

Meme Karsinomunda c-erbB-2 Onkogeninin Yeri

Uzm. Dr. Şeyda ERDOĞAN
Yrd. Doç. Dr. Melek ERGİN
Prof. Dr. İlhan TUNCER

Meme karsinomunda çok sayıda klinik, patolojik özellikleri temel alan, hastanın tedavi ve biyolojik davranışını etkileyen prognostik faktörler tanımlanmıştır. 1999 yılında patolojik, klinisyen ve istatistik uzmanlarının katıldığı multidisipliner bir çalışma sonucu, meme kanserindeki prognostik parametreler sınıflandırılmıştır (College of American Pathologists Consensus Statement 1999) (Tablo I)¹. Bu sınıflandırmaya göre kategori I'de prognostik önemi ve hastanın yönetimindeki önemi kesin kanıtlanmış faktörler, kategori II'de prognostik önemi hakkında literatürde çelişkili sonuçlar olan ve kesin kanıtlanmamış faktörler, kategori III'de ise prognostik önemi hakkında yeterli çalışma bulunmayan diğer tüm faktörler yer alır. c-erbB-2, bu sınıflandırmaya göre II. kategoride yer alan, özellikle meme karsinomundaki prognostik önemi ve tedavisindeki yeri hakkında çok sayıda çalışma yapılmış olan bir gendir.

Tablo I. Meme karsinomunda prognostik faktörler (College of American Pathologists Consensus Statement 1999)

I. Kategori	II. Kategori	III. Kategori
TNM Histolojik grade Histolojik tip Mitoz Hormon reseptör tayini	c-erb-B2(Her2/neu) Proliferasyon belirleyicileri Lenfatik ve damar invazyonu p53	DNA piloidi analizi Mikrodamar yoğunluğu EGFR TGF- α bcl-2 Katepsin-D

c-erbB-2 (HER2/neu)

Onkogen olan v-erbB geni, kuşlara ait bir eritroblastosis virüsüdür, ve tavuklarda eritroblastosis ve sarkomların oluşumunu indükler. Tirozin kinaz

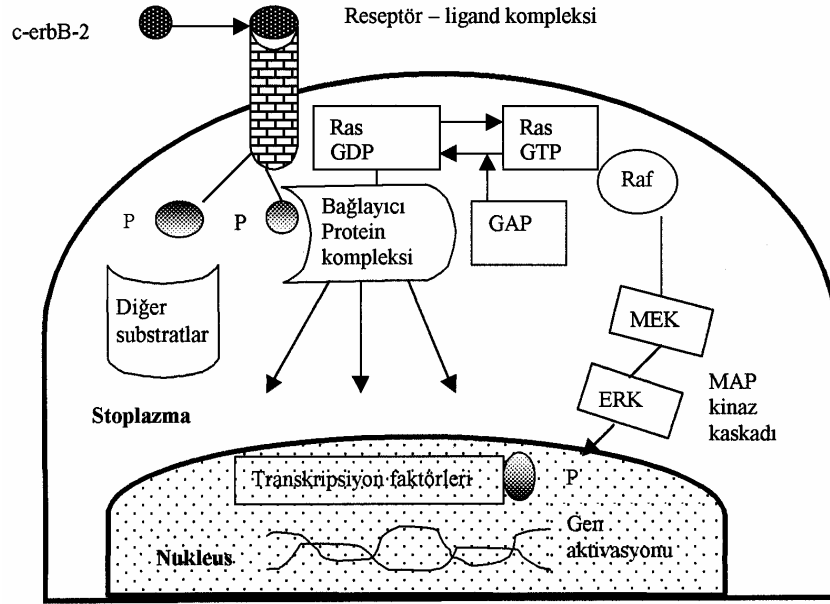
*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, ADANA

aktivitesine sahip, 170 kilodalton ağırlığındaki glikoprotein olan “Epidermal Growth Factor” (EGF) reseptör geninden ortaya çıkmıştır². v-erbB geni ile ilişkili olan c-erbB-2 geni ilk kez etil-nitrosoüre ile indüklenerek oluşturulan, sıçan nöroblastomalarında transforming onkogen olarak tanımlandığı için “neu” diye adlandırılmıştır³. İnsanda ise v-erbB geniyle ilişkili olan 17 nolu kromozomun q21’de yerleşmiş olan c-erbB-2 geni bulunmuştur⁴.

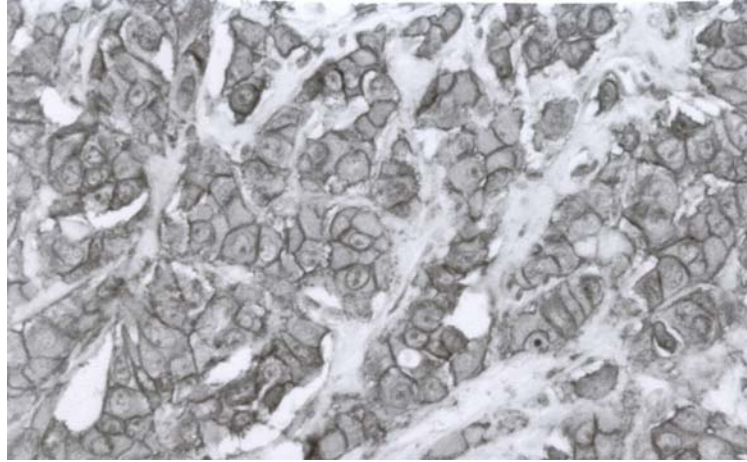
c-erbB-2 (HER-2/neu) geni, büyüme faktör reseptörleri ile yakın ilişkili, dört kişilik bir ailenin elemanıdır. Herbiri yüzey reseptörlerinin aracılığı ile hücre membranındaki tirozin kinaz reseptörünün ligandlarına bağlanır. Bu ligandlara “neu differentiation” veya “heregulin” adı verilir (Tablo II)^{5,6}. c-erbB-2, Klas I büyüme faktör reseptör tirozin kinaz ailesinden 185-kilodalton ağırlığındaki transmembran proteinini kodlar^{5,6,7}. Hücre membranında bulunan transmembran protein tirozin kinaz reseptörü, N- uç ekstrasellüler ligand bağlayıcı alan, tek transmembran α helix ve kinaz aktivitesi olan sitozolik c- uç bölgesinden oluşur. Bu reseptörlerin en büyük özellikleri, ligandın bağlanmasıyla dimer oluşturmalarıdır. Bu yolla reseptörün otofosforilasyonu oluşur. Reseptör fosforilasyonu, hedef proteinlerinin fosforilasyonuna yol açar ve hücre içi sinyal ileti yolları tetiklenmiş olur. Artmış reseptör ekspresyonu genin amplifikasyonuna neden olur (Şekil 1). Genin amplifikasyonu, c-erbB-2 haberci RNA ve P185 proteinin aşırı ekspresyonuna yol açar. Artmış olan bu protein ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle, tümör hücresinde yoğun hücre membranının boyanması şeklinde izlenir^{4,7} (Resim 1).

Tablo II. HER (erb) Gen ailesi

Gen	Ligand
HER-1 (c-erbB-B1)	“Epidermal growth factor” “Transforming growth factor- α ” “ β -Cellulin” “Heparin binding growth factor” “Amphiregulin”
HER-2 (c-erbB-2)	“Heregulin”
HER-3 (c-erbB-3)	“Heregulin neu differentiation factor-1 and 2”
HER-4 (c-erbB-4)	“Heregulin neu differentiation factor-1 and 2”



Şekil 1. c-erbB-2'nin hücre membran reseptörü ve hücre içi sinyallerini kullanarak oluşturduğu etki mekanizması



Resim 1. Meme karsinomunda, +3 şiddetinde c-erbB-2 ekspresyonunun immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi (IHKX400).

c-erbB-2 ekspresyon ve amplifikasyonunun tespiti

İnsan meme karsinomlarının %30'unda, c-erbB-2'nin amplifikasyonu (2 kat veya daha fazla) bulunur¹⁻⁷. Bu amplifikasyon, prognoz ve lenf nodülü metastazlı olgulardaki relaps ile ilişkilidir. c-erbB-2 ekspresyonu; kötü histolojik grade, aksiller lenf nodüllerinin tutulumu ve tutulan lenf nodülü sayısı ile doğru orantılı, östrojen ve progesteron reseptörü ile ters orantılıdır. c-erbB-2 onkogen amplifikasyonu, östrojen ve progesteron reseptör yokluğu ile ilişkilidir. c-erbB-2 ekspresyonu ve "ploidy" arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Amplifikasyon, tümör grade'nin her bir komponentiyle (tümörün paterni, nükleer atipi, mitoz sayısı) yakın ilişkilidir. Primer tümörde c-erbB-2 ekspresyonu görülmese dahi metastazlarında görülebilir. Bunun aksine eğer primer tümör c-erbB-2 proteinini eksprese ediyorsa bu kapasite tümörün tüm metastazlarında da izlenir¹⁻⁸.

Dokuda c-erbB-2 geninin amplifikasyonunu ölçmek için "Southern" ve "Slot blotting", "Northern Blot", Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), "insitu fluorescent hybridization (FISH)", "nonfluorescent" yöntemler, "Western Blot" testi ve "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)" yöntemleri kullanılır. c-erbB-2 protein ekspresyonunu tayin etmek için ise immünohistokimyasal (İHK) yöntem kullanılır. Bu yöntemlerde taze doku, frozen kesitler ve formalinle tespitli parafin bloklardan hazırlanan kesitler kullanılabilir^{5,6,8-10}. Rutin patoloji laboratuvarında en çok kullanılan yöntem İHK yöntemidir. Işık mikroskopunda, tümör dokusunda membranöz boyanma varlığı ve şiddetine göre değerlendirilir. Boyanma yoksa 0, zayıf membranöz boyanma +1, orta derecede şiddette membranda devamlılığı tam olmayan boyanma +2, şiddetli, kesintisiz membranöz boyanma +3 olarak değerlendirilir¹⁻⁵.

c-erbB-2 amplifikasyonunu tespit etmek için günümüzde en çok kullanılan ve en duyarlı yöntemlerden biri , insitu fluorescent hybridization (FISH) tekniğidir. Bu yöntem, parafin bloklara uygulanabilir ancak maliyeti oldukça yüksektir. İHK yöntem ile saptanan boyanma şiddeti ile genin amplifikasyonu arasında doğru ilişki olduğunu gösteren, çeşitli çalışmalar vardır^{5,10,11,12}. Bir

çok araştırmacı, çeşitli yöntemlerin birbirlerine olan üstünlüklerini ortaya çıkarmaya çalışmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmada, İHK olarak 2+ olan olgulara FISH uygulandığında yaklaşık %25-40 oranında c-erbB-2 gen amplifikasyonu tespit edilmiştir¹³. Bu sonuçların ışığında, şu anda geçerli olan görüş; tüm olgulara daha ucuz ve kolay olan İHK yöntemi uygulamak ve sadece 2+ membranöz boyanma gösteren olgularda FISH ile c-erbB-2 gen amplifikasyonunu tespit etmek şeklindedir. İHK ile boyanma olmayanlarda ve +1 membranöz boyanma gösterenler c-erbB-2 ekspresyonu açısından negatif, +3 membranöz boyanma gösterenler ise pozitif olarak kabul edilir. +2 membranöz pozitif boyananlar ise FISH ile amplifikasyon tespit edildikten sonra pozitif olarak kabul edilmektedir¹³.

c-erbB-2 ve prognoz

Slamon ve arkadaşları¹⁴, ilk kez 1987 yılında c-erbB-2'nin aksiller lenf nodülü metastazı olan hastalardaki prognostik önemini tanımlamıştır. Bunu takiben yayınlanmış makalelerde, 15 000'in üzerindeki olgu sayılarıyla yapılan çalışmalarda, aksiller lenf nodülü metastazı olan hastalardaki, c-erbB-2'nin kötü prognoz göstergesi olduğu doğrulanmıştır^{1-5,10-16}. 1997 yılında Press ve arkadaşları¹⁷, sadece lenf nodülü metastazı olanlarda değil, lenf nodülü metastazı olmayan hastalarda ki c-erbB-2 gen amplifikasyonunun da kötü prognozla ve rekürrens riski ile olan ilişkisini göstermiştir. Ancak bu konuda daha geniş hasta gruplarında analiz yapmak gerektiğini vurgulamıştır. Birçok çalışma, c-erbB-2 amplifikasyonu ile metastatik lenf nodülü sayısının da arttığını göstermiştir^{5,10,17-20}. c-erbB-2 ve diğer prognostik faktörler arasındaki ilişki bir çok araştırmacının ilgi konusu olmuştur. Bazı araştırmacılar, östrojen reseptörü ve c-erbB-2 arasında kuvvetli bir ters ilişki bulmuşlardır^{7,18,20-22}. Östrojen reseptörü pozitif olup, c-erbB-2'yi aşırı eksprese eden hastalarda, Tamoxifen tedavisine karşı direnç geliştiği izlenmiştir^{21,23}. Saceda ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, erB/HER reseptörünün aktive olmasıyla, östrojen reseptör aktivitesinin kaybolduğu öne sürülmüştür. Buna neden olarak da c-erbB-2 ligandları olan heregulin'in ve gp-30'un östrojen

reseptör aktivitesini bloke ettiğini göstermişlerdir²¹. Bunun yanında, c-erbB-2 ekspresyonu ile östrojen reseptörünün arasında, istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösteremeyen çalışmalar da, kaynaklarda yer almaktadır. Bu araştırmacılar, c-erbB-2 +/östrojen – hastaların diğer gruplara göre daha kötü prognoza sahip bulunduğunu ancak bunların birbirinden bağımsız iki parametre oldukları görüşünde birleşmişlerdir^{20,24}.

c-erbB-2 ve tedavi

Metastatik meme karsinomunda, c-erbB-2 eksprese eden olgularda son yıllarda tedavi protokollerine yeni bir anlayış gelmiştir. Tedavide c-erbB-2'ye dayanan çeşitli yaklaşımlar vardır; 1) Tek başına veya kombine kullanılan büyüme reseptörü inhibitörleri, 2) Fosforilasyonu engelleyerek sinyal iletimini engelleyen tirozin kinaz inhibitörleri 3) Bazı hastalarda c-erbB-2 immünojenik olduğu için, aktif immünoterapi kullanımıdır²⁵. Son yıllarda geliştirilen rhuMab HER-2, doğrudan c-erbB-2 proteinine karşı oluşturulmuş, monoklonal bir antikordur. 2000 yılında yapılan bir çalışmada, Trastuzumab ile kemoterapinin beraber uygulanmasının, metastatik meme karsinomlarının yaşam süresini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir²⁶.

C-erbB-2 ekspresyonu bulunan olguların özellikle tamoxifen tedavisine karşı dirençli olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Ancak östrojen reseptörü pozitif olan olgularda, tamoxifen'e karşı direnç gelişmediğini gösteren de vardır. Ayrıca CMF (cytoxan, methotrexate, 5-fluorouracil) adjuvan kemoterapi alan olgularda da, c-erbB-2 ekspresyonu var ise tedaviye karşı direnç geliştiği öne sürülmüştür. Doxorubicin (Adriamycin) içeren kemoterapiye karşı bu olguların cevap oranları yüksek bulunmuştur^{5,10}.

Sonuç

Şu ana kadar yapılmış olan çalışmalar, c-erbB-2 ekspresyon ve amplifikasyonunun, meme karsinomlarında kötü klinik gidişin göstergesi olduğu görüşünde birleşmişlerdir. c-erbB-2'yi dokuda tespit etme

yöntemlerinin hangisinin en iyisi olduğu konusunda zıt görüşler var ise de, amplifikasyon tespitinde en duyarlı yöntem FISH olarak kabul edilirken, c-erbB-2 protein ekspresyonunun tayininde IHK'nın en kolay, doğru ve rutin uygulanım kolaylığı görüşü hakimdir. FISH ve IHK'nın beraber kullanımı bugün için en geçerli olan yöntemdir. c-erbB-2 gen veya protein anormallikleri olan olgularda, tamoksifene karşı direnç geliştiği, doksorubisin içeren sitotoksik terapi ajanlarına karşı hassasiyet bildirilmiştir ancak bu konuda daha ileri çalışmalar gerekmektedir. Trastuzumab tedavisinin yerini almasından sonra, c-erbB-2'ye karşı geliştirilmiş problemler ile gen tedavisi ve c-erbB-2 protein aşısı da halen çalışma aşamasındadır^{5,10}.

Kaynaklar

1. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000; 124: 966.
2. Neville AM, Price KN, Gelber RD, Goldhirsch, Axillary node micrometastases and breast cancer. The Lancet, 1991; 337: 110.
3. Evans TR J, Rowlands MG, Law M, Coombes RC. Intratumoral oestrone sulphatase activity as a prognostic marker in human breast carcinoma. Br J Cancer, 1994; 69: 555-561.
4. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, et al. The product of the human c-erbB-2 gene: A 185-Kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. Science, 1986; 232:1644.
5. Jeffrey S. Ross, Fletcher J, Her-2/neu (c-erbB-2) gene and protein in breast cancer. Am J Clin Pathol, 1999; 112(Suppl):53.
6. Wallis Y L, Macdonald F, Oncogens. J Clin Pathol: Mod Pathol, 1999; 52: 55.
7. McCann AH, Dervan PA, O'Regan M, et al. Prognostic significance of c-erbB-2 and Estrogen receptor status in human breast cancer. Cancer Res, 1991; 51: 3296.
8. Tavassoli FA. Pathology of the Breast. 2nd . Ed., Hong Kong: Mc Graw-Hill Company, 1999.
9. Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. 8th .Ed., Missouri: Mosby-year book inc., 1996.
10. Jeffrey S. Ross, Fletcher J. The HER-2/neu Oncogene in breast cancer: Prognostic factor, Predictive Factor and Target for Therapy. The Oncologist, 1998; 3: 237.

11. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, et al. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*, 1998; 11(2): 155.
12. Sharma A, Pratap M, Sawhney VM, et al. Frequent amplification of c-erbB-2 (HER-2/Neu) oncogene in cervical carcinoma as detected by non-fluorescence in situ hybridization technique on paraffin sections. *Oncology*, 1999; 56: 83.
13. Tsuda H, Akiyama F, Terasaki H, et al. Detection of HER-2/neu (c-erbB-2) DNA amplification in primary breast carcinoma. Interobserver reproducibility and correlation with immunohistochemical HER-2 overexpression. *Cancer*, 2001; 92: 2965.
14. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987;235: 177.
15. Masakuni N, Koyasaki N, Ohta N, et al. C-erbB-2 oncoprotein expression versus internal mammary lymph node metastases as additional prognostic factors in patients with axillary lymph node-positive breast cancer. *Cancer*, 1992; 69: 2953.
16. Babiak J, Hugh J, Poppema S. Significance of c-erbB-2 amplification and DNA aneuploidy analysis in 78 patients with node-negative breast cancer. *Cancer*, 1992; 70: 770.
17. Press M F, Bernstein L, Thomas P A, et al.. HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol*, 1997; 15: 2894.
18. Berger MS, Locher G W, Saurer S, et al. Correlation of c-erbB-2 gene amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. *Cancer Res*, 1988; 48: 1238.
19. Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, Andreola S, Baldini MT, Bufalino RD. Prognostic significance of HER-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *Int J Cancer*, 1991; 49: 44.
20. Perren TJ. c-erbB-2 oncogene as a prognostic marker in breast cancer. *Br J Cancer*, 1991; 63: 328.
21. Saceda M, Grunt T W, Colomer R, et al. Regulation of estrogen receptor concentration and activity by an erB/HER ligand in breast carcinoma cell lines. *Endocrinology*, 1996;137:4322.
22. Collett K, Hartveit F, Skjaerven R, Maehle BO. Prognostic role of oestrogen and progesterone receptors in patients with breast cancer: relation to age and lymph node status. *J Clin Pathol*, 1996; 49:920.
23. Pinto AE, Andre S, Pereira T, Nobrega S, Soares J. C-erbB-2 oncoprotein overexpression identifies a subgroup of estrogen receptor positive (ER+) breast cancer patients with poor prognosis. *Ann Oncol*, 2001; 12(4): 525.

24. Sutterlin MW, Haller A, Gassel AM, et al. The correlation of c-erbB-2 oncoprotein and established prognostic factors in human breast cancer. *Anticancer Res*, 2000; 20(6):5083.
25. Menard S, Tagliabue E, Campiglio M, Pupa SM. Role of HER2 gene overexpression in breast carcinoma. *J Cell Physiol*, 2000; 182(2): 150.
26. Fornier M, Esteva M, Seidman AD. Trastuzumab in combination with chemotherapy for the treatment of metastatic breast carcinoma. *Semin Oncol*, 2000; 27(6 suppl 11): 38.

Yazışma Adresi:

Dr. Şeyda ERDOĞAN
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı
Balcalı, ADANA
Tel: 3386060 (3159/3180)
E-mail: seydaer@yahoo.com