

Eşzamanlı Kemoradyoterapi ile Tedavi Edilen Evre III Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde NF-κB'nin Prognostik Önemi

Celalettin EROĞLU*, Işın SOYUER**, Serdar SOYUER*, Oğuz G. YILDIZ*, Okan ORHAN*,
Mete GÜNDOĞ*, Metin ÖZKAN***, Özlem ER***, Mustafa ALTINBAŞ***,
Bünyamin KAPLAN*

* Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı

** Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı

*** Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Medikal Onkoloji Bilim Dalı, KAYSERİ

ÖZET

Eşzamanlı kemoradyoterapi ile tedavi edilen evre III küçük hücreli dışı akciğer kanserler (KHDAK)'inde transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa B (NF-κB)'nin prognostik önemini araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya eşzamanlı paclitaxel + carboplatin ve radyoterapi ile tedavi edilen 28 olgu dahil edildi. Tüm olgularda konvansiyonel/hiperfraksiyone radyoterapiyle birlikte eşzamanlı paclitaxel + carboplatin uygulandı ve olgular 0-4 kür konsolidasyon kemoterapisi aldı. Olgulara ait parafin bloklardan yeni kesitler alınarak NF-κB immünohistokimyasal boyası uygulandı. NF-κB pozitif ve negatif gruplar arasında progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım açısından fark olup olmadığı araştırıldı.

Sağkalım analizlerinde, NF-κB'nin %10'dan fazla pozitif olduğu olgularda progresyona kadar geçen süre negatif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa bulunmasına rağmen, her iki grup arasında genel sağkalım açısından bir fark saptanmadı.

Bulgularımız, NF-κB'nin küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde prognostik faktör olarak önemi olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: KHDAK, Kemoradyoterapi, NF-κB, Prognostik faktör

SUMMARY

Prognostic Significance of NF-κB in Unresectable Non-Small Cell Carcinoma of the Lung Treated with Concomitant Chemoradiotherapy

The aim of this study is to determine the prognostic value of transcription factor nuclear factor kappa B (NF-κB) in unresectable non-small cell lung cancer (NSCLC) patients treated with concurrent chemoradiotherapy.

Twenty-eight unresectable NSCLC patients treated with concurrent chemoradiotherapy with paclitaxel + carboplatin were enrolled in this study. All patients received paclitaxel + carboplatin chemotherapy and radiotherapy concomitantly as primary treatment. Then patients received 0-4 cycles chemotherapy as a consolidation treatment. Immunohistochemistry was performed on paraffin embedded tissue. NF-κB monoclonal antibodies were used for the staining. 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.

In patients who NF-κB was stained more than 10%, the disease free survival was better although there was not statistically significant difference. But in two groups, the overall survival was the same.

NF-κB may be a useful prognostic factor in unresectable NSCLC patients.

Key Words: NSCLC, Chemoradiotherapy, NF-κB, Prognostic factor

GİRİŞ

Akciğer kanserlerinin %80'ini küçük hücreli dışı akciğer kanserleri (KHDAK) oluşturmaktadır. KHDAK'nin de yaklaşık %40'ı lokal ileri rezeke edilemeyen veya sınırdaki rezeke edilebilir evre III hastalardır (1-4).

KHDAK'inde en önemli prognostik faktör tümörün evresi olup, histopatolojik tam ikinci sırada yer almaktadır (5,6). Ancak, aynı evredeki hastalar çok farklı sağkalım gösterdiklerinden dolayı daha iyi prognostik faktörlere gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda moleküler onkolojideki önemli gelişmeler sonucunda akciğer kanserli hastalarda sağkalımı etkileyen 150'den fazla farklı prognostik faktör bulunmuş olup bu konuda yaygın olarak çalışılmaktadır. Henüz geniş prospektif çalışmalarla onaylanan bir prognostik faktör yoktur (7). KHDAK'inde EGFR, Caspase3, p53 mutasyonu, p21, Cyclin E, VEGF, MMP2 ve MMP9, RASSF1A gibi bazı moleküllerin prognostik önemi gösterilmiştir (8-14).

Transkripsiyon faktör nükleer faktör kappa B (NF-κB) apoptozis ve inflamasyon gibi patolojik olaylarda genlerin regülasyonu ile ilgili olan dimerik transkripsiyon faktörüdür (15,16).

Bu çalışmada eşzamanlı kemoradyoterapi ile tedavi edilen lokal ileri rezeke edilemeyen evre III KHDAK'li hastalarda NF-κB'nin progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım üzerindeki prognostik önemini araştırmayı amaçladık.

HASTALAR VE YÖNTEM

Hastaların özellikleri: Çalışmaya Ekim 2001 ile Aralık 2004 tarihleri arasında Paclitaxel ve Karboplatin ile eşzamanlı radyoterapi uygulanarak tedavi edilen lokal ileri rezeke edilemeyen evre III (IIIA-IIIB) KHDAK'li 28 olgu dahil edildi. Olguların tümü erkekti ve medyan yaş 58 (40-69) olarak saptandı. Olguların evre IIIA/IIIB oranı: 4/24; histopatolojik özelliklerine göre epidermid karsinom: 15, adenokarsinom: 3, large cell karsinom: 1, clear cell karsinom: 1 ve alt tipi ayırt edilemeyen KHDAK: 8 idi. Hastaların uygulanan radyoterapiye göre genel özellikleri Tablo 1'de gösterildi.

Radyoterapi ve kemoterapinin uygulanması: Olgulara Paclitaxel (50 mg/m²/hafta) ve Karboplatin (AUC 2/hafta) ile eşzamanlı konvansiyonel RT (200 cGy/gün, 5 gün/hafta x 6.5 hafta, total doz 66 Gy) veya hiperfraksiyone RT (120 cGy bid, 5 gün/hafta x 6 hafta, total doz 69.6 Gy) uygulandı. Eşzamanlı kemoradyoterapinin tamamlanmasından 3 hafta sonra aylık kürler halinde ve dört ay boyunca konsolidasyon kemoterapisi: Paclitaxel (175 mg/m²) ve Karboplatin (AUC 6) kombine olarak uygulandı.

NF-κB'nin değerlendirilmesi: Olgulara ait parafin bloklardan yeni kesitler alınarak Patoloji Anabilim Dalında NF-κB immunohistokimyasal boyaları uygulandı. NF-κB için tümör dokusunda nükleer boyanmanın olduğu alanlarda 5 farklı alan gözden geçirilerek nükleer boyanma açısından %10'dan az

Tablo 1. Hasta Özellikleri

		Konvansiyonel kemoradyoterapi	Hiperfraksiyone kemoradyoterapi
Hasta Sayısı		16	12
Yaş		59(48-69)	55(40-64)
Cinsiyet	Erkek/Kadın	16/0	12/0
Evre	III A	2	2
	III B	14	10
Histo Patoloji	Epidermoid Ca	10	5
	AdenoCa	1	2
	Large Cell Ca	1	-
	Clear Cell CA	1	-
	NSCLS/unclass	3	5

olan olgular negatif, %10'dan fazla olan olgular ise pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 1-2).

İstatistiksel Yöntemler: Sağkalım analizlerinde Kaplan-Meier yöntemi, grupların karşılaştırılmasında log-rank testi kullanılarak gruplar arasında progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım açısından fark olup olmadığı araştırıldı, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

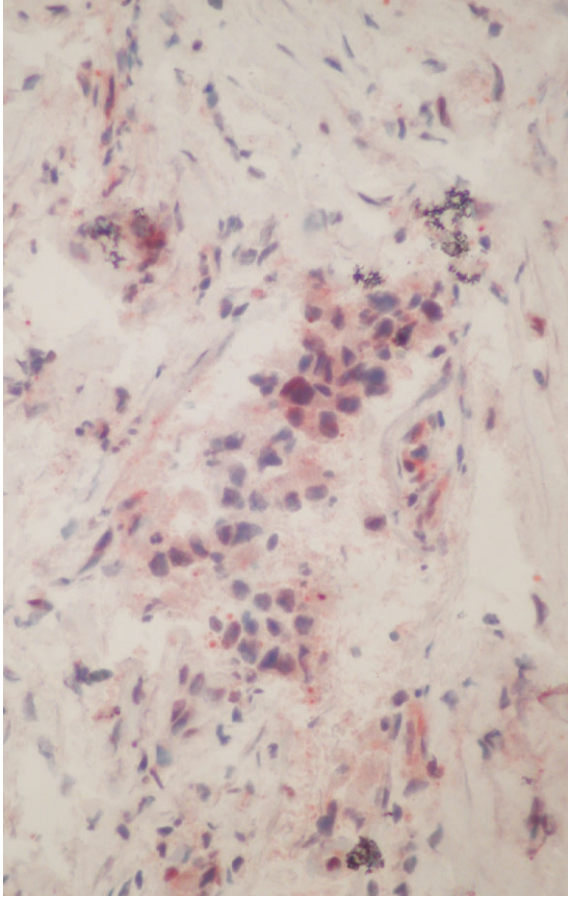
KHDAK nedeni ile histopatolojik olarak NF- κ B'si değerlendirilen 28 olgunun %75'inde (n=21) NF- κ B negatif ve %25'inde (n=7) pozitif bulundu. Tedavi grubu ayırımı yapılmaksızın olgularda 8 aylık progresyonsuz sağkalım NF- κ B negatif grupta %83 iken pozitif grupta %24 olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.046$). Ancak, 15 aylık genel sağkalım NF- κ B negatif grupta %41 iken pozitif grupta %33 olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.94$). Sağkalım analizlerinde, NF- κ B'nin %10'dan fazla pozitif olduğu olgularda progresyona kadar geçen süre, negatif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa saptanmasına rağmen, her iki grup arasında genel sağkalım açısından bir fark bulunmadı. NF- κ B po-

zitif ve negatif gruplara ait progresyonsuz sağkalım eğrileri Şekil 3'de ve genel sağkalım eğrileri de Şekil 4'te gösterildi.

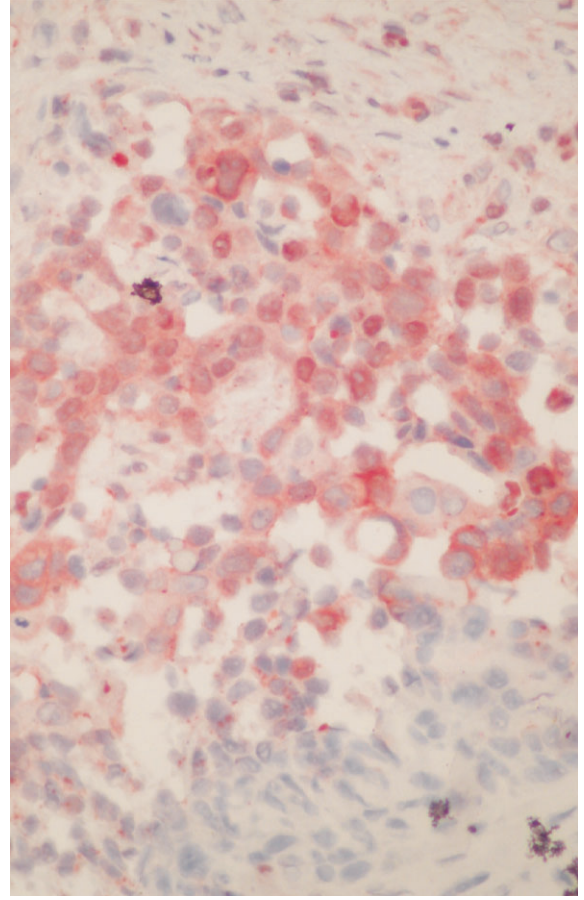
TARTIŞMA

Transkripsiyon faktörlerin bilinen beş proteininden p50 ve p65'in heterodimer bir oluşumu olan NF- κ B, I κ B proteinleri tarafından sessiz (G_0 fazındaki) hücrelerin sitoplazmasında sentezlenir ve inaktif olarak bulunur. NF- κ B sitokinler, γ -irradiyasyon ve bazı kemoterapötik ajanlarla fosforilasyon, ubiquitinasyon ve I κ B'nin proteozom-aracılı degradasyonuna yol açarak aktive olur (17,18). I κ B- α fosforillenerek degrade olur ve sonuçta serbest kalan NF- κ B nükleer translokasyona katılır. Negatif dominant I κ B- α 'nın mutant formunda (mI κ B- α) fosforilasyon olmaz ve NF- κ B'nin serbestleşmesi gerçekleşemez. Böylece I κ B, NF- κ B sinyal transdüksiyon yolunu etkili bir şekilde bloke eder (17). NF- κ B'nin bazı kanser türlerinde (akciğer, mide, prostat gibi) apoptotik hücre ölümünün engellenmesinde önemli rol oynadığına dair yayınlar mevcuttur (19-22).

KHDAK'nin çoğunda, NF- κ B ile ilgili antiapoptotik yolların regülasyon bozukluğu



Şekil 1. KHDAK'li hastada NF-κB negatif tümör hücreleri (x200)

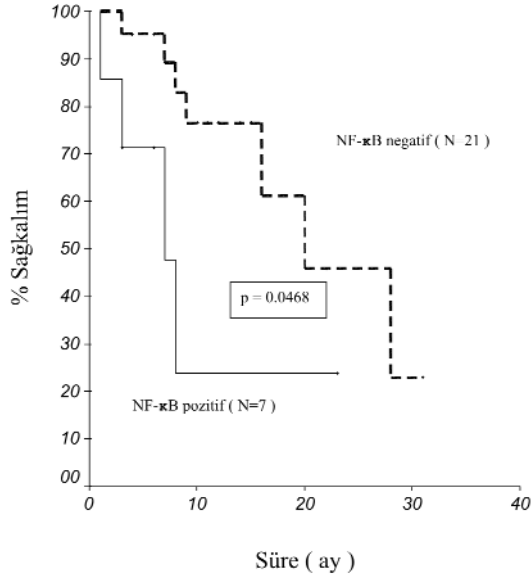


Şekil 2. KHDAK'li hastada NF-κB pozitif tümöral yapı (x200)

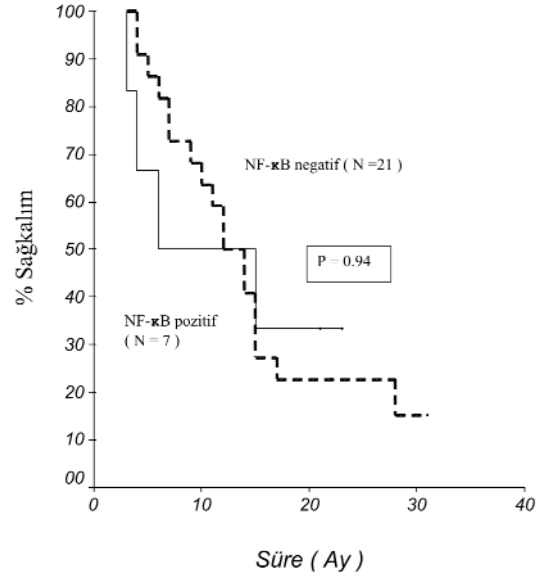
gösterilmiştir. Ayrıca KHDAK'de kemoterapi ve radyoterapi, NF-κB'e bağlı sinyal mekanizmaları ile antiapoptotik ve hücre siklus düzenleyici proteinleri kontrol eder. Preklinik ve faz I klinik çalışmalarla NF-κB inhibisyonunun apoptoza uğrayan KHDAK'nin direncini belirgin olarak azalttığı ve bu hücrelerin kemoterapiye duyarlı hale geldiği gösterildi. Denlinger ve ark. NF-κB ile oluşan antiapoptotik kaskadın değiştirilmesi ve geleneksel veya yeni kemoterapötik ajanlarla kombine edilmesi ile KHDAK'li hastalar için umut verici tedavilerin geliştirilebileceğini bildirmişlerdir (23).

Tek ajan veya üçüncü kuşak kemoterapötik ajanlarla kombine tedavilere rağmen KHDAK'li hastalarda parsiyel yanıt oranları sadece %30-50'dir. Tam

yanıt oranları ise daha da düşüktür. Bundan dolayı KHDAK'li hastalar kemoterapötik ajanlara dirençli kabul edilmektedir. Bu kemorezistans, kemoterapiye bağlı hücre ölümünü regüle eden hücre sinyal mekanizmalarındaki eksiklikleri içeren komplike bir olaydır. Bazı çalışmalarda kemorezistansın, antiapoptotik NF-κB'ye bağlı olduğu bildirilmiştir (24). David ve ark. (19) in vitro olarak KHDAK'inde kemoterapiye bağlı NF-κB aktivasyonunun kemoterapi sonrası hücre sağkalımı için gerekli olduğunu, NF-κB aktivasyonu inhibisyonunun apoptozis ile hücre ölümünün anlamlı kemoduyarlaştığını göstermişlerdir. Bunun sonucu olarak da gelecekte NF-κB'nin lokal, ileri veya metastatik KHDAK'li hastalarda kullanılmak üzere yeni ilaçların gelişmesine yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.



Şekil 3. NF-κB pozitif ve negatif gruplara ait progresyonsuz sağkalım eğrileri.



Şekil 4. NF-κB pozitif ve negatif gruplara ait genel sağkalım eğrileri.

Milligan ve ark. (21) yaptıkları çalışmada proteazom inhibitörleriyle NF-κB inhibisyonunun akciğer adenokarsinom hücrelerinde apoptozisi artırdığını invitro olarak göstermişlerdir. Yamanaka ve ark. (20) ise gastrik karsinomlu olgularda NF-κB düzeyi yüksek saptananlarda genel sağkalımı, NF-κB düzeyi düşük olan gruba göre istatistiksel olarak daha düşük saptamışlardır. Bizim çalışma grubumuzda, NF-κB düzeyinin genel sağkalım üzerine etkisi saptanmamıştır, fakat NF-κB'nin %10'dan fazla pozitif olduğu olgularda progresyona kadar geçen süre negatif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa bulunmuştur.

Sonuçta, NF-κB'nin küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde prognostik faktör olarak önemli olabileceği düşünülmektedir. Ancak büyük hasta serili çalışmalara gereksinim vardır. Bu çalışmaların sonucuna göre de NF-κB, yeni ilaçların ve gen tedavilerinin potansiyel moleküler hedefi olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Friedland DM, Comis RL. Perioperative therapy of non-small cell lung cancer: a review of adjuvant and neoadjuvant approaches. *Semin Oncol* 22,571-81, 1995.
2. Bonomi P. Combined modality treatment for stage III non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 12,41-52, 1995.
3. Perez CA, Brady LW, Halperin EC, Schmidt-Ullrich RK. Lung. In: *Principles and Practice of Radiation Oncology*, Perez CA, Brady LW (eds). 4th ed. Philadelphia J.B. Lippincott, 2004; 1201-43.
4. Feigal EG, Christian M, Cheson B, et al. New chemotherapeutic agents in non-small cell lung cancer. *Semin Oncol* 20,185-201, 1993.
5. Patel AM, Dunn WF, Trastek VF: Staging systems of lung cancer. *Mayo Clin Proc*, 68,475-482, 1993.
6. Engin K, Özyardımcı N: Akciğer Kanseri Tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. 1. baskı, 2001. İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Şti.
7. Kawamukai K, Cesario A, Margaritora S, et al. TNM independent prognostic factors in lung cancer. *Rays*. 29,373-6, 2004.

8. Fontanini G, De laurentiis M, Vignati S, et al. Evaluation of epidermal growth factor-related growth factors and receptors of angiogenesis in completely resected stage I-III non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 4,241-9, 1998.
9. Koomagi R, Volm M. Relationship between the expression of caspase 3 and the clinical outcome in patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 20,493-6, 2000.
10. Soussi T, Legros Y, Lubin R, Ory K, Schlichtholz B. Multifunctional analysis of p53 alteration in human lung cancer: a review. *Int J Cancer* 57,1-9, 1994.
11. Niklinski J, Niklinska W, Laudanski J, Chyczewski L. Prognostic molecular markers in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 34,53-8, 2001.
12. O'Byrne KJ, Koukourakis MI, Giatromanolaki A, et al. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived endothelial cell growth factor and angiogenesis in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 82,1427-32, 2000.
13. Kim DH, Kim JS, Ji YI, et al. Hypermethylation of RASSF1A promoter is associated with age at starting smoking and a poor prognosis in primary non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 63,3743-6, 2003.
14. Vielh P, Spano JP, Grenier J, et al. Molecular prognostic factors in resectable non-small cell lung cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 53,193-7, 2005.
15. Baeuerle PA. Pro-inflammatory signaling: last pieces in the NF- κ B puzzle? *Curr Biol* 8,19-22, 1998.
16. Waddick K, Uckun FM. Innovative treatment programs against cancer: II. Nuclear factor- κ B (NF- κ B) as a molecular target. *Biochem Pharmacol* 57,9-17, 1999.
17. Valentine BA, Edward MS, Edward , et al. Tumor metastasis and the reciprocal regulation of prometastatic and antimetastatic factors by nuclear factor κ B. *Cancer Res* 60,6557-62, 2000.
18. Blackwell TS, Christman JW. The role of nuclear factor- κ B in cytokine gene regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 17,3-9, 1997.
19. Jones DR, Broad RM, Madrid LV et al: Inhibition of NF- κ B sensitizes non-small cell lung cancer cells to chemotherapy induced apoptosis. *Ann Thorac Surg* 70,930-937, 2000.
20. Yamanaka N, Sasaki N, Tasaki A et al: Nuclear factor-kappaB p65 is a prognostic indicator in gastric carcinoma. *Anticancer Res* 24,1071-1075, 2004.
21. Milligan SA, Nopajaroonsri C: Inhibition of NF-KappaB with proteasome inhibitors enhances apoptosis in human lung adenocarcinoma cells in vitro. *Anticancer Res* 21,39-44, 2001.
22. Ismail H, Lessard L, Mes-Masson AM et al: Expression of NF- κ B in prostate cancer lymph node metastases. *The Prostate* 58,308-313, 2004.
23. Denlinger CE, Rundall BK, Jones DR. Modulation of antiapoptotic cell signaling pathways in non-small cell lung cancer: the role of NF-kappaB. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 16,28-39, 2004.
24. El-Deiry WS. Role of oncogenes in resistance and killing by cancer. *Curr Opin Oncol* 9,79-87, 1997.

Yazışma Adresi:

Dr. Celalettin EROĞLU
 Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
 M.K. Dedeman Onkoloji Hastanesi
 Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı
 38039 KAYSERİ

Tel: (0.352) 437 25 83
 Faks: (0.352) 437 86 59
 e-mail: ceroglu@erciyes.edu.tr