Metastatik Prostat Kanseri Gelişiminde Kronik Enflamatuar Mikroçevre ile Tetiklenen Epitelyal Mezenkimal Geçiş ve Anoikis Direnci

Elif İşel[1], Bilge Debeleç Bütüner[2]

[1]Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ABD, Bornova, 35100, İzmir, Türkiye

[2]Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji ABD, Bornova, 35100, İzmir, Türkiye

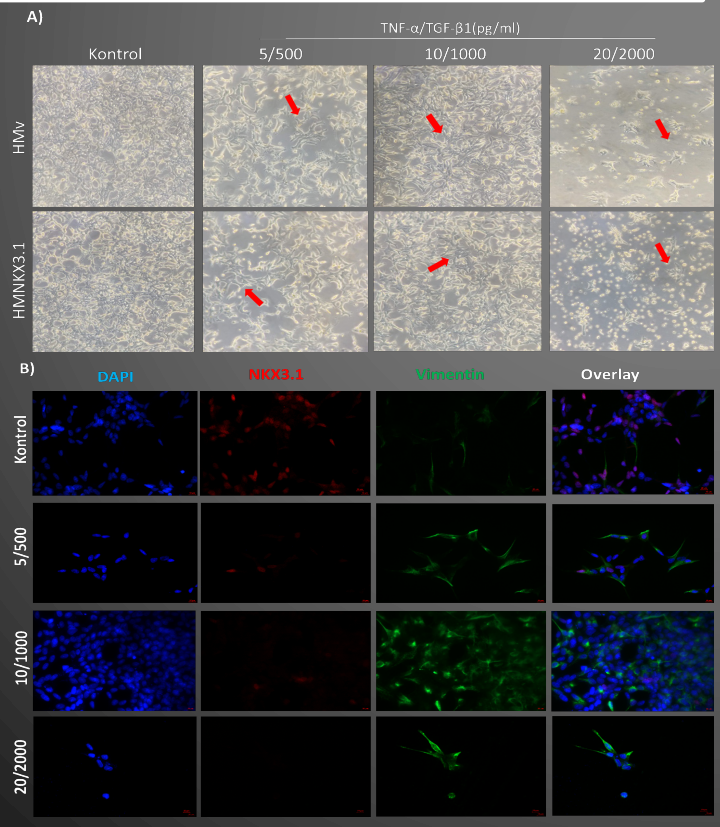
Şekil 1. EMT aracılığıyla migrasyon yeteneği kazanan hücreleri temsil eden görüntü (Lee et al., 2017

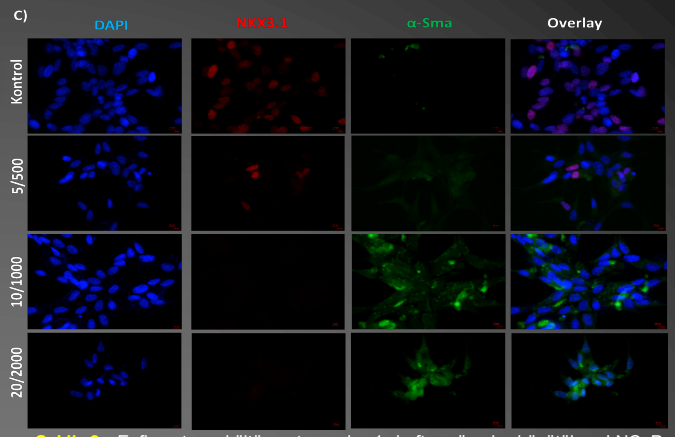
Giriş

Kronik enflamasyonun epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) mekanizmasını tetikleyerek metastatik prostat kanseri (PCa) gelişimine katkı sağladığı bilinmektedir (1). İntravazasyon yapan mezenkimal karakterdeki tümör hücreleri, damar içerisinde seyahat ederken anoikis direnci olarak adlandırılan apoptozdan kaçma mekanizması ile hayatta kalır(2). Enflamatuar ortamda, prostat hücrelerine spesifik tümör baskılayıcı olan NKX3.1 proteininin, yıkıma uğradığı ve migrasyonu tetikledi bilinmektedir (3). NKX3.1 geninin kaybının EMT profili üzerindeki etkisi, bu genin tekrar hücrelere kazandırılması durumunda EMT değişimi ve anoikis direnci üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Bu amaçla, NKX3.1 ekspresyonu olan ve olmayan *in vitro* kronik enflamatuar hücre kültürü modeli tasarlandı.

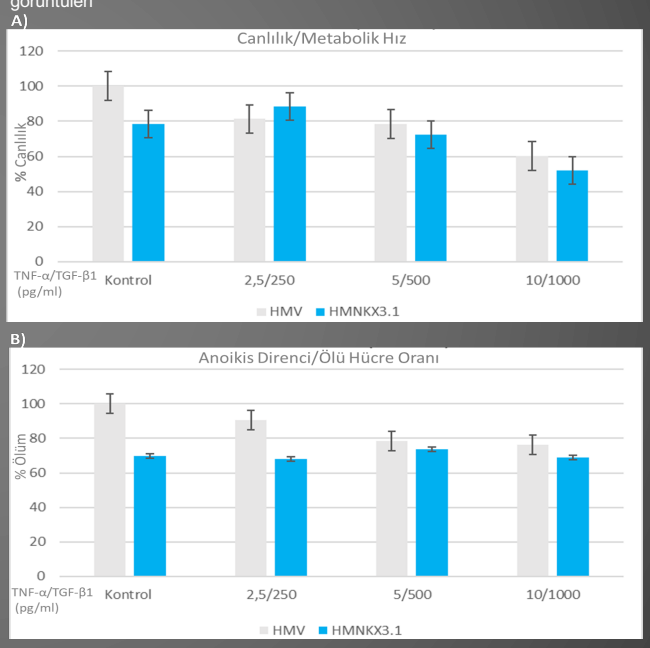
Materyal ve Metot

U937 monosit hücreleri makrofajlara farklılaştırıldı ve makrofajlar sitokin salımı için indüklenerek 'şartlandırılmış ortam' (CM) elde edildi. CM içeriğindeki TNF-α ve TGF-β1 sitokin konsantrasyonları Elisa yöntemiyle ölçüldü. PCa lenf nodu metastazı hücre hattı LNCaP hücreleri, belirlenen dozlarda CM ortamında iki hafta kültüre edilerek *in vitro* kronik enflamatuar bir hücre kültürü modeli oluşturuldu. Enflamatuar mikroçevrede tetiklenen EMT aktivasyonunun hücreler üzerindeki etkisi, morfolojik değişimin ışık mikroskobunda izlenmesiyle ve EMT ilişkili markerların immünfloresan işaretlemesiyle araştırıldı. Hücre canlılığı WST-1, anoikis direnci anoikis protokolü ile analiz edildi.





Şekil 2. Enflamatuar kültür ortamında 1 hafta süreyle büyütülen LNCaP hücrelerinin A) ışık mikroskobu görüntüleri. B) NKX3.1 ve vimentin lokalizasyonunu C) NKX3.1 ve α-SMA lokalizasyonunu gösteren immünfloresan görüntüleri



Şekil 3. Enflamatuar kültür ortamında 4 hafta süreyle büyütülen LNCaP hücrelerinin A) metabolik hızını gösteren WST-1 grafiği B) anoikis direncini gösteren ölüm grafiği

Sonuçlar ve Tartışma

LNCaP hücreleri belirlenen dozlarda TNF-α/TGF-β1 konsantrasyonlarına sahip CM ile 1-4 hafta kültür edildi. Hücrelerde mezenkim-benzeri morfolojik değişim gözlendi. İmmünfloresan analizlerine göre, artan TNF-α/TGFβ-1 konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak vimentin ve α-SMA gibi EMT ilişkili belirteçlerin ekpsresyonunun arttığı saptandı. TNF-α/TGFβ-1 konsantrasyon artışına bağlı olarak hücrelerdeki canlılığın ve metabolik hızın azaldığı, NKX3.1 ekspresyonu kazandırılmasının da hücre canlılığını ve anoikis direncini baskıladığı gözlendi. Tümör baskılayıcı fonksiyon gösteren NKX3.1, normal prostat hücrelerinde hücre canlılığını destekleyici bir rol oynarken, stres koşullarında hücre canlılığını baskıladığı ve kronik enflamasyon ile artan anoikis direncini baskıladığı sonucuna varıldı.

Referanslar

1) Stark, T., Livas, L., Kyprianou, N. 2015. "Inflammation in prostate cancer progression and therapeutic targeting". Translational Andrology and Urology. AME Publishing Company.

2) Taddei, M., Giannoni, E., Fiaschi, T., Chiarugi, P. 2012. "Anoikis: an emerging hallmark in health and diseases". The Journal of Pathology, 226(2), 380–393.

3) Debelec-Butuner, B., Alapinar, C., Ertunc, N., Gonen-Korkmaz, C., Yörükoğlu, K., Korkmaz, K. S. 2014. "TNFα-Mediated Loss of β-Catenin/E-Cadherin Association and Subsequent Increase in Cell Migration Is Partially Restored by NKX3.1 Expression in Prostate Cells". PLoS ONE, 9(10), e109868.

Teşekkür: Bu çalışma 23063 nolu proje olarak Ege Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Laboratuvar cihazlarının kullanımı için Prof.Dr. Kemal Sami KORKMAZ'a katkılarından dolayı teşekkür ederiz.