

Bölüm 9

GAS6/AXL SİNYAL YOLU VE KANSERLE İLİŞKİSİ

Yasemin ATICI¹
Hatibe KARA²

GİRİŞ

Kanser tedavisine yönelik moleküler hedefli çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır. Reseptör tirozin kinazlar (RTK'ler), bir dizi fizyolojik tepkiye ve homeostaza aracılık eden hücre yüzeyi reseptörleridir. Bununla birlikte, RTK'lerin gen amplifikasyonu, aşırı ekspresyonu ve aktive edici mutasyonları sıklıkla kanser gelişimi, ilerlemesi ve metastazını desteklemektedir. Bu nedenle, RTK'lar kanser tedavisinde farmakolojik hedef olarak görülmektedir. Axl, biyolojik süreçlerdeki ve tümör oluşumundaki rolü nedeniyle yeni bir biyobelirteç olarak ortaya çıkmıştır. Axl; Tyro3, Axl, Mer'den oluşan TAM (Tyro3, Axl, Mer) alt ailesine ait bir RTK'dir. K vitaminine bağımlı protein ailesine ait olan, büyüme durduran spesifik protein 6 (Gas6) ligandı Axl'a bağlandığında Gas6/Axl sinyal yolağı aktive olur. Gas6/Axl sinyal yolağı, tümör hücresi büyümesi, metastaz, invazyon, migrasyon, epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), anjiyogenez, ilaç direnci ve kök hücre gelişimi ile ilişkilidir. Axl'ı hedefleyen tipik olarak küçük molekül inhibitörleri, monoklonal antikolar, nükleotid aptamerler, çözümlü reseptörler ve çeşitli doğal bileşikler dahil olmak üzere farklı terapötik ajanlar geliştirilmiştir. Bu bölümde önce Axl'in yapısı, işlevi, düzenlenmesi, sonrasında ise Gas6/Axl sinyal yolağı ve kanserle ilişkisi vurgulanacaktır.

GROWTH ARREST SPESİFİK PROTEİN 6 (GAS6)

K vitaminine bağımlı protein ailesinin en çok bilinen üyeleri arasında koagülasyon faktörleri olan protrombin (Faktör II), Faktör VII, Faktör IX, Faktör X ve Protein Z ile doğal antikoagülanlar olan Protein S ve Protein C bulunmaktadır. Pıhtılaşma mekanizması dışında da K vitaminine bağımlı proteinler ailesinde yeni keşfedilenler ve işlevleri aydınlatılanlar her geçen gün daha da artmaktadır

¹ Arş. Gör. Dr. Lokman Hekim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Ankara, e-mail: yasemin.atici@lokmanhekim.edu.tr

² Dr. Öğr. Üyesi Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Bursa
e-mail: hatibekara@uludag.edu.tr

(1). 678 amino asitten oluşan, 75 kDa ağırlığındaki büyüme durduran spesifik protein 6 (Gas6), K vitaminine bağımlı bir proteindir. Plazma Gas6 konsantrasyonu sağlıklı yetişkinlerde yaklaşık 2.5-18.8 µg/L aralığındadır (2). Gas6 proteininin amino terminal ucunda, 11 adet Gla kalıntısı ve hidrofobik sinyal peptid dizisi bulunmaktadır. Bu bölge K vitaminine bağımlı, γ-karboksilasyon ile aktive olan glutamik asit kalıntıları içerir.

Gas6, yapısal olarak antikoagulan protein S ile ilişkilidir. İki protein %44 amino asit özdeşliğine sahiptir (3). Gas6 ve Protein S, *in vivo* olarak apoptotik hücrelerin fagositozunda önemli role sahip Gla bölgelerine fosfatidilserinin bağlanmasında önemlidir. Gla bölgesini, 4 tane epidermal büyüme faktörü (EGF) ve onları da seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) ile ilişkili olan 2 tane laminin G (LG) bölgesi izler. TAM reseptörlerinin bağlanması ve aktivasyonu için SHBG bölgeleri gereklidir (4). Protein S'nin döngü bölgesi, pıhtılaşma sistemi için trombine duyarlı bölünme bölgelerini içerir. Ancak bu bölgeler Gas6'da mevcut değildir (5).

Gas6, karaciğer, beyin, kalp, akciğer, böbrek ve diğer dokularda yaygın olarak eksprese edilir (6). Gas6, hücrelerde proliferasyon, migrasyon, farklılaşma ve yapışma dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçleri düzenlemektedir (7).

AXL'İN YAPISI VE SAXL

19q13.2 kromozomda yer alan Axl geni, ilk olarak 1991 yılında kronik miyeloid lösemili (CML) hastalarda tanımlanmıştır (8). Axl, Yunanca'da kontrolsüz anlamına gelen "anexelekto" kelimesinden gelir. Axl (UFO, ARK, Tyro7 veya JTK11) olarak adlandırılan Axl geni tarafından kodlanan protein, TAM reseptör tirozin kinaz ailesinin bir üyesidir.

Axl, ekstrasellüler (hücre dışı), transmembran ve intraselüler (hücre içi) alanlardan oluşur (9). Ekstrasellüler yapı, iki immüno globulin (Ig) benzeri tekrardan ve nöral hücre yapışma moleküllerine (NCAM'ler) benzeyen iki fibronektin tip III (FN III) benzeri tekrardan oluşur. FN III bölgesi Gas6 ligandının Axl'a bağlanmasını düzenler ve bu işlevde Ig bölgeleri etkin rol oynar (10). İntraselüler alan otofosforilasyon ve sonrasında kinaz aktivitesi için kritiktir (**Şekil 1a**).

Membrana bağlı Axl, proteoliz sonucunda hücre zarından dökülebilir. Axl, proteinin hücre dışı bölgesinden oluşan çözünür bir formda (sAxl) dolaşımında bulunur (11). sAxl, Axl reseptörünün dolaşımdaki çözünmüş fraksiyonudur ve konsantrasyonu çok düşük seviyededir (0.3-0.9 nM). Plazmada bulunan sAxl'in molekül ağırlığı farelerde ve insanlarda 65-80 kDa arasındadır (12).

AXL'İN GEN EKSPRESYONUNUN DÜZENLENMESİ

Axl sentezi, farklı şekillerde düzenlenebilir. Aktivatör protein 1 (AP1), Sp1/Sp3, YAP/TAZ/ TEAD, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 α (HIF1 α) ve miyeloid çinko parmak 1 proteini (MZF-1) olmak üzere Axl promotöründe beş transkripsiyon faktörü etkilidir. Toll benzeri reseptör (TLR) sinyalinin aktivasyonu, dendritik hücrelerde ve makrofajlarda Axl'in mRNA sentezini artırır (13, 14).

Transkripsiyon işlemi, diğer RTK'lar tarafından kontrol edilir. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (NSCLC), baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomda (HNSCC) aktive edilmiş epidermal büyüme faktör reseptör (EGFR) yolakları, MEK/ERK ekspresyonunun azalması, JUN transkripsiyonu yoluyla Axl'in mRNA ekspresyonunu uyarır (15). Axl'in mRNA ekspresyonu, iki mikroRNA (miRNA), miR-34a ve miR-199a/b tarafından inhibe edilir (16, 17). Ayrıca, Axl'in mRNA ekspresyonu, histon asetilasyonu ve histon/DNA metilasyonu dahil olmak üzere epigenetik modifikasyona tabidir (18, 19).

Tam uzunluktaki Axl, 894 amino asit içerir ve 98 kDa'lık bir proteini kodlamasına rağmen, aktive edilmiş Axl reseptörünün glikozilasyon, fosforilasyon ve çoklu monoubikitinasyon bölgeleri tarafından transkripsiyonel regülasyonu nedeniyle gerçek gözlemlenen moleküler ağırlığı 100 ile 140 kDa arasında değişmektedir (20, 21).

Yetişkin insanlarda, Axl ekspresyonu nispeten düşüktür. Ancak meme kanseri, kronik lenfositik lösemi (CLL), NSCLC, pankreas kanseri, glioblastoma, melanom, renal hücreli karsinom (RCC), prostat kanseri ve özofagus kanseri dahil olmak üzere bir dizi insan malignitesinde Gas6/Axl'in ekspresyonun değiştiği gösterilmiştir ve bu değişen ekspresyon, hastalığın ilerlemesi ve sağkalım süresinin azalması ile ilişkilidir (22-34).

Çeşitli meme kanseri modellerinde, Axl ekspresyonunun metastatik nodüllerde primer tümörlere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Axl'in miRNA'larla ekspresyonlarının azaltılması, AKT fosforilasyonunu inhibe ettiği ve tümör hücrelerinin hareketliliğini, metastazını ve invazyonunu azalttığı bulunmuştur (27).

Axl, biyolojik süreçlerdeki ve tümör oluşumundaki rolü nedeniyle yeni bir potansiyel biyobelirteç olarak ortaya çıkmıştır. Axl'in kanser gelişimi, ilerlemesi ve ilaç direncindeki rolü göz önüne alındığında, prognostik bir biyobelirteç ve terapötik hedef olarak önemi gün geçtikçe artmaktadır (35).

GAS6/AXL'İN TÜMÖR GELİŞİMİ VE İLERLEMESİNDEKİ ROLÜ

RTK'ler, bir dizi fizyolojik etkiye ve homeostaza aracılık eden hücre yüzeyi reseptörleridir. Bununla birlikte, RTK'lerin gen amplifikasyonu, aşırı ekspresyonu

ve aktive edici mutasyonları sıklıkla kanser gelişimi, ilerlemesi ve metastazı ile ilişkilidir (36, 37).

TAM reseptörleri (Tyro3, Axl, Mer) reseptör tirozin kinazların (RTK'ler) bir alt ailesidir. TAM reseptörleri insan dokularında yaygın olarak eksprese edilir. İmmün hücrelerde (makrofajlar, monositler, dendritik ve doğal öldürücü hücreler), trombositlerde, endotelial hücrelerde, osteoklastlarda, sertoli hücrelerinde ve retina pigment epitelinde daha çok eksprese edildiği bildirilmiştir (38).

TAM ailesi için yaygın ligandlar arasında Gas6, protein S, Tubby, Tubby benzeri protein 1 (TULP-1) ve Galektin-3 bulunur (39, 40). Gas6 ve protein S ilk keşfedilen ligandlar olduğundan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Gas6, TAM ailesinin üç üyesine de bağlanabilirken, Protein S sadece Mer ve Tyro3'e bağlanır. Gas6'nın Axl'a afinitesi, TAM ailesindeki diğer iki üyenin (Mer ve Tyro3) afinitesinden 3-10 kat daha fazladır (9, 41).

Gas6 ligandı Axl'a, yüksek afiniteyle bağlandıktan sonra, Axl reseptörü homodimerizasyona ve ardından hücre içi kinaz alanı içinde trans otoposforilasyona uğrar. Böylece Src homoloji 2 (SH2) veya diğer fosfotirozin bağlama alanlarını (PTB'ler) içeren adaptör molekülleri ve efektör proteinleri aktive ederek Gas6/Axl sinyal yolağını etkinleştirir (7, 42).

Axl'da Tyr698, Tyr702, Tyr703, Tyr779, Tyr821 ve Tyr866 olmak üzere altı fosforilasyon bölgesi bulunmuştur. Üç N-terminal tirozin kalıntısı (779, 821 ve 866), otoposforilasyon ve Axl aktivasyonu ile ilişkilidir. Diğer üç C-terminal tirozin kalıntısı (698, 702, 703) ise TAM reseptörleri arasında oldukça iyi korunur ve kinazın fonksiyonları için gereklidir (10).

EGFR-Axl reseptörü üzerinde yapılan bir araştırma, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) /AKT/mTOR sinyal yolunun Tyr779 ve Tyr821'in p85'e bağlanmasıyla indüklendiğini ve MEK/ERK kaskadının fosforile Tyr821'in GRB2'ye bağlanmasıyla aktive edildiğini ortaya koymuştur (43).

PI3K/AKT/mTOR, JAK/STAT, NF-κB ve RAS/RAF/MEK/ERK sinyal yolları, Gas6/Axl sinyal yolağında önemli rol oynar. Gas6/Axl sinyal yolağı, tümör hücresinin hayatta kalmasında, antiapoptoz sinyalizasyonunda, mitogenezde, migrasyonda, invazyonda, ilaç direncinde, anjiyogenezde ve tümör konak ilişkisinde önemli rol oynar (**Şekil 2**). Gas6'ya bağlı Axl aktivasyonuna ek olarak, Axl, Gas6'dan bağımsız mekanizmalar aracılığıyla da aktive edilebilir. Axl'ın aşırı ekspresyonu, Axl ekstraselüler alanlarının agregasyonuna veya liganddan bağımsız homodimerizasyona yol açarak reseptör aktivasyonuna neden olur (32, 44). Ayrıca Axl hem diğer TAM ailesi üyeleriyle hem de fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) ve EGFR gibi TAM olmayan RTK'lerle geniş homoloji sergiler.

Bu homoloji heterodimer oluşumunu ve Axl sinyal aktivasyonu uyarır (45, 46) (Şekil 1b).

AXL EKSPRESYONU KANSERDE ARTAR

Axl'in 1991 yılında tanımlanmasından (8) sonra yapı ve işlevinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Normal hücre hatlarında, kanser hücre hatlarında ve rezeke edilen hasta tümör örneklerinde Axl'in varlığını saptamak için taramalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda Axl'in birçok kanser türünde aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir (47). Ayrıca Axl'in aşırı ekspresyonu ve aktivasyonu, kanser patogenezinin birçok adımında yer almaktadır (Tablo 1).

Axl'in NSCLC, meme kanseri ve kolorektal kanser gibi çoğu kanser hücre hatlarında aşırı eksprese edildiği ve ekspresyonunun hücre adezyonu veya invazyon ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (48, 49). Normal over epitel hücrelerinde Axl ekspresyonu hiç olmazken; over kanserli olguların %73'ünde ve over kanseri epitel hücre hatlarında Axl sentezi görülmüştür. Bu çalışma ile over tümörlerde Axl'in normal over epiteline göre anlamlı düzeyde yüksek eksprese edildiği gösterilmiştir (50). Ayrıca Axl ekspresyonu ve aktivasyonun artması, kanser hastalarında kötü prognoz ve tedaviye direnç ile de ilişkili bulunmuştur (24, 51- 57). Kanser varlığında artan Axl ekspresyonu, kanser progresyonunun hemen her adımıyla ilişkili bulunmuş ve kötü prognoz ile pozitif korelasyon gösterdiği pek çok araştırmada bildirilmiştir (Tablo 1). Bu gelişmeler üzerine Axl sinyal yolunun baskılanmasıyla ilişkili kanser tedavi önerileri son on yılın yaygın araştırma konusu olmuştur.

Tablo 1. Farklı insan kanserlerinde Axl sinyal yolağı ve fonksiyonel sonuçları

İlişkili Organ	Çalışma materyalleri	Klinik parametrelerle ilişkilendirme	Referans Yıl
Kolon	- Rko ve SW480 kolon kanseri hücre hatları	Migrasyon, invazyon, metastaz	(58) 2010
	- HCT116 hücre hattı - Hasta doku örnekleri	Tümör büyümesi ve metastatik yayılım Nod tutulumu ve tümör evresi	(59) 2015
	- HT-29 insan kolorektal kanser hücre hattı	Anjiogenez, Kanser ilerlemesi	(60) 2022

Tablo 1. Devamı

Mide	- Hasta doku örnekleri	Kötü prognoz	(51) 2002
	- AGS, MKN1, MKN7, MKN28, MKN45, MKN74, GCIY, TMK1 ve KATO3 İnsan gastrik kanser hücre hatları	Lenf nodu metastazı Apoptozis Metastaz	(61) 2007
	- BGC-823, MGC-803, SGC-7901 ve AGS İnsan gastrik kanser hücre hatları ve insan normal mide epitelyal GES-1 hücreleri - Balb/c Nude fare	Hasta sağkalım süresi EMT, hücre istilası, proliferasyon ile ilişkili kötü prognoz	(62) 2020
	- KATO-III, SNU668, MKN1 ve MKN45 Gastrik kanser hücre hatları	Hasta sağkalım süresi	(63) 2020
Meme	- SKBR-3, BT474, MDA-MB468, MDA-MB231 ve HS578T İnsan meme kanseri hücre hatları - Hasta doku örnekleri	Lenfovasküler invazyon	(64) 2014
	- MCF-7 meme kanseri hücreleri ve MCF-7/ADR hücreleri - Hasta doku örnekleri	Kötü prognoz İlaç direnci	(65) 2016
	- MDA-MB-231, MDA-MB-435, MDA-MB-436, MDA-MB-453, MDA-MB-468, BT549, BT20, HCC38, Hs578T, HBL-100 meme kanseri hücre hatları - Atimik fare	Tümör büyümesi, Metastaz	(66) 2017

Tablo 1. Devamı

Akciğer	- Hasta Doku örnekleri	Kötü prognoz	(67) 2013
	A549 hücre hattı	Migrasyon ve invazyon	(68) 2021
	- H1299 ve Lewis akciğer karsinomu hücreleri - C57BL/6 fareler - Hasta doku örnekleri	Migrasyon ve Kötü prognoz	(69) 2017
	- A549, H2009 ve Calu-1 İnsan akciğer kanseri hücre hatları - BALB/c çıplak fare - Hasta doku örnekleri	Migrasyon ve invazyon Kötü prognoz	(70) 2017
Pankreas	- 12 pankreas kanseri hücre hattı - Hasta doku örnekleri	İnvazyon, radyasyona bağlı PARP bölünmesi ve apoptoz Kötü prognoz	(71) 2011
	- MIAPaCa-2 hücre hattı - Hasta doku örnekleri	Metastaz, tümör büyümesi, Kötü prognoz	(72) 2009
	- AsPC-1, Panc-1, Capan-1 ve Mia PaCa-2 İnsan pankreas kanseri hücre hatları - Mutajenik fareler nu/nu atimik fareler	Kemoterapötik direnç	(73) 2018
Yumurtalık	- OVCAR4 ve SKOV3, OVCAR5, NL3507 ve SKOV3 Yumurtalık kanseri hücre hatları - Hasta doku örnekleri	Migrasyon Kötü prognoz	(74) 2015
	- HeyA8, OVCAR8, ES2 ve SKOV3-IP1 Yumurtalık kanseri hücre hatları - Nude fare	Hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyon Tümör büyümesi ve ilerlemesi	(22) 2017
Glioma	Hasta doku örnekleri	Kötü prognoz	(75) 2008
	Glioma hücreleri SF126 ve U118MG	Tümör büyümesi, invazyon ve migrasyon	(23) 2016

Tablo 1. Devamı

Özofagus	- Hastadan türetilen bir insan özofagual skuamoz hücre karsinomu (ESCC) hücre hattı -CE48T/VGH hücreleri -Hasta doku örnekleri	Kötü prognoz ve uzak metastaz	(24) 2016
	- OE19, OE33, FLO-1 ve SK-GT-4 İnsan özofagus adenokarsinom hücre hatları	İnvazyon ve metastaz	(34) 2008
Tiroid	- Nude fare - Hasta doku örnekleri	Kanser ilerlemesi	(76) 2011
Akut Myeloid Lösemi	- Akut miyeloid lösemi U937 hücreleri	İlaç direnci	(25) 2008
	- MV4-11 AML hücreleri - Fare - Hasta doku örnekleri	Kötü prognoz	(77) 2013
Karaciğer	- MHCC97-H ve MHCC97-L hücre hatları - Hasta doku örnekleri	Metastaz	(78) 2014
	- HA22T ve Mahlavu hepatosellular karsinoma hücre hatları	Migrasyon ve invazyon. Epiteyal-mezenkimal geçişi indükleyen transkripsiyon faktörü Slug'ın ekspresyonu	(79) 2014
	- Epitel benzeri (Hep3B, Hep3B-TR, Huh7, HepG2, Hep40, SNU398) ve mezenkimal benzeri (Mahlavu, Focus, SNU387, SNU182, SNU423, SNU449, SNU475) karaciğer kanseri hücre hatları - NOD-SCID erkek fareler	Hücre döngüsü tutuklama Tümörjenisite yeteneği	(80) 2021

Tablo 1. Devamı

Prostat	- DU145, PC-3, LNCaP, CWR22 ve CWR19 insan prostat kanseri hücre hatları - MF-1 nude fareler	Proliferyon ve tümör büyümesi, İnvazyon, Kanser ilerlemesi	(81) 2013
	- HEK293T hücreleri PC3luc hücreleri ve C42Bluc hücreleri - NOD/SCID/gama null (NSG) fareleri - Hasta doku örnekleri	Tümör büyümesi, Metastaz	(82) 2019
Osteosarkom	Osteosarkom hücre hatları MG63 ve U2OS Hasta doku örnekleri	Apoptozis baskılanması Migrasyon ve invazyon yeteneği Kötü prognoz	(83) 2013
	- 143B, HOS, MG63, SaoS2, U2OS İnsan osteosarkom hücre hatları - BALB/C Nude fare	Proliferyon ve invazyon yeteneği, Kanser ilerlemesi	(84) 2020

AXL, HÜCRE PROLİFERASYONUNU TEŞVİK EDER

Hücre proliferasyonu, hücrelerde gerçekleşen normal bir süreçtir ve fizyolojik koşullarda sıkı kontrol altındadır. Ancak hücrelerdeki genetik ve/veya epigenetik değişiklikler, hücre proliferasyonunu yeniden programlayabilir ve süreç kontrolsüz hücre bölünmesiyle sonuçlanabilir (47). Axl'in hücre proliferasyonunu arttıran bir gen olduğu öne sürüldükten sonra kanser hücrelerinde, proliferasyonu indüklemeye Axl'in fonksiyonel rolü olduğu desteklenmiştir (85). Fare fibroblast hücrelerinde yapılan araştırmada Gas6, artan hücre proliferasyonuna aracılık eden Axl sinyal yolunun bir uyarıcısı olarak tanımlanmıştır (86).

Farklı hücre tipleri ile yapılan çalışmalar, Ras/ERK yolunun Axl aracılı hücre sağkalımını desteklediğini ortaya koymuştur (87). Gas6 aktivasyonundaki artış ve Axl ekspresyonunun indüklenmesi, hücre döngüsü boyunca ilerlemeyi ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) aracılığıyla NIH3T3 hücrelerinin bölünmesini uyardığı tespit edilmiştir (88). Gas6 ligandı ve Axl proteini mevcudiyetine bağlı olarak çeşitli hücre tiplerinde, MAPK/ERK yolunun Gas6/Axl aracılı hücre sinyalleşmesinde rol aldığı bildirilmiştir (89).

Yapılan çalışmalarda, PI3K, Ras/ERK ve Src dahil olmak üzere farklı aracı moleküller vasıtasıyla Gas6/Axl sinyal yolunun hücre proliferasyonunun bir indük-

leyicisi olduğu bildirilmiştir (47). Axl potansiyel olarak PI3K/AKT/mTOR, RAS/RAF/MEK/ERK, JAK/STAT ve NF- κ B sinyal yollarındaki efektör moleküller aracılığıyla hücre proliferasyonunda etkili olmaktadır (90).

Axl, NF- κ B nükleer translokasyonunu düzenleyerek, antiapoptotik belirteçlerin (survivin, BCL-2 ve BCL-XL) ekspresyonunu artırarak ve proapoptotik proteinlerin (BAD ve kaspaz-3) aktivitesini azaltarak hücre sağkalımını desteklemektedir (25, 31). Axl'in shRNA (shRNA: short hairpin RNA; kısa saç tokası RNA) ile yıkımı Ki67 ekspresyonunu azalttığı ve apoptozla ilişkili protein seviyelerini arttırdığı bulunmuştur (91, 83). CLL'de, Axl'in baskılanması, antiapoptotik protein olan MCL-1 seviyesini azaltarak apoptozu teşvik ettiği gösterilmiştir (92).

Gas6/Axl sinyal yolunun bloke edilmesi, ektopik ve ortotopik glioma büyümesini baskılamak için yeterli bulunmuş ve bunun da hasta sağkalımını belirgin bir şekilde uzattığı değerlendirilmiştir (93). Prostat kanseri, akciğer adenokarsinomu ve kolorektal kanserde de benzer sonuçlar rapor edilmiştir (94, 95). Yapılan çalışmalar sonucunda Gas6/Axl sinyal yolağının hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu ve kanser progresyonunda yer aldığı görülmektedir.

AXL, MİGRASYON VE İNVAZYONA ARACILIK EDER

Axl'in hem in vivo, hem de in vitro çalışmalarda, tümör invazyonunda etkili olduğu ve Axl aktivitesinin hücre migrasyonu için kritik önem taşıdığı bulunmuştur (72, 96). cDNA dizi analizi ile yapılan bir çalışma, Axl'in, düşük metastatik aktiviteye sahip hücre hatlarına kıyasla yüksek metastatik hücre hatlarında önemli ölçüde ekspresyonunun arttığını ortaya koymuştur (49). Düşük metastatik kolonizasyona sahip hücrelerde Axl'in aşırı ekspresyonu, artan migrasyon ve invazyon yetenekleriyle ilişkili bulunmuştur (97, 49). Tai ve ark.'nın (97) yaptıkları çalışmada, Axl'in aşırı ekspresyonu, matriks metalloproteinaz 9'un (MMP-9) ekspresyonunu indüklemiş, ERK yolunu aktive etmiş ve NF- κ B'nin aktivasyonunu arttırmıştır. Axl aracılı tümör invazyonu için Axl ile MMP-9 sinyal yolları arasında işlevsel bir bağlantı olduğu açıklanmıştır (97).

Axl aktivasyonu, NF- κ B ve Brg-1'in aktivasyonu yoluyla p-AKT ve MMP9 ekspresyonunu desteklemektedir (97, 50). Enflamatuvar meme kanseri (IBC) hücrelerinde, bir membran proteini olan TIG1'in Axl sinyal yolunu desteklediği ve IBC tümör invazyonunu düzenlediği gösterilmiştir. IBC hücrelerinin Axl inhibitörü ile tedavisi sonrasında, hücrelerin invazyon ve migrasyon yeteneklerinin azaldığı bildirilmiştir (98).

HCC'de, Axl'in shRNA tarafından aşağı regülasyonunun ("downregülasyon"), PI3K/AKT-P21 ile aktive olan kinaz-1 (PAK1) sinyal yolu aracılığıyla invazyonu

inhibe ettiği gösterilmiştir (72, 76). Axl'ın RNA interferansı (RNAi) aracılı yıkımı veya Axl sinyalinin bloke edilmesiyle kanser hücrelerinin azalmış migrasyon ve invazyonu, pankreas kanseri, akciğer adenokarsinomu, meme kanseri ve tiroid kanserinde de rapor edilmiştir (99, 100). Axl'ın, HCC'de migrasyon ve invazyonu arttıran Yes ilişkili protein (Yes-associated protein, YAP) bağımlı onkogenik fonksiyonlara aracılık ettiği gösterilmiştir (78).

Axl sinyal yolunun anti-Axl monoklonal antikoruna (mAb) 20G7-D9 ile baskılanmasının, migrasyon ve invazyon yollarında etkili olarak meme kanseri hücrelerinde tümör büyümesini ve kemik metastazı oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (66). Zdzalik-Bielecka ve ark. tarafından yapılan bir çalışma, Gas6/Axl yolunun, hücre migrasyonu ve invazyonu için çoklu aktin yönetiminde hücre iskeletinin yeniden şekillenmesine aracılık ettiğini göstermiştir. Bu çalışmada Gas6/Axl aktivasyonu kanser hücrelerinin invazyonuna neden olmuştur (101).

Gas6 ile indüklenen Axl aktivasyonu, PI3K ve RAC1'in aktivasyonu yoluyla fokal yapışma döngüsüne, hücrelerin yayılmasına ve uzamasına katkıda bulunmaktadır (101, 102). Bir başka çalışmada da özofagus adenokarsinom (EAC) hücre hatlarında Axl'ın, lizozomların periferik dağılımından ve hücre invazyonunu destekleyen katapsin B'nin salgılanmasından sorumlu olduğu belirlenmiştir (34). Ortaya çıkan bu sonuçlar Axl sinyal yolunu, kanser hücrelerinin migrasyon ve invazyon yeteneklerini azaltma konusunda potansiyel hedef haline getirmektedir.

AXL, EPİTELYAL MEZENKİMAL GEÇİŞİ (EMT) ETKİLER

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), hücrelerin özel bir program aracılığıyla epitelyal fenotipten mezenkimal fenotipe geçişe uğradığı, geri dönüşümlü bir olaydır. EMT, embriyogenez, yara iyileşmesi ve doku yenilenmesinde normal bir süreç iken tümör metastazında patolojik özelliكتedir (103, 104).

Normal epitel hücrelerinde hücre-hücre adezyonu doku bütünlüğünün korunmasına yardımcı olurken, bunun yanında patolojik süreçte oluşan mezenkimal hücreler malign ilerlemeyi kolaylaştıran gelişmiş göç ve hayatta kalma özelliklerine sahiptir (105).

EMT sürecinde bir takım protein değişiklikleri meydana gelmektedir: E-kaderin gibi epitelyal belirteçlerde aşağı regülasyon ("downregülasyon") görülürken; N-kaderin, Snail, Vimentin, Slug, α -katenin ve α -SMA gibi mezenkimal belirteçlerde yukarı regülasyon ("upregülasyon") gerçekleşir. (106, 107) MCF10A ölümsüzleştirilmiş meme epitel hücresi kullanılarak yapılan çalışmada, Gas6/Axl sinyal yolunun meme epitel hücrelerinde EMT tarafından güçlü bir şekilde indüklediği gösterilmiştir. İnsan meme kanseri epitel hücrelerinde, SLUG ve SNAIL'in MCF10A hücrelerine transfeksiyonu epitel tipi morfoloji kaybına ve mezenki-

mal doku ile ilgili belirteçlerin kazanımına neden olmuştur ve bu değişim Axl ekspresyonunun artmasıyla ilişkili bulunmuştur. Axl yıkımının, yüksek düzeyde metastatik meme karsinomu hücrelerinin meme bezinden lenf düğümlerine ve birkaç ana organa metastazını önlediği ve genel sağkalımı arttırdığı açıklanmıştır (108). Ayrıca Axl aktivasyonunun, meme kanseri hücrelerinde EMT'nin sürdürülmesine katkı sağladığı ve hücrelerin mezenkimal fenotipi korumasına yardımcı olduğu bildirilmiştir (109). Axl inhibisyonu epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) fenotipinin tersine çevrilmesini sağlayabilir. Hücreler, Axl inhibisyonunda, EMT ile ilişkili transkripsiyon faktörlerinin (Slug, Zeb1 ve Twist) ekspresyonunu azaltabilirler (72, 110, 111). Cichon ve ark. (110) Axl yoksunluğunda, Wnt ve TGFβR sinyalinin aşağı regülasyonu ile hücre-hücre adezyonunu arttıran hücreler arası bağlantı moleküllerinin ekspresyonunun değiştiğini bildirmişlerdir (110). Axl'in inhibisyonu, E-kaderin ekspresyonunu ve hücre-hücre yapışmasını uyarabilir ve hücreler böylece epitel tipi bir morfolojiye geri dönebilirler (112, 113). Axl'in farklı kanserlerde EMT sürecinde yer aldığı tespitinden sonra ayrıntılarının açıklığa kavuşması kanser tedavisine yönelik çalışmalara katkı sağlayacaktır.

AXL ANJİYOGENEZDE ROL OYNAR

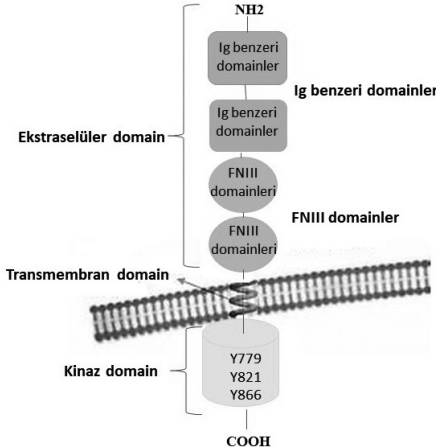
Anjiyogenez, fetal gelişim, büyüme, yara iyileşmesi, doku onarımı sırasında gerçekleşen normal fizyolojik bir süreçtir ve var olan damarlardan yeni damarların gelişmesi ve yenilenmesi anlamına gelir (114). Aynı zamanda, karsinogenezde tümör hücrelerine oksijen, besin ve temel hormonları sağlayarak tümör büyümesi ve metastaza katkıda bulunabilir (115). Anjiyogenezin ana düzenleyicilerinden biri vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF) ve VEGF sinyal yolağının fizyolojik anjiyogenezde hız sınırlandırıcı olduğu bilinmektedir (114). TAM ailesi üyeleri VEGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)'nü etkileyerek anjiyogenezin desteklenmesinde önemli rol oynamaktadır (116).

Axl, endotelial hücrelerde ve vasküler düz kas hücrelerinde geniş ölçüde eksprese edilir; endotel hücrelerinin hayatta kalmasında ve yara iyileşmesi ve damar bozukluğunda endotel bariyerlerinin yeniden şekillenmesinde etki gösterir. Axl, PI3K/Akt yolunu aktive etmek ve anjiyogenezi teşvik etmek için çoklu proanjiyogenik sinyalleri düzenler ve dolayısıyla anjiyogenik bir RTK olarak çalışır (117).

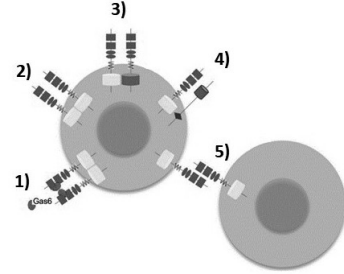
Axl ekspresyonunun bir insan meme kanseri ksenograft modelinde tümör büyümesini tetiklediği ve anjiyogenezi destekleyen damar sisteminde etkin rol oynadığı gösterilmiştir. Anjiyogenezin tümör büyümesini desteklediği ve beslediği göz önüne alındığında, Axl sinyalinin her iki süreçte de yer aldığı anlamlı bulunmuştur (118). Gallicchio ve ark. (119) Gas6'nın VEGFR2'ye bağımlı anjiyogenik sü-

reçleri antagonize ettiğini göstermişlerdir (119). Çalışmalar, Axl ekspresyonunun antianjiyogenik direnç ile ilişkili olduğunu, Axl inhibitörlerinin antianjiyogenik ajanlarla kombinasyonunun renal hücreli karsinom hasta kaynaklı ksenograflarda damar yoğunluğunu azalttığını göstermiştir (120-122).

Genetik fare modellerinin yer aldığı ve farmakolojik inhibitörler kullanılarak yapılan çalışmada, Gas6'nın susturulması veya Axl yolunun bloke edilmesinin, *in vitro* ve *ex vivo* olarak tümör perivasküler hücre kaynaklı hücre dışı veziküller (TPC-EV) aracılığıyla indüklenen anjiyogenezi baskıladığı bulunmuştur. Ayrıca, Gas6/Axl sinyal yolunun inhibisyonunun da *in vivo* olarak TPC-EV aracılı anjiyogenezi bozduğu görülmüştür (123). Axl'in normal veya patolojik koşullarda anjiyogenezdaki rolünün aydınlatılmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 1a: Axl'in Yapısı

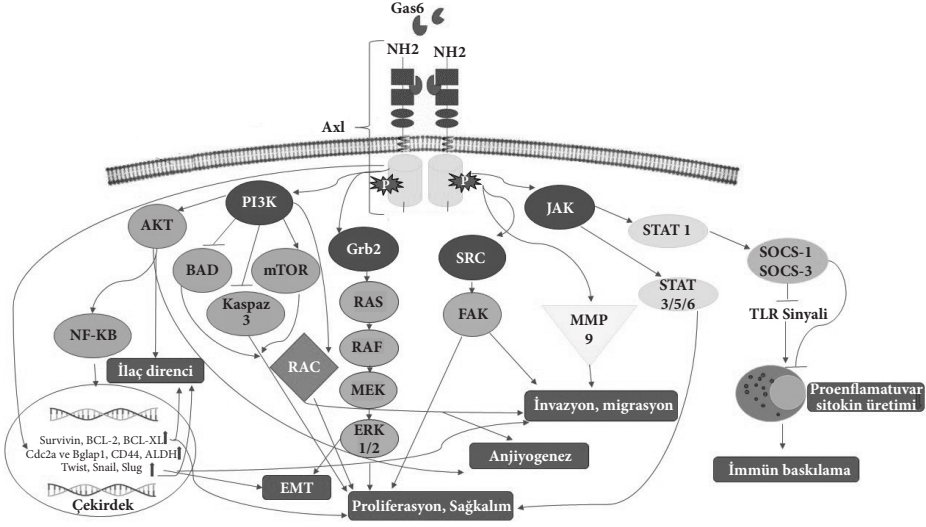


Şekil 1b: Axl'in Aktivasyonu

Şekil 1a: Axl reseptörünün temel yapısı **Şekil 1b:** Axl aktivasyon modelleri

Şekil 1a: Axl reseptörünün temel yapısı. Axl, iki immüoglobulin (Ig) benzeri tekrardan ve iki fibronektin tip III (FN III) benzeri tekrardan, bir transmembran alanı ve bir hücre içi kinaz alanından oluşur. Zhu ve ark., (2019) yaptıkları çalışmadan uyarlanmıştır.

Şekil 1b: Axl aktivasyon modelleri: 1) Klasik Gas6 ligandına bağlı dimerizasyon. 2) Gas6 ligandından bağımsız dimerizasyon. 3) Mer veya Tyro3 gibi bir TAM ailesi üyesi ile Axl'in heterofilik dimerizasyonu. 4) Axl'in bir TAM ailesi olmayan protein ile heterofilik dimerizasyonu. 5) Transselüler homofilik bağlanma yoluyla Axl'in ligandan bağımsız aktivasyonu. Zhu ve ark., (2019) yaptıkları çalışmadan uyarlanmıştır.



Şekil 2: Gas6/Axl Sinyal Yolağı.

Şekil 2: Gas6/Axl Sinyal Yolağı. Gas6/Axl sinyal yolağının aktivasyonu ile proliferasyon ve sağ kalım, migrasyon ve invazyon, epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), anjiyogenez, tedaviye direnç, immün baskılama mekanizmaları. Zhu ve ark., (2019) yaptıkları çalışmadan uyarlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Schneider C, King RM, Philipson L. Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells. *Cell*. 1988 9;54(6):787-793.
- Wasilewski GB, Vervloet MG, Schurgers LJ. The Bone-Vasculature Axis: Calcium Supplementation and the Role of Vitamin K. *Front. Cardiovasc. Med*. 2019; 5:(6) 6.
- Villoutreix BO, García de Frutos P, Lövenklev M, et al. SHBG region of the anticoagulant cofactor protein S: secondary structure prediction, circular dichroism spectroscopy, and analysis of naturally occurring mutations. *Proteins*. 1997; 29(4):478-491.
- Kim KH, Kim EY, Kim Y, et al. Gas6 downregulation independent cytoplasmic maturation and pro-nuclear formation dependent to the MPF activity. *PLoS One*. 2011; 6(8): e23304.
- Dahlbäck B, Villoutreix BO. Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway: novel insights into structure-function relationships and molecular recognition. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2005; 25(7):1311-1320.
- Wen L, Chen J, Duan L, Li S. Vitamin K-dependent proteins involved in bone and cardiovascular health (Review). *Mol. Med. Rep*. 2018;18(1):3-15.
- Sasaki T, Knyazev PG, Clout NJ, et al. Structural basis for Gas6-Axl signalling. *The EMBO J*. 2006;25(1):80-87.
- O'Bryan JP, Frye RA, Cogswell PC, et al. axl, a transforming gene isolated from primary human myeloid leukemia cells, encodes a novel receptor tyrosine kinase. *Mol. Cell. Biol*. 1991;11(10):5016-5031.
- Graham DK, DeRyckere D, Davies KD, et al. The TAM family: phosphatidylerine sensing receptor tyrosine kinases gone awry in cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 2014;14(12):769-785.
- Linger RM, Keating AK, Earp HS, et al. TAM receptor tyrosine kinases: biologic functions, signaling, and potential therapeutic targeting in human cancer. *Adv. Cancer Res*. 2008; 100:35-83.
- Budagian V, Bulanova E, Orinska Z, et al. Soluble Axl is generated by ADAM10-dependent cleavage and associates with Gas6 in mouse serum. *Mol. Cell. Biol*. 2005; 25(21):9324-9339.

12. Ekman C, Linder A, Akesson P, et al. Plasma concentrations of Gas6 (growth arrest specific protein 6) and its soluble tyrosine kinase receptor sAxl in sepsis and systemic inflammatory response syndromes. *Crit Care*. 2010;14(4): R158.
13. Rothlin CV, Ghosh S, Zuniga EI, et al. TAM receptors are pleiotropic inhibitors of the innate immune response. *Cell*. 2007;131(6):1124–1136.
14. Zagorska A, Traves PG, Lew ED, et al. Diversification of TAM receptor tyrosine kinase function. *Nat. Immunol*. 2014;15(10):920–8.
15. Brand TM, Iida M, Stein AP, et al. AXL mediates resistance to cetuximab therapy. *Cancer Res*. 2014;74(18):5152–5164.
16. Mudduluru G, Ceppi P, Kumarswamy R, et al. Regulation of Axl receptor tyrosine kinase expression by miR-34a and miR-199a/b in solid cancer. *Oncogene*. 2011;30(25):2888–2899.
17. Li R, Shi X, Ling F, et al. MiR-34a suppresses ovarian cancer proliferation and motility by targeting AXL. *Tumour Biol*. 2015;36(9):7277–7283.
18. Ott M, Litznerberger UM, Sahm F, et al. Promotion of glioblastoma cell motility by enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) is mediated by AXL receptor kinase. *PLoS One*. 2012;7(10): e47663.
19. Mudduluru G, Allgayer H. The human receptor tyrosine kinase Axl gene promoter characterization and regulation of constitutive expression by Sp1, Sp3 and CpG methylation. *Biosci Rep*. 2008;28(3):161–176.
20. Sather S, Kenyon KD, Lefkowitz JB, et al. A soluble form of the Mer receptor tyrosine kinase inhibits macrophage clearance of apoptotic cells and platelet aggregation. *Blood*. 2007;109(3):1026–1033.
21. Valverde P. Effects of Gas6 and hydrogen peroxide in Axl ubiquitination and downregulation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;333(1):180–185.
22. Kanlikilicer P, Ozpolat B, Aslan B, et al. Therapeutic Targeting of AXL Receptor Tyrosine Kinase Inhibits Tumor Growth and Intraperitoneal Metastasis in Ovarian Cancer Models. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2017; 9:251–262.
23. Onken J, Torika R, Korsing S, et al. Inhibiting receptor tyrosine kinase AXL with small molecule inhibitor BMS-777607 reduces glioblastoma growth, migration, and invasion in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2016;7(9):9876–9889.
24. Hsieh MS, Yang PW, Wong LF, et al. The AXL receptor tyrosine kinase is associated with adverse prognosis and distant metastasis in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(24):36956–36970.
25. Hong CC, Lay JD, Huang JS, et al. Receptor tyrosine kinase AXL is induced by chemotherapy drugs and overexpression of AXL confers drug resistance in acute myeloid leukemia. *Cancer Lett*. 2008;268(2):314–324.
26. Holland SJ, Pan A, Franci C, et al. R428, a selective small molecule inhibitor of Axl kinase, blocks tumor spread and prolongs survival in models of metastatic breast cancer. *Cancer Res*. 2010;70(4):1544–1554.
27. Gjerdrum C, Tiron C, Hoiby T, et al. Axl is an essential epithelial-to-mesenchymal transition-induced regulator of breast cancer metastasis and patient survival. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(3):1124–1129.
28. Elkabets M, Pazarentzos E, Juric D, et al. AXL mediates resistance to PI3K alpha inhibition by activating the EGFR/PKC/mTOR axis in head and neck and esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Cell*. 2015;27(4):533–546.
29. Dufies M, Jacquel A, Belhacene N, et al. Mechanisms of AXL overexpression and function in Imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells. *Oncotarget*. 2011;2(11):874–885.
30. Debruyne DN, Bhatnagar N, Sharma B, et al. ALK inhibitor resistance in ALK(F1174L)-driven neuroblastoma is associated with AXL activation and induction of EMT. *Oncogene*. 2016;35(28):3681–3691.
31. Corno C, Gatti L, Lanzi C, et al. Role of the Receptor Tyrosine Kinase Axl and its Targeting in Cancer Cells. *Curr Med Chem*. 2016;23(15):1496–512.

32. Burchert A, Attar EC, McCloskey P, et al. Determinants for transformation induced by the Axl receptor tyrosine kinase. *Oncogene*. 1998;16(24):3177–3187.
33. Balaji K, Vijayaraghavan S, Diao L, et al. AXL Inhibition Suppresses the DNA Damage Response and Sensitizes Cells to PARP Inhibition in Multiple Cancers. *Mol Cancer Res*. 2017;15(1):45–58.
34. Maacha S, Hong J, von Lersner A, et al. AXL Mediates Esophageal Adenocarcinoma Cell Invasion through Regulation of Extracellular Acidification and Lysosome Trafficking. *Neoplasia*. 2018; 20(10):1008–1022.
35. Fujimori T, Grabiec AM, Kaur M, et al. The Axl receptor tyrosine kinase is a discriminator of macrophage function in the inflamed lung. *Mucosal Immunol*. 2015;8(5):1021–1030.
36. Burstyn-Cohen T, Heeb MJ, Lemke G. Lack of protein S in mice causes embryonic lethal coagulopathy and vascular dysgenesis. *J. Clin. Investig*. 2009; 119, 2942–2953.
37. Angelillo-Scherrer A, Burnier L, Flores N, et al. Role of Gas6 receptors in platelet signaling during thrombus stabilization and implications for antithrombotic therapy. *J. Clin. Investig*. 2005; 115(2): 237–246.
38. Van Der Meer JHM, Van Der Poll T, Van't Veer C. TAM receptors, Gas6, and protein S: Roles in inflammation and hemostasis. *Blood*. 2014, 123, 2460–2469.
39. Caberoy NB, Alvarado G, Bigcas JL, et al. Galectin-3 is a new MerTK-specific eat-me signal. *J Cell Physiol*. 2012;227(2):401–7.
40. Caberoy NB, Zhou Y, Li W. Tubby and tubby-like protein 1 are new MerTK ligands for phagocytosis. *The EMBO J*. 2010;29(23):3898–910.
41. Wu X, Liu X, Koul S, et al. AXL kinase as a novel target for cancer therapy. *Oncotarget*. 2014;5(20):9546–63.
42. Braunger J, Schleithoff L, Schulz AS, et al. Intracellular signaling of the Ufo/Axl receptor tyrosine kinase is mediated mainly by a multi-substrate docking-site. *Oncogene*. 1997;14(22):2619–31.
43. Fridell YW, Jin Y, Quilliam LA, et al. Differential activation of the Ras/extracellular-signal-regulated protein kinase pathway is responsible for the biological consequences induced by the Axl receptor tyrosine kinase. *Mol Cell Biol*. 1996;16(1):135–45.
44. Bellosta P, Costa M, Lin DA, et al. The receptor tyrosine kinase ARK mediates cell aggregation by homophilic binding. *Mol Cell Biol*. 1995;15(2):614–25.
45. Meyer AS, Miller MA, Gertler FB, et al. The receptor AXL diversifies EGFR signaling and limits the response to EGFR-targeted inhibitors in triple-negative breast cancer cells. *Sci Signal*. 2013;6(287):ra66.
46. Vouri M, Croucher DR, Kennedy SP, et al. Axl-EGFR receptor tyrosine kinase hetero-interaction provides EGFR with access to pro-invasive signalling in cancer cells. *Oncogenesis*. 2016;5(10):e266.
47. Mudduluru, G. Axl and its mediated Signaling Axis in cancer. Johannes Haybaeck (Ed.), Mechanisms of molecular carcinogenesis. Switzerland: Springer International Publishing. 2017; 39-60.
48. Wimmel A, Glitz D, Kraus A, et al. Axl receptor tyrosine kinase expression in human lung cancer cell lines correlates with cellular adhesion. *Eur J Cancer*. 2001; 37(17):2264-2274.
49. Zhang YX, Knyazev PG, Cheburkin YV, et al. AXL is a potential target for therapeutic intervention in breast cancer progression. *Cancer Res*. 2008;68(6):1905-1915.
50. Rankin EB, Fuh KC, Taylor TE, et al. AXL is an essential factor and therapeutic target for metastatic ovarian cancer. *Cancer Res*. 2010; 70(19):7570-7579.
51. Wu CW, Li AF, Chi CW, et al. Clinical significance of AXL kinase family in gastric cancer. *Anticancer Res*. 2002;22(2B):1071-1078.
52. Shikawa M, Sonobe M, Nakayama E, et al. Higher expression of receptor tyrosine kinase Axl, and differential expression of its ligand, Gas6, predict poor survival in lung adenocarcinoma patients. *Ann. Surg. Oncol*. 2013; 20 (3), 467–476.
53. Tanaka K, Tokunaga E, Inoue Y, et al. Impact of Expression of Vimentin and Axl in Breast Cancer. *Clin. Breast Cancer* 2016;16: 520–526.
54. Lozneanu L, Pinciroli P, Ciobanu DA, et al. Computational and Immunohistochemical Analyses Highlight AXL as a Potential Prognostic Marker for Ovarian Cancer Patients. *Anticancer Res*. 2016; 36, 4155–4163.

55. Cardone C, Blauensteiner B, Moreno-Viedma V, et al. AXL is a predictor of poor survival and of resistance to anti-EGFR therapy in RAS wild-type metastatic colorectal cancer. *Eur. J. Cancer* 2020; 138: 1–10.
56. Liu J, Wang K, Yan Z, et al. Axl Expression Stratifies Patients with Poor Prognosis after Hepatectomy for Hepatocellular Carcinoma. *PLoS ONE*. 2016; 11: e0154767.
57. Bottai G, Raschioni C, Szekely B, et al. AXL-associated tumor inflammation as a poor prognostic signature in chemotherapy-treated triple-negative breast cancer patients. *NPJ Breast Cancer* 2016; 2: 16033.
58. Mudduluru G, Vajkoczy P, Allgayer H. Myeloid zinc finger 1 induces migration, invasion, and in vivo metastasis through Axl gene expression in solid cancer. *Mol Cancer Res*. 2010;8(2):159–69.
59. Martinelli E, Martini G, Cardone C, et al. AXL is an oncotarget in human colorectal cancer. *Oncotarget*. 2015; 15;6(27):23281-96.
60. Huang M, Liu M, Huang D, et al. Tumor perivascular cell-derived extracellular vesicles promote angiogenesis via the Gas6/Axl pathway. *Cancer Lett*. 2022; 524:131-143.
61. Sawabu T, Seno H, Kawashima T, et al. Growth arrest-specific gene 6 and Axl signaling enhances gastric cancer cell survival via Akt pathway. *Mol Carcinog*. 2007;46(2):155-64.
62. He L, Lei Y, Hou J, et al. Implications of the Receptor Tyrosine Kinase Axl in Gastric Cancer Progression. *Onco Targets Ther*. 2020;22 (13): 5901-5911.
63. Bae CA, Ham IH, Oh HJ, et al. Inhibiting the GAS6/AXL axis suppresses tumor progression by blocking the interaction between cancer-associated fibroblasts and cancer cells in gastric carcinoma. *Gastric Cancer*. 2020; 23(5):824-836.
64. D'Alfonso TM, Hannah J, Chen Z, et al. Axl receptor tyrosine kinase expression in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2014;67(8):690-696.
65. Wang C, Jin H, Wang N, et al. Gas6/Axl Axis Contributes to Chemoresistance and Metastasis in Breast Cancer through Akt/GSK-3 β / β -catenin Signaling. *Theranostics*. 2016 ;6(8):1205-1219.
66. Leconet W, Chentouf M, du Manoir S, et al. Therapeutic Activity of Anti-AXL Antibody against Triple-Negative Breast Cancer Patient-Derived Xenografts and Metastasis. *Clin Cancer Res*. 2017; 23(11):2806-2816.
67. Ishikawa M, Sonobe M, Nakayama E, et al. Higher expression of receptor tyrosine kinase Axl, and differential expression of its ligand, Gas6, predict poor survival in lung adenocarcinoma patients. *Ann Surg Oncol*. 2013;20 (3):S467-76.
68. Wang D, Bi L, Ran J, et al. Gas6/Axl signaling pathway promotes proliferation, migration and invasion and inhibits apoptosis in A549 cells. *Exp Ther Med*. 2021;22(5):1321.
69. Kanzaki R, Naito H, Kise K, et al. Gas6 derived from cancer-associated fibroblasts promotes migration of Axl-expressing lung cancer cells during chemotherapy. *Sci Rep*. 2017;7(1):10613.
70. Choi YJ, Kim JH, Rho JK, et al. AXL and MET receptor tyrosine kinases are essential for lung cancer metastasis. *Oncol Rep*. 2017;37(4):2201-2208.
71. Song X, Wang H, Logsdon CD, et al. Overexpression of receptor tyrosine kinase Axl promotes tumor cell invasion and survival in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer*. 2011 15;117(4):734-743.
72. Koorstra JB, Karikari CA, Feldmann G, et al. The Axl receptor tyrosine kinase confers an adverse prognostic influence in pancreatic cancer and represents a new therapeutic target. *Cancer Biol Ther*. 2009;8(7):618-626.
73. Ludwig KF, Du W, Sorrelle NB, et al. Small-Molecule Inhibition of Axl Targets Tumor Immune Suppression and Enhances Chemotherapy in Pancreatic Cancer. *Cancer Res*. 2018 78(1):246-255. doi: 10.1158/0008-5472.
74. Rea K, Pinciroli P, Sensi M, et al. Novel Axl-driven signaling pathway and molecular signature characterize high-grade ovarian cancer patients with poor clinical outcome. *Oncotarget*. 2015; 6(31):30859-75. doi: 10.18632/oncotarget.5087.
75. Hutterer M, Knyazev P, Abate A, et al. Axl and growth arrest-specific gene 6 are frequently overexpressed in human gliomas and predict poor prognosis in patients with glioblastoma multiforme. *Clin Cancer Res*. 2008; 14(1):130-138. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0862.

76. Avilla E, Guarino V, Visciano C, et al. Activation of TYRO3/AXL tyrosine kinase receptors in thyroid cancer. *Cancer Res.* 2011;71(5):1792-804. doi: 10.1158/0008-5472.
77. Ben-Batalla I, Schultze A, Wroblewski M, et al. Axl, a prognostic and therapeutic target in acute myeloid leukemia mediates paracrine crosstalk of leukemia cells with bone marrow stroma. *Blood.* 2013 Oct 3;122(14):2443-52. doi: 10.1182/blood-2013-03-491431.
78. Xu J, Jia L, Ma H, et al. Axl gene knockdown inhibits the metastasis properties of hepatocellular carcinoma via PI3K/Akt-PAK1 signal pathway. *Tumour Biol.* 2014; 35(4):3809-17. doi: 10.1007/s13277-013-1521-5.
79. Lee HJ, Jeng YM, Chen YL, et al. Gas6/Axl pathway promotes tumor invasion through the transcriptional activation of Slug in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis.* 2014; 35(4):769-75. doi: 10.1093/carcin/bgt372.
80. Batur T, Argundogan A, Keles U, et al. AXL Knock-Out in SNU475 Hepatocellular Carcinoma Cells Provides Evidence for Lethal Effect Associated with G2 Arrest and Polyploidization. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(24):13247. doi: 10.3390/ijms222413247.
81. Paccez JD, Vasques GJ, Correa RG, et al. The receptor tyrosine kinase Axl is an essential regulator of prostate cancer proliferation and tumor growth and represents a new therapeutic target. *Oncogene.* 2013;32(6):689-98. doi: 10.1038/onc.2012.89.
82. Axelrod HD, Valkenburg KC, Amend SR, et al. AXL Is a Putative Tumor Suppressor and Dormancy Regulator in Prostate Cancer. *Mol Cancer Res. Molecular Cancer Research.* 2019;17(2):356-369. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-18-0718.
83. Han J, Tian R, Yong B, et al. Gas6/Axl mediates tumor cell apoptosis, migration and invasion and predicts the clinical outcome of osteosarcoma patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;435(3):493-500. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.05.019.
84. Li Q, Wang X, Jiang N, et al. Exosome-transmitted linc00852 associated with receptor tyrosine kinase AXL dysregulates the proliferation and invasion of osteosarcoma. *Cancer Med.* 2020; (17):6354-6366. doi: 10.1002/cam4.3303.
85. Janssen JW, Schulz AS, Steenvoorden AC, et al. A novel putative tyrosine kinase receptor with oncogenic potential. *Oncogene.* 1991;6(11):2113-20.
86. Varnum BC, Young C, Elliott G, et al. Axl receptor tyrosine kinase stimulated by the vitamin K-dependent protein encoded by growth-arrest-specific gene 6. *Nature.* 1995;373(6515):623-6. doi: 10.1038/373623a0.
87. Bellosta P, Zhang Q, Goff SP, et al. Signaling through the ARK tyrosine kinase receptor protects from apoptosis in the absence of growth stimulation. *Oncogene.* 1997 Nov 13;15(20):2387-97. doi: 10.1038/sj.onc.1201419.
88. Goruppi S, Ruaro E, Schneider C. Gas6, the ligand of Axl tyrosine kinase receptor, has mitogenic and survival activities for serum starved NIH3T3 fibroblasts. *Oncogene.* 1996;12(3):471-80.
89. Allen MP, Zeng C, Schneider K, et al. Growth arrest-specific gene 6 (Gas6)/adhesion related kinase (Ark) signaling promotes gonadotropin-releasing hormone neuronal survival via extracellular signal-regulated kinase (ERK) and Akt. *J. Mol. Endocrinol.* 1999 Feb;13(2):191-201. doi: 10.1210/mend.13.2.0230.
90. May CD, Garnett J, Ma X, et al. AXL is a potential therapeutic target in dedifferentiated and pleomorphic liposarcomas. *BMC Cancer.* 2015; 15:901.
91. Katagiri M, Hakeda Y, Chikazu D, et al. Mechanism of stimulation of osteoclastic bone resorption through Gas6/Tyro 3, a receptor tyrosine kinase signaling, in mouse osteoclasts. *Int. J. Biol. Chem.* 2001;276(10):7376-82.
92. Sinha S, Boysen J, Nelson M, et al. Targeted Axl Inhibition Primes Chronic Lymphocytic Leukemia B Cells to Apoptosis and Shows Synergistic/Additive Effects in Combination with BTK Inhibitors. *Clin. Cancer Res.* 2015;21(9):2115-26.
93. Bell JB, Eckerdt FD, Alley K, et al. MNK Inhibition Disrupts Mesenchymal Glioma Stem Cells and Prolongs Survival in a Mouse Model of Glioblastoma. *Mol. Cancer Res.* 2016;14(10):984-93.
94. Sainaghi PP, Castello L, Bergamasco L, et al. Gas6 induces proliferation in prostate carcinoma cell lines expressing the Axl receptor. *J. Cell. Physiol.* 2005;204(1):36-44.

95. Yuen HF, McCrudden CM, Huang YH, et al. TAZ expression as a prognostic indicator in colorectal cancer. *PLoS One*. 2013;8(1):e54211.
96. Lay JD, Hong CC, Huang JS, et al. Sulfasalazine suppresses drug resistance and invasiveness of lung adenocarcinoma cells expressing AXL. *Cancer Res*. 2007;67(8):3878–87.
97. Tai KY, Shieh YS, Lee CS, et al. Axl promotes cell invasion by inducing MMP-9 activity through activation of NF-kappaB and Brg-1. *Oncogene*. 2008;27(29):4044–55.
98. Wang X, Saso H, Iwamoto T, et al. TIG1 promotes the development and progression of inflammatory breast cancer through activation of Axl kinase. *Cancer Res*. 2013;73(21):6516–25.
99. Li Y, Ye X, Tan C, et al. Axl as a potential therapeutic target in cancer: role of Axl in tumor growth, metastasis and angiogenesis. *Oncogene*. 2009;28(39):3442–55.
100. Shieh YS, Lai CY, Kao YR, et al. Expression of axl in lung adenocarcinoma and correlation with tumor progression. *Neoplasia*. 2005;7(12):1058–64.
101. Dźdzalik-Bielecka D, Poświata A, Kozik K, et al. The GAS6-AXL signaling pathway triggers actin remodeling that drives membrane ruffling, macropinocytosis, and cancer-cell invasion. *PNAS USA*. 2021;118(28):e2024596118. doi: 10.1073/pnas.2024596118.
102. Abu-Thuraia A, Goyette MA, Boulais J, et al. AXL confers cell migration and invasion by hijacking a PEAK1-regulated focal adhesion protein network. *Nat. Commun*. 2020;11(1):3586. doi: 10.1038/s41467-020-17415-x.
103. Özkara G, Öztürk O and Aydoğan HY. Kanser ve Metastaz: Hücre Adezyon Molekülleri ve Hücreler Arası Bağlantıların Önemi. *Experimed*. 2020; 10(1): 38-48.
104. Chen T, You Y, Jiang H, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): A biological process in the development, stem cell differentiation, and tumorigenesis. *J. Cell. Physiol*. 2017;232(12):3261–72.
105. Nieto MA. Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives. *Int. J. Dev. Biol*. 2009;53(8–10):1541–7.
106. Sokeland G, Schumacher U. The functional role of integrins during intra- and extravasation within the metastatic cascade. *Mol. Cancer*. 2019; 18:12.
107. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009;139(5):871–890.
108. Gjerdrum C, Tiron C, Hoiby T, et al. Axl is an essential epithelial-to-mesenchymal transition-induced regulator of breast cancer metastasis and patient survival. Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States Of America (PNAS). 2010;107(3):1124–1129.
109. Goyette MA, Duhamel S, Aubert L, et al. The Receptor Tyrosine Kinase AXL Is Required at Multiple Steps of the Metastatic Cascade during HER2-Positive Breast Cancer Progression. *Cell Rep*. 2018;23(5):1476–1490.
110. Cichon MA, Szentpetery Z, Caley MP, et al. The receptor tyrosine kinase Axl regulates cell-cell adhesion and stemness in cutaneous squamous cell carcinoma. *Oncogene*. 2014;33(32):4185–4192.
111. Asiedu MK, Beauchamp-Perez FD, Ingle JN, et al. AXL induces epithelial-to-mesenchymal transition and regulates the function of breast cancer stem cells. *Oncogene*. 2014;33(10):1316–1324.
112. Singh M, Yelle N, Venugopal C, et al. EMT: Mechanisms and therapeutic implications. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2018;182:80–94.
113. Lin JZ, Wang ZJ, De W, Zheng M, Xu WZ, Wu HF, Armstrong A, Zhu JG. Targeting AXL overcomes resistance to docetaxel therapy in advanced prostate cancer. *Oncotarget*. 2017;8(25):41064–41077.
114. Vural P. Fizyolojik ve Patolojik Anjiogenezde Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörünün Rolü. *Türk J Biochem*. 2018; 16(1): 53-62.
115. Fridell YW, Villa J Jr, Attar EC, et al. GAS6 induces Axl-mediated chemotaxis of vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem*. 1998;273(12):7123–6.
116. Ramjiawan RR, Griffioen AW and Duda DG. Anti-angiogenesis for cancer revisited: Is there a role for combinations with immunotherapy? *Angiogenesis*. 2017;20(2):185–204.

Güncel Biyokimya Çalışmaları III

117. Ruan GX, Kazlauskas A. Lactate engages receptor tyrosine kinases Axl, Tie2, and vascular endothelial growth factor receptor 2 to activate phosphoinositide 3-kinase/Akt and promote angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 2013;288(29):21161–21172.
118. Holland SJ, Powell MJ, Franci C, et al. Multiple roles for the receptor tyrosine kinase axl in tumor formation. *Cancer Res.* 2005;65(20):9294–92303.
119. Gallicchio M, Mitola S, Valdembrì D, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated endothelial cell activation by Axl tyrosine kinase receptor. *Blood.* 2005;105(5):1970–1976.
120. Xiao Y, Zhao H, Tian L, et al. S100A10 is a critical mediator of GAS6/AXL-induced angiogenesis in renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 2019. <https://doi.org/10.1158/0008-5472>.
121. Ben-Batalla I, Erdmann R, Jorgensen H, et al. Axl Blockade by BGB324 Inhibits BCR-ABL Tyrosine Kinase Inhibitor-Sensitive and -Resistant Chronic Myeloid Leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2017;23(9):2289–2300.
122. Schoumacher M, Burbridge M. Key Roles of AXL and MER Receptor Tyrosine Kinases in Resistance to Multiple Anticancer Therapies. *Curr. Oncol. Rep.* 2017;19(3):19.
123. Huang M, Liu M, Huang D, et al. Tumor perivascular cell-derived extracellular vesicles promote angiogenesis via the Gas6/Axl pathway. *Cancer Lett.* 2022; 524:131-143. doi: 10.1016/j.canlet.2021.10.023.