

AKCİĞER KANSERİNDE KLİNİK ÖNEME SAHİP MUTASYONLAR

Patrick Pauwels

Department of Pathology, Antwerp University Hospital, Antwerp and Ghent University.

e-posta: patrick.pauwels@uza.be

Çeviri: Burçin Çelik

e-posta: cburcin@hotmail.com

doi:10.5152/tcb.2012.XX

Özet

Akciğer kanseri kompleks ve sıklıkla fatal bir hastalıktır. EGFR’i aktive eden mutasyonlar ve ALK’yi etkileyen fusyon genleri üzerindeki son keşifler akciğer kanserinde daha kişiye özel tedaviye doğru bir eğilimin kilometre-taşlarını oluşturmuştur. Bu değişiklikleri hedefleme hastaların sağkalım sürelerine fayda sağlar. EGFR ve ALK testleri bu günlerde standart bir prosedür olarak düşünülebilir. Akciğer kanserine karşı savaşımında adenokarsinomda MET ve ROS gibi, yassı hücreli karsinomda FGFR ve DDR2 gibi yeni hedefler tartışıldı.

Anahtar kelimeler: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, moleküler test, EGF(R), ALK, MET, FGFR, DDR2

GİRİŞ

Geçtiğimiz yıllarda, akciğer kanserinde potansiyel olarak ilaç bağlanabilecek moleküler değişimleri tanımlama yönünde çok büyük çabalar sarf edilmiştir. Günümüze ulaşan hiç de iç açıcı olmayan gerçekte, akciğer kanserlerinin ancak %20’sinde iyileştirici hedefleri saptayabildiğimizdir (1).

İyi haberse, hedefe yönelik tedavilerden elde edilen klinik yarar, kemoterapiden elde edilenden daha büyüktür. Bu yazıda, küçük hücreli dışı akciğerlerde halen ilaç bağlanabilen mutasyonlara odaklanacak ve bazı yeni moleküler hedefleri tartışacağız.

EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ (EGFR) MUTASYONU

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü, proliferasyon ve apoptozisi düzenleyen sinyallerin iletim yollarını kontrol eden hücre yüzey reseptörü tirozin kinazların ErbB familyasının bir parçasıdır (2). Bu transmembran reseptörler hücre yüzeyinde monomerler olarak varlıklarını sürdürürler. Bu reseptörler hücre dışı bir sinyal (“ligand” olarak adlandırılır) bağlandığında aktive olur-

lar. EGFR için bilinen ligandlar epidermal büyüme faktörü “EGF”, epiregulin ve transforming büyüme faktörü alfa’dır. Normal, dinlenme halindeki EGFR “bloke” bir durumdadır: dimerize olamaz, çünkü reseptörün hücre dışı kısmında yerleşik dimerizasyon kolları o şekilde katlanmıştır ki molekülün yüzeyinde görünmezler.

Ligand bağlanma uyum için gerekli değişiklikleri harekete geçirir; molekülün hücre dışı kısmı açılır ve dimerizasyon kolları açığa çıkar, böylece dimerizasyon gerçekleşir.

Homodimerizasyon, EGFR’nin bir başka EGFR ile bir araya gelmesidir. Bir başka partner daha (örneğin Her2 ya da Her3) devreye girerse, o zaman sürece heterodimerizasyon denir. “Dimerizasyon” reseptörün “aktivasyon” u demektir.

Aktif durum demek, ATP’den bir fosfat grubunun reseptörün sitoplazmik kuyruğuna, özellikle, bu kuyruktaki tirozin kalıntılarına, transfer olabilmesi demektir (tirozin transfosforilasyon). Reseptörün aktivasyonu, reseptörün ATP bağlayan yarım dimerizasyon süreciyle kendini açması, böylece ATP’nin reseptöre girebilmesi ve kinazın fosfat transfer etmesine izin verilmesi anlamına gelir.

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü’nü engellemenin bir yolu, ATP bağlayan yarığa girmek için ATP

ile yarışan küçük bir moleküler molekül yaratmaktır. Bu yolla, reseptörün kinaz aktivitesi bloke edilir. Bu "tirozin kinaz inhibitörleri" (TKI'ler) diye adlandırılan gefitinib ve erlotinib'in geliştirilmesinin temelini oluşturur.

Seçilmemiş küçük hücreli dışı akciğer kanserli (NSCLC) hastaların bu TKI'lerle tedavisi hayal kırıklığı yaratan sonuçlar verdi. Bununla birlikte, bir alt grup hasta tedaviye mükemmel cevap verdi. 2004 yılında bu cevap veren hastaların, kinazın ATP bağlayan bölgesi içinde ya da yakınında lokalize, aktive eden mutasyonlara sahip olduğu gösterildi (3, 4).

Bu aktive edilmiş EGFR mutantlarının kinaz aktiviteleri doğal tip EGFR moleküllerininkinden daha yüksektir. Son dönemde, bu durumun, mutanın özünde var olan artmış bir katalitik potansiyelden değil, azalmış bir dimerizasyon aracılı aktivasyon eşliğine sahip olmasından kaynaklandığı gösterilmiştir. Bir başka deyişle, mutant dimerizasyona yatkındır (5).

Niçin aktive eden EGFR mutasyonlu NSCL tümörleri TKI'lere WT (doğal tip) EGFR tümörlerinden daha iyi cevap verir?

Erlotinib ve gefitinib ATP bağlayıcı yarığa girmek için ATP ile bir yarış içindedirler. Bu mutasyonlar ATP bağlayıcı yarığın şeklini öyle değiştirirler ki, kazanan TKI olur ve kinaz aktivitesini bloke eder. Bu mekanizma rezistant mutasyonların nasıl çalıştığını da açıklar; yarığın şeklini öyle değiştirirler ki, TKI'leri yarığa girmede daha fazla güçlük yaşarlar.

Sonunda, TKI alan tüm hastalar direnç geliştirir. Olguların %50'sinde EGFR TKI'larına direnç nedeni bir T790M mutasyonudur. T790M'de, threonine'nin yerini katalitik yarığın methionine alır. Bu, bir uyum değişimine yol açar ve sonuçta ATP ile TKI arasındaki yarışın galibi ATP olur (6).

EGFR MUTASYON TESTİ

Mutasyon durumu TKI'lere verilecek cevabın en önemli belirleyicisidir. Ayrıca, mutasyon-negatif NSCLC'li hastalar konvansiyonel kemoterapiye TKI uygulamasından daha iyi cevap verirler, ki bu da terapi bölümünü yönlendirmede mutasyon durumunu kullanmanın önemine işaret eder (7).

Amerikan Klinik Onkoloji Topluluğu kesin olmayan bir klinik görüş yayınladı ve uygun birinci basamak tedavinin bir EGFR TKI mi yoksa kemoterapi mi olduğunun belirlenmesi için, EGFR TKI ile birinci basamak tedavi düşünülen hastaların tümörlerini EGFR mutasyonları için test ettirmeleri gerektiğini belirtti.

İleri evre NSCLC'li hastaları dâhil ettiler ve testi, sadece değilse bile, büyük ölçüde adenokarsinomlu hastalara önerdiler (8). Avrupa'da skuamöz hücreli kar-

sinomlar, hasta sigara içmiyorsa, testin dışında tutuldular (9). Büyük hücreli nöroendokrin karsinomlar ve müsinöz adenokarsinomlar da test dışında tutuldular.

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü mutasyon analizi için başlangıç materyalleri genellikle tanısız örneklerde hala var olan materyallerdir. Bu EGFR analizi bronkoskopik biyopsilerden, periferik neoplazmaların santral biyopsilerinden ve primer tümörün cerrahi rezeksiyon örneklerinden elde edilen materyallerde gerçekleştirilebilir. Fakat ince iğne aspirasyon sitoloji ya da plevral efüzyon örnekleri de kullanılabilir (sitoloji hücre bloğu tekniğiyle) (10).

Moleküler testin gerçekleştirilmesine yetecek kadar tümör dokusu var mı? "Ne kadar yeterli?" sorusuna verilecek kesin bir yanıt yok. Bir örneğin yeterli olup olmadığını değerlendirecek en nitelikli kişi patoloğtur (moleküler test tekniğinin kullanıldığını varsayarak). Bazı çalışmalar EGFR mutasyonlarının her bir tümörde heterojen olarak dağılabileceğini göstermiştir.

Bununla birlikte, yeni ve çok iyi belgelenmiş bir çalışma, biyopsi bölgesinden bağımsız olarak, EGFR mutasyon durumunda hiçbir farklılık olmadığını öne sürmektedir (11).

Mutasyon analizi için birkaç farklı metot vardır (12). Bu açıdan iki önemli sorun göz önünde bulundurulmalıdır. İlk olarak, bazı metotlar incelenen eksonlardaki tüm mutasyonları tespit edebilir. Alel-spesifik olarak adlandırılan diğerleri sadece belirli mutasyon tiplerini (örneğin; delesyon için uzunluk analizi) ya da test metodunun bulması için tasarlandığı belirli bir mutasyon dizisini tespit edebilirler. Test işiyle ilgili kişiler, seçtikleri test metodolojisiyle potansiyel olarak hangi mutasyonların bulunabileceğini ya da gözden kaçırabileceğini bilmelidir. İkinci sorun da testin duyarlılığıdır; bu çalışmada bu kavram, testin mutasyona uğramış genomu doğal tip (wild-type) genomla seyreltildiğinde tespit ettiği seviyeye karşılık gelmektedir. Yüzde 5'lik bir test duyarlılığı, mutasyonun 1/20'lik bir seyreltide tespit edilebileceği anlamına gelir. Çıkarılan tümör DNA'sı her zaman örnekteki non-neoplastik hücrelerden gelen doğal tip EGFR içerecektir.

NSCLC'DE ANAPLASTİK LENFOMA KINAZ (ALK) YENİDEN DÜZENLENMESİ

ALK'de bir tirozin kinaz reseptörüdür. Ligandı bilinmemektedir, en azından insanlardaki ligandı bilinmemektedir. Enzim ilk olarak anaplastik büyük hücreli lenfomada t (2;5) (p23;q35) kromozom translokasyondan kaynaklanan kimerik bir protein olarak bulunmuştur.

2007'de NSCLC'de farklı bir ALK translokasyonu bulundu (13). Kromozomda yerleşik ALK'nin bir par-

çası, inversionuyla aynı gende yerleşik bir başka genin parçasıyla birleşti. Bu gen EML-4 genidir (Echinoderm Microtubule-Associated protein-like 4 gene). Olan şudur; ALK geninin tirozin kinaz-kodlayan domain'i EML-4 geninin dimerizasyon domain kodu taşıyan parçasıyla birleşir. Böylece, bir tirozin kinaz domain'i bir de dimerizasyon domain'i içeren yeni bir "füzyon" protein üretilir. Bu yeni (füzyon) genin transkripti gerçekleşir gerçekleşmez dimerizasyon meydana gelir ve yeni protein aktive olur. Normal bir ALK reseptörü hücre zarında yerleşiktir ve aktif hale gelebilme için bir ligand'a gereksinimi vardır. Bu yeni ALK füzyon proteini, ligand bağ gereksinimi duymadan daha sitoplazmada aktive olmuştur.

EML4-ALK füzyon geni akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %3-5'inde tespit edilmiştir ve dönüştürücü potansiyeli NSCLC hücre hatlarında gösterilebilir. Bu genetik abrazyonun ilk tanımlanmasının üzerinden henüz 2 yıl geçmişti ki, 2009'da ASCO'nun (American Society of Clinical Oncology) yıllık toplantısında, EML4-ALK barındıran relaps NSCLC'de oral c-met/ALK inhibitörü (crizotinib) test eden bir faz I/II klinik çalışmanın sonuçları sunuldu ve şaşırtıcı derecede yüksek cevap oranları rapor edildi. Bir yıl sonra, onaylanmış %57'lik bir kısmı cevap oranı ve altı ay sonra %72'lik bir PFS oranıyla, güncellenmiş sonuçlar yayınlandı (14).

Bu çalışmanın ve daha ileri bir erken faz çalışmanın sonuçlarına dayanarak, ki her ikisi de primer son nokta cevap oranına (RR) sahipti, FDA crizotinib'in ALK pozitif ileri evre NSCLC tedavisinde kullanımını onayladı.

Şu an yürütülmekte olan faz III çalışmalar ALK pozitif hastalarda birinci basamak ve tekrarlayan olgularda crizotinib ve kemoterapiyi karşılaştırıyor. Jenerik abrazyondan ilacın onaylanmasına kadar geçen oldukça kısa zaman (dört yıl) kişiye özgü tedavi yaklaşımlarının klinik gelişimindeki dinamikleri vurgulamaktadır.

ALK rearanjmanlarını 3 metod tespit edebilir; fluoresan in situ hibridizasyon (FISH), ters transkriptaz-PCR (RT-PCR; multipleks RT-PCR) ve immünohistokimya (ALK proteininin aberan ekspresyonu için) (12).

Multipleks RT-PCR, ALK ile ilgili tüm translokasyonları tespit edemeyebilir. Aslında, ALK'ye partner görevi yapabilen sadece EML-4 değildir; başka partnerler de tanımlanmıştır ve liste gittikçe büyümektedir.

İmmünohistokimya ile günümüzde de devam eden sorun duyarlılıktır. ALK-rearanjmanlı NSCLC'ler, füzyon partneri ne olursa olsun, değişmez bir biçimde ALK proteinini ifade ederler, fakat bu ifade anaplastik büyük hücre lenfomalarından çok daha düşük seviyelerdedir. Sonuç olarak, ALK-rearanjmanlı NSCLC'lerin %30'undan daha fazlası, tüm dünyada yaygın kullanıma sahip ALK antikorunu kullanan immünohistokimya

tahlilleriyle tanımlanamamaktadır (ALK 1, Dako USA, Carpinteria, California) (15, 16).

Yeni geliştirilen bir antikor (D5F3, Cell signalling technology, Danvers, Massachusetts) daha iyi bir alternatif gibi görünmektedir fakat doğrulanmasına gereksinim vardır (16).

Şu ana kadar, FISH (bazı eksikliklerine karşın) geçerli altın standart olarak kabul görmektedir. Klinik çalışmalara dahil olabilmek için ALK rearanjmanı için FISH pozitif olma şartı aranıyordu (ve günümüzde de aranmaktadır).

HEDEFE YÖNELİK TEDAVİLER İÇİN ÜMİT VADEDEN DİĞER MOLEKÜLER ANOMALİLER

NSCLC patogeneğinde, MET (mezenkimal-epitelial transition) gen kopya sayısında artış tanımlanmış ve MET'in bu durum içinde yer aldığı gösterilmiştir (17). NSCLC'de gerçek de novo MET amplifikasyonları nadir olsa da, gelişimini EGFR tirozin kinaz inhibitörüne (TKI) doğru sürdüren aktive edici EGFR mutasyonlarına sahip hastalarda edinilmiş bir direnç mekanizması olarak önemlidir. EGFR, TKI'lı hastaların %20 kadarı MET amplifikasyonu ile direnç geliştirir. Gerçekte, crizotinib bir MET inhibitörü olarak geliştirilir.

MET amplifikasyonlu hastalarda crizotinib aktivitesi gösterilmiştir (16). MET öyküsünde önemli bir gerçek de, adenokarsinomların %67'sinin, karsinoidlerin %60'nın, büyük hücre karsinomlarının %57'sinin, skuamöz hücre karsinomlarının %57'sinin ve küçük hücre akciğer kanserlerinin %25'inin güçlü bir MET ekspresyonuna sahip olduğudur. Günümüzde birkaç MET inhibitörü araştırılmaktadır.

Sahadaki bir diğer oyuncu da ROS1'dir. ROS1 gen rearanjmanı, ALK-rearanjmanlı NSCLC hastalarında gözlemlenenlere benzer, belirgin klinik özelliklere sahip moleküler bir NSCLC alt grubunu tanımlar. Crizotinib, ROS1-rearanjmanlı NSCLC'de in vitro aktivite ve erken klinik aktivite kanıtı sergiler (18).

Burada tanımlanan tüm gelişmeler non-skuamöz NSCLC hastaları için daha efektiftir. Bununla birlikte, son veriler, adenokarsinomlar gibi, skuamöz hücreli karsinomların da (SCC) moleküler olarak heterojen tümörler olduğunu göstermektedir.

Temel bilimlerdeki son gelişmeler de sürücü mutasyonlar olduğuna inanılan mutasyonlar tanımlamıştır. Bunlardan ikisi burada tartışılmaktadır.

Bunlardan birincisi fibroblast büyüme faktörü 1 (FGFR1) gen amplifikasyonudur. Bu FGFR1, FGFR ailesinin 4 üyesinden birisidir. Bu reseptör aile hücre proliferasyonu ve sağ kalımın düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir (19). Bu genin amplifikasyonu skuamöz hücreli karsinomların %20'sinden fazlasında, buna kar-

şılık adenokarsinomlarda nadiren görülür. Gittikçe artan klinik veriler, FGFR sinyalizasyonun inhibe edilmesinin, hem in vivo hem in vitro, anti-proliferatif ve/ya da pro-apoptik etkilere yol açabileceğini göstermektedir. Çeşitli FGFR inhibitörleri geliştirilmektedir. Unutulmamalıdır ki FGFR sinyalizasyon deregülasyonu başka tümör tiplerinde de meydana gelmektedir (20, 21).

Skuamöz hücreli karsinomların yaklaşık %4'ünde bir başka kinaz reseptörde mutasyonlar tanımlanmıştır; diskoidin domain reseptör 2 (DDR2). Hücre hattında ve ksenograft modellerde, DDR2 mutantların büyümesi, halihazırda kronik miyelojenöz lösemi tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve bir tirozin kinaz inhibitörü olan dasatinib ile inhibe edilmektedir. Çeşitli faz II çalışmaları sürdürülmektedir.

SONUÇ

NCLC'de drugable onkojenlerin mutasyonel spektrumlarının detaylı analizleri için önemli bir çaba sarfedilmiştir. EGFR mutasyonları ve ALK yeniden düzenlemeleri dışında MET, ROS, FGFR ve DDR2 gibi diğer onkojenler bu alanda önemli oyuncular olduğu açıkça bellidir. Yakın gelecekte NCLC'li bir çok hastanın tümör genotipleme ile belirlenmiş kendi spesifik tedavisi olacağı öngörülebilir.

KAYNAKLAR

1. PT Cagle, LR Chirieac. Advances in treatment of lung cancer with targeted therapy. Arch Pathol Lab Med 2012;136:504-9. [\[CrossRef\]](#)
2. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor mutations in lung cancer. Nat Rev Cancer 2007;7:169-81. [\[CrossRef\]](#)
3. Lynch TS, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the EGFR underlying responsiveness of NSCLC to gefitinib. N Engl J Med 2004; 350:2129-39. [\[CrossRef\]](#)
4. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical responses to gefitinib therapy. Science 2004;304:1497-500. [\[CrossRef\]](#)
5. Shan Y, Eastwood MP, Zhang X, et al. Oncogenic mutations counteract intrinsic disorder in the EGFR kinase and promote receptor dimerisation. Cell 2012;149:860-70. [\[CrossRef\]](#)
6. Pirker R, Herth FJ, Kerr KM, et al. Consensus for EGFR mutation testing in NSCLC: results from a European workshop. J Thorac Oncol 2010;5;1706-13. [\[CrossRef\]](#)
7. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. N Engl J Med 2009;361:947-57. [\[CrossRef\]](#)
8. Keedy VL, Temin S, Somerfield MR, et al. ASCO provisional clinical opinion: EGFR mutation testing for patients with advanced non-small cell lung cancer considering first line EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy. J Clin Oncol 2011;29:2121-7. [\[CrossRef\]](#)
9. Pirker R, Herth FJ, Kerr KM. Consensus for EGFR mutation testing in NSCLC: results from a European workshop. J Thorac Oncol 2010;10:1706-13. [\[CrossRef\]](#)
10. Bozetti C, Negri FV, Azzoni C. EGFR and KRAS gene expression: reliability of mutation analysis on cytological samples. Diagn Cytopathol 26 JUL 2012 DOI.10.1002/dc. 22905.
11. Yatabe Y, Matsuo K, Mitsudomi T. Heterogeneous distribution of EGFR mutations is extremely rare in lung adenocarcinoma. J Clin Oncol 2011;29:2972-7. [\[CrossRef\]](#)
12. Kerr K. Personalized medicine for lung cancer. New Challenges for Pathology. Histopathology 2012;60:531-46. [\[CrossRef\]](#)
13. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in NSCLC. Nature 2007;448:561-6. [\[CrossRef\]](#)
14. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in NSCL. N Engl J Med 2010;363:1693-703. [\[CrossRef\]](#)
15. Mino-Kenudson M, Mark EJ. Reflex testing for EGFR mutation and ALK FISH in NSCLC. Arch Pathol Lab Med 2011;135:655-64.
16. Miro-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, et al. A novel highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. Clin Cancer Res 2010;16:1561-71. [\[CrossRef\]](#)
17. Bergethon K, Shaw A, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. J Clin Oncol 2012;30:863-70. [\[CrossRef\]](#)
18. Kim ES, Salgia R. MET pathway as a therapeutic target. J Thorac Oncol 2009;4:444-7. [\[CrossRef\]](#)
19. Turner N, Grosse R. Fibroblastic growth factor signaling from development to cancer. Nat Rev Cancer 2010;10:116-29. [\[CrossRef\]](#)
20. Weiss J, Sos ML, Seidel D, et al. Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. Sci Transl Med 2010;2:62ra93. [\[CrossRef\]](#)
21. Brooks AN, Kilgour E, Smith PD, et al. Molecular pathways: fibroblastic growth factor signaling: a new therapeutic opportunity in cancer. Clin Cancer Res 2012;18:1855-62. [\[CrossRef\]](#)
22. Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, et al. Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. Cancer Discov 2011;1:78-89. [\[CrossRef\]](#)