

HtrA1 Geni ve İşlevleri

HtrA1 Gene and Functions

Feridun Akkafa

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yazışma adresi: Feridun Akkafa, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yenişehir yerleşkesi, 63000, Şanlıurfa, Tel: (0414) 3183133 Fax: (0414) 3183192 E mail: aferidun@harran.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 30.12.2013

Kabul tarihi / Accepted: 26.02.2014

Öz

HtrA (High temprature requirement A) gen ailesi gelişme ile ilgili olup, yüksek seviyedeki ifadeleri organizmanın canlılığının ve gelişmesinin muhafaza edilmesinde önemli bir role sahiptir. HtrA1 geni; bu gen ailesine ait olup, serin proteaz işlevi olan HtrA1 proteinini kodlar. HtrA serin proteazlar, kemoterapötik hücre toksisitesini sağlaması yönünden, günümüzde kanser tedavisinde potansiyel hedef olarak düşünülmektedir. Çeşitli kanserlerde HtrA1 ekspresyon seviyesinin azaldığı ve yüksek seviyede ekspresyonunun ise in vitro ve in vivo tümör büyümesini engellediği bugüne kadar yapılan birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Ayrıca HtrA1'in çeşitli hastalıklar için yeni bir tedavi hedefi olabileceği de ileri sürülmektedir. Özellikle katı tümörlerin tedavisinde antitümör ajan olarak yaygın bir şekilde kullanılan cisplatin ve paclitaxel ile HtrA1 ekspresyon seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Günümüze kadar HtrA gen ailesinin kanserle ilişkisi hakkında yapılmış olan bütün çalışmalarda, HtrA1 geninin tümör baskılayıcı bir gen olabileceği yönünde fikirler ileri sürülmüştür. Bu çalışmada; HtrA1 geninin biyolojik süreçlerdeki işlevleri, çeşitli hastalıklarla ilişkileri, özellikle kanser gelişimi ve tedavisindeki rolleri ele alındı.

Anahtar Kelimeler: Serin proteaz, kanser, tedavi

Abstract

HtrA gene family (High temperature requirement A) is related to development and its high expression levels have an important role in protection of organism's liveliness and development. The gene of HtrA1 which belongs to the family of HtrA gene codes the HtrA1 protein having serine protease function. HtrA serine proteases have been considered as potential goal in treatment of cancer in that it provides chemotherapeutic cell toxicity. It has been revealed by many studies that HtrA1 expression level decreases in some cancer types and overexpression of HtrA1 inhibits growth of in vitro and in vivo tumor. Also, it has been claimed that HtrA1 could be a new treatment for several diseases. Especially, the expression of HtrA1 increases with the use of cisplatin and paclitaxel used commonly as antitumor agent in the treatment of solid tumours. The results obtained in other HtrA gen family and cancer related studies till this time, it is asserted through the opinions of researchers that that HtrA1 could be a tumor supressor gene. In this study, functions in biological processes of HtrA1 gene, relationships with various diseases, particularly their role in cancer development and treatment were discussed.

Key Words: Serine protease, cancer, therapy

Giriş

HtrA (High-temperature requirement factor A) gen ailesi üyesi olan HtrA1 geni; serin proteaz işlevi olan bir protein kodlar. Bu gen ailesinin dört üyesi vardır. Bunlar; HtrA1 (PRSS11 veya L56) (1), HtrA2 (OMİ) (2), HtrA3 (PRSP) (3) ve HtrA4 (4,5) genleridir. HtrA1 geni, 10 nolu kromozomun uzun kolunda q26.3 bölgesinde yerleşiktir (6,7). Gen ID : 5654 (pozisyon : 124221041...124274424), 53384 baz çifti

uzunluğunda olup, 9 ekzonlu bir gendir. İnsan mRNA ve protein kodu: NM_002775.4 NP_002766.1.dir(6).

İnsan HtrA ailesi proteinlerinden HtrA1, HtrA3 ve HtrA4 proteinleri yapısal olarak birbirleriyle benzerdirler. HtrA1 proteini; 458 amino asit uzunluğunda olup N- uçlarında sinyal dizileri, hemen yanında IGFBP/Mac25/follistatin bölgesi, bunu takiben KI bölgesi, proteaz bölgesi ve C-ucunda bir adet PDZ bölgesi bulundurulur (Şekil 1.) (8).



Şekil 1. İnsan HtrA proteinlerinin yapısı S; sinyal dizisi, IGFBP; İnsulin-like growth factor binding protein bölgesi, KI; Kazal tip proteaz inhibitör bölgesi, Serin proteaz aktivitesini gösteren proteaz bölge katalitik üçlüsü (H,histidin198; D, asparajin 228; S, serin 306), PDZ (Post synaptic density protein 95-Discs large-Zona occludens 1) bölgesi (9).

HtrA protein ailesi, serin proteaz ailesi proteinlerdir (10,11). Serin proteazlar peptid bağlarının kesilmesini katalize eden doğada yaygın olarak bulunan enzimlerdir. Hasarlı proteinleri ve uyarı-ileti peptidlerini parçalar, ileti proteinlerini etkisizleştirerek önemli düzenleyici rol oynarlar (8). Bakterilerden memelilere kadar korunmuşlardır. HtrA ilk kez yüksek sıcaklıkları tolere etmek için gerekli bir sıcaklık şok proteini olarak, *E. coli* de periplazmik alan proteini olarak bulunmuş ve bakterilerin yüksek sıcaklıklara dayanıklılığı ile ilişkilendirilerek Htr ismi verilmiştir (10,11). İnsan HtrA ailesi serin proteazlar; memeli hücrelerinde hücre büyümesi, apoptozis, mitokondrial hemostasis, hücre iletimi, mikrotübül oluşumu ve hücre hareketi (12), düzenlenmiş protein metabolizması ile hücre akıbetinin kontrolü gibi önemli fizyolojik süreçlerde, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve

artritik hastalıklar, age-related macular degenerasyon (AMD) (13), Duchenne muscular dystrophy (DMD) (14), gibi çeşitli patolojik süreçlerin gelişmesi ve ilerlemesi gibi bir çok önemli işlevlerde rol alır (13,15). HtrA serin proteazların, proteolitik etkinliklerinin ayarlanması ve transforming growth factor beta (TGF-β) uyarı-ileti silsilelerinin değiştirilmesi ile Alzheimer's gibi nörodejeneratif hasarlar, arthritis (eklem iltihapları) gibi hastalıkların tedavisinde potansiyel bir hedef olarak kullanılması yanında kanser hücrelerinin parçalanması (nekrosis) veya anoikis ve apoptozisin uyarılması ile kanserin tedavisinde yararlı olacağı ileri sürülmektedir (12). HtrA gen ailesi gelişme ile ilgili olup, yüksek seviyedeki ekspresyonları (ifadeleri) organizmanın canlılığının ve gelişmesinin muhafaza edilmesinde önemli bir role sahiptir (3). Ayrıca kemoterapötik hücre toksisitesini sağlaması yönünden de, HtrA serin proteazlar kanser

tedavisinde potansiyel hedef olarak düşünülmektedir (16).

Biyolojik süreçlerde ve hastalıklarda HtrA1:

HtrA1 ilk olarak Simian virüs 40 (SV40) taşıyan insan fibroblast hücrelerinin kültür ortamında büyümelerinin baskılanmasıyla fark edilmiştir. Hücre dışına salınan bir protein olarak bulunmuş ve bastırılmış bir gen olarak izole edilmiştir (1). Daha sonra osteojenik farklılaşmaya uğrayan, merkezi sinir sisteminde bulunan bir hücre tipi olan perisitlerde yukarı yönlü düzenlenen bir gen olarak tanımlanmıştır (17). Bunu takiben osteoartritik kıkırdakta ifade seviyesinin yukarı doğru düzenlendiği (up-regulated) gösterilmiştir (18).

HtrA1 proteini, insanların çeşitli normal dokularında belirli seviyelerde yaygın olarak bulunur (19). Epidermisin olgun tabakalarında, plasenta, karaciğer ovaryum, kalp, beyin ve böbrek korteks tübüllerinde, endometrium epitelindeki ekspresyonu orta ve yüksek seviyelerde iken, meme bezlerinde ise orta seviyelerdedir (3,19). Yetişkin dokularında ve gelişim süresince HtrA1 gen ekspresyonu yüksek seviyede düzenlenir (19,20). Hamilelikte birinci trimester den üçüncü trimestere doğru yukarı yönlü düzenlenerek, plasantanın şekillenmesi ve işlevinde çok önemli bir rol oynar (21,22,23).

HtrA1, TGF- β sinyalini baskılayarak iskelet sisteminin normal gelişim sürecinde ve arthritisin patogenesinde rol alır (24). HtrA1 aggrekan, dekorin, fibromodulin ve çözünür tip II kollojen gibi kıkırdağın temel bileşenlerini oluşturan çeşitli ekstraselüler matriks (ECM) proteinlerini parçalar (24,25).

HtrA1 proteini; TGF β 1, TGF β 2, aktivin, bone morphogenetic protein 4 (BMP4), ve growth differentiation factor 5-6 (GDF5-6) gibi TGF- β ailesi üyelerinden bir kaçını bağlar. Bu etkileşim sonucu, bu protein faktörlerin reseptörlerine

bağlanmasına aracılık eden ileti yollarını baskılayarak değiştirir (1). HtrA1 proteini, TGF- β engelleyici aktivitesi yolu ile terminal hipertrofik kondrosit farklılaşmasını baskılar ve proteaz aktivitesi yolu ile de kıkırdak matriksinin sindirilmesi sonucu kıkırdak dejenerasyonunu teşvik eder (6,24,27). Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) iletisini engelleyerek, osteoblast gen ekspresyonunu değiştirir ve/veya dekorin, matriks Gla protein (MGP) gibi özgün matriks proteinlerini parçalayarak matriks kalsifikasyonunu düzenler (28).

HtrA1 proteini damarlanmanın (vaskülarizasyon) düzenlenmesinde de rol alır. Mutant HtrA1 ile yapılan bir çalışmada, azalmış proteaz aktivitesiyle beyinde küçük kan damarlarının vasküler büyümesinin kaybolduğu gözlemlenmiştir. Artmış TGF- β 1 iletisi beyin kılcal damar hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar (29). HtrA1 proteini, öncü TGF- β 1'i bağlar ve onu endoplazmik retikulumda keser. Böylece hücre içi (intraselüler) olgun TGF- β 1 miktarını kontrol ederek TGF- β 1 iletisini azaltır (30). HtrA1, TGF- β ailesi üyesi olan GDF6 tarafından, TGF- β ileti yolu ile yeni damar oluşumunu (anjyogenesis) düzenler. HtrA1 knock-out farelerle yapılan bir çalışmada, fare retinasında kan damarlarının azaldığı ve GDF6 ekspresyonunun arttığı görülmüştür. Ayrıca GDF6 gen polimorfizminin, AMD ile anlamlı bir şekilde ilişkisinin olduğu tespit edilmiştir (31). AMD; gelişmiş ülkelerde ileri yaşlarda özellikle 65 yaş ve üzeri kişilerdeki en önemli görme kaybı nedenlerindedir. HtrA1 geninin promoter bölgesindeki genetik varyantlar da, AMD hastalık riskini etkiler ve birçok potansiyel yollar aracılığıyla hastalık gelişimini değiştirebilir (32). HtrA1 rs11200638 (G>A) promoter bölge polimorfizmi, Japonlarda neovasküler AMD geliştirmeye yatkınlıkta kuvvetli bir adaydır ve HtrA1 rs11200638 (G>A) ve rs10490924 (G>T) polimorfizmleri AMD

patogenezinde önemli rol oynar (33). Diyabetes mellitusun bir komplikasyonu olarak retina içindeki küçük kan damarlarının etkilenmesi olarak bilinen Tip 2 diyabetik retinopati hastalarla, HtrA1 rs11200638(G>A) polimorfizmi arasında istatistiksel olarak marjinal bir anlamlılık vardır (34).

Rheumatoid arthritisi ve Alzheimer hastalığında (AD) HtrA1 ekspresyon seviyesi belirgin bir şekilde artar. (20,24,25,35). DMD hastalarının insan iskelet kaslarında da HtrA1 ekspresyonu yüksek seviyelerdedir (14). AD hastalığında HtrA1, amyloid öncü proteinleri çeşitli parçalara ayıramaz, ancak beyin ve spinal kord glial hücresi olan astrosit hücre kültür supernatantlarında β -amyloid (A β)'in birikim sebeplerini engelleyerek, doğrudan β -amyloid yolağı etkiler (35).

HtrA1'in hücre içi ve nükleus içi işlenmiş formlarının human papilloma virüs 16 (HPV16), E6 ve E7 proteinleriyle de ilişkileri vardır. Bu proteinler onkogenik potansiyele sahiptir ve erken viral gen ürünleri olarak, hücre döngüsünün engellenmesinde rol oynarlar. E6; p53'e, E7 ise Rb'ye bağlanarak, bağlandıkları bu proteinlerin azalmasına neden olur (36).

HtrA1 hücrelerde mikrotübül oluşumu süresince, sentromerlerle ve yeni oluşmakta olan mikrotübüllerle etkileşim içerisindedir. HtrA1'in azalmış ekspresyonu hücre hareketini teşvik eder, ancak yüksek ekspresyonu hücre hareketini azaltır. Dolayısıyla mikrotübül kararlılığını değiştirerek hücre hareketinin düzenlenmesinde HtrA1'in rolü vardır ve HtrA1 bir microtubule-associated protein (MAP) olarak işlev görür (37).

HtrA1 ve Kanseri:

Son zamanlarda bulunan bir takım genler ve proteinler hakkında elde edilen bilgiler, özellikle kanserin önlenmesi, tanınması ve tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine katkı sunmaktadır. Bu nedenle kanserlerdeki moleküler anomalilerin

önceden tespit edilmesi, prognozunu tayini ve tedavi seçimi için stratejik bir önem taşır. Sorumlu genlerin özelliklerinin bilinmesi sadece kanserin moleküler yolları hakkında bilgi vermez aynı zamanda kanser tedavisine de katkı sağlar.

HtrA1 geni çeşitli kanser hücre hatlarında ve tümörlerde anormal bir ekspresyon şekli gösterir. Meme, karaciğer, ovaryum, servikal kanser hücre hatlarında ve beyin tümör hücre hatlarında genin ekspresyon seviyesi azalır. Normal sağlıklı dokularla karşılaştırıldıklarında primer tümörlerde HtrA1 mRNA ekspresyonu azalır. HtrA1, ovaryum kanser hücrelerinde hücre ölümüne neden olmakta ve bundan dolayı da, tümör baskılayıcı bir gen adayı olarak düşünülmektedir. Tümör baskılayıcı aktivitesi de büyük ölçüde proteaz aktivitesinden kaynaklanmaktadır (38).

Ovaryum kanser hücre hatlarında ve primer melanomlara göre metastatik melanomlarda HtrA1 gen ifadesinin azaldığı görülür. Metastatik hücre hatlarında ve otolog lenf nodu melanomlarda HtrA1'in kararlı yüksek ekspresyonu matriks yayılımını azaltır ve nu/nu farede in vivo hücre büyümesi yanında çoğalmasında baskılar. HtrA1 ekspresyonu melanoma metastazlarında sürekli olarak aşağı yönlü düzenlenerek, melanoma tümör gelişimine önemli katkı sağlar. Normal ve dönüştürülmüş (transformed) hücrelerde, hücre büyüme bileşim ağının kontrolünde, büyüme düzenleyici bir eleman adayı olarak rol alır. Bunun yanı sıra in vivo ve in vitro da HtrA1'in aşırı ekspresyonu hücre büyümesini ve çoğalmasında engelleyerek, olası bir tümör baskılayıcı fonksiyon gösterir (39,40).

Endometriyum kanserlerinde HtrA1 mRNA ekspresyonu, normal endometrium dokularıyla karşılaştırıldıklarında anlamlı bir azalma gösterir. Aynı şekilde protein seviyesi de kanserin derecelerine göre azalır. Endometrium kanserinde,

kanser derecesi arttıkça HtrA1 mRNA ekspresyonu, G1'de ani bir şekilde düşer. Tümörün derecesinin artması ile ekspresyon seviyesi aynı oranda düşük olarak devam eder. HtrA1 protein ekspresyonu da anlamlı bir şekilde azalır ve bu azalma özellikle G1 ve G3 evresinde aynı seviyededir. Dolayısıyla tümör hücrelerinin büyümesi ve farklılaşmış olması, HtrA1 gen ve protein ekspresyonunun düşüş göstermesi ile ilişkilendirilir. Elde edilen bu bulgularla HtrA1 geni tümör baskılayıcı bir gen olabilir (41,42). Ayrıca HtrA1'deki ekspresyon kaybı endometrial tümörlerin metastatik ve saldırganlık yeteneğine de katkı sağlayabilir. Hec 1A ve Hec 1B hücre hatlarında HtrA1 ekspresyonunun aşağı yönlü düzenlenmesi ile yayılma potansiyelinde üç-dört kat artış olmaktadır. Ark1 ve Ark2 hücrelerinde ise HtrA1'in ekzojen ekspresyonu, bu hücrelerin yayılma ve göç etme yeteneğini üç-dört kat azaltır (43).

Ovaryum kanserlerinde HtrA1 geninin mRNA ekspresyon seviyeleri ile normal dokulardaki ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında, malignansinin artmasıyla ekspresyon seviyelerinin azaldığı görülür. İyi huylu tümörler ile kötü huylu tümörler karşılaştırıldığında, kötü huylu tümörlerde HtrA1 mRNA ekspresyon seviyesi anlamlı bir şekilde azalır. HtrA1 protein seviyesinde ise az miktarda bir azalma olur. Ovaryum tümörlerinin farklı türlerinde, gen ekspresyonunun aşağı yönlü düzenlenmesinden dolayı, HtrA1'in tümör baskılayıcı bir gen olarak etki gösterebileceği ileri sürülmektedir (44).

HtrA1 ekspresyonunun azalması ile, ovaryum kanser hücrelerinin peritoneal ayrılması ve anoikis direnci artırılır. Metastatik tümör hücrelerinde bu mekanizma düzgün çalışmadığından kanserli hücreler diğer dokulara ulaşana kadar canlı kalır ve buralarda yerleşerek kanserin yayılmasını sağlarlar. Bunun yanı sıra, *in vitro* SKOV3

hücrelerinde HtrA1'in artmış ekspresyonunun EGFR/AKT ileti yolağını zayıflattığı görülür. Bu yolağın zayıflaması sonucu anoikis artırılır ve böylece metastazı bastırma kapasitesine katkı sağlanabilir. Dolayısıyla ovaryum kanserlerinin agresif bir karakter kazanması önenebilir (45).

Östrojen ile uyarılmış Suriye hamsterlarının böbrek kanseri geliştirmesi HtrA1 proteiniyle ilişkilendirilir. Östrojenle (17- β -estradiol) muamele edilerek akut oksidatif stres oluşturulan hamster böbrek dokularında HtrA1 mRNA ve protein ekspresyonu ilk beş saat içerisinde artar, altı ay gibi uzun süreli muamelede ise anlamlı bir şekilde azalır. Uzun süreli östrojen muamelesi, hamsterin 2qb3-4 bölgelerinde rastgele olmayan (nonrandom) delesyonlar oluşturarak gen ekspresyonunu azaltır (46).

Asbest solunması ile oluşan endüstriyel bir hastalık olan mezotelium kanserinde (mesothelioma), hastalarının sağ kalımı ile HtrA1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki vardır ve HtrA1 bu hastalık için yeni bir belirleyici faktör (marker) olabilir (47).

Hepatoselüler karsinomlu (HCC) hastalarda HtrA1 ekspresyonu normal dokulardaki seviyesinden daha düşüktür. Ayrıca HCC'nin farklılaşması ile HtrA1 ekspresyonu arasında ters bir ilişki vardır. Özellikle venöz invazyonlu Edmanson grade III-IV tümörlerde grade I-II tümörlere göre, daha fazla HtrA1 kaybı söz konusudur. En önemlisi, HtrA1 ekspresyon seviyesi yüksek olan hastalarda daha yüksek bir sağ kalım oranı olduğu görülür. Dolayısıyla HtrA1, HCC'nin gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir role sahiptir ve bu nedenle kanserin tedavisinde yeni bir hedef olabilir. Bunun yanı sıra HtrA1 aşağı yönlü düzenlenerek, TGF- β sinyal yolağını baskılar ve HCC gelişimi ve ilerlemesine katkı sağlar. Ayrıca HtrA1 ekspresyon kaybı, apoptotik olayların düzeninin bozulmasına yol açabilir ve tümör gelişimini teşvik edebilir (48). Lenf nodu metastazı yapmış primer akciğer kanserli hastalarda HtrA1 protein ekspresyon seviyesi anlamlı bir şekilde azalır

ve HtrA1 akciğer kanserinin ilerlemesinde rol alabilir (49).

Hamilelikteki trofoblastik hastalıkların şiddetinin artması, HtrA1 ekspresyon seviyesinin azalması ile ilişkilidir. Trofoblastik hastalıklar yanında plasentanın normal gelişimi süresince önemli bir rolü olan HtrA1, kısmi ve tam hydatiform mol ve genellikle plasentanın kötü huylu trofoblastik kanserlerinin (choriocarcinoma) gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar (50). Özafagus kanserlerinde HtrA1 ekspresyonu ileri evre tümörlerde iyice azaldığından, kanser gelişimi ve ilerlemesi HtrA1 ekspresyon seviyesine bağlıdır (51). Ürotelyal mesane kanserli hastalarda da kanserin erken evrelerinden itibaren HtrA1 ekspresyonu azalır (52). Lenf nodu pozitif meme kanserli hastaların daha kısa sağ kalım süresi, HtrA1 ekspresyonunun azalması ile ilişkilendirilir (53).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da meme kanserli hastaların tümürlü dokularında HtrA1 geni mRNA ekspresyon ve protein seviyesinin, normal dokularla karşılaştırıldığında azaldığı tespit edildi. Ayrıca tümörün histolojik derecesi (G1,G2,G3) arttıkça, HtrA1 protein seviyesinin azaldığı ve tümörün orta ve geç evrelerindeki protein seviyesinin (III-IV), erken evreye (I-II) göre anlamlı olarak düştüğü tespit edildi. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, HtrA1 geninin olası bir tümör baskılayıcı gen olabileceği görüşünü kuvvetlendirmektedir (54).

HtrA1 ve Kanser Tedavisi

HtrA1'in kanser ilerleyişi ve kemoterapi ile indüklenen hücre toksisitesi (cytotoxicity) ile ilgisi bulunmaktadır (16,40,41). HtrA1 ekspresyonu, katı tümörlerin tedavisinde anti-tümör ajan olarak yaygın bir şekilde kullanılan cisplatin ve paclitaxel ile artar. Yukarı yönlü bu düzenlenme, sınırlandırılmış otoproteolizis ve HtrA1'in aktifleşmesi ile sonuçlanır. Aktif HtrA1,

serin proteaz bağımlı bir şekilde apoptosisi uyarır. Kemoterapiye klinik cevapta koruyucu bir faktör olarak HtrA1'in potansiyel rolü, ovaryum ve mide kanserli hastalarda değerlendirildiğinde, HtrA1'in ekspresyon seviyesi yüksek olan hastalarda, ekspresyon seviyesi düşük olan hastalara nazaran tedaviye daha yüksek bir oranda cevap alınmıştır. Bu nedenle ovaryum ve mide kanserli hastalarda HtrA1 kaybı, in vivo ilaç direncine (kemoresistansa) katkı sağlayabilir (16). HtrA1'in yüksek ekspresyonu, ovaryum kanserli hücrelerde cisplatin ile uyarılmış apoptoze, hücreyi duyarlı hale getirir (55).

HtrA1 ile XIAP (X-linked inhibitör of apoptosis protein) arasındaki bağlantı ve bunların over kanserlerinde kemoterapi direnci ile ilişkilerine bakıldığında, yabancı tip HtrA1'in in vitro rekombinant XIAP'yi parçaladığı görülür. İn vivo HtrA1 ektopik ekspresyonunun, OV167 ve OV202 ovaryum kanser hücrelerinde XIAP seviyesini azalttığı, knockdown HtrA1 SKOV3 ovaryum kanser hücrelerinde ise XIAP seviyesini arttırdığı görülür. Özellikle HtrA1'in OV202 hücrelerinde aşırı ekspresyonuna karşı, XIAP'nin azalmış ekspresyonu, cisplatin uyarıcılı apoptosise hücreleri duyarlı hale getirir. HtrA1'in XIAP üzerinde parçalayıcı etkisi vardır ve bu etkinin cisplatin tedavisi ile arttırıldığı görülür. Dolayısıyla HtrA1 proteini, XIAP'nin parçalanmasını hedefleyerek cisplatin uyarıcılı sitotoksiteye, ovaryum kanser hücrelerini duyarlı hale getirir. Elde edilen bu sonuçlarla HtrA1 ekspresyonu ovaryum kanserinde umut verici bir tedavi stratejisi olabilir (55).

Cisplatin (CDDP) bazlı kombinasyon kemoterapi ile tedavi edilen primer mide kanserli hastalarda, klinik cevap ve HtrA1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Mide kanserlilerde tedaviye cevabın HtrA1 ekspresyon seviyesinin orta ve yüksek seviyede olduğu hastalarda, ekspresyon seviyesinin düşük olduğu hastalardakinden daha iyi olduğu görülür. Bu nedenle mide kanserli hastalarda

kemoterapiden önce HtrA1 ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi önemli olabilir ve bu sonuçlar platinum bazlı kombinasyon tedavilerine yanıtı tahmin etmek için, bir marker olarak kullanılabilir. Ancak HtrA1 ekspresyon seviyesinin kemoterapiye yanıtta bir marker olarak rutin kullanımı için, daha fazla incelenmesi gerekir ve bu oldukça geniş prospektif çalışmalarla garanti edilebilir (56).

Gelişme mekanizması yolaklarının çeşitli hastalıklarda ve kötü huylu kanserlerdeki varlığı bilinmekte ancak doğrudan etkileri hakkında bilgiler sınırlı bulunmaktadır. Bu nedenle HtrA1 geninin özellikle kanser gelişimi ve ilerlemesinde olası katkılarının belirlenmesi açısından, bu genin mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin tespit edilmesi önemlidir.

Kanser tedavisinde klinik cevabın artırılması ve hastaların canlılık süresinin uzatılmasında,

özellikle HtrA1 başta olmak üzere HtrA gen ailesinin diğer üyelerinin de ekspresyon seviyelerinin bilinmesi ve bu değerlerin ileride birçok kanser için birer marker olarak kullanılabilirliğinin söz konusu olabileceği, tedavi ile ilgili yapılmış olan çalışmalara da dayanılarak söylenebilir. Ayrıca çeşitli kanserlerde HtrA1 geni mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin düşük olarak tespit edilmesi, bu genin olası tümör baskılayıcı bir gen olabileceği görüşlerini de güçlendirmektedir. Ancak ekspresyon seviyesinin düşmesine sebep olan moleküler mekanizmaların ve genin promoter bölgesi de dahil olmak üzere tamamının mutasyon yönünden taranması gerekir. Bununla birlikte konunun tam olarak aydınlatılması için HtrA1 geninin kanser gelişimi ve ilerlemesi sürecinde hangi yolaklarla ilişkisinin olduğu konusunun da aydınlatılması için daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Zumbrunn J, Trueb B. Primary structure of a putative serine protease specific for IGF-binding proteins. *FEBS Lett.* 1996;398:187-92.
- Gray CW, Ward RV, Karran E, Turconi S, Rowles A, Vigienghi D et al. Characterization of human HtrA2, a novel serine protease involved in the mammalian cellular stress response. *Eur J Biochem* 2000; 267:5699-710.
- Nie GY, Hampton A, Li Y, Fmdlay JK, Salamonsen LA. Identification and cloning of two isoforms of human high-temperature requirement factor A3 (HtrA3), characterization of its genomic structure and comparison of its tissue distribution with HtrA1 and HtrA2. *Biochem. J* 2003; 371:39-48.
- Wang L, Cheong ML, Lee YS, Lee MT, Chena H. High-Temperature Requirement Protein A4 (HtrA4) Suppresses the Fusogenic Activity of Syncytin-1 and Promotes Trophoblast Invasion. *Molecular and Cellular Biology* 2012; 32(18):3707-17.
- Inagaki A, Nishizawa H, Ota S, Suzuki M, Inuzuka H, Miyamura H et al. Upregulation of HtrA4 in the placentas of patients with severe pre-eclampsia. *Placenta* 2012; 33:919-26.
- <http://ncbi.nlm.nih.gov/gene/HtrA1> Erişim tarihi: 05.07.2012
- <http://www.genecards.org/ccbin/carddisp.pl.gene> Erişim tarihi:05.7.2012.
- Clausen T, Southan C, Ehrmann M. The HtrA Family of Proteases: Implications for Protein Composition and Cell Fate. *Molecular Cell* 2002; Vol. 10, 443-55.
- Canfield AE, Hadfield KD, Rock CF, Wylie EC, Wilkinson FL. HtrA1: a novel regulator of physiological and pathological matrix mineralization? *Biochem Soc Trans* 2007;35(P4):669-71.
- Lipinska B, Sharma S, Georgopoulos C. Sequence analysis and regulation of the HtrA gene of *Escherichia coli*: a sigma 32-independent mechanism of heat-inducible transcription. *Nucleic Acids Res* 1988; 16:10053-67.
- Strauch KL, Beckwith J. An *Escherichia coli* mutation preventing degradation of abnormal periplasmic proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:1576-80.
- Chien J, Campioni M, Shridhar V, Baldi A. HtrA serine proteases as potential therapeutic targets in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2009;9(4):451-68.
- Tong Y, Liao J, Zhang Y, Zhou J, Zhang H, Mao M. LOC387715/HTRA1 gene polymorphisms and susceptibility to age-related macular degeneration: A HuGE review and meta-analysis. *Molecular Vision* 2010; 16:1958-81.
- Bakay M, Zhao P, Chen J, Hoffman EP. A web-accessible complete transcriptome of normal human and DMD muscle. *Neuromusc Disord* 2002;12:125-41.
- Zurawa-Janicka D, Skorko-Glonek J, Lipinska B. HtrA proteins as targets in therapy of cancer and other diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14(7):665-79.
- Chien J, Aletti G, Baldi A, Catalano V, Muretto P, Keeney GL et al. Serine protease HtrA1 modulates chemotherapy-induced cytotoxicity. *J Clin Invest* 2006; 116:1994-2004.
- Doherty M, Boot-Handford RP, Grant ME, Canfield AE. *Biochem. Soc. Trans* 1998; 26: 410.
- Hu SI, Carozza M, Klein M, Nantermet P, Luk D, Crowl RM. Human HtrA, an evolutionarily conserved serine protease identified as a differentially expressed gene product in osteoarthritic cartilage. *J Biol Chem* 1998; 273:34406-12.
- Luca AD, Falco MD, Severino A, Campioni M, Santini D, Baldi F et al. Distribution of the Serine Protease HtrA1 in Normal Human Tissues. *The J Histochem Cytochem* 2003;51(10): 1279-84.
- Nagata T, Takahashi Y, Ishii Y, Asai S, Sugahara M, Nishida Y et al. Profiling of genes differentially expressed between fetal liver and postnatal liver using high-density oligonucleotide DNA array. *Int J Mol Med* 2003;11:713-21.
- Luca AD, Falco MD, Luca LD, Penta R, Shridhar V, Baldi F et al. Pattern of Expression of HtrA1 during Mouse development. *J Histochem Cytochem* 2004; 52(12):1609-17.
- Nie G, Li Y, Salamonsen LA. Serine protease HtrA1 is developmentally regulated in trophoblast and uterine decidual cells during placental formation in the mouse. *Dev Dyn* 2005; 233:1102-09.
- Nie GY, Hale K, Li Y, Manuelpillai U, Wallace EM, Salamonsen LA. Distinct Expression and Localization of Serine Protease HtrA1 in Human Endometrium and First-Trimester Placenta. *Dev Dyn* 2006; 235:3448-55.
- Tsuchiya A, Yano M, Tocharus J, Kojima H, Fukumoto M, Kawaichi M et al. Expression of mouse HtrA1 serine protease in normal bone and cartilage and its upregulation in joint cartilage damaged by experimental arthritis. *Bone* 2005; 37: 323-36.
- Grau S, Richards PJ, Kerr B, Hughes C, Catterson B, Williams AS et al. The role of human HtrA1 in arthritic disease. *J. Biol. Chem* 2006; 281: 6124-9.
- Oka C, Tsujimoto R, Kajikawa M, Koshiba-Takeuchi K, Ina J, Yano M et al. *Development* 2004;131: 1041-53.
- Launay S, Maubert E, Lebeurrier N, Tennstaedt A, Campioni M, Drocagne F et al. HtrA1-dependent proteolysis of TGF-beta controls both neuronal maturation and developmental survival. *Cell Death Differ* 2008; 15: 1408-16.
- Hadfield KD, Rock CF, Inkson CA, Dallas SL, Sudre L, Wallis GA, Boot-Handford RP, Canfield AE. HtrA1 Inhibits Mineral Deposition by Osteoblasts. Requirement for the protease and domains. *J Biol Chem* 2008; 283(9): 5928-38.
- Hara K, Shiga A, Fukutake T, Nozaki H, Miyashita A, Yokoseki A et al. Association of HTRA1 mutations and familial ischemic cerebral small-vessel disease. *N. Engl. J. Med.* 2009;360: 1729-39.
- Shiga A, Nozaki H, Yokoseki A, Nihonmatsu M, Kawata H, Kato T et al. Cerebral small-vessel disease protein

HTRA1 controls the amount of TGF- β 1 via cleavage of proTGF- β 1. *Hum Mol Gen* 2011;1:20 (9):1800-10.

- 31) Zhang L, Lam Lim S, Du H, Zhang M, Kozak I, Hannum G, et al. High Temperature Requirement Factor A1 (HTRA1) gene regulates angiogenesis through Transforming Growth Factor- β Family member Growth Differentiation Factor 6. *J Biol Chem* 2012; 287: 2: 1520-26.
- 32) Friedman DS, O'Colmain BJ, Muñoz B, Tomany SC, McCarty C, de Jong PT et al. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch. Ophthalmol.* 2004;122: 564-72.
- 33) Yoshida T, DeWan D, Zhang H, Sakamoto R, Okamoto H, Minami M, et al. HTRA1 promoter polymorphism predisposes Japanese to age-related macular degeneration. *Mol Vis* 2007; 13: 545-8.
- 34) Balasubbu S, Sundaresan P, Rajendran A, Ramasamy K, Govindarajan G, Perumalsamy N et al. Association analysis of nine candidate gene polymorphisms in Indian patients with type 2 diabetic retinopathy. *BMC Med Genet* 2010;11:158.
- 35) Grau S, Baldi A, Bussani R, Tian X, Stefanescu R, Przybylski M, et al. Implications of the serine protease HtrA1 in amyloid precursor protein processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005;102: 6021-6.
- 36) Clawson AG, Bui V, Xin P, Wang N, Pan W. Intracellular Localization of the Tumor Suppressor HtrA1/Prss11 and its Association With HPV16 E6 and E7 Proteins. *J Cell Biochem* 2008;105 :81-8.
- 37) Chien J, Ota T, Aletti G, Shridhar R, Boccellino M, Quagliuolo L, et al. Serine Protease HtrA1 Associates with Microtubules and Inhibits Cell Migration. *Mol Cell Biol* 2009;29(15):4177-87.
- 38) Chien J, Staub J, Hu S, Erickson-Johnson MR, Couch FJ, Smith DI, et al. A candidate tumor suppressor HtrA1 is downregulated in ovarian cancer. *Oncogene* 2004;23:1636-44.
- 39) Shridhar V, Sen A, Chien J, Staub J, Avula R, Kovats S, et al. Identification of underexpressed genes in early- and late-stage primary ovarian tumors by suppression subtraction hybridization. *Cancer Res.* 2002; 62:262-70.
- 40) Baldi A, Luca AD, Morini M, Battista T, Felsani A, Baldi F, et al. The HtrA1 serine protease is down-regulated during human melanoma progression and repress growth of metastatic melanoma cells. *Oncogene* 2002; 221: 6684-8.
- 41) Bowden MA, Lisa A. Cossens DN, Jobling T, Salamonsen LA, Nie G. Serine proteases HTRA1 and HTRA3 are down regulated with increasing grades of human endometrial cancer. *Gynecologic Oncology* 2006;103:253-60.
- 42) Narkiewicz J, Lapinska-Szumczyk S, Zurawa JD, Skorko GJ, Emerich J, Lipinska B. Expression of human HtrA1, HtrA2, HtrA3 and TGF- β 1 genes in primary endometrial cancer. *Oncology Reports* 2009; 21: 1529-37.
- 43) Mullany SA, Moslemi-Kebria M, Rattan R, Khurana A, Clayton A, Ota T, et al. Expression and functional significance of HtrA1 loss in endometrial cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17(3):427-36.
- 44) Narkiewicz J, Klasa MD, Zurawa JD, Skorko GJ, Emerich J, Lipinska B. Changes in mRNA and protein levels of human HtrA1, HtrA2 and HtrA3 in ovarian cancer. *Clinical Biochemistry* 2008;41 561-69.
- 45) He X, Ota T, Liu P, Su C, Chien J, Shridhar V. Downregulation of HtrA1 promotes resistance to anoikis and peritoneal dissemination of ovarian cancer cells. *Cancer Res* 2010;70(8): 3109-18.
- 46) Zurawa JD, Kobiela J, Stefaniak T, Wozniak A, Narkiewicz J, Wozniak M, et al. Changes in expression of serine proteases HtrA1 and HtrA2 during estrogen-induced oxidative stress and nephrocarcinogenesis in male Syrian hamster. *Acta Biochimica Polonica.* 2008;55(1):9-19.
- 47) Baldi A, Mottolose M, Vincenzi B, Campioni M, Mellone P, Marino MD, et al. The serine protease HtrA1 is a novel prognostic factor for human mesothelioma. *Pharmacogenomics* 2008; 9(8):1069-77.
- 48) Zhu F, Jin L, Luo TP, Luo GH, Tan Y, Qin XH. Serine protease HtrA1 expression in human hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9(5): 508-12.
- 49) Esposito V, Campioni M, Luca AD, Spugnini EP, Baldi F, Cassandro R, et al. Analysis of HtrA1 Serine Protease Expression in Human Lung Cancer. *Anticancer Res* 2006; 26: 3455-60.
- 50) Marzioni D, Quaranta A, Lorenzi T, Morroni M, Crescimanno C, Nictolis MD, et al. Expression pattern alterations of the serine protease HtrA1 in normal human placental tissues and in gestational trophoblastic diseases. *Histol Histopathol* 2009; 24:1213-22.
- 51) Youtao Y, Wenlong S, Yi H, Jingyan Z, Hao S, Zhi-hua Z. HtrA1 expression associated with the occurrence and development of esophageal cancer. *World Journal of Surgical Oncology* 2012; 10:179.
- 52) Lorenzi T, Lorenzi M, Altobelli E, Marzioni D, Mens E, Quaranta A, et al. HtrA1 in human urothelial bladder cancer: A secreted protein and a potential novel biomarker. *Int. J. Cancer* 2013;133(11):2650-61.
- 53) Lehner A, Magdolen V, Schuster T, Kotzsch M, Kiechle M, Meindl A, et al. Downregulation of Serine Protease HTRA1 Is Associated with Poor Survival in Breast Cancer. *Plos One* 2013; 8 (4), e60359.
- 54) Akkafa F. Meme Kanserlerinde HtrA Gen Ailesinin Gen İfade Seviyelerinin İncelenmesi ve HtrA Proteinlerinin Arşiv Materyallerinde İmmünohistokimyasal Olarak tespit Edilmesi. *Doktora Tezi*:2012.
- 55) He X, Khurana A, Maguire JL, Chien J, Shridhar V. HtrA1 sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin-induced cytotoxicity by targeting XIAP for degradation. *International Journal of Cancer* 2011; 130(5):1029-35.
- 56) Catalano V, Mellone P, d'Avino A, Shridhar V, Staccioli MP, Graziano F, et al. HtrA1, a potential predictor of response to cisplatin-based combination chemotherapy in gastric cancer. *Histopathology* 2011; 58: 669-678.