

# Gastrektomi sonrası adjuvan kemoradyoterapi uygulanan mide karsinomlu olgularda NF-κB'nin prognostik önemi

Prognostic significance of NF-κB in resectable gastric cancer treated with concomittant chemoradiotherapy

Oğuz Galip YILDIZ,<sup>1</sup> Serdar SOYUER,<sup>1</sup> Işın SOYUER,<sup>2</sup> Kadir UÇAR,<sup>1</sup>  
 Mete GÜNDOĞ,<sup>1</sup> Bünyamin KAPLAN,<sup>1</sup> Metin ÖZKAN<sup>3</sup>

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, <sup>1</sup>Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Patoloji Anabilim Dalı, <sup>3</sup>Medikal Onkoloji Bilim Dalı

## AMAÇ

Gastrektomiden sonra adjuvan kemoradyoterapi uygulanan mide kanserli olgularda transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa B'nin (NF-κB) progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım yönünden prognostik önemi araştırıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya evre II-IV mide karsinomlu gastrektomi ve adjuvan kemoradyoterapi ile tedavi edilen 49 olgu (35 erkek, 14 kadın; median yaş 55; dağılım 22-73) dahil edildi. Tüm olgulara gastrektomi sonrası adjuvan radyoterapi ile eş zamanlı haftada bir kez 250 mg/m<sup>2</sup> dozunda haftalık i.v. bolus 5-FU verildi. Kemoradyoterapinin tamamlanmasından 2-4 hafta sonra konsolidasyon amaçlı ardışık dört kür Mayo Rejimi i.v. bolus tarzında uygulandı. Olgulara ait parafin bloklardan yeni kesitler alınarak NF-κB immünohistokimyasal boyası uygulandı. NF-κB için tümör dokusunda nükleer boyanmanın %10'dan az olan olgular negatif, %10'dan fazla olan olgular ise pozitif olarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Bu kritere göre yapılan değerlendirmede toplam 49 hastanın 29'unda (%59) NF-κB negatif, 20 hastada (%41) ise NF-κB pozitif boyandı. Gruplar arasında progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım açısından fark olup olmadığı araştırıldı.

## SONUÇ

NF-κB pozitif (%10'dan fazla boyanan) grupta genel sağkalım istatistiksel olarak anlamlı ve daha kısa bulunmuşken, hastaliksız sağkalım yönünden iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark gösterilemedi.

**Anahtar sözcükler:** Kemoradyoterapi; mide kanseri/patoloji; immünohistokimya; NF-kappa B; prognostik faktör; sağkalım oranı.

## OBJECTIVES

The aim of this study is to determine the prognostic value of transcription factor nucleer factor kappa B (NF-κB) in resectable gastric cancer patients treated with concurrent chemoradiotherapy.

## METHODS

Forty-nine (35 males, 14 females; median age 55; range 22-73 years) resectable gastric cancer patients treated with gastrectomy and adjuvant concurrent chemoradiotherapy were enrolled in this study. All patients received weekly 250 mg/m<sup>2</sup> 5-FU chemotherapy and radiotherapy concomittantly after gastrectomy. Then patients received 4 cycles i.v bolus FUFA chemotherapy sequentially as consolidation treatment 2-4 week after chemoradiotherapy. Immunohistochemistry staining was performed on paraffin embedded tissue. NF-κB monoclonal antibodies were used for the staining.

## RESULTS

The progression free survival and overall survival difference were analysed between NF-κB positive and negative groups. For NF-κB a specimen was judged positive if more than 10% of the total cancer cells in a single field of view showed a response.

## CONCLUSION

In patients who NF-κB was stained more than 10%, the overall survival was worse and there was statistically significant difference between groups. But in two groups, no statistically significant difference due to disease free survival.

**Key words:** Chemoradiotherapy; gastric cancer/patoloji; immunohistochemistry; NF-kappa B; prognostic factor; survival rate.

Transkripsiyon faktörlerin bilinen beş proteininden p50 ve p65'in heterodimer bir oluşumu olan transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa B (NF-κB), nükleer faktör inhibitörü kappa B (IκB) proteinleri tarafından G<sub>0</sub> fazındaki hücrelerin sitoplazmasında sentezlenir ve inaktif olarak bulunur. NF-κB sitokinler, radyasyon ve bazı kemoterapötik ajanlarla fosforilasyon, ubikuitinasyon ve IκB'nın proteozom-aracılı degradasyonuna yol açarak aktive olur.<sup>[1,2]</sup>

Transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa B (NF-κB) Rel-family proteinlerinin heterodimerik bir kompleksidir.<sup>[3,4]</sup> NF-κB hücre büyümesi, diferansiyasyonu, apoptozisin regülasyonu, sitokin prodüksiyonu ve neoplastik transformasyondan sorumlu çok sayıda gen ekspresyonunu kontrol etmektedir.<sup>[5,6]</sup>

Çok sayıda araştırmacı tarafından pankreas kanseri,<sup>[7]</sup> meme kanseri,<sup>[8]</sup> kolorektal kanserler,<sup>[9]</sup> hepatosellüler kanser,<sup>[10]</sup> prostat kanseri<sup>[11]</sup> ve mide kanseri<sup>[12,13]</sup> gibi çeşitli kanserlerde NF-κB aktivitesi çalışılmıştır. NF-κB'nin hücre siklusu, invazyon, metastaz, angiogenez ve antiapoptoz ile ilgili gen ekspresyonunu aktive ettiğinden tümör gelişimi ve progresyonunda önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir.<sup>[14]</sup> Ayrıca NF-κB transkripsiyon faktörünün aktivasyonunun antikanser tedavi direnci açısından önemli olduğu bilinmektedir.<sup>[15]</sup> NF-κB transkripsiyon faktör inhibisyonunun fibrosarkoma, lenfoma, melanoma yanı sıra mesane, meme ve skuamöz hücreli kanser hücre serilerini TNF (*tumor necrosis factor*), kemoterapi ve radyoterapinin sitotoksik etkilerine karşı sensitize ettiği gösterilmiştir.<sup>[16-21]</sup>

Mide kanserlerinde NF-κB aktivitesinin tümör büyüklüğü, invazyon derinliği ve lenfatik invazyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir;<sup>[14]</sup> ancak halen NF-κB aktivasyonunun kanserli dokulardaki klinik önemine dair kanıtlar yerine oturmamıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya gastrektomi sonrası adjuvan kemoradyoterapi ile tedavi edilen evre II-IV mide kanserli 49 olgu (35 erkek [%71], 14 kadın [%29]; median yaş 55; dağılım 22-73) dahil edildi. Tüm olgulara gastrektomi sonrası adjuvan radyoterapi

ile eş zamanlı haftada bir kez 250 mg/m<sup>2</sup> dozunda haftada bir (tam kan sayımı, biyokimya tetkikleri ve performansı normal olan olgulara) i.v. bolus 5-FU verildi. Kemoradyoterapinin tamamlanmasından 2-4 hafta sonra da ardışık olarak, 5-FU 425 mg/m<sup>2</sup> ve folinik asit 20 mg/m<sup>2</sup> dozlarında 1.-5. günlerde, 4 hafta ara ile toplam dört kür (Mayo Rejimi) i.v. bolus tarzında uygulanarak konsolidasyon kemoterapisi verildi. Olgulara ait parafin bloklardan yeni kesitler alınarak Patoloji Anabilim Dalında NF-κB immünohistokimyasal boyama uygulandı. NF-κB için tümör dokusunda nükleer boyanmanın olduğu alanlarda beş farklı alan gözden geçirilerek nükleer boyanma açısından %10'dan az olan olgular negatif, %10'dan fazla olan olgular ise pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 1, 2). Gruplar arasında progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım açısından fark olup olmadığı araştırıldı. Sağkalım analizlerinde Kaplan-Meier yöntemi, grupların karşılaştırılmasında log-rank testi kullanıldı; anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

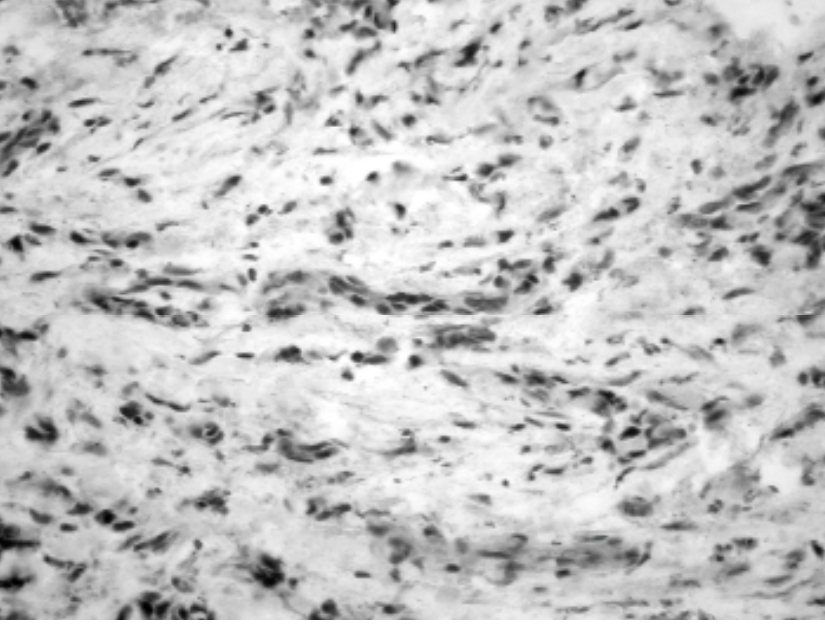
## BULGULAR

Yapılan değerlendirmede toplam 49 hastanın 29'unda (%59) NF-κB negatif, 20 hastada (%41) ise NF-κB pozitif boyandı. Sağkalım analizlerinde NF-κB'nin pozitif ve negatif olduğu gruplar arasında progresyonsuz sağkalım açısından bir fark saptanmadı. NF-κB pozitif grup (n=20) NF-κB negatif (n=29) gruba göre genel sağkalım süresi açısından karşılaştırıldığında ise genel sağkalım süresi anlamlı olarak daha kısa bulundu (p=0.033), (Şekil 3).

## TARTIŞMA

NF-κB aktivasyonunun hücre proliferasyonu, apoptozis, sitokin prodüksiyonu ve onkogeneziste önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Tümör hücrelerinde NF-κB aktivasyonu normal bitişik dokularla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.<sup>[13]</sup>

NF-κB'nin bazı kanser türlerinde (akciğer, mide, prostat gibi) apoptotik hücre ölümünün engellenmesinde önemli rol oynadığına dair çalışmalar vardır.<sup>[3-11]</sup>

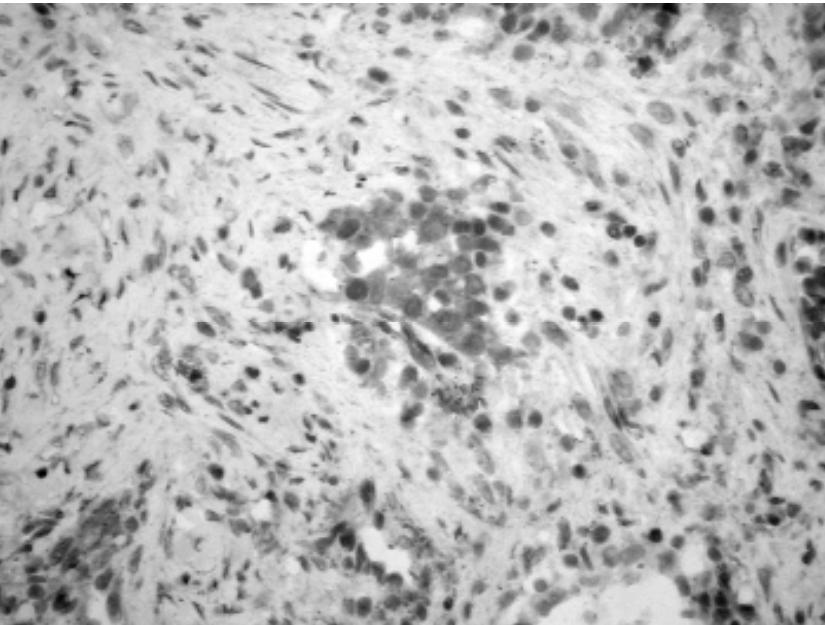


**Şekil 1.** Mide karsinomlu olguda NF- $\kappa$ B negatif tümör dokusu (x200).

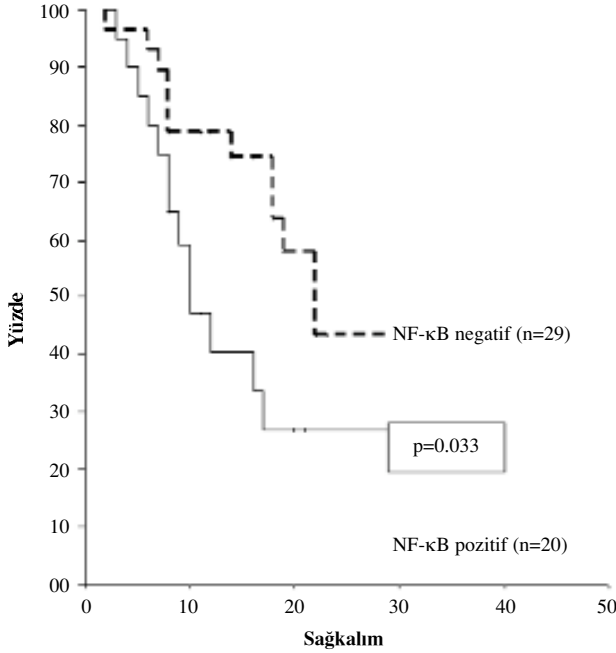
Milligan ve ark.<sup>[15]</sup> yaptıkları çalışmada proteasome inhibitörleriyle NF- $\kappa$ B inhibisyonunun akciğer adenokarsinomu hücrelerinde apoptozisi artırdığını *in vitro* olarak göstermişlerdir.

NF- $\kappa$ B bakteri virüs, interlökinler, büyüme faktörleri, kemoterapötik ajanlar, iyonize radyasyon ve psikolojik, fizyolojik ve oksidatif farklı stres uyaranlarını içine alan 150'den fazla farklı

ekstraselüler uyaran tarafından indüklenmektedir. Paklitaksel, doksorubisin, tamoksifen ve sisplatin gibi kemoterapötik ajanlar kanser hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur.<sup>[22]</sup> Aynı şekilde kanser tedavisinde kullanılan gama radyasyonunun da NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir.<sup>[23]</sup> NF- $\kappa$ B'nin bu uyaranlarla aktivasyonunun apoptoz direncine ve kemorezis-



**Şekil 2.** Mide karsinomlu olguda NF- $\kappa$ B pozitif tümör dokusu (x200).



**Şekil 3.** NF-κB pozitif ve negatif gruplara ait genel sağkalm eğrileri.

tansa neden olduğu iddia edilmektedir. Halbuki kemoterapi ve radyoterapinin normalde apoptozisi indüklediği bilinmektedir. Yani adjuvan tedavi apoptozisi aktive ederken aynı zamanda anti-apoptotik olan NF-κB'yi de aktive etmektedir.<sup>[24,25]</sup>

Kim ve ark.<sup>[26]</sup> meme kanseri progresyonunda NF-κB'nin rolünün tam mekanizmasını açıklayamamakla birlikte, meme kanserogeneziyle ilgili bazı gen ekspresyonunun modülasyonundan NF-κB'yi sorumlu tutmakta ve NF-κB'nin tümör inisiyasyonundaki rolü ile ilgili bir seri delilden bahsetmektedirler. Sıçan modelinde meme glandı malign transformasyonundan önce NF-κB aktivasyonunun gözlemlendiğini ve bu nedenle NF-κB'nin tümör inisiyasyonundan sorumlu olabileceği üzerinde durmaktadırlar.

Wu ve ark.<sup>[27]</sup> kemoterapotik ajanların sitotoksitesine ve iyonizan radyasyona dirençli tümör hücrelerinin meme kanseri tedavisinde kullanılan adjuvan tedavinin etkinliğini sınırlayabileceğinden bahsetmektedirler.

Sasaki ve ark.<sup>[13]</sup> çalışmasında gastrik kanser dokusunda NF-κB aktivasyonunun, tümör invazyonu ile ilişkili klinikopatolojik özelliklerden tü-

mör hücrelerinin lenfatik invazyonu, invazyon derinliği, peritoneal metastaz ve tümör boyutu ile aralarında istatistiksel korelasyon olduğunu göstermişlerdir.

Yamanaka ve ark.<sup>[12]</sup> ise mide kanserli olgularda yüksek NF-κB düzeyi saptanan olgularda düşük olan gruba göre genel sağkalmı istatistiksel olarak daha düşük saptamışlardır. Bizim çalışma grubumuzda, NF-κB düzeyinin progresyonsuz sağkalm üzerine etkisi gösterilememiştir, fakat NF-κB'nin %10'dan fazla pozitif olduğu olgularda genel sağkalm süresi, negatif gruba göre anlamlı olarak kısa saptanmıştır. Bulgularımız, NF-κB'nin mide kanserlerinde prognostik faktör olarak önemli olabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Andela VB, Schwarz EM, Puzas JE, O'Keefe RJ, Rosier RN. Tumor metastasis and the reciprocal regulation of prometastatic and antimetastatic factors by nuclear factor kappaB. *Cancer Res* 2000;60(23):6557-62.
2. Blackwell TS, Christman JW. The role of nuclear factor-kappa B in cytokine gene regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17(1):3-9.
3. Karin M, Lin A. NF-kappaB at the crossroads of life and death. *Nat Immunol* 2002;3(3):221-7.
4. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2002;2(4):301-10.
5. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* 1999;18(49):6853-66.
6. Baldwin AS Jr. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 1996;14:649-83.
7. Wang W, Abbruzzese JL, Evans DB, Chiao PJ. Overexpression of urokinase-type plasminogen activator in pancreatic adenocarcinoma is regulated by constitutively activated RelA. *Oncogene* 1999;18(32):4554-63.
8. Biswas DK, Dai SC, Cruz A, Weiser B, Graner E, Pardee AB. The nuclear factor kappa B (NF-kappa B): a potential therapeutic target for estrogen receptor negative breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(18):10386-91.
9. Lind DS, Hochwald SN, Malaty J, Rekkas S, Hebig P, Mishra G, et al. Nuclear factor-kappa B is upregulated in colorectal cancer. *Surgery* 2001;130(2):363-9.
10. Tai DI, Tsai SL, Chang YH, Huang SN, Chen TC,

- Chang KS, et al. Constitutive activation of nuclear factor kappaB in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000;89(11):2274-81.
11. Chen CD, Sawyers CL. NF-kappa B activates prostate-specific antigen expression and is upregulated in androgen-independent prostate cancer. *Mol Cell Biol* 2002;22(8):2862-70.
  12. Yamanaka N, Sasaki N, Tasaki A, Nakashima H, Kubo M, Morisaki T, et al. Nuclear factor-kappaB p65 is a prognostic indicator in gastric carcinoma. *Anticancer Res* 2004;24(2C):1071-5.
  13. Sasaki N, Morisaki T, Hashizume K, Yao T, Tsuneyoshi M, Noshiro H, et al. Nuclear factor-kappaB p65 (RelA) transcription factor is constitutively activated in human gastric carcinoma tissue. *Clin Cancer Res* 2001;7(12):4136-42.
  14. Arlt A, Vorndamm J, Muerkoster S, Yu H, Schmidt WE, Folsch UR, et al. Autocrine production of interleukin 1beta confers constitutive nuclear factor kappaB activity and chemoresistance in pancreatic carcinoma cell lines. *Cancer Res* 2002;62(3):910-6.
  15. Milligan SA, Nopajaroonsri C. Inhibition of NF-kappa B with proteasome inhibitors enhances apoptosis in human lung adenocarcinoma cells in vitro. *Anticancer Res* 2001;21(1A):39-44.
  16. Wang CY, Mayo MW, Baldwin AS Jr. TNF- and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF-kappaB. *Science* 1996;274(5288):784-7.
  17. Van Antwerp DJ, Martin SJ, Kafri T, Green DR, Verma IM. Suppression of TNF-alpha-induced apoptosis by NF-kappaB. *Science* 1996;274(5288):787-9.
  18. Sovak MA, Bellas RE, Kim DW, Zanieski GJ, Rogers AE, Traish AM, et al. Aberrant nuclear factor-kappaB/Rel expression and the pathogenesis of breast cancer. *J Clin Invest* 1997;100(12):2952-60.
  19. Shattuck-Brandt RL, Richmond A. Enhanced degradation of I-kappaB alpha contributes to endogenous activation of NF-kappaB in Hs294T melanoma cells. *Cancer Res* 1997;57(14):3032-9.
  20. Jeremias I, Kupatt C, Baumann B, Herr I, Wirth T, Debatin KM. Inhibition of nuclear factor kappaB activation attenuates apoptosis resistance in lymphoid cells. *Blood* 1998;91(12):4624-31.
  21. Batra RK, Guttridge DC, Brenner DA, Dubinett SM, Baldwin AS, et al. IkappaBalpha gene transfer is cytotoxic to squamous-cell lung cancer cells and sensitizes them to tumor necrosis factor-alpha-mediated cell death. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21(2):238-45.
  22. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* 1999;18(49):6853-66.
  23. Prasad AV, Mohan N, Chandrasekar B, Meltz ML. Activation of nuclear factor kappa B in human lymphoblastoid cells by low-dose ionizing radiation. *Radiat Res* 1994;138(3):367-72.
  24. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998;281(5381):1312-6.
  25. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis. *Genes Dev* 1999;13(3):239-52.
  26. Kim DW, Sovak MA, Zanieski G, Nonet G, Romieu-Mourez R, Lau AW, et al. Activation of NF-kappaB/Rel occurs early during neoplastic transformation of mammary cells. *Carcinogenesis* 2000;21(5):871-9.
  27. Wu JT, Kral JG. The NF-kappaB/IkappaB signaling system: a molecular target in breast cancer therapy. *J Surg Res* 2005;123(1):158-69.