

# Endoplazmik Retikulum Stresinin Tümör Sürecindeki Rolü ve Antikanser Uygulamaları

## The Role in Tumor Process of Endoplasmic Reticulum Stress and Anticancer Treatments

Sümeýra Çetinkaya, İlknur Çınar, Hatice Gül Dursun

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

**Yazışma Adresi:** Sümeýra Çetinkaya, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Morfoloji binası, Tıbbi biyoloji anabilim dalı, 2.kat, Konya. E.mail: sumeyracetinkaya0@gmail.com

**Geliş tarihi / Received:** 13.10.2015

**Kabul tarihi / Accepted:** 21.11.2015

### Öz

Katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinlerin birikimi sonucu ortaya çıkan Endoplazmik retikulum stresi, kanser hücre çoğalması ve sağkalımı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Tümör hücreleri büyümek için etraflarında hipoksik bir çevreye ihtiyaç duyarlar ve katlanmamış protein yanıtı 'nın uyarılması bu yanıtta kilit bir rol oynar. Kanser stresli bir mikroçevrede oluşması ve ilerlemesi sonucunda ortaya çıkan onkogenik transformasyon süresince hücrelerin sağkalım stratejisi olarak katlanmamış protein yanıtını aktive edebildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Son zamanlarda katlanmamış protein yanıtı sinyal moleküllerinin kanser gelişimi boyunca fonksiyonlarının belirlenmesi için çalışmalar yürütülmektedir. Elde edilen verilerle, çeşitli onkogen ve tümör baskılayıcı genlerin katlanmamış protein yanıtı ile ilişkisi ortaya çıkmaya devam etmektedir. Bu sinyal yollarının birbirlerini etkileyip etkilemediklerini anlamamıza fayda sağlayacak detaylı çalışmalar, katlanmamış protein yanıtı ve kanser mekanizmasının açığa çıkmasında oldukça önemlidir. Bu derlemede katlanmamış protein yanıtı aktivasyonunun hem tümörü destekleyen hem de tümörü baskılayan rollerini anlamamıza ışık tutacak bilgilerin yanında kanser tedavisi için katlanmamış protein yanıtını hedefleyen yeni stratejilerin neler olduğu tartışılacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Endoplazmik Retikulum stresi, katlanmamış protein yanıtı, kanser, terapötik hedef

### Abstract

Endoplasmic reticulum stress resulted from accumulation of unfolded or misfolded proteins have a large impact on proliferation and survival of cancer cell. In order to grow, tumor cells need a hypoxic environment and stimulation of the unfolded protein response plays a key role in this response. The emergence and progression of the cancer under stressful microenvironment lead to oncogenic transformation. Several studies have shown that during this process, cells could activate unfolded protein response as a survival strategy. Recent studies have focused on relationship between unfolded protein response signal molecules and cancer development; and association between various oncogenes and tumor suppressor genes with unfolded protein response have been emerging. Detailed studies that will help us to understand the effect of signalling pathways on each other's, are very important to figure out the unfolded protein response and cancer mechanism. In this review, knowledge shed light on our understanding about roles of UPR on both tumor sustaining and suppression and also new strategies targeting unfolded protein response for the treatment of cancer will be discussed.

**Keywords:** Endoplasmic Reticulum stress, Unfolded protein response, cancer, therapeutic target

### Giriş

Solid tümörlerde görülen yaygın özellikler; düşük oksijen alanları olarak bilinen hipoksik alanlar, düzensiz vaskülarizasyon ve besin yetersizliğidir (1) (Şekil 1). Çünkü kanser hücreleri çoğalabilmek için yeni kan desteğine ihtiyaç duyarlar (2). Tümörlerdeki hipoksik ve anoksik dalgalanma sağkalım ve tedaviye yanıtta malignant hücreler için derin sonuçlar doğurmaktadır (3). Dolayısıyla, uygun olmayan hipoksik koşullara adaptasyon sağlamak için tümör hücrelerine fırsat veren süreçlerin aydınlatılması, daha etkili antitümör yaklaşım geliştirmek ve malignant sürecin daha iyi kavraması için kritik öneme sahiptir.

Başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıkta ER (Endoplazmik Retikulum) homeostazında düzensizlik görülmektedir. Tümör mikroçevresi ER fonksiyonlarında bir takım karışıklığa yol açabilir. Hipoksi, besin azlığı ve düşük pH durumunda ER lümeninde yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin birikimi sonucu UPR (katlanmamış protein yanıtı) aktivasyonunun arttığı bilinmektedir (4).

### Tümör Hipoksisine Moleküler Yanıtlar

Bir tümör hücresinin düşük oksijen koşullarına adaptasyonu iki yolla gerçekleşebilir. Bu yollardan biri HIF (hipoksi indüklenbilir faktör) gen ailesi tarafından düzenlenir (5,6). Bu gen ailesinden olan HIF-1 $\alpha$ ; angiogenez, anaerobik glikoliz ve hücre sağkalımını içeren genlerin ekspresyonunu ayrıca tümör hücre migrasyonunu destekleyen çeşitli genlerin ekspresyonunu uyarmak için nukleusta sürekli eksprese olan HIF1 $\beta$  ile heterodimer yapan anahtar bir transkripsiyon faktörüdür (6).

Deneyisel hayvan modelleri ve insan tümörlerindeki çalışmalar ve tümörlerdeki oksijenasyonu direkt ölçen çalışmalar, tümör hücrelerinin hipoksi ve hipoksi-reoksijenasyon

döngülerinin metastatik potansiyelin artışına yol açtığını güçlü bir şekilde önermektedir (7, 8). Sonuç olarak, hipoksinin daha agresif bir fenotipe doğru tümör fizyolojisini değiştirdiği ve bu yüzden de hücresel ve moleküler seviyede tümör fizyolojisini etkileyecek hipoksi mekanizmalarını aydınlatmanın tümör gelişimi, metastazı ve daha etkili antitümör modelleri tasarlamada önemli olduğu düşünülmektedir (9).

İkinci yol ise oksijen ve enerji tüketimini içeren genel bir durdurma sürecidir ve bunların çoğu HIF-bağımsız süreçler aracılığıyla olmaktadır. Bu süreçler birbirinden bağımsız olarak gen ekspresyonunu etkileyen ve tümör hücre davranışı için oldukça önemli oksijene duyarlı iki yola aracılığıyla olduğu kanıtlanmıştır. Bunlardan biri olan mTOR (Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi) protein sentezi, otofaji ve apoptozis ile ilişkili çok önemli bir yoldur. Diğerisi ise ER stresinin bir sonucu olarak meydana gelen transkripsiyonel ve translasyonel değişiklikleri yöneten UPR yolağıdır (10).

mTOR; lipid ve protein sentezi, ribozom biyogenezi, otofajinin azaltılması, hücre büyümesi ve çoğalması gibi süreçlerde rol alır. Son yıllarda özellikle serin/reonin mTORC1 'in sürekli aktivasyonunun pek çok kanserde yaygın olduğu ve protein sentezi ve hücre büyümesini uyardığının görülmesi üzerine kanser araştırmalarında odaklanılan yollardan birisi olmuştur. Dolayısıyla antikanser terapide mTOR inhibitörleri oldukça önemli bir antitümör hedefidir.

Antiproliferatif ve proapoptotik etkilerine ek olarak mTOR inhibitörleri tümör hipoksisini de azaltırlar (11). mTOR aktivitesi, HIF1 'in translasyonunu seçici olarak düzenler. Ayrıca mTOR 'un aktivasyonu ve deregülasyonu ER stresine neden olabilir. ER stres sensörlerinden IRE1 (inozitol gerektiren kinaz 1) 'in aktivasyonu, fosforile IRE1 'e TRAF2 (TNF reseptör ilişkili faktör 2) 'nin çağrılmasıyla mTOR aktivitesini

etkileyebilir; bu da JNK (c-Jun N-terminal kinaz) aracılı fosforilasyonuna ve mTOR aktivitesinin pozitif bir regülatörü olan IRS1 (insulin reseptör substrat 1) aktivasyonuna yol açar (10) (Şekil 2).

HIF1 ve mTOR sinyali hücrel metabolizmanın en güçlü iki regülatörüdür. Rapamisin kullanarak veya mTOR mutasyonlarını inaktive eden çalışmalar, mTOR'u, hem glikolizin hem de lipid, amino asit, nükleotid ve protein biyosentezinin pozitif bir regülatörü olarak tanımlamıştır (12).

Aynı zamanda HIF1 transkripsiyon faktörü glukoz metabolizmasının master bir düzenleyicisidir. Kanser hücrelerinin mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan 'dan ziyade piruvat metabolizmasına yöneldiği yıllardır bilinir. Piruvatın laktata dönüşümü ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan kaçışı iki anahtar enzim olan laktat dehidrojenaz A (LDH-A) ve piruvat dehidrojenaz kinaz 1 (PDK1) 'in HIF- aracılı ekspresyonunu artırma yoluyla destekler (6). mTORC1 aktivitesi kanser hücre sağkalımını artırmak için hipoksi ve besin yokluğu durumlarında sıklıkla baskılanır (13,14).

### ER Şaperonları ve Oksidoredüktazların Kanserdeki Rolü

ER 'nin kalabalık moleküler mikroçevresinde protein olgunlaşması, pek çok şaperonun ve katlanmayla ilgili enzimin aktivitesini gerektirir (15). Bu koşullar altında hipoksi ve katlanmamış protein yanıtı hedef genlerin regülasyonunu artırır. Böyle bir durumda ER 'deki oksidoredüktazlar ve şaperonlar tümör büyümesinin önemli düzenleyicileri haline gelir.

Bu proteinler yalnızca protein katlanmasını artırmaz, aynı zamanda plazma membranı üzerinde MHC1 (temel doku-uygunluğu bileşeni) tarafından hücre içi peptid düzenlenmesi yoluyla immün sistemle sıkı bir şekilde bağlantılı olup, plazma membran özelliklerini değiştirir ve bundan dolayı tümöre karşı immün tanıma sağlanır (16).

Bu yüzden tümör hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve immün tanımda ER şaperonların mekanizmaları ve rollerini anlamak yeni kanser tedavilerinin gelişimine önemli derecede ışık tutacağı düşünülmektedir. Bu proteinlerin plazma membranını nasıl hedeflediğini anlamak ayrıca çok önemlidir (17).

### Kanser Sürecinde BiP/GRP78 (Glukozla düzenlenen protein 78) Rolü

Tarihsel süreçte glukozla-düzenlenmiş proteinlerin, glukoz yokluğunda uyarıldığı bulunmuştur. Düşük seviyedeki ER stresi durumunda GRP78 stresi tolere edebilir ve protein katlanmasına yardımcı olmak için miktarı artar. Hem hücre içi hem de hücre yüzeydeki BiP/GRP78 tümör büyümesini artırır. Diğer katlanma proteinlerinden olan PDI (protein disülfid izomeraz), ERO1α (ER oksidoredüktaz 1) ve GRP94 (glukozla düzenlenen protein 94) de tümör dokularının özelliklerini değiştirebilir. Bundan dolayı yüzeydeki BiP/GRP78 antikör temelli deneysel tedavide hedef olarak gösterilmektedir (18,19).

Özellikle GRP78 'in transgenik kanser fare modelleri ve hücre kültürlerindeki yoğun çalışmalarla tedaviye direnç aynı zamanda da invazyon, metastaz, angiogenez, çoğalma ve düzenlenmesi yoluyla tümörögenezisi artırdığı gösterilmiştir (20). Bununla uyumlu olarak, BiP/GRP78 ve GRP94 'ün en az 10 farklı kanserde ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bunlar; prostat, baş-boyun, melanom, meme, akciğer, beyin, gastrik, kolon, pankreas ve hepatoselüler karsinom olarak sayılabilir (21, 22).

GRP78 ekspresyonunu bloke ederek tümör hücrelerinin sağkalımını azaltmak oldukça arzu edilen bir durum olmasına rağmen klinikte henüz başarılamamıştır. Esasında, ER stres yanıtı "yin ve yang" prensibi olarak görülebilir. Sağkalım (yang) GRP78 ve ölüm (yin) CHOP (C/EBP homolog protein), ER stres yanıtın anahtar zıt temsilcileridir (23). Pek çok tümör hücre hattı ve

tümör dokusunda GRP78 seviyesi artarken, CHOP 'un eksprese olmadığı görülmüştür. Günümüzde, GRP78 ve CHOP ekspresyon seviyeleri, ER stresinin akut ve kronik fazını ayırt etmede gerekli markerlar olarak sıklıkla kullanılmaktadır (24).

Genelde, tümör hücreleri kronik ER stresini yaşamalarına rağmen, GRP78; sağkalım modülü baskınlığını sürdürdüğü için düşük CHOP transkripsiyonuna izin verir (25, 26). Ancak, akut olarak artmış ER stresine yanıtta, CHOP transkripsiyonu ATF4 (aktif edici transkripsiyon faktör 4) 'ün aktivitesi yoluyla güçlü bir şekilde uyarılır ve mümkün olduğunca ATF6 ve CHOP protein seviyeleri artar (25). Bu artışın süresi ve boyutu hücrenin kaderini belirlemede önemli rol oynamaktadır (27, 28).

### UPR Sinyal Yolakları

Ökaryot hücrelerde, ER lümeninin izlenmesi ve UPR 'nin sinyalizasyonu, 3 ER-membran ilişkili protein aracılığıyla; PKR-benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK); inozitol gerektiren enzim 1 (IRE1); aktive edici transkripsiyon faktörü (ATF6). Her bir UPR yolağı farklı hedef genleri uyarmasına rağmen, tümü için ortak olan nokta yeni proteinlerin sentezini durdurarak katlanmamış proteinlerin endojen stresine savaşmak için hücreye izin vermesidir. İyi fonksiyon gösteren ve stressiz bir ER 'de, bu üç transmembran protein ısı-şok protein (HSP70) ailesinden immunoglobulin bağlayıcı protein (BiP) adı verilen bir şaperona bağlıdır ve bu halde iken inaktiftirler. ER lümeninde yanlış katlanmış proteinlerin aşırı birikmesiyle, BiP/Grp78 bu üç reseptörün aktivasyonuna yol açarak ayrılır. ER stresin erken fazında katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler PERK 'in homodimerize olmasına ve sonrasında ökaryotik başlama faktör 2 (eIF2 $\alpha$ ) 'nin  $\alpha$  subüniti üzerinde Ser51 'i direkt olarak fosforillemesine neden olur. Fosforillenmiş

eIF2 $\alpha$ , mRNA da translayonel azalmaya yol açarak ribozomal başlama komplekslerinin oluşumunu önler. Bazı mRNA 'ların translayonu ise eIF2 $\alpha$  'nın fosforile olduğu durumlarda seçici bir avantaj sağlamaktadır, ATF4 gibi. PERK; antioksidan yanıt, hücre döngüsünün durması, apoptozis, ERAD gibi süreçlerle ilişkili genleri aktive etme becerisi olan bir sinyal yolağıdır. IRE1 'in iki izoformu vardır: IRE1 $\alpha$  ve IRE1 $\beta$ . IRE1 $\alpha$  'nın aktivasyonu; dimerizasyon, oligomerizasyon ve otofosforilasyon şeklinde gerçekleşir. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin varlığının hissedilmesi üzerine, IRE1 $\alpha$  dimerize olur ve otofosforilasyon yoluyla RNaz domainini aktive eder. IRE1 endoribonukleaz aktivitesi ile XBP1 (X-kutu bağlama protein 1) mRNA 'sının nükleusta hedef genlere bağlanmasını tetikler. XBP1 de; ERAD, lipid biyosentezi, antioksidan etki ve protein katlanmasında görev alan pekçok proteini kodlayan genlerin transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon görür (29). ATF6 sinyalini üzerinde yapılan çalışmaların yetersizliği ve henüz kanser mekanizmasına etkisi tam olarak bilinmediğinden yukarıda bahsedilen iki yolak üzerinden açıklanacaktır.

### Kanser sürecinde PERK Yolağı

Bu yolak ER stresinde apoptozisi veya sağkalımı uyarabilir, aynı zamanda da içeriğe bağlı olarak malignan transformasyonu kolaylaştırabilir ya da baskılayabilir. Bazı çalışmalarda PERK tarafından eIF2 $\alpha$  fosforilasyonunun solid tümörlerin büyümesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (30). PERK 'in tümör oluşumunu baskıladığı ve tümör hücre ilerlemesini geciktirdiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu modelde PERK-NRF-2 yolağının (NF-ER-iliskili faktör-2 (NRF-2); eIF2 $\alpha$  'ya ek olarak PERK'in aktive ettiği ve redoks homeostazını artıran transkripsiyon faktörü) oksidatif stresin azalması yoluyla çoğalmayı düzenlediği gösterilmiştir. Sonuç olarak meme kanser hücrelerinde PERK kaybında DNA 'daki oksidatif

hasar nedeniyle G2/M noktasında hücre döngüsünün durmasına yol açmaktadır (31,42).

Yine PERK 'in bir diğer önemli aracısı olan CHOP 'un uzun süreli ER stresine yanıt olarak uyarılması premalignant hücrelerin ölümüne neden olur. CHOP 'un delesyonunun ise, tümör baskılayıcı rolünü önleyerek akciğer kanserin K-RASG12V uyarımlı fare modellerinde tümör insidansını artırdığı gösterilmiştir (32).

PERK, siklin D1 gibi hücre döngüsü regülatörlerinin translasyonunu baskılayarak hücre döngüsünün durmasını sağlamaktadır (33, 34). Bu daha olumlu koşullarla karşılaşılana kadar stresli çevredeki sağkalıma izin vererek kanser hücrelerinin uyku halini artırır.

Diğer taraftan PERK anoikisin (ECM bozulması sonrası meydana gelen bir çeşit hücre ölümü) önlenmesinden sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Bu çalışmaların bir kısmında, memeli epitel hücrelerindeki PERK aktivasyonunun uyarılmasının, antioksidan yanıtlar ve otofajinin aktivasyonu yoluyla anoikise uğrayan hücrelerin sağkalımının artmasına neden olduğu belirtilmiştir (31,35).

Hipoksi, PERK yolağındaki aracı moleküllerden olan ATF4 gibi bazı UPR komponentlerinin stabilitesini artırır çünkü ATF4 de, HIF-1 'e benzer olarak prolin hidroksilasyonu tarafından degrade edilir (36, 37). HIF-1 'in HIF-1 $\alpha$  aracılı upregülasyonunun downstream hedeflerinden bir diğeri hücre sağkalımını artırmaktır (38). Ancak ökaryotik translasyon başlama faktör 2 $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ ) fosforilasyonu tedaviye dirençli kanser hücre sağkalımını artırmada HIF-1 sinyalinin daha önemlidir (39).

ATF4 ayrıca solid tümörlerin (servikal gibi) hipoksik bölgelerine lokalize olur ve artmış ATF4 ekspresyonu ciddi hipoksik olduğu bilinen metastatik meme tümörlerinde nekrotik bir alanda görülmüştür. Bu da tümör ilerlemesi ve hipoksi

toleransı için bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (40). PERK, ATF4 yoluyla hücre koruyucu otofajiyi, aktive ederek hipoksiye toleransı artırdığı görülmüştür (41).

Kanser sürecinde IRE1 $\alpha$  Yolağı

IRE1 $\alpha$  –XBP1 hipoksik koşullar altında tümör hücre sağ kalımı ve büyümesi için oldukça önemli bir diğer yolaktır. İnsan tümörlerinde, XBP1 ekspresyonunun meme (43), hepatoselüler karsinom (44), pankreas (45) ve multiple myelom (46) kanserlerinde arttığı rapor edilmiştir.

Plazma hücre farklılaşması (47) ve özelleşmiş salgı hücreleriyle ilişkili hücresel değişikliklerin regülasyonu için XBP1 temeldir (48, 49). UPR ve plazma hücre farklılaşması arasındaki bağlantıdan dolayı, multiple myelomda (MM) proteozom inhibisyonunun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ER stresinde proteozom inhibisyonunun IRE1-XBP1 yolağını bloke ettiği gösterilmiştir (50). Proteozom inhibitörlerinin ER stresini artırarak ve sonraki UPR kollarının inhibisyonu yoluyla yanıtı bloke ederek, ER stres uyarımlı apoptozu artırdığı ve yine ciddi hipoksi altında hücrelerin XBP-1 aracılı sağkalımına yolaçtığı ve tümör büyümesi için temel olduğu gösterilmiştir (45).

VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) gibi proanjyogenik faktörler tarafından IRE1 $\alpha$ -XBP1 'in transkripsiyonel uyarımının tümörögenezi artırdığı öngörülmüştür. IRE1 $\alpha$  -XBP1 'in bloke edilmesini önleyerek anti kanser terapi için yeni bir yaklaşım olabileceği düşünülebilir. Çoklu insan tümörlerine spesifik ekspresyonu ve tümör büyümesindeki rolünden dolayı, XBP1 'i hedeflemek güvenilir terapötik bir stratejidir. Günümüzdeki çalışmalar bu yolağın farmakolojik inhibitörlerini geliştirmek için yapılmaktadır (51).

Antikanser Tedavide ER Stres ve Buna Bağlı Farmakolojik Manipülasyonlar

Pek çok insan tümör tipinde UPR 'nin aktive olduğunun görülmesi, kanser tedavisi için UPR 'yi

hedeflemenin gelecek vaad eden bir yaklaşım olduğunu düşündürmektedir (52, 53). Burada iki farklı yaklaşım olası bir başarıyı sağlayabilir. (i) UPR 'nin uygun olmayan tümör koşullarında inhibisyonu (ii) farmakolojik ajanlarla ER stresinin aşırı aktivasyonu. Bu ikinci yaklaşım UPR 'nin hücrel sağkalımını önlemeyi hedefleyerek hücre ölümüne yol açmaktır. Böylece ER stresinin üstesinden gelmeyi başaran tümör hücrelerini yok etmek için küçük inhibitör moleküller geliştirmektedir (Tablo 1).

### Sonuç ve Gelecek İçin Öngörüler

Tümör mikroçevresinin bir sonucu olarak, tümör hücrelerinin olumsuz koşullara dayanması UPR-sinyaline bağlıdır. Bu yüzden UPR 'yi hedeflemek kanser hücrelerini elimine etmek için avantajlı olabilir. Aktive olan UPR tümör hücrelerinin sağkalımı için uğraşır. UPR'nin farmakolojik inhibisyon yoluyla bu sağkalım avantajını yok ederek hücre ölümünün artmasına neden olabilir. Aksine, UPR'yi hiperaktif etmek için kullanılan farmolojik ajanların, hali hazırda tümörün mikroortamı tarafından muhtemel eşiği aşması hücre ölümüne yol açması beklenmektedir (54, 55).

UPR ayrıca anti-kanser tedavi etkinliğini azaltarak, tedavi direnci oluşturan bir mekanizma olarak da ortaya çıkabilir. Hem proteazom hem de otofaji, ER strese yanıtta önemli olduğu için, belki de paralel olarak bu yolları hedeflemek yararlı olabilir.

Ele alınması gereken bir diğer hususta GRP78 'i hedefleyerek UPR 'nin tüm kollarına engel olunup olunamayacağıdır. Uzun süreli IRE1-sinyalizasyonu ölümcül değildir oysaki PERK-sinyalizasyonu ölümcüldür (56). Ayrıca, hipoksi hem PERK hem de IRE1-sinyalizasyon uyarmasına rağmen, farmakolojik PERK önlenmesi, IRE1 inhibisyonunun duyarlılığını artırmazken kimyasal ER stresi ve hipoksiye

duyarlılığı artırır (57).

Son zamanlarda, baş ve boyun kanserinde, PERK hipoksi tarafından her zaman uyarılmadığı gösterilmiştir. Bu yanıt aynı tür tümörleri arasında beklenen değişkenliğin dışında UPR değişikliğinin evrensel olarak tüm kanserler için geçerli olmayabileceğinin farkında olması gerektiğini gösterir (53).

Hem çeşitli gruplardan gelen deneysel veriler hem de son yıllardaki hasta tümörlerinden biriken veriler tümöröenez boyunca UPR 'nin aktivasyonunda önemli bir role sahip olduğu ve hem hücre içi hem de hücre dışı streslere adaptasyon için transforme hücrelerdeki UPR yollarına güveni desteklemektedir.

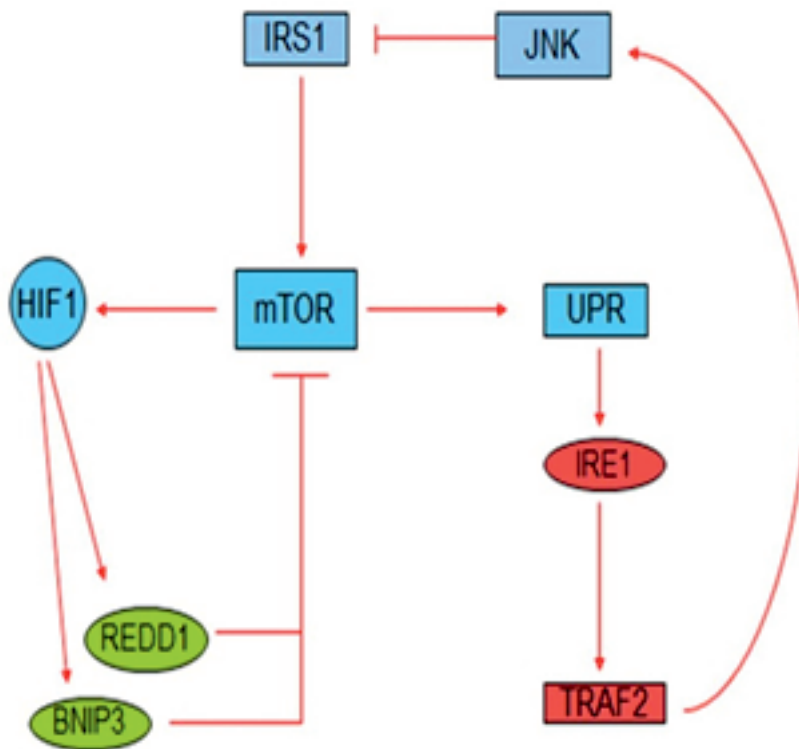
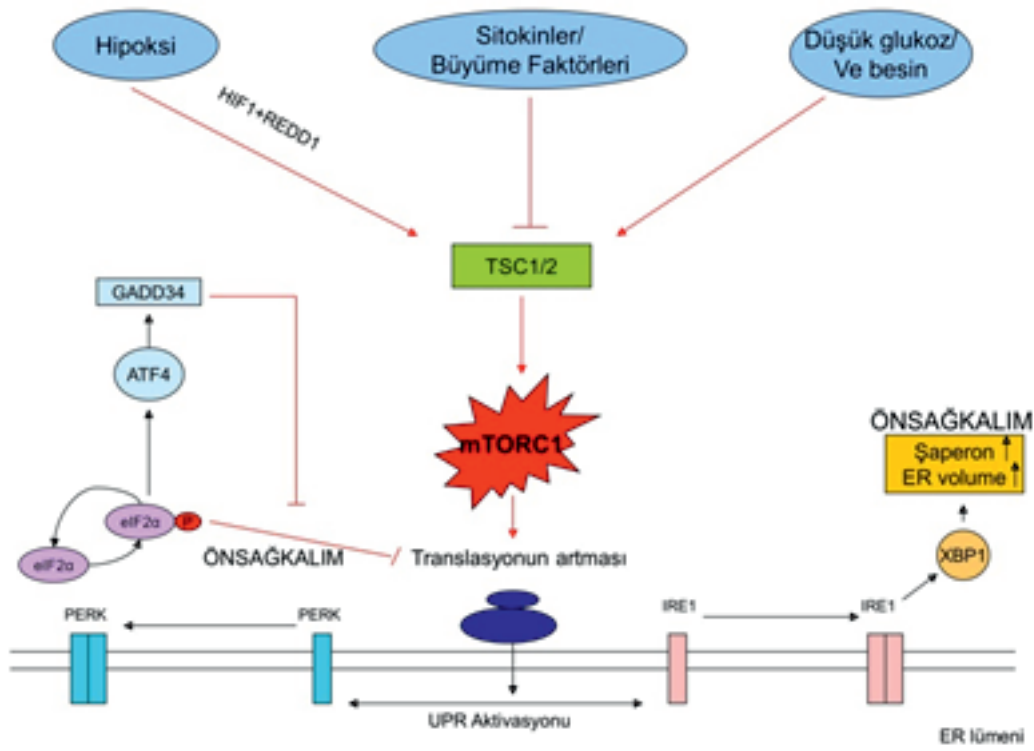
Gelecekte insan tümör verilerinin dikkatli analizi ve gen ekspresyon çalışmaları hangi tümörlerin UPR yollarına bağımlı olduğunu ortaya koyabilir. Çünkü hücre döngüsü ilerlemesi, translasyon ve apoptozis gibi farklı süreçleri etkileyebilmesinden dolayı tümör oluşumunun farklı evrelerinde UPR 'yi baskılayan veya aktive eden süreçleri anlamak oldukça önemlidir.

Kanser başlaması ve ilerlemesine katkı sağlayan, UPR yolağını hedefleyen transgenik fare modellerinin geliştirilmesi de gerekmektedir. Dahası, myeloid ve dendritik hücreler gibi tümör mikroçevresinde bulunan ev sahibi hücreler üzerinde UPR'nin etkisi ek araştırmaya gereksinim duyulan diğer yönlerdir.

Sonuç olarak, şimdiye kadar bahsedilen çalışmalar UPR'nin tümöröenezis, sağkalım ve kanser hücrelerinin çoğalmasında önemli bir rol oynadığı ve çoklu malignansilere karşı yeni ilaç hedeflerinin tanımlanmasında oldukça zengin araştırma konusu olan bir alan yapmaktadır.

|                                | Terapötik ilaç               | ER Stresi/UPR ile ilişkili terapötik etki                                                                                                                                                                   | Referans |
|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>Proteozom inhibitörleri</b> | Bortezomib                   | -26S proteozomu inhibe ederek ER stresini uyarır<br>-İmmunogenik hücre ölümünü tetikler                                                                                                                     | 58, 59   |
|                                | Carfilzomib                  | -NF- $\kappa$ B'nin atipik aktivasyonunu artırır                                                                                                                                                            | 60       |
|                                | Nelfinavir                   | -HSP90 fonksiyonunu önler<br>-Kaspaz 3, 7, 8'i aktive eder<br>-AKT sinyalini önler                                                                                                                          | 61       |
|                                | Marizomib                    | -Kaspaz 8 ve ROS-aracılı apoptozisi uyarır                                                                                                                                                                  | 62       |
| <b>BiP/GRP78 inhibitörleri</b> | Versipelostatin/<br>Subtilaz | -Total veya yüzey BiP/GRP78 ekspresyonlarını önler                                                                                                                                                          | 63, 64   |
|                                | Artigenin                    | -Glukoz yokluğunda spesifik olarak BiP ve GRP94'ün transkripsiyonel uyarımını bloke eder                                                                                                                    | 58,59    |
| <b>HSP90 inhibitörleri</b>     | IPI-504/SNX-2112/MG-132      | -HSP90 inhibitörleri tüm UPR yolaklarını, ER stresini aynı zamanda da kanser hücre ölümünü aktive edebilir                                                                                                  | 65       |
| <b>PERK inhibitörleri</b>      | GSK26556157                  | -eIF2 $\alpha$ fosforilasyonu ve PERK aktivasyonunu önler                                                                                                                                                   | 66, 67   |
| <b>IRE1 inhibitörleri</b>      | Honokiol                     | -GRP78'in katlanmamış ATPaz domainine bağlanır sonrasında ER stresini uyarır                                                                                                                                | 66       |
|                                | Irestatin                    | -IRE1 $\alpha$ aktivitesini önler                                                                                                                                                                           | 67       |
|                                | STF-083010                   | -IRE1'in kinaz aktivitesini etkilemeksizin IRE1'in endonukleaz aktivitesini önler                                                                                                                           | 68, 69   |
| <b>Diğerleri</b>               | Brefeldin-A                  | -ER'den golgi kompleksine protein transportunu önler                                                                                                                                                        | 70       |
|                                | Curcumin                     | -Hücre döngüsünü durdurma ve apoptozisi uyarma yeteneğinde doğal bir bileşendir. ER stres yolağı vasıtasıyla apoptozisi uyarır                                                                              | 65, 71   |
|                                | Ritonavir                    | -UPR komponentlerini aktive edebilen ve ERAD mekanizmasına müdahale eden bir HIV proteaz inhibitörüdür                                                                                                      | 71       |
|                                | Metformin                    | -Glukoz yokluğu süresince XBP1 ve ATF4 ekspresyonunu inhibe eden bir anti-diabetik biguanittir                                                                                                              | 72       |
|                                | Panobinostat                 | -BiP, IRE1 $\alpha$ fosforilasyonu, eIF2 $\alpha$ fosforilasyonu, ATF4 ve CHOP seviyelerini,<br>-Aynı zamanda da proapoptotik Bim, Bax, Bak, kaspaz 7 seviyelerini artıran bir pan-deasetilaz inhibitörüdür | 73, 74   |

**Tablo 1.** Kanser tedavisinde UPR komponentlerini hedefleme stratejileri



## Kaynaklar

- Ackerman D, Simon MC. Hypoxia, lipids, and cancer: surviving the harsh tumor microenvironment. *Trends Cell Biol.* 2014; 24(8):472-8.
- Sutherland RM, Ausserer WA, Murphy BJ, Laderoute KR. Tumor hypoxia and heterogeneity: challenges and opportunities for the future. *Semin Radiat Oncol.* 1996; 6:59-70.
- Höckel M, Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst.* 2001; 93(4):266-76.
- Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem.* 2005; 74: 739-89.
- Ratcliffe PJ, O'Rourke JF, Maxwell PH, Pugh CW. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factor-1 and the regulation of mammalian gene expression. *J. Exp. Biol.* 1998; 201, 1153-1162.
- Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Rev. Cancer.* 2003; 3, 721-732.
- Hill RP, De Jaeger K, Jang A, Cairns R. pH, hypoxia and metastasis. *Novartis Found. Symp.* 2001; 240, 154-165.
- Cairns RA, Hill RP. Acute hypoxia enhances spontaneous lymph node metastasis in an orthotopic murine model of human cervical carcinoma. *Cancer Res.* 2004; 64, 2054-2061.
- Koumenis C. ER Stress, Hypoxia Tolerance and Tumor Progression. *Current Molecular Medicine.* 2006; 6:55-69.
- Wouters BG, Koritzinsky M. Hypoxia signalling through mTOR and the unfolded protein response in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2008; 8(11):851-64.
- Kelly CJ, Hussien K, Fokas E, Kannan P, Shipley RJ, Ashton TM, Stratford M, Pearson N, Muschel RJ. Regulation of O<sub>2</sub> consumption by the PI3K and mTOR pathways contributes to tumor hypoxia. *Radiother Oncol.* 2014; 111(1):72-80.
- Edinger AL, Linardic CM, Chiang GG, Thompson CB, Abraham RT. Differential effects of rapamycin on mammalian target of rapamycin signaling functions in mammalian cells. *Cancer Res.* 2003; 63, 8451-8460.
- Brugarolas J, Lei K, Hurley RL, Manning BD, Reiling JH, Hafen E, Witters LA, et al. Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex. *Genes Dev.* 2004; 18, 2893-2904.
- Inoki K, Zhu T, Guan K.L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell.* 2003; 115, 577-590.
- Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science.* 2011; 334, 1081-1086.
- Li XC, Raghavan M. Structure and function of major histocompatibility complex class I antigens. *Curr Opin Organ Transplant.* 2010; 15(4):499-504.
- Gutiérrez T, Simmen T. Endoplasmic reticulum chaperones and oxidoreductases: critical regulators of tumor cell survival and immune recognition. *Front Oncol.* 2014; Oct 27;4:291.
- Rauschert N, Brändlein S, Holzinger E, Hensel F, Müller-Hermelink HK, Vollmers HP. A new tumor-specific variant of GRP78 as target for antibody-based therapy. *Lab Invest.* 2008; 88(4):375-86.
- Uckun FM, Qazi S, Ozer Z, Garner AL, Pitt J, Ma H, et al. Inducing apoptosis in chemotherapy-resistant B-lineage acute lymphoblastic leukaemia cells by targeting HSPA 5, a master regulator of the anti-apoptotic unfolded protein response signalling network. *Br J Haematol.* 2011; 153(6):741-52.
- Luo B, Lee AS. The critical roles of endoplasmic reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer therapies. *Oncogene.* 2013; 32:805-18.
- Li Z. Glucose regulated protein 78: a critical link between tumor microenvironment and cancer hallmarks. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1826(1):13-22.
- Wang M, Kaufman RJ. The impact of the endoplasmic reticulum protein-folding environment on cancer development. *Nat Rev Cancer.* 2014; 14(9):581-97.
- Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol.* 2011; 54:795-809.
- Schönthal AH. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress signaling in cancer. *Biochem Pharmacol.* 2013; 85(5):653-66.
- Ma Y, Brewer JW, Diehl JA, Hendershot LM. Two distinct stress signaling pathways converge upon the CHOP promoter during the mammalian unfolded protein response. *J Mol Biol.* 2002; 318:1351-65.
- Suzuki T, Lu J, Zahed M, Kita K, Suzuki N. Reduction of GRP78 expression with siRNA activates unfolded protein response leading to apoptosis in HeLa cells. *Arch Biochem Biophys.* 2007; 468:1-14.
- McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, Aw TY, Holbrook NJ. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state. *Mol Cell Biol.* 2001; 21:1249-59.
- Rutkowski DT, Arnold SM, Miller CN, Wu J, Li J, Gunnison KM, et al. Adaptation to ER stress is mediated by differential stabilities of pro-survival and proapoptotic mRNAs and proteins. *PLoS Biol.* 2006; 4:e374.
- Kaufman RJ, Scheuner D, Schroder M, Shen X, Lee K, Liu CY, Arnold SM. The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2002; 3: 411-421.
- Bi M, Naczki C, Koritzinsky M, Fels D, Blais J, Hu N, Harding H, et al. ER stress-regulated translation increases tolerance to extreme hypoxia and promotes tumor growth. *EMBO J.* 2005; 24, 3470-3481.
- Bobrovnikova-Marjon E, Grigoriadou C, Pytel D, Zhang F, Ye J, Koumenis C, Cavener D, and Diehl JA. PERK promotes cancer cell proliferation and tumor growth by limiting oxidative DNA damage. *Oncogene.* 2010; 29, 3881-3895.
- Huber AL, Lebeau J, Guillaumot P, Pétrilli V, Malek M, Chilloux J, et al. p58(IPK)-mediated attenuation of the proapoptotic PERK-CHOP pathway allows malignant progression upon low glucose. *Mol. Cell.* 2013; 49, 1049-1059.
- Brewer JW, Diehl JA. PERK mediates cell-cycle exit during the mammalian unfolded protein response. *Proc Natl Acad Sci.* 2000; 97:12625-30.
- Hamanaka RB, Bennett BS, Cullinan SB, Diehl JA. PERK and GCN2 contribute to eIF2 alpha phosphorylation and cell cycle arrest after activation of the unfolded protein response pathway. *Mol Biol Cell.* 2005; 16:5493-501.
- Avivar-Valderas A, Salas E, Bobrovnikova-Marjon E, Diehl JA, Nagi C, Deb-nath J, et al. PERK integrates autophagy and oxidative stress responses to promote survival during extracellular matrix detachment. *Mol Cell Biol.* 2011; 31:3616-29.
- Köditz J, Nesper J, Wottawa M, Stiehl DP, Camenisch G, Franke C, Myllyharju J, Wenger RH, Katschinski DM. Oxygen-dependent ATF-4 stability is mediated by the PHD3 oxygen sensor. *Blood.* 2007; 110, 3610-3617.
- Scortegagna M1, Kim H1, Li JL2, Yao H3, Brill LM2, Han J4, et al. Fine tuning of the UPR by the ubiquitin ligases Siah1/2. *PLoS Genet.* 2014; 10, e1004348.
- Pereira ER, Frudd K, Awad W, Hendershot LM. Endoplasmic reticulum (ER) stress and hypoxia response pathways interact to potentiate hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) transcriptional activity on targets like vascular endothelial growth factor (VEGF). *J. Biol. Chem.* 2014; 289, 3352-3364.
- Rouschop KM, van den Beucken T, Dubois L, Niessen H, Bussink J, Savelkoul K, et al. The unfolded protein response protects human tumor cells during hypoxia through regulation of the autophagy genes MAP1LC3B and ATG5. *J. Clin. Invest.* 2010; 120, 127-141.
- Blais JD, Filipenko V, Bi MX, Harding HP, Ron D, Koumenis C, et al. Activating transcription factor 4 is translationally regulated by hypoxic stress. *Mol Cell Biol.* 2004; 24:7469-82.
- Rouschop KM, Dubois LJ, Keulers TG, van den Beucken T, Lambin P, Bussink J, van der Kogel, et al. PERK/eIF2a signaling protects therapy resistant hypoxic cells through induction of glutathione synthesis and protection against ROS. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110, 4622-4627.
- Dewhirst MW, Cao Y, Moeller B. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat Rev Cancer.* 2008; 8:425-37.
- Fujimoto T, Onda M, Nagai H, Nagahata T, Ogawa K, Emi M. Upregulation and overexpression of human X-box binding protein 1 (hXBP-1) gene in primary breast cancers. *Breast Cancer.* 2003; 10:301-6.
- Shuda M, Kondoh N, Imazeki N, Tanaka K, Okada T, Mori K, et al. Activation of the ATF6, XBP1 and grp78 genes in human hepatocellular carcinoma: A possible involvement of the ER stress pathway in hepatocarcinogenesis. *Journal of Hepatology.* 2003; 38:605-14.
- Koong AC, Chauhan V, Romero-Ramirez L. Targeting XBP-1 as a novel anti-cancer strategy. *Cancer Biol Ther.* 2006; 5(7):756-9.
- Xu G, Liu K, Anderson J, Patrene K, Lentzsch S, Roodman GD, et al. Expression of XBP1s in bone marrow stromal cells is critical for myeloma cell growth and osteoclast formation. *Blood.* 2012; 119:4205-14.
- Iwakoshi NN, Lee AH, Glimcher LH. The X-box binding protein-1 transcription factor is required for plasma cell differentiation and the unfolded protein response. *Immunol Rev.* 2003; 194:29-38.
- Brewer JW, Hendershot LM. Building an antibody factory: A job for the unfolded protein response. *Nat Immunol.* 2005; 6:23-9.
- Shaffer AL, Shapiro-Shelef M, Iwakoshi NN, Lee AH, Qian SB, Zhao H, et al. XBP1, downstream of Blimp-1, expands the secretory apparatus and other organelles, and increases protein synthesis in plasma cell differentiation. *Immunity.* 2004; 21:81-93.
- Lee AH, Iwakoshi NN, Anderson KC, Glimcher LH. Proteasome inhibitors disrupt the unfolded protein response in myeloma cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100:9946-51.
- Clarke HJ, Chambers JE, Liniker E, Marciniak SJ. Endoplasmic reticulum stress in malignancy. *Cancer Cell.* 2014; 25(5):563-73.
- Todd JF, Lee AH, Glimcher LH. The endoplasmic reticulum stress response in immunity and autoimmunity. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8:663-74.
- Nagelkerke A, Bussink J, Sweep F, Paul N. Span The unfolded protein response as a target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1846(2):277-84.
- Axten JM, Medina JR, Feng Y, Shu A, Romeril SP, Grant SW, Li WH, et al. Discovery of 7-methyl-5-(1-[[3-(trifluoromethyl)phenyl]acetyl]-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amine (GSK2606414), a potent and selective first-in-class inhibitor of protein kinase R (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase (PERK). *J. Med. Chem.* 2012; 55:7193-7207.
- Nagelkerke A, Sweep F.C, Stegeman H, Grenman R, Kaanders J.H, Bussink J, Span P.N. Hypoxic regulation of the PERK/ATF4/LAMP3-arm of the unfolded protein response in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2015; 37(6):896-905.
- Lin JH, Li H, Zhang Y, Ron D, Walter P. Divergent effects of PERK and IRE1 signaling on cell viability. *PLoS One.* 2009; 4, e4170.

57. Cojocari D, Vellanki RN, Sit B, Uehling D, Koritzinsky M, Wouters BG. New small molecule inhibitors of UPR activation demonstrate that PERK, but not IRE1alpha signaling is essential for promoting adaptation and survival to hypoxia. *Radiother. Oncol.* 2013; 108: 541–547.
58. Garg AD, Nowis D, Golab J, Vandenabeele P, Krysko DV, Agostinis P. Immunogenic cell death, DAMPs and anticancer therapeutics: an emerging amalgamation. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1805:53–71.
59. Mujtaba T, Dou QP. Advances in the understanding of mechanisms and therapeutic use of bortezomib. *Discov Med.* 2011;12: 471–80.
60. Spisek R, Charalambous A, Mazumder A, Vesole DH, Jagannath S, Dhodapkar MV. Bortezomib enhances dendritic cell (DC)- mediated induction of immunity to human myeloma via exposure of cell surface heat shock protein 90 on dying tumor cells: therapeutic implications. *Blood.* 2007;109:4839–45.
61. Gupta SV, Hertlein E, Lu Y, Sass EJ, Lapalombella R, Chen TL, Davis ME, et al. The proteasome inhibitor carfilzomib functions independently of p53 to induce cytotoxicity and an atypical NF- $\kappa$ B response in chronic lymphocytic leukemia cells. *Clin Cancer Res.* 2013;19(9):2406–19.
62. Koltai T. Nelfinavir and other protease inhibitors in cancer: mechanisms involved in anticancer activity. Version 2. *F1000Res.* 2015 Jan 12 [revised 2015 Mar 5];4:9.
63. Miller CP, Manton CA, Hale R, Debose L, Macherla VR, Potts BC, Palladino MA, Chandra J. Specific and prolonged proteasome inhibition dictates apoptosis induction by marizomib and its analogs. *Chem Biol Interact.* 2011;194(1):58–68.
64. Matsuo J, Tsukumo Y, Sakurai J, Tsukahara S, Park HR, Shin-Ya K, Watanabe T, et al. Preventing the unfolded protein response via aberrant activation of 4E-binding protein 1 by versipelostatatin. *Cancer Sci.* 2008; 100, 327–333.
65. Hu CC, Dougan SK, Winter SV, Paton AW, Paton JC, Ploegh HL. Subtilase cytotoxin cleaves newly synthesized BiP and blocks antibody secretion in B lymphocytes. *J. Exp. Med.* 2009; 206,2429–2440.
66. Atkins C, Liu Q, Minthorn E, Zhang SY, Figueroa DJ, Moss K, Stanley TB, et al. Characterization of a novel PERK kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic activity. *Cancer Res.* 2013; 73, 1993–2002.
67. Martin S, Lamb HK, Brady C, Lefkove B, Bonner MY, Thompson P, et al. Inducing apoptosis of cancer cells using small-molecule plant compounds that bind to GRP78. *Br J Cancer.* 2013;109:433–43.
68. Li X, Zhang K, Li Z. Unfolded protein response in cancer: the physician's perspective. *J Hematol Oncol.* 2011;23; 4:8.
69. Mimura N, Fulcini M, Gorgun G, Tai YT, Cirstea D, Santo L, et al. Blockade of XBP1 splicing by inhibition of IRE1 alpha is a promising therapeutic option in multiple myeloma. *Blood.* 2012; 119, 5772–5781.
70. Papandreou I, Denko NC, Olson M, Van Melckebeke H, Lust S, Tam A, Solow-Cordero DE, et al. Identification of an IRE1alpha endonuclease specific inhibitor with cytotoxic activity against human multiple myeloma. *Blood.* 2011; 117, 1311–1314.
71. Healy SJ, Gorman AM, Mousavi-Shafaei P, Gupta S, Samali A. Targeting the endoplasmic reticulum-stress response as an anticancer strategy. *Eur. J. Pharmacol.* 625 (2009) 234–246.
72. Saito S, Furuno A, Sakurai J, Sakamoto A, Park HR, Shin-Ya K, Tsuruo T, Tomida A. Chemical genomics identifies the unfolded protein response as a target for selective cancer cell killing during glucose deprivation. *Cancer Res.* 2009 May 15;69(10):4225–34.
73. Montalbano R, Waldegger P, Quint K, Jabari S, Neureiter D, Illig R, Ocker M, Di Fazio P. Endoplasmic reticulum stress plays a pivotal role in cell death mediated by the pan-deacetylase inhibitor panobinostat in human hepatocellular cancer cells. *Transl Oncol.* 2013 Apr;6(2):143–57. Epub 2013 Apr 1.
74. Rao R, Nalluri S, Kolhe R, Yang Y, Fiskus W, Chen J, Ha K, et al. Treatment with panobinostat induces glucose-regulated protein 78 acetylation and endoplasmic reticulum stress in breast cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2010 Apr;9(4):942–52.