

Hedgehog

Hedgehog

Oktay Avcı

Özet

Hedgehog sinyal yolağı hücre diferansiyasyonu, doku polaritesi ve hücre proliferasyonunun temel düzenleyicisidir. Çalışmalar bazal hücreli karsinoma ve deri dışı insan kanserlerinin %30 kadarında bu sinyalin aşırı aktif olduğunu göstermiştir. Hedgehog sinyalinin seçici inhibisyonunun birçok tümör tipinin tedavisinde etkin olabileceği görülmektedir. Bu derlemede hedgehog sinyal aktivasyonunun moleküler yapısı, solid tümörlerdeki sinyal aktivasyonu ve hedgehog antagonistlerinin kanser tedavisindeki uygulama potansiyeli ele alınmaktadır.

Anahtar kelimeler: Hedgehog, hedgehog antagonistleri, bazal hücreli karsinom, solid tümörler, kanser tedavisi

Abstract

The hedgehog pathway is a major regulator for cell differentiation, tissue polarity and cell proliferation. Several studies reveal activation of this pathway in basal cell carcinomas in approximately 30% of extracutaneous solid tumors including medulloblastomas, lung, breast, gastrointestinal and prostate cancers. Targeted inhibition of hedgehog signaling may be effective in treatment of many types of human tumors. The discovery and synthesis of specific hedgehog antagonists raise the possibility of their successful use in human cancer therapy. In this review, the molecular basis of hedgehog signaling activation, major advances in our understanding of signaling activation in human solid tumors, hedgehog antagonists and their potential application in human cancer will be evaluated.

Key words: Hedgehog, hedgehog antagonists, basal cell carcinoma, solid tumors, cancer therapy

Giriş

1970'lerin sonlarında, Christiane Nüsslein-Volhard ve Eric F. Weischaus Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda meyve sineği *Drosophila melanogaster*'deki mutasyonları araştırırken embriyogenik gelişim üzerine doğrudan etkili 50'den fazla farklı gen belirlemişlerdir. Bu genlerden biri mutasyona uğradığında, larva, kirpidekilere benzer dikensi çıkıntılar gösteren bir örtü geliştirmiş ve Hedgehog (kirpi) terimi bu gözlemden köken almıştır (1, 2). Erken embriyogenik gelişimin genetiği konusundaki bu son derece önemli çalışmaları Nüsslein-Volhard ve Weischaus'a 1995 yılında, E.B. Lewis ile birlikte Nobel Tıp Ödülü kazandırmıştır (1).

1993 yılında vertebralılarda 3 paralog hedgehog (hh) geni bulunduğu belirlenmiş, "Sonic hh" (*Shh*) (O zamanki, Sega firmasının video oyun kahramanından esinlenilerek, "Indian hh" (*Ihh*) ve "Desert hh" (*Dhh*) olarak isimlendirilmiştir (3-6). *Shh* bunlar içinde en güçlü olan, embriyo ve erişkin dokularında en sık eksprese olandır (7).

Günümüzde hedgehog genlerinin embriyonik gelişimin temel düzenleyicileri olduğu kabul edilmektedir. Hh proteinleri hücre proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu, doku paterninin oluşumunu yönetmekte, sineklerde hh sinyali doğru segmentleşmeyi ve kanatların gelişimini kontrol ederken vertebralılarda sol sağ asimetrisini, ekstremitelerin, iskelet sisteminin, adele yapılarının, gözlerin, akciğerlerin, dişlerin, sinir sisteminin ve bağırsak-

ların doğru biçimde oluşumunu, sperm ve kıkırdak diferansiyasyonunu indüklemektedir. Hh sinyal yolağındaki defektler fetusta beyin, yüz ve diğer orta hat anomalileri ortaya çıkartmaktadır. Önbeyin gelişim bozukluğu sonucu oluşan holoprosensefali, ayrıca mikroensefali ve siklopi, burun gelişiminin olmaması ve yarı damak bunlar arasındadır (8-10).

Bununla birlikte, hh sinyalleri farklı işlevlere de sahiptir. Bir hedef alanda, doza bağımlı olarak, hücrelerin farklı olabilen kaderlerinin belirlenmesinde morfogon özellikleri görülürken organ gelişimini sağlayan hücre proliferasyonunu düzenlerken mitogen etkileri ortaya çıkmaktadır (1, 2, 11). Erişkin hayatta bu sinyal yolağı aktif kalmakta olup stem cell (SC) hayatiyetinin sürmesinde, doku onarımı ve regenerasyonunda önemli işlevlere sahiptir. Dolayısıyla doku homeostazının sağlanmasında bu sinyaller kritik bir rol oynamaktadır (12).

1996'da yapılan çalışmalarla, bu sinyal yolağındaki *Patched1* geninin tümör supressör özelliğinin saptanması, 1998'de ise yine bu sinyal yolağındaki Smoothened (SMO) geninin onkogen özellikleri olduğunun açığa çıkması Hh sinyalinin "karanlık" bir yüzünün de olduğunu göstermiştir. Memelilerde bazal hücreli karsinoma, medulloblastoma, pankreas, meme, prostat, akciğer kanserlerinin etiolojisinde düzensiz hh sinyal aktivitesinin rolü belirlenmiştir. Hh yolağı aktivitesinin çeşitli küçük moleküllerle inhibisyonu yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu yolağın stimülasyonunun ise

Dokuz Eylül Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Deri ve
Zührevi Hastalıklar
Anabilim Dalı,
İzmir, Türkiye

Geliş Tarihi
Submitted
21.10.2012

Kabul Tarihi
Accepted
10.11.2012

Yazışma Adresi
Correspondence

Oktay Avcı
Dokuz Eylül Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Deri ve
Zührevi Hastalıklar
Anabilim Dalı, 35340
Balçova, İzmir, Türkiye
Tel.: +90 232 464 63 08
E-posta:
oktay.avci@deu.edu.tr

©Telif Hakkı 2012
Türk Dermatoloji Derneği
Makale metnine www.
turkdermatolojidergisi.com
web sayfasından ulaşılabilir.
©Copyright 2012
by Turkish Society of
Dermatology - Available
on-line at www.
turkdermatolojidergisi.com

anjioenez ve yara iyileşmesinin uyarılmasında uygulama alanları bulabileceği görülmektedir.

Hedgehog Sinyal Yolağı

Vertebralılarda olgun Hh proteinleri, hücre membranına bağlı reseptörler olan *Patched1* ve *Patched2*'nin ligandlarıdır ve bu reseptörlere bağlandıklarında Hh sinyali yolağı aktifleşmektedir. Hh proteini başlangıçta C-terminal proteaz bölgesi ve N-terminal sinyal ünitesi olan prekürsör molekül biçimindedir. Daha sonra ayrılarak HhNp olarak isimlendirilen aktif sinyal bölgesi salınmaktadır. C-terminal bölümü molekül içi kolesterol transferi oluşturmakta, C-terminal kolesterol ile modifiye N-terminal sinyal bölgesi oluşmaktadır. Bu kolesterol modifikasyonu Hh'un hücre membranına tutunmasını sağlamakta, ayrıca son adım olan ve asilasyon olarak isimlendirilen, N-terminal bölgesine palmitoil eklenmesini tetiklemekte, tam aktif HhN meydana gelmektedir. Hh asilasyonu ve aktif Hh oluşumu için gerekli enzim endoplazmik retikulumda bulunan Rsp geni tarafından kodlanmaktadır. Hh daha sonra, *Dispatched (Disp)* olarak isimlendirilen transmembran taşıyıcı proteini aracılığıyla hücreden salınmaktadır. Embriyonik yaşamda Hh proteinlerini (ligandlarını) sentezleyen hücreler hedef hücrelerden farklı hücrelerdir. Bu hedef hücreler Hh proteinlerini sentezleyen hücrelere komşu olabileceği gibi uzak lokalizasyonda da bulunabilmektedirler (13-15).

İnsanda Hh sinyali yolağı, Hh ligandının hedef hücrede bir transmembran proteini olan *Patched 1'e (Ptch)* bağlanmasıyla aktifleşmektedir. Ptch1 ligand yokken silyum olarak isimlendirilen, hücre membranının kuyruk benzeri çıkıntılarının alt kısmında bulunmaktadır. Silyumlar hemen hemen tüm ökaryotik hücrelerde bulunmakta, mekanik ve kimyasal sinyalleri algılayarak hücre diferansiyasyonu ve polaritesini kontrol eden sinyalleri taşıyan iletişim tüpü olarak işlev görmektedir (16-18). Hh ligandının yokluğunda *Ptch* reseptör benzeri bir başka protein olan *Smoothened'i (Smo)* baskılamaktadır. *Smo* hücrede 3 farklı şekilde yer almaktadır: İnaktif form (*SmoA*), inaktif ve silyuma bağlı form (*SmoB*) ve *SmoB*'den köken alan aktif form (*SmoC*). *Ptch*, *Smo* agonisti olan endojen intrasellüler bir küçük molekülün *Smo*'ya bağlanmasını engellemekte ve bu molekülü hücre dışına taşımaktadır. Hh proteinin *Ptch*'ye bağlanmasıyla *Ptch* aktivitesi kaybolmakta, *Ptch*'nin *Smo* üzerindeki supresör etkisi ortadan kalkmakta, *Smo* atifleşmekte ve Hh sinyalini sitoplazmaya iletmektedir (1, 2, 19). Hh sinyali *Ci (Cubitus interruptus)/GLI "zinc-finger"* ailesi transkripsiyon faktörlerinin aktivatör ve represör formlarının arasındaki dengedeki değişiklikler aracılığıyla iletilmektedir. *Drosophila*'da *Costal 2 (Cos2)*, *Fused (Fu)*, *Suppressor of Fused (SuFu)* ve *Ci* transkripsiyon faktöründen oluşan bir protein kompleksi aracılığıyla iletilmektedir. Daha yüksek organizmalarda *Cos2* ve *Fu* bulunmamakta ancak *SuFu* sinyal iletiminde önemli rol oynamaya devam etmektedir. *GLI* transkripsiyon faktörleri transkripsiyon aktivatörleri olan *GLI 1* ve *GLI 2* ile transkripsiyon represörü olan *GLI 3* olan 3 ayrı proteinden meydana gelmektedir. Aktif Hh sinyali ile *GLI 1* ekspresyonu arasında güçlü bir bağımlılık olduğundan *GLI 1* bu yolağın aktivasyonunda en önemli gösterge olarak kabul edilmektedir (20-22).

Paralog hedgehog ligandı yoksa *Ptch Smo* aktivitesini bloke etmekte, *GLI* proteinleri proteolize uğrayarak büyük oranda *GLI 3*'den olmak üzere represör *GLI (GLI)* oluşmaktadır. Bu da Hh hedef genlerini baskılamaktadır. Hh proteininin (ligandının) *Patch'e* bağlanması ise *Ptch*'nin *Smo* üzerindeki inhibisyonunu ortadan kaldırmaktadır. Aktifleşen *SmoC* silyum membranına bağlanmaktadır. *SmoC*, protein kinaz A (PKA)'yı baskılamakta, böylelikle *GLI* proteinleri yolak aktif değilken kompleks oluşturdukları supressör *SuFu* kompleksinden ayrılmakta ve aktifleşmektedir. *GLI* akti-

vasyonu çeşitli düzeylerde *SuFu*, *Ren*, protein kinaz A (PKA) glikojen sentaz kinaz 3β (*GSK3β*) gibi inhibitörler ve *Dyrk1*, *Ras* ve *Akt* gibi aktivatörlerin oluşturduğu fosforilasyon aracılığıyla düzenlenmektedir (13, 23). Aktif *GLI* transkripsiyon faktörleri hücre nükleusuna bağlanarak Hh'a yanıt verecek hedef genlerin transkripsiyonunu uyarmaktadır (17, 24-28). Memelilerdeki Hh hedef genleri *GLI1*, *Ptch1*, Hedgehog interacting protein (*Hhip*) ve diğer *Cyclin D*, *Myc*, *BMI1*, *Bcl-2*, *VEGF* ve *Snail* gibi farklı hücrelere özgü genlerdir (Şekil 1) (23, 29).

Paralog hedgehog sinyali yolağı; doku morfogenez ve homeostazi, organogenez ve erişkinlerde kök hücre yenilenmesinde önemli rol oynayan *Wnt/β-catenin*, *TGF-β/BMP*, *Notch* ve *FGF* yolakları gibi birçok sinyalle sıkı bir ilişki içerisinde.

Hedgehog Yolağı Değişiklikleri ve Kansere

Son yıllarda, Hh sinyali yolağının aberran aktivasyonunun kansere yol açtığı iyice anlaşılmış bulunmaktadır. Kanserde Hh sinyali aktivitesi konusunda 3 model öngörülmüştür:

Tip I Hh Sinyali: Ligandla İlişkisz, Mutasyona Bağlı

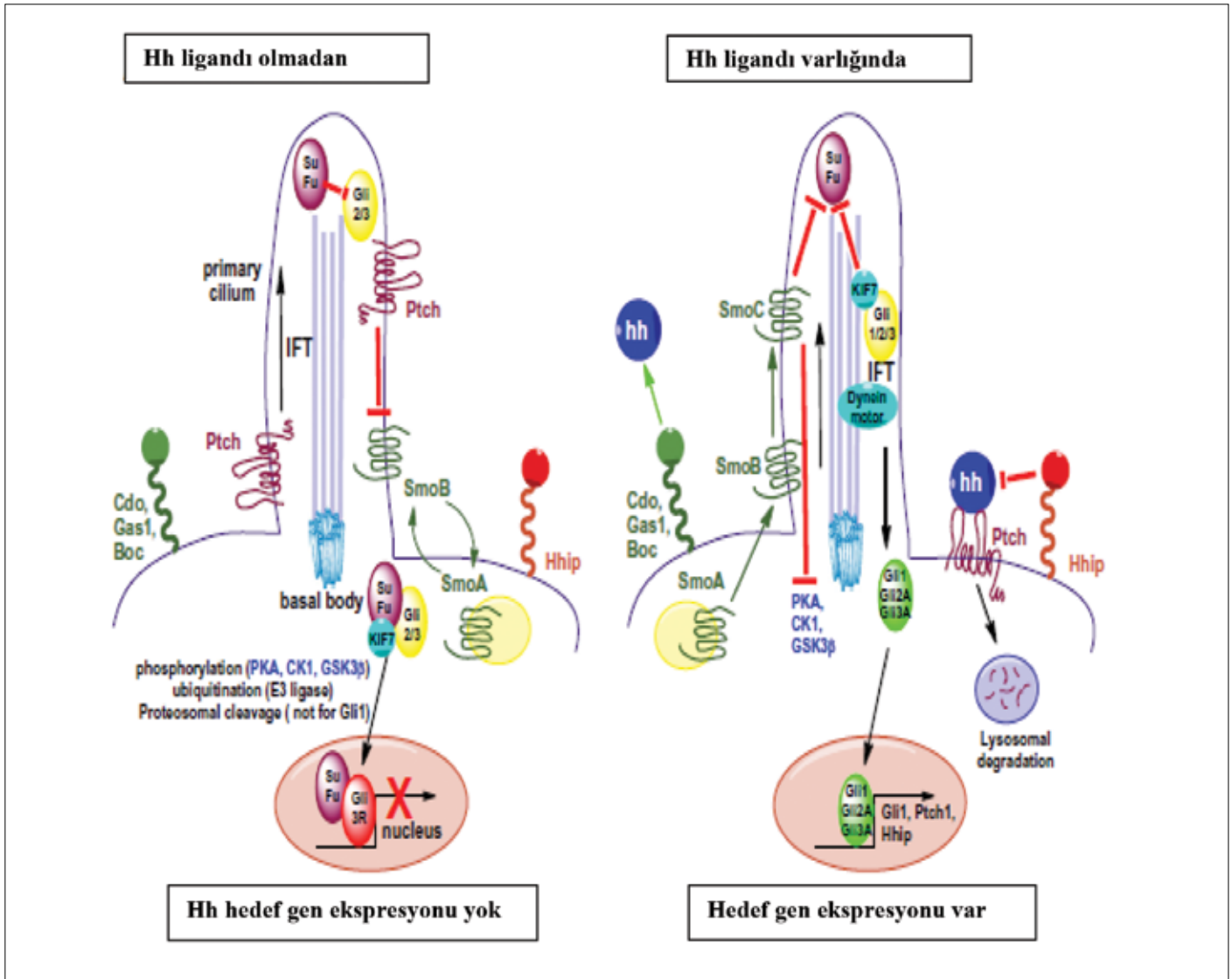
Patched 1 genindeki inaktive edici mutasyonlar ilk kez Gorlin sendromunda gösterilmiştir. Bu olgularda yaşam boyu çok sayıda bazal hücreli karsinoma gelişmekte, medulloblastoma ve rabdomyosarkoma gibi diğer tümörlerin gelişimi riski artmış bulunmaktadır. Sonradan sporadik olarak gelişen bazal hücreli karsinomların %85'inde inaktive edici *Ptch* mutasyonları, %10'unda ise aktive edici *Smo* mutasyonları olduğu gösterilmiştir (30-32). Sporadik medulloblastomaların 1/3'ünde ve rabdomyosarkomların bir kısmında sıklıkla *Ptch* mutasyonlarına, bazen de *SuFu* mutasyonlarına bağlı artmış Hh sinyali aktivasyonu belirlenmiştir (33, 34). Bozulmuş Hh sinyali hücre proliferasyonundaki artışa ve tümör gelişimine yol açmaktadır. *Smo* veya daha alt düzeyi suprese eden Hedgehog inhibitörleri bu tümörlerde etkili olmaktadır.

Tip II Hh Sinyali: Otokrin, Liganda Bağımlı

Paralog hedgehog yolağının sürekli aktivasyonu akciğer, mide, özofagus, pankreas, prostat, meme, karaciğer ve beyin gibi çok çeşitli kanserlerde belirlenmiş bulunmaktadır (35-41). Bazal hücreli karsinom ve medulloblastomlardan farklı olarak bu tümörlerin çoğunda Hh yolağında somatik mutasyonlar bulunmamaktadır. Bu tümörler otokrin, liganda bağımlı anormal Hh yolak aktivasyonu göstermektedir. Epitelial kompartmanda artmış Hh ligand (*Shh* veya *Lhh*) düzeyleri ve/veya ektopik *Ptch* ve *GLI* ekspresyonları söz konusudur. Bu otokrin tümör gelişimi Hh nötralizan antikorumları veya *Smo* antagonistleri tarafından etkin şekilde baskılanabilmektedir (2).

Tip III Hh Sinyali: Parakrin, Liganda Bağımlı

Tümör Hh sinyali parakrin mekanizmalarla da oluşabilmektedir. Hh sinyali tümör mikroçevresini düzenlemekte, uyarmaktadır. Parakrin Hh sinyali embriyogenez sırasında ince barsak gibi çeşitli epitelial yapıların gelişiminde ve korunmasında kritik rol oynamaktadır. Epitelium tarafından salgılanan Hh ligandı mezenkimal stroma tarafından alınmakta ve mezenkimdeki proliferasyonu doğrudan uyarmaktadır. Hh hedef geni aktivasyonu ile de mezenkim epitele geribildirim sağlayan ek moleküller oluşturmaktadır. Çeşitli çalışmalarda Hh ligand eksprese eden kanserlerin kendisinin liganda refrakter olduğu, ancak, kendilerini çevreleyen stromadaki endotel hücrelerinin, epitelial hücrelerin, fibroblastların ve immün hücrelerin parakrin biçimde liganda yanıt oluşturduğu, stroma hücrelerinden kaynaklanan mekanizmalarla tümör gelişimine dolaylı katkı oluşturduğu belirlenmiştir. Ters parakrin sinyali tipinde (Tip IIIb) ise stromal hücrelerin tümöre gelişme ve canlılık sinyalleri gönderdiği tümörler ifade edilmektedir (42-46).



Şekil 1. Hedgehog sinyal yolağı aktivasyonu (1 numaralı kaynaktan modifiye edilmiştir)

Kanser kök hücreleri ve Hedgehog Sinyali

Çoğu yenilenen dokunun hayatı küçük kök hücre popülasyonları tarafından sürdürülmektedir. Bu hücreler yeni kök hücre oluşturma ve dokudaki tüm olgun hücre tiplerini meydana getirme yeteneğine sahip bulunmaktadır. SC'lerin kendilerini yenilemelerinde ve çeşitli dokularda SC proliferasyonunda Hh sinyali düzenleyici olarak görev yapmaktadır. Tümör gelişimi ve yayılmasının, normal doku SC'lerine benzeyen ve aynı sinyallerden etkilenen küçük bir kanser SC popülasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Kanser oluşumu ve yaygınlaşmasında SC'lerdeki *Hh*, *Wnt*, *Notch* ve *BMP* gibi çeşitli sinyal yollarının regülasyonunun bozulmasının rol oynadığına dair veriler mevcuttur (47, 48). Meme kanseri, glioma ve multipl miyelomda kanser SC'lerinin kendini yenilemesini Hh sinyalinin düzenlediği, kronik miyeloid lösemide ise kanser SC'lerinin hayatıyetini sürdürmesini Hh sinyalinin sağladığı belirlenmiştir. Kanser SC'lerinin konvansiyonel kemoterapi ve radyoterapiye dirençli olduğu ve tümör dokusu bu tedavilerle yıkılsa bile relapslara bu hücrelerin neden olduğu sanılmaktadır. Bu hücrelerde Hh sinyali aktif olup Hh inhibisyonu umut verici hedef tedavi olarak görünmektedir (29, 49, 50).

Siklopamin ve Hh Sinyal Yolağı

1950'lerde A.B.D. Idaho'da dağlarda otlayan gebe koyunların holoprosensefali malformasyonlarıyla doğduğu belirlenmiştir. Siklopi, çeşitli beyin malformasyonları ve optik sinirleri içeren bu anomalilerle doğan kuzuların meydana getirdiği ekonomik kaybın tolere edilemeyecek boyuta ulaşması üzerine A.B.D. Tarım Bakanlığı bir bilim adamını bölgeye yollamıştır. Lynn F. James koyunlarla birlikte 3 yaz geçirmiş, gestasyonunun 14. gününde olan koyunların yüksek yerlerde yetişen ve *Veratrum californicum* olarak isimlendirilen çiçeği otlaması sonucu malformasyonlu kuzuları doğurduğu sonucuna ulaşmıştır.

Sonradan geliştirilen ekstraksiyon yöntemleri, *Veratrum californicum*'dan izole edilen çeşitli alkaloid yapısındaki bileşiklerin siklopi geliştirebildiğini göstermiştir. İzole edilen alkaloidlerden sadece üçünün değişen güçlerde malformasyon oluşturabildiği belirlenmiştir: Jervine, sikloposin ve en aktif steroidal alkaloid, siklopamin. Sonradan yapılan çalışmalarda siklopamin'in doğrudan *Smo*'ya bağlanarak Hh/GLI sinyalini bloke ettiği gösterilmiştir (51, 52).

Siklopamin, *Smo*'nun transdermal heliksine bağlanarak *Smo*'yu inhibe etmektedir. *Smo*'nun siklopamin ve başka sentetik küçük moleküllü

antagonistlerinin geliştirilmesi Hh sinyalinin rol oynadığı kanserlerin tedavisinde yeni bir dönemin açılacağını göstermiştir. Siklopamin konsantrasyona bağlı etkiler oluşturmaktadır. Düşük konsantrasyonda (<10 µmol/L) Hh sinyalini spesifik olarak inhibe ederken yüksek dozda Hh hedef gen ekspresyonu oluşmadan hücre ölümüne neden olmaktadır (53). Bununla birlikte siklopamin bazı dezavantajlara sahiptir. Düşük afinite ve zayıf oral biyoyararlılık göstermektedir ve farmakokinetik özellikleri ideal değildir. Bu nedenlerden dolayı siklopamin daha potent deriveleri sentez edilmeye çalışılmıştır. SiSiklopamin'den daha güçlü sentetik küçük moleküllü bu bileşikler arasında SANT1-SANT4, Cur-61414, HhAntag-691, GDC-0449, MK4101, IPI-926 ve BMS-833923 bulunmaktadır. Bunlar prelinik çeşitli modellerde test edilmiştir (29). Hh'un Ptch'ye bağlanmasını engelleyen 5E1 gibi Hh bloke edici antikolar da iyi prelinik sonuçlar vermiş bulunmaktadır (29). Hh yolağını farklı noktalarda hedef alan birçok başka molekül de çalışılmıştır. Doğal Hh inhibitörü *Hhip* mimetik, *SuFu* mimetikleri, *GLI* aktivitesini ve transkripsiyonunu bloke eden Gant61 ve Gant58 gelişimlerinin çeşitli evrelerinde bulun-

makta, çalışmalar sürmektedir (54, 55). Küçük molekül mikro temelli taramalar sonucu, ekstrasellüler Shh proteinine bağlanan bir küçük molekül olan robotnikin izole edilmiştir. Tümör orijinli Shh ligandları stroma hücrelerinde doğrudan sinyal aktivasyonuna neden olduğundan Shh ligandlarını hedef alan bu yaklaşımlar ilginç sonuçlar vermeye adaydır (56). İnsanlarda bugüne kadar çalışılan Smo antagonistleri siklopamin, Cur-61414, GDC-0449, IPI-926 ve BMS-833923 artık ileri klinik değerlendirme aşamasında bulunmaktadır. Son çalışmalar, sekresyonu *Ptch1* tarafından uyarılan D3 vitamininin *Smo*'ya bağlanarak sinyali baskılayabileceğini göstermiş, bazal hücreli karsinomun diyetel destekle tedavi olasılığını ortaya çıkarmıştır (57). Doğal bileşikler olan resveratrol ve zerdeçal (curcumin) da Hh sinyalini baskılamaktadır. Sık kullanılan antifungal olan itraconazol da Hh sinyalini inhibe etmektedir (58, 59).

Bazal Hücreli Karsinoma (BCC)

Paralog hedgehog sinyal düzensizliğinin belirlendiği ilk kanser BCC'dir. Gorlin sendromunda multipl BCC gelişimine eğilim üzerinde yapılan çalışmalarda 9. kromozomdaki *Ptch1* geninde mutasyonlar belirlenmiştir (60).

Tablo 1. İnsan kanserlerinde Hh sinyali aktivasyonu. İnsan kanserlerinin %30'undan fazlası aktifleşmiş Hh sinyali göstermektedir

Tümör tipi	Gen değişikliği	İşlev	Klinik evre
BCC	Ptch1, Smo, Su(Fu)	Uyarıcı	Faz II/III
Melanoma	Shh	Bilinmiyor	
Medulloblastoma	SMO, Gli2, Su(Fu)..	Uyarıcı	Faz II
Rabdomiyosarkom	PTCH1, Gli1, Su(Fu)	Uyarıcı	
Özofagus Ca	Shh, Gli2	Bilinmiyor	
Mide Ca	Shh	Bilinmiyor	Faz II
Karaciğer Ca	Shh	Bilinmiyor	
Pankreas Ca	Shh, Ihh	Metastaz	Faz II
Glioma	Gli1, Shh	Mikroçevre	
Meme Ca	Ihh, Shh	Bilinmiyor	
Prostat Ca	Shh	Bilinmiyor	
Akciğer Ca	Shh	Bilinmiyor	
Over Ca	Shh	Bilinmiyor	Faz II*
Kolon Ca	Shh	Bilinmiyor	Faz II*
Osteokondroma	Gli2	Bilinmiyor	
Böbrek Ca	Shh	Bilinmiyor	
Endometrium Ca	Shh	Bilinmiyor	
Multipl myeloma	Shh	Ca stem cell	
KML**	Shh	Bilinmiyor	
Hh inhibisyonu ile ilişkili kanser dışı onaylanmış patentler			
Psoriasis (1) (Taş S, Avcı O)	Shh	Bilinmiyor	Faz I
Hyperpigmentation (2) (Taş S, Avcı O)	Shh	Bilinmiyor	Faz I
*Çalışma durduruldu **Kronik miyeloid lösemi (1) US 7,605,167 B2 October 20, 2009 (2) US 8,025,893 B2 September 27, 2011			

Sonradan tüm BCC'lerde Hh sinyalindeki artışın tek ve pivotal anomali olduğu saptanmıştır (61, 62). Sporadik BCC'lerin % 90'ında en az bir *Ptch1* allelinde işlev kaybı mutasyonları, % 10 kadarında *Smo*'da aktive edici mutasyonlar bulunduğu gözlenmiştir (60-62). Bu mutasyonlar sonucu *Hh/GLI* sinyali sürekli artmış bulunmaktadır.

İlk *in vivo* insan çalışmasında 4 BCC'ye topikal siklopamin uygulanmış ve tümünde regresyon geliştiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, tümör hücrelerinde proliferasyonun inhibisyonu yanında, siklopamin'in o zaman kadar bildirilmemiş etkileri olan tümör hücrelerinin normale diferansiasyonu ve tümör hücrelerinde nongenotoksik mekanizmayla gelişen masif apoptoz gösterilmiş, tümörü çevreleyen normal doku hücrelerinde olumsuz etki gelişmemiştir (63). Sonradan, farmakolojik etkilerinin daha iyi, inhibitör etkilerinin daha güçlü olduğu bildirilen siklopamin deriveleri geliştirilmiştir. Cur-61414 bu ilk sentetik *Smo* inhibitörlerinden olup olasılıkla topikal formülasyonundaki sorunlar nedeniyle deriden penetrasyonunda güçlükler oluşmuştur. Curis-Genentech'in geliştirdiği küçük moleküllü *Smo* inhibitörü GDC-0449 prelinik modellerde güçlü antitümör aktivitesi göstermiştir (64). Faz I çalışmalarda BCC ve medulloblastomada bu etkinlik teyid edilmiştir (64, 65). Metastazlı veya lokal olarak ilerlemiş 33 BCC'li hastaya oral GDC-0449 günde 150, 270 ve 540 mg dozlarda verilmiş, 2 olguda tam, 16 olguda parsiyel yanıt elde edilmiştir. 11 hastada hastalık stabil kalırken 2 olguda progresyon gelişmiştir. Bitkinlik, hiponatremi, adele spazmı ve atrial fibrilasyon önemli; saç kaybı ve incelmeleri, tad alma bozukluğu, bulantı ve kusma, dispepsi ve kilo kaybı daha hafif yan etkileri oluşmuştur. Bu sonuçlarla GDC-0449 ilerlemiş BCC'de Faz II'ye girmiştir (64).

Diğer Solid Tümörler

Agresif çocukluk çağı serebellum tümörü olan medulloblastomada aberran Hh sinyali bulunduğu bilinmektedir. Prognozun kötü olduğu bu tümörde primer tedavi cerrahi rezeksiyon ve sonrasında kemoterapi ve radyoterapi olup bu tedaviler ciddi morbiditeye neden olmakta, eğer sonrasında rekürrens gelişmişse ortalama yaşam süresi 6 aydan az olmaktadır (65). GDC-0449 için, erişkinlerdeki tekrarlayıcı veya refraktör medulloblastomada Faz II çalışması yürümektedir. Siklopamin hem fare allograft modellerinde hem de insan medulloblastoma hücrelerinin tümünde *in vitro* gelişmeyi baskılamıştır (29, 39, 66). *Ptch1^{+/+} p53^{-/-}* fare modellerinde *Smo*'ya bağlanan Hh antagonisti Hh-Antag tümör hücre proliferasyonunu baskılayıp apoptozu uyarak tüm medulloblastomaları elimine etmiş, tümörü çevreleyen serebellum yan etki oluşmamıştır (66).

Hh ligandına bağımlı Hh aktivitesi gösteren başka birçok solid tümörde siklopamin ile tümör inhibisyonu, kseno ve hayvan modellerinde prelinik evrede gösterilmiş bulunmaktadır. Bunlar arasında akciğer, mide, özefagus, pankreas, prostat, meme, karaciğer ve beyin tümörleri bulunmaktadır (35-41). Pankreas kanserinde Shh inhibisyonu desmoplazi gelişimini artırmakta, tümör stromasını bozarak gemsitabin tümör hücrelerine penetrasyonunu arttırmaktadır (67, 68). En ileri evrede çalışılmakta olan GDC-0449 over kanseri idame tedavisinde, kolorektal kanserde kemoterapiyle kombine şekilde, akciğer kanserinde kemoterapiyle kombine biçimde ve ilerlemiş pankreas kanserinde erlotinib ile kombine biçimde etkinlik ve yan etkiler yönünden halen araştırılmaktadır (Tablo 1) (68).

Sonuç

Son 10 yıl içinde, kanser gelişiminde Hh proteinlerinin rolünün ve mekanizmasının anlaşılması onkolojide sıra dışı gelişmelere neden olmuş bulunmaktadır. Aberran Hh sinyali tümör gelişimine ve progresyonuna neden olmakta, tümör agresifliği ve metastaz sıklığı artmaktadır. *Hh/GLI*

sinyalini spesifik olarak inhibe eden, siklopamin ve diğer sentetik küçük moleküllü inhibitörlerle elde edilen ilk sonuçlar tümör tedavisinde yeni ve heyecan verici bir dönemin başladığını göstermektedir.

Çıkar çatışması

Yazarın, Hedgehog sinyal yolağının spesifik inhibisyonu konusunda, Prof. Dr. Sinan Taş ile birlikte onaylanmış uluslararası patentleri bulunmaktadır. Yazar aynı konuda, Roche firmasının uluslararası bir Faz II çalışmasında araştırmacı olarak yer almaktadır.

Kaynaklar

- Heretsch P, Tzagkaroulaki L, Giannis A. Modulators of the hedgehog signaling pathway. *Bioorg Med Chem* 2010;18:6613-24. [CrossRef]
- Gupta S, Takebe N, LoRusso P. Targeting the hedgehog pathway in cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2010;2:237-50. [CrossRef]
- Riddle RD, Johnson RL, Laufer E, et al. Sonic hedgehog mediates the polarizing activity of the ZPA. *Cell* 1993;75:1401-16. [CrossRef]
- Echelard Y, Epstein DJ, St-Jacques B, et al. Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity. *Cell* 1993;75:1417-30. [CrossRef]
- Krauss S, Concordet JP, Ingham PW. A functionally conserved homolog of the Drosophila segment polarity gene hh is expressed in tissues with polarizing activity in zebrafish embryos. *Cell* 1993;75:1431-44. [CrossRef]
- Chang DT, Lopez A, von Kessler DP, et al. Products, genetic linkage and limb patterning activity of a murine hedgehog gene. *Development* 1994;120:3339-53.
- Daya-Grosjean L, Couvé-Privat S. Sonic hedgehog signaling in basal cell carcinoma. *Cancer Lett* 2005;225:181-92. [CrossRef]
- Rubin LL, Sauvage FJ. Targeting the hedgehog pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:1026-33. [CrossRef]
- Belloni E, Muenke M, Roessler E, et al. Identification of Sonic hedgehog as a candidate gene responsible for holoprosencephaly. *Nat Genet* 1996;14:353-56. [CrossRef]
- Roessler E, Belloni E, Gaudenz K, et al. Mutations in the human Sonic hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet* 1996;14:357-60. [CrossRef]
- Ingham PW, McMahon AP. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes Dev* 2001;15:3059-87. [CrossRef]
- Hooper JE, Scott MP. Communicating with Hedgehogs. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:306-17. [CrossRef]
- Varjosalo M, Taipale J. Hedgehog: functions and mechanisms. *Genes Dev* 2008;22:2454-72. [CrossRef]
- Porter JA, Young KE, Beachy PA. Cholesterol modification of hedgehog signaling proteins in animal development. *Science* 1996;274:255-9. [CrossRef]
- Micchelli CA, The I, Selva E, et al. Rasp, a putative transmembrane acyltransferase, is required for Hedgehog signaling. *Development* 2002;129:843-51.
- Goetz SC, Anderson KV. The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. *Nat Rev Genet* 2010;11:331-44. [CrossRef]
- Plotnikova OV, Golemis EA, Pugacheva EN. Cell cycle-dependent ciliogenesis and cancer. *Cancer Res* 2008;68:2058-61. [CrossRef]
- Rohatgi R, Milenkovic L, Scott MP. Patched1 regulates hedgehog signaling at the primary cilium. *Science* 2007;317:372-6. [CrossRef]
- Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature* 2001;411:349-54. [CrossRef]
- Corbit KC, Aanstad P, Singla V, et al. Vertebrate Smoothed functions at the primary cilium. *Nature* 2005;437:1018-21. [CrossRef]
- Huangfu D, Anderson KV. Cilia and Hedgehog responsiveness in the mouse. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102:11325-30. [CrossRef]
- Huangfu D, Liu A, Rakeman AS, et al. Hedgehog signalling in the mouse requires intraflagellar transport proteins. *Nature* 2003;426:83-7. [CrossRef]
- Ferretti E, De Smaele E, Di Marcotullio L, et al. Hedgehog checkpoints in medulloblastoma: the chromosome 17p deletion paradigm. *Trends Mol Med* 2005;11:537-45. [CrossRef]
- Corbit KC, Aanstad P, Singla V, et al. Vertebrate Smoothed functions at the primary cilium. *Nature* 2005;437:1018-21. [CrossRef]
- Rohatgi R, Milenkovic L, Corcoran RB, et al. Hedgehog signal transduction by Smoothed: pharmacologic evidence for a 2-step activation process. *Proc Natl Acad Sci* 2009;106:3196-201. [CrossRef]

26. Kim J, Kato M, Beachy PA. Gli2 trafficking links Hedgehog-dependent activation of smoothened in the primary cilium to transcriptional activation in the nucleus. *Proc Natl Acad Sci* 2009;106:21666-71. [\[CrossRef\]](#)
27. Zhao Y, Tong C, Jiang J. Hedgehog regulates smoothened activity by inducing a conformational switch. *Nature* 2007;450:252-8. [\[CrossRef\]](#)
28. Scales SJ, de Sauvage FJ. Mechanisms of Hedgehog pathway activation in cancer and implications for therapy. *Trends Pharmacol Sci* 2009;30:303-12. [\[CrossRef\]](#)
29. Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulos PG, et al. Mutations of the human homolog of *Drosophila* patched in the nevus basal cell carcinoma syndrome. *Cell* 1996;85:841-51. [\[CrossRef\]](#)
30. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, et al. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 1996;272:1668-71. [\[CrossRef\]](#)
31. Xie J, Murone M, Luoh SM, et al. Activating Smoothened mutations in sporadic basal-cell carcinoma. *Nature* 1992;391:90-2.
32. Tostar U, Malm CJ, Meis-Kindblom JM, et al. Deregulation of the hedgehog signaling pathway: a possible role for the PTCH and SUFU genes in human rhabdomyoma and rhabdomyosarcoma development. *J Pathol* 2006;208:17-25. [\[CrossRef\]](#)
33. Taylor MD, Liu L, Raffel C, et al. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet* 2002;31:306-10. [\[CrossRef\]](#)
34. Clement V, Sanchez P, de Tribolet N, et al. HEDGEHOG-GLI1 signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity. *Curr Biol* 2007;17:165-72. [\[CrossRef\]](#)
35. Sicklick JK, Li YX, Jayaraman A, et al. Dysregulation of the Hedgehog pathway in human hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2006;27:748-57. [\[CrossRef\]](#)
36. Karhadkar SS, Bova GS, Abdallah N, et al. Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. *Nature* 2004;431:707-12. [\[CrossRef\]](#)
37. Kubo M, Nakamura M, Tasaki A, et al. Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer. *Cancer Res* 2004;64:6071-74. [\[CrossRef\]](#)
38. Berman DM, Karhadkar SS, Hallahan AR, et al. Medulloblastoma growth inhibition by hedgehog pathway blockade. *Science* 2002;297:1559-61. [\[CrossRef\]](#)
39. Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW, et al. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* 2003;425:851-6. [\[CrossRef\]](#)
40. Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, et al. Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature* 2003;422:313-7. [\[CrossRef\]](#)
41. Fan L, Pepicelli CV, Dibble CC, et al. Hedgehog signaling promotes prostate xenograft tumor growth. *Endocrinology* 2004;145:3961-70. [\[CrossRef\]](#)
42. Nolan-Stevaux O, Lau J, Truitt ML, et al. GLI1 is regulated through Smoothened-independent mechanisms in neoplastic pancreatic ducts and mediates PDAC cell survival and transformation. *Genes Dev* 2009;23:24-36. [\[CrossRef\]](#)
43. Theunissen JW, de Sauvage FJ. Paracrine Hedgehog signaling in cancer. *Cancer Res* 2009;69:6007-10. [\[CrossRef\]](#)
44. Tian H, Callahan CA, DuPree KJ, et al. Hedgehog signaling is restricted to the stromal compartment during pancreatic carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci* 2009;106:4254-9. [\[CrossRef\]](#)
45. Yauch RL, Gould SE, Scales SJ, et al. A paracrine requirement for hedgehog signalling in cancer. *Nature* 2008;455:406-10. [\[CrossRef\]](#)
46. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105-11. [\[CrossRef\]](#)
47. Rubin LL, de Sauvage FJ. Targeting the Hedgehog pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:1026-33. [\[CrossRef\]](#)
48. Al-Hajj M, Clarke MF. Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene* 2004;23:7274-82. [\[CrossRef\]](#)
49. Beachy PA, Karhadkar SS, Berman DM. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *Nature* 2004;432:324-31. [\[CrossRef\]](#)
50. Binns W, James LF, Keeler RF, et al. Effects of teratogenic agents in range plants. *Cancer Res* 1968;28:2323-6.
51. Keeler RF. Toxic and teratogenic alkaloids of western range plants. *Agric Food Chem* 1969;17:473-82. [\[CrossRef\]](#)
52. Liu H, Gu D, Xie J. Clinical implications of hedgehog pathway inhibitors. *Chin J Cancer* 2011;30:13-26. [\[CrossRef\]](#)
53. Lauth M, Bergstrom A, Shimokawa T, et al. Inhibition of GLI-mediated transcription and tumor cell growth by smallmolecule antagonists. *Proc Natl Acad Sci* 2007;104:8455-60. [\[CrossRef\]](#)
54. Lauth M, Toftgard R. Non-canonical activation of GLI transcription factors: implications for targeted anti-cancer therapy. *Cell Cycle* 2007;6:2458-63. [\[CrossRef\]](#)
55. Stanton BZ, Peng LF, Maloof N, et al. A small molecule that binds Hedgehog and blocks its signaling in human cells. *Nat Chem Biol* 2009;5:154-6. [\[CrossRef\]](#)
56. Bijlsma MF, Spek CA, Zivkovic D, et al. Repression of smoothened by patched dependent provitamin d3 secretion. *PLoS Biol* 2006;4:232. [\[CrossRef\]](#)
57. Slusarz A, Shenouda NS, Sakla MS, et al. Common botanical compounds inhibit the hedgehog signaling pathway in prostate cancer. *Cancer Res* 2010;70:3382-90. [\[CrossRef\]](#)
58. Kim J, Tang JY, Gong R, et al. Itraconazole, a commonly used antifungal that inhibits hedgehog pathway activity and cancer growth. *Cancer Cell* 2010;17:388-99. [\[CrossRef\]](#)
59. Gailani MR, Bale SJ, Leffell DJ, et al. Developmental defects in Gorlin syndrome related to a putative tumor suppressor gene on chromosome 9. *Cell* 1992;69:111-7. [\[CrossRef\]](#)
60. Epstein EH. Basal cell carcinomas: attack of the hedgehog. *Nat Rev Cancer* 2008;8:743-54. [\[CrossRef\]](#)
61. Xie J, Murone M, Luoh SM, et al. Activating Smoothened mutations in sporadic basal-cell carcinoma. *Nature* 1998;391:90-2. [\[CrossRef\]](#)
62. Taş S, Avci O. Induction of the differentiation and apoptosis of tumor cells in vivo with efficiency and selectivity. *Eur J Dermatol* 2004;14:96-102.
63. Rudin CM, Hann CL, Laterra J, et al. Treatment of medulloblastoma with Hedgehog pathway inhibitor GDC-0449. *N Engl J Med* 2009;361:1202-5. [\[CrossRef\]](#)
64. Von Hoff DD, Lorusso PM, Rudin CM, et al. Inhibition of the Hedgehog pathway in advanced basal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2009;361:1164-72. [\[CrossRef\]](#)
65. Zeltzer PM, Boyett JM, Finlay JL, et al. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children's Cancer Group 921 randomized phase III study. *J Clin Oncol* 1999;17:832-45.
66. Romer JT, Kimura H, Magdaleno S, et al. Suppression of the Shh pathway using a small molecule inhibitor eliminates medulloblastoma in Ptc1(+/-) p53(-/-) mice. *Cancer Cell* 2004;6:229-40. [\[CrossRef\]](#)
67. Bailey JM, Swanson BJ, Hamada T, et al. Sonic hedgehog promotes desmoplasia in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:5995-6004. [\[CrossRef\]](#)
68. Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, et al. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science* 2009;324:1457-61. [\[CrossRef\]](#)