *J. Clin. Invest.* 126, 4076–4087 (2016)
55. Singh, S.K. et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 432, 396–401 (2004)
56. Harris, W.J. et al. The histone demethylase KDM1A sustains the oncogenic potential of MLL-AF9 leukemia stem cells. *Cancer Cell* 21, 473–487 (2012)
57. Kreso, A. et al. Self-renewal as a therapeutic target in human colorectal cancer. *Nat. Med.* 20, 29–36 (2014)
58. Reya, T. & Clevers, H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 434, 843–850 (2005).
59. Anastas, J.N. & Moon, R.T. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat. Rev. Cancer* 13, 11–26 (2013).
60. Tammela, T. et al. A Wnt-producing niche drives proliferative potential and progression in lung adenocarcinoma. *Nature* 545, 355–359 (2017)

61. McGranahan, N. & Swanton, C. Clonal heterogeneity and tumor evolution: past, present, and the future. *Cell* 168, 613–628 (2017).
62. de Sousa e Melo, F. et al. A distinct role for Lgr5+ stem cells in primary and metastatic colon cancer. *Nature* 543, 676–680 (2017)
63. Fumagalli, A. et al. Genetic dissection of colorectal cancer progression by orthotopic transplantation of engineered cancer organoids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114, E2357–E2364 (2017)
64. Fujii, M. et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis. *Cell Stem Cell* 18, 827–838 (2016)