

Review Article / Derleme Makale

Pankreas Kanseri NDRG-1'in Rolü ve Potansiyel Etki Mekanizmaları

The Role of NDRG-1 and Its Potential Mechanisms of Action in Pancreatic Cancer

Sinem Raday^{1,2}, Hülya Yılmaz Aydoğan^{*2}

¹İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Kötü prognozu nedeniyle kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biri olan pankreas kanseri (PK), her iki cinsiyet demografisinde en yüksek ölüm/insidans oranına sahiptir. Dünya genelinde ortalama %10'luk beş yıllık genel sağkalım oranı olan PK için 2022 yılında yaklaşık 511.000 yeni vaka ve 467.000 PK-nedenli ölüm bildirilmiştir. Cerrahi rezeksiyon, PK tedavisinde en etkili yöntemdir ancak çoğu hastanın ileri evrede teşhis edilmesi cerrahi tedaviyi kısıtlamaktadır. Standart kemoterapi ajanı olarak kullanılan Gempitabin'in etkinliği ise sınırlıdır. Gempitabin'e kıyasla daha yüksek sağkalım oranına sahip FOLFIRINOX rejimi ise yüksek toksite göstermektedir. Ayrıca kemoterapötik ajanlara direnç gelişimi de tedavi başarısını olumsuz etkilediğinden, PK için günümüzde sıklıkla multidisipliner tedavi yaklaşımları kullanılmaktadır. Tedavideki bu sınırlılıklar nedeniyle yeni ve hedefe yönelik terapötik stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Son çalışmalarda PTEN, SMAD4 ve TP53 gibi tümör baskılayıcılarla etkileşime girdiği ve PI3K/AKT, TGF- β /SMAD4 ve RAS/RAF/MEK/ERK gibi kanserdeki çeşitli önemli sinyal yollarının düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilen N-myc downregulated gene 1 (NDRG1)'in, pankreas kanseri de dahil olmak üzere birçok agresif solid tümörde anti-onkogenik ve anti-metastatik aktiviteler gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca hem çoklu onkogenik sinyal yollarını inhibe etmesi hem de tümör baskılayıcı genlerle etkileşimleri nedeniyle NDRG1'in tümör oluşumunda baskılayıcı bir rol oynayabileceği önerilmektedir. Bu derleme NDRG1'in tümör baskılayıcı genler ile etkileşimi ve sinyal yollarının düzenlenmesindeki fonksiyonları üzerinden PK gelişimindeki etkilerini güncel literatüre dayanarak açıklamaktadır.

Anahtar Kelimeler: NDRG1, SMAD4, Pankreas kanseri, PTEN, TP53.

ABSTRACT

Pancreatic cancer (PC) is a leading cause of cancer-related mortality due to its poor prognosis, and it has the highest mortality/incidence rate in both sex demographics. In 2022, approximately 511,000 new cases and 467,000 PC-caused deaths were reported worldwide, with an average five-year overall survival rate of 10%. Surgical resection is the most effective treatment modality for PC; however, most patients are diagnosed at an advanced stage, which limits the efficacy of surgical intervention. The chemotherapeutic agent Gemcitabine, which is used as the standard chemotherapy agent, is only marginally effective. The FOLFIRINOX regimen, which has a higher survival rate compared to gemcitabine, exhibits high toxicity. The development of resistance to chemotherapeutic agents also negatively impacts the success of treatment, emphasising the need for multidisciplinary

treatment approaches for PC. In recent studies, N-myc downregulated gene 1 (NDRG1), which has been shown to interact with tumor suppressors such as PTEN, SMAD4 and TP53 and to play a role in the regulation of various important signalling pathways in cancer such as PI3K/AKT, TGF- β /SMAD4 and RAS/RAF/MEK/ERK, has shown anti-oncogenic and anti-metastatic activities in many aggressive solid tumors, including PC. It is also suggested that NDRG1 may play a suppressive role in tumorigenesis by inhibiting multiple oncogenic signaling pathways and interacting with tumor suppressor genes. This review describes interaction of NDRG1 with tumor suppressor genes and the effects of its functions in the regulation of signaling pathways on the development of PC based on the current literature.

Keywords: NDRG1, SMAD4, Pancreatic cancer, PTEN, TP53.

1. Giriş

Pankreas kanseri (PK) kötü prognozu nedeniyle dünya çapında en yüksek ölüm / insidans oranına sahip kanserler arasındadır. GLOBOCAN verileri, 2022 yılında dünyada yaklaşık 511.000 yeni PK vakasının tespit edildiğini ve 467.000 kişinin PK nedeniyle yaşamını yitirdiğini göstermektedir (1). Son yıllarda onkoloji alanındaki ilerlemelere rağmen, PK'nin 5 yıllık genel sağkalım oranı geç teşhis ve etkili tedavilerin eksikliği nedeniyle %10'un üzerine çıkamamıştır. Bu nedenle diğer birçok kanser türünde görülen insidans ve mortalite oranlarındaki azalma eğilimi pankreas kanserinde gözlenmemektedir (1).

Pankreas tümörleri köken aldıkları hücre tipine göre ekzokrin veya nöroendokrin (endokrin) kaynaklıdır. PK'nin %90'ından fazlası pankreasın sindirime yardımcı enzimlerinin üretildiği ekzokrin hücrelerden köken alır. PK'nin en yaygın görülen formu olan Pankreatik Duktal Adenokarsinom (PDAC) tüm solid malignitelerin en ölümcül tiplerinden biridir. Nadir görülen diğer ekzokrin tümör varyantları arasında asiner hücreli karsinom, invaziv karsinomlu intraduktal papiller müsinöz neoplazm, invaziv karsinomlu müsinöz kistik neoplazm, pankreablastom, seröz kistadenokarsinom ve solid psödopapiller neoplazm yer almaktadır. Pankreas tümörlerinin yaklaşık %7'sini oluşturan ve PDAC'lara göre daha az agresif bir solid neoplazma olan pankreas nöroendokrin tümörleri (pNET), kendi içlerinde fonksiyonel (hormon üreten) ve non-fonksiyonel (hormon üretmeyen) olarak ayrılırlar. Pankreasta adacık hücreleri adı verilen endokrin hücrelerin anormal büyümesinden kaynaklanan pNET'ler genellikle ekzokrin tümörlerden daha yavaş büyürler (2).

Günümüz PK tedavisinde ön planda izlenen hastanın genel sağlık durumu ve hastalığın evresine göre uyarlanan kombine tedavi yaklaşımlarında cerrahi, radyoterapi ve sistemik kemoterapi gibi çeşitli tedavi modalitelerinin entegre edildiği multidisipliner bir yaklaşım benimsenmektedir. Cerrahi rezeksiyon PK tedavisinde 5- yıllık sağkalımı %20-30'un üzerinde arttıran en etkili yöntemdir. Ancak hastaların büyük

bölümünün cerrahi olarak tedavi edilemeyen ileri evrede tanı alması hem cerrahi yöntemlerle hemde mevcut konvansiyonel kemoterapiyle tedavi başarısını oldukça kısıtlamaktadır (3).

PK, doğası gereği ilaca en dirençli tümörlerden biridir ve kemoterapötik ajanlara karşı gelişen direnç tedavide başarısızlığa neden olmaktadır. Gemsitabin PK tedavisinde kullanılan mevcut standart kemoterapi ajanıdır, ancak karmaşık tümör mikroçevresi ve PK'nin yüksek metastatik özelliği nedeniyle gemsitabin tedavisinde istenen başarı elde edilememiştir (4). Lokal ileri evre ve metastatik PK hastalarında ise, gemsitabin tedavisinden daha üstün, fluorouracil, irinotecan, oxaliplatin ve leucovorin içeren bir multimodal rejim (FOLFIRINOX) uygulanmaktadır. Bu tedavide artan toksisiteye rağmen genel sağkalım süresi Gemsitabin'e kıyasla yaklaşık iki kat artmış ancak bir yılın üzerine çıkamamıştır (5). Bu nedenle, ilaç direncinin üstesinden gelebilecek ve PK teşhisi konan hastaların klinik sonuçlarını iyileştirebilecek yeni ve hedefe yönelik terapötik stratejilerin tasarlanması hala önemli bir ihtiyaçtır.

Etkin PK tedavisi için yeni geliştirilecek terapötik stratejiler hayatta kalma yollarının altında yatan moleküler mekanizmaların daha iyi ve ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasını gerektirir. Benzer şekilde, bu prosurvival yollara karşı koyan genlerin ve proteinlerin tanımlanması da etkili tedavilerin geliştirilmesinde oldukça önemlidir. Bu bağlamda yapılan araştırmalarda, metaztaz baskılayıcı protein olarak da adlandırılan N-myc down-regüle gen 1 (NDRG1)'in pankreas kanseri de dahil olmak üzere, meme kanseri, kolon kanseri ve prostat kanseri gibi agresif solid tümörlerde anti-onkojenik ve anti-metastatik aktivitelerinin olduğu gösterilmiştir (6).

Klinik kanser çalışmalarında *NDRG1* ekspresyon profillerindeki düzensizlik kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Mesane, endometriyal, özofagus skuamöz hücreli karsinom, akciğer ve karaciğer kanserlerinde *NDRG1* ekspresyonu yukarı yönde düzenlenirken (up-regülasyon), gastrik, kolorektal ve yumurtalık kanserlerinde aşağı yönde düzenlendiği (down-regülasyon) rapor edilmektedir (7). Bu nedenle farklı kanserlerde farklı etkileri olan proteinler arasında yer alan NDRG1'in işlevi ağırlıklı olarak anti-onkojenik ve anti-metastatik olarak rapor edilse de, farklı kanserlerde pro-onkojenik olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. NDRG1'in aşırı ekspresyonu, özofagus kanseri (ESCC) ve mide kanseri gibi kanserlerde kötü prognoz ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir. ESCC hücrelerinde NDRG1'in aşırı ekspresyonu, hücrelerin mezenkimal morfolojiye geçişine ve Wnt yolağında yer alan genlerin artışına neden olmuştur. NDRG1'in beyin metastazlarında da önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Mide kanserinde ise NDRG1'in yüksek seviyelerinin E-kaderin azalması ve vimentin artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yüksek

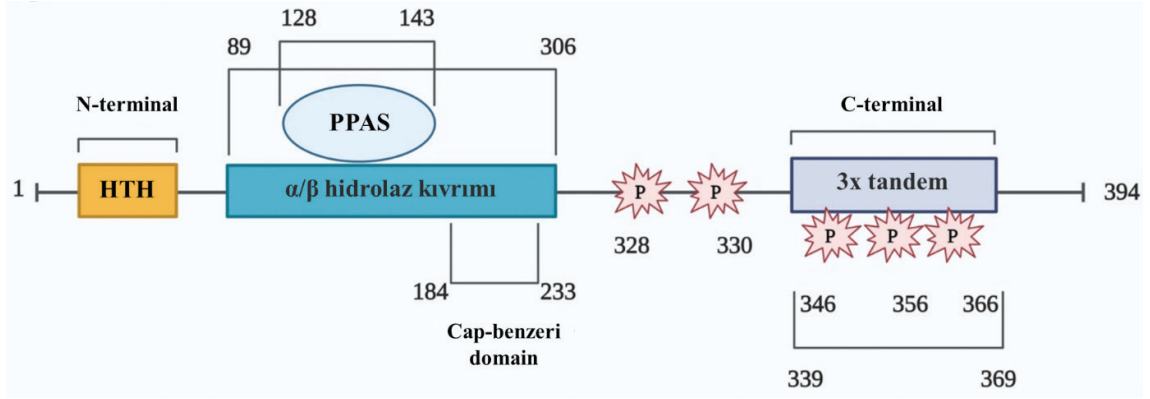
NDRG1 seviyeleri agresif meme kanserinde de kötü klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiş ve NDRG1 ekspresyonundaki azalma ile meme kanseri hücrelerinin göç, koloni oluşumu ve invazyon yeteneklerinin azaldığı bildirilmiştir. NDRG1'in farklı kanserlerde farklı etkileri kısmen onun hücre veya dokuya özgü rolüne işaret edebilir. Öte yandan, NDRG1'in meme kanserinde aşağı yönde düzenlendiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu tutarsızlık, kanser hücrelerinin evresi, derecesi veya diğer patolojik özelliklerindeki farklılıklara atfedilmektedir (7).

Bu derleme tümör baskılayıcı genler ve sinyal yollarının düzenlenmesinde fonksiyon gösteren ve bu nedenle yeni terapötik yaklaşımlarda umut vaat eden NDRG1'in PK gelişimindeki etkilerini güncel literatüre dayanarak açıklamaktadır.

2. NDRG1'in Moleküler Yapısı

NDRG1 geni, *NDRG2*, *NDRG3* ve *NDRG4*'ün de yer aldığı insan NDRG gen ailesinin bir üyesidir. Kromozom haritalama çalışmaları, *NDRG1* geninin sekizinci kromozomun uzun kolunda, 8q24.2 lokusunda yer aldığını ve 43 kDa ağırlığında proteine çevrilen 3 kb'lık bir mRNA kodladığını göstermiştir. NDRG ailesinin tüm üyeleri esteraz-/lipaz-/tioesteraz-aktif bölgesinden oluşan bir NDR alanına ve yaklaşık 220 amino asitlik bir α/β hidrolaz kıvrımına sahip olduklarından α/β hidrolaz süper ailesinde yer alırlar. İnsan NDRG1 proteini; N-terminal bölgesinde helix-turn-helix (HTH) yapısal motifi, C-terminal bölgesinde nikel ve bakır gibi ağır metal iyonlarının bağlanmasında rol oynayan üç decapeptit tandem tekrarı (GTRSRSTSE), fosfopantetein bağlanma bölgesi (PPAS) ve α/β kıvrımında cap-benzeri domain içermesi nedeniyle diğer NDRG proteinlerinden farklılık gösterir (8) (**Şekil 1**).

NDRG1'in serum-glukokortikoid ile indüklenen kinaz (SGK)-1 kataliziyle Thr328, Ser330, Thr346, Thr356 ve Thr366 kalıntılarından fosforilasyonu ardından glikojen sentaz kinaz (GSK-3 β) Ser342, Ser352 ve Ser362 kalıntılarını fosforilasyonuyla sonuçlanır (9). NDRG1 ayrıca protein kinaz C (PKC), kazein kinaz II (KC-II), tirozin kinaz, protein kinaz A (PKA) ve kalmodulin kinaz II (CAMK-II) enzimlerinin bağlanabileceği fosforilasyon bölgeleri de içermektedir. Fosforilasyonun, NDRG1'in lokalizasyonunu etkileyen geri dönüşümlü bir süreç olduğu ve hücre farklılaşması, mitoz sırasında sentromer işlevi ve telofaz sırasında yavru hücrelerin bölünmesi dahil NDRG1'in çoklu fizyolojik işlevleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (10). Tümör varlığında ise nükleer faktör (NF)- κ B sinyal yolunun baskılanması ve CXCR kemokinlerinin ekspresyonu için NDRG1'in Ser330 ve Thr346'da SGK-1 tarafından fosforilasyonunun elzem olduğu gösterilmiştir (11).



Şekil 1. NDRG1 protein yapısının şematik diagramı (7).

CXC kemokinlerinin tümör oluşumu ve metastaz için kritik öneme sahip olan proliferasyon, adezyon ve kemoterapötik ajanlara direnç gibi süreçleri düzenlediği bilinmektedir. Bu nedenle, NDRG1'in fosforilasyonunun, anti-metastatik aktivitesinde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. NDRG1'in 5' ucu, myc onkoproteinlerinin bağlandığı bir CpG adası içermektedir. NDRG1 ifadesinin promotör CpG adası metilasyonu ve histon asetilasyonu tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (12). Birçok kanser türünde, onkoprotein N-myc transkripsiyonel düzeyde NDRG1 ekspresyonunu baskılamaktadır (13).

Myc onkoproteinlerinin CpG adacıklarına bağlanması, metilasyonun NDRG1 ekspresyonunun baskılanmasında potansiyel bir rol oynadığını göstermektedir. Meme (14), mide (15), kolon (16) ve pankreas (17) kanser hücrelerinde yapılan çalışmalar NDRG1'in hipermetilasyona uğradığını ve bu durumun NDRG1 protein seviyelerinin baskılanmasıyla sonuçlandığını rapor etmiştir. NDRG1 promotör bölgesinin metilasyonu meme kanseri hastalarında metastaz, lenf nodu invazyonu ve kötü histolojik derece ile de korele bulunmuştur (14).

3. NDRG1 ve Tümör Baskılayıcılar

3.1. NDRG1 ve PTEN

Kanser gelişiminde yaygın olarak inaktive edilmiş veya mutasyona uğramış bir tümör baskılayıcı protein olarak tanımlanan "Kromozom 10'da silinen fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN)"nın onkogenezi NDRG1 aracılığıyla inhibe ettiği önerilmektedir (18). PTEN'in tümör baskılayıcı faaliyetlerine, normal fizyolojide bağlı olduğu fosfoinozitid 3-kinaz (PI3K)/protein kinaz B (AKT) yolağını inhibe etmesi aracılık etmektedir. İnhibisyon, fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat (PIP3)'ün fosfatidilinositol 4,5-bifosfat (PIP2)'a defosforilasyonu ve böylece fosforile AKT (pAKT) seviyesinin azalması yolu

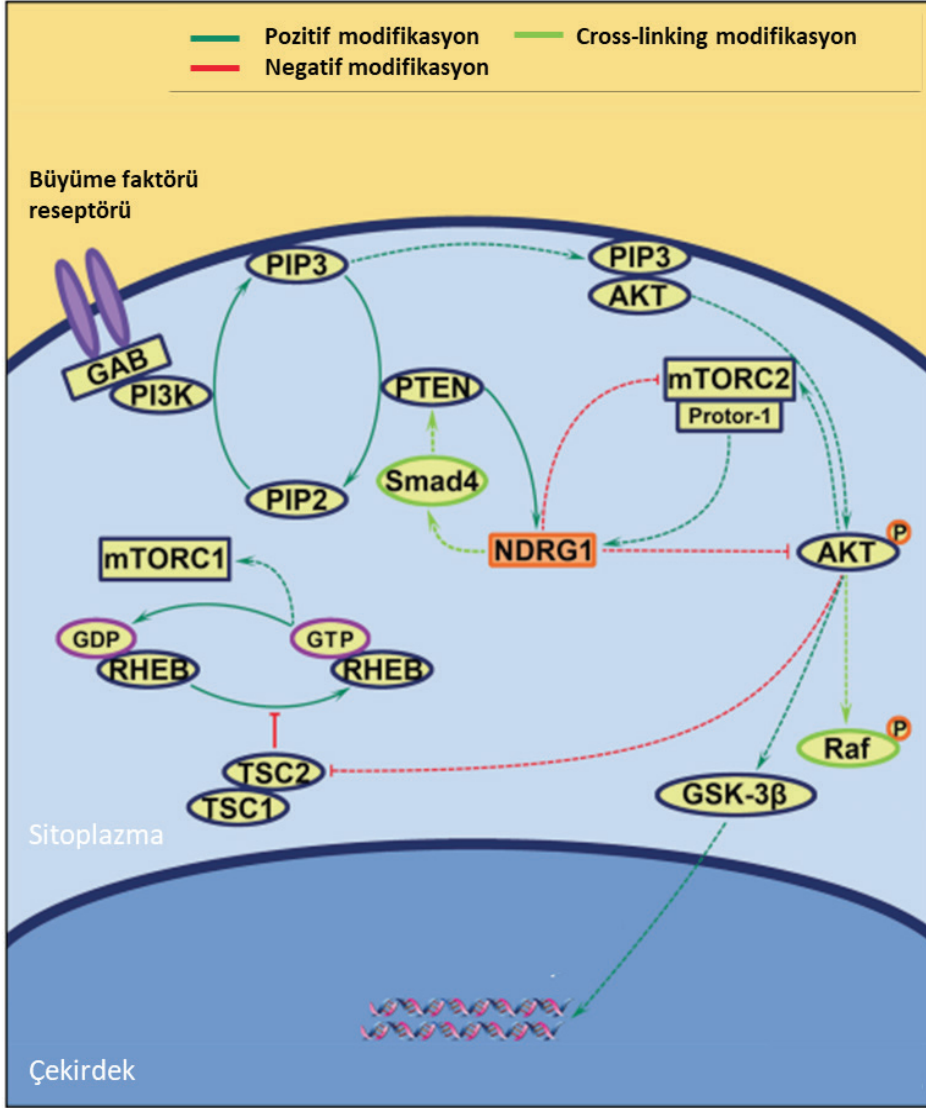
ile gerçekleşmektedir (19). PI3K yolağı ve PTEN, normalde sıkı bir şekilde düzenlenen negatif bir geri bildirim döngüsü oluşturur. Ancak kanser sürecinde bu yollar birbirinden ayrılmakta ve pro-onkojenik PI3K sinyal yolu tümör baskılayıcı PTEN sinyal yolunu bastırmaktadır (19).

Bandyopadhyay ve ark. (2004), çalışmalarında PTEN'in aşırı ekspresyonunun NDRG1'in endojen ekspresyonunu önemli ölçüde upregüle ettiğini, PTEN'in susturucu RNA tarafından (siRNA) inhibisyonunun ise NDRG1 seviyelerini doza ve zamana bağlı bir şekilde azalttığını gözlemleyerek NDRG1 ve PTEN arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, ayrıca PI3K inhibitörlerinden LY-294002'nin NDRG1 ekspresyonunu yeniden arttırdığını göstererek PTEN'in NDRG1'i PI3K/AKT'ye bağlı bir yolla kontrol ettiğini önermişlerdir (20).

NDRG1'in promotör bölgesinde PTEN bağlayıcı bir dizi tespit edilememesine karşın, PTEN sinyal yolağında yer alan bir protein olan BPOZ için (21) NDRG1'in promotör bölgesinde potansiyel bir bağlanma bölgesi tanımlanmıştır. Bu bölgenin varlığı PTEN'in NDRG1'i düzenlediği olası bir mekanizmaya işaret etmektedir. Ayrıca NDRG1'in PK hücrelerinde PTEN ekspresyonunu indüklediğini gösteren son çalışmalar (22) NDRG1 ve PTEN'in pozitif bir geri-besleme döngüsü oluşturduğunu göstermektedir.

NDRG1'in PK hücrelerinde kilit tümör baskılayıcı SMAD4'ün ekspresyonunu da artırdığı gösterilmiş ancak etki mekanizması henüz belirlenememiştir (18). SMAD4 ekspresyonunun artması, PTEN'in TGF- β aracılı baskılanmasını ortadan kaldırarak bu proteinin PI3K/pAKT sinyalini inhibe etmesine olanak tanımaktadır.

İlginç bir şekilde, NDRG1'in ayrıca mTORC2'nin bir bileşeni olan Protor-1 ile bağlantılı olduğu ve Protor-1 delesyonuna sahip farelerin böbrek dokularında NDRG1 seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (23). Bu nedenle NDRG1'in anti-metastatik etkileri onun PI3K/AKT/mTOR yolağıyla çoklu etkileşimlerine atfedilmektedir (24) (**Şekil 2**).



Şekil 2. NDRG1'in, kanser metastazında PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağındaki rolü. Tam çizgiler doğrudan modifikasyonları temsil eder. Kesikli çizgiler dolaylı modifikasyonları temsil etmektedir (24).

3.2. NDRG1 ve p53

Pankreatik duktal adenokarsinomların (PDAC) %50-90'ında bulunan p53 mutasyonlarının karsinogenezi, prognozu ve tedavi yanıtını önemli ölçüde etkilediği bilinmektedir (25). Kromozom 17'de yerleşik *p53* geni, hücre bölünmesini düzenleyerek tümör baskılayıcı olarak işlev görmektedir. p53, DNA hasarı durumunda DNA onarım proteinlerini aktive etme, G1/S kontrol noktasında tutarak hücre döngüsünü durdurma ve DNA'nın onarılamadığı durumlarda apoptozu başlatma gibi birçok işlevi yerine

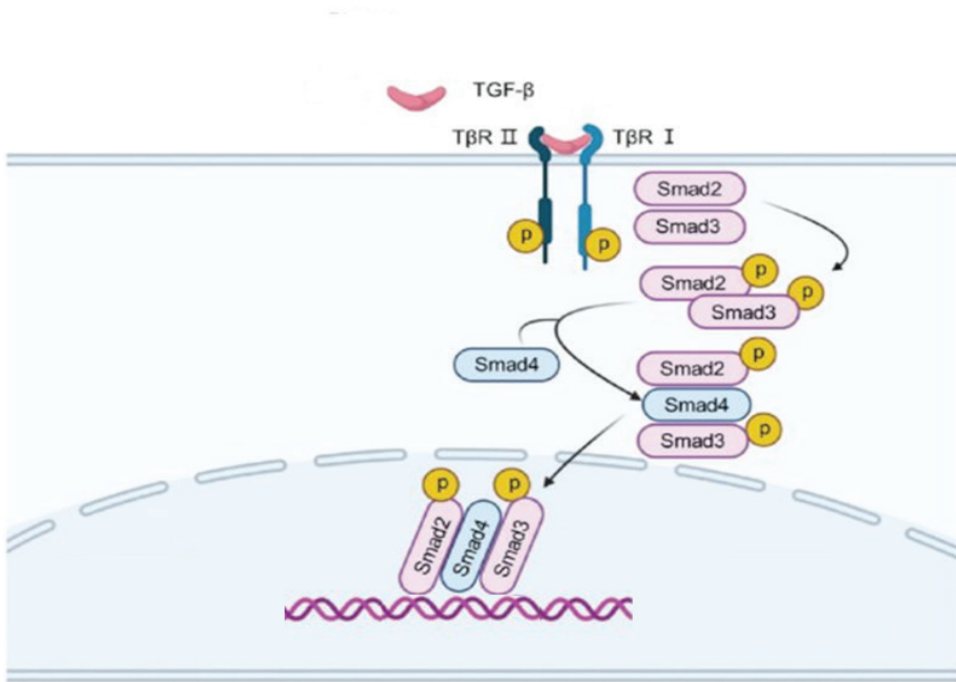
getirir. p53, p21/WAF1 promotörüne bağlanır ve siklin D1 ve siklin bağımlı kinaz-2 (CDK2)'den oluşan kompleksi negatif olarak düzenleyen p21/WAF1 üretimini uyarak hücreyi G1 fazında durdurur, böylece hücre büyümesini engeller (26). İnsan kanser patogeneğinde kritik role sahip p53 gen mutasyonları, kontrolsüz hücre bölünmesine yol açmaktadır. p53 mutasyonlarının yaklaşık üçte ikisi mRNA bozunma mekanizmalarını etkileyen yanlış anlamlı (missense) mutasyonları ve üçte biri erken sonlanma (truncating) mutasyonlarından oluşmaktadır. Bu mutasyonların özellikle fonksiyon kazancı varyantlarının tümör mikroçevresini değiştirerek proliferasyonu ve kemoterapi direncini arttırdığı bildirilmiştir (26).

p53 mutasyonları olan vakalar genellikle KRAS mutasyonlarıyla birlikte görülür ve bu da pankreas karsinogeneğinde erken KRAS tutulumunu düşündürmektedir. KRAS mutasyonları, Raf/mitogenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve AKT dahil olmak üzere birden fazla sinyal yolunu aktive ederek siklooksijenaz-2 (COX-2) transkripsiyonunu etkilemektedir (27). p53 mutasyonları, immün yanıtları, T hücresi farklılaşmasını ve kanserle ilişkili fibroblastlarla (CAF'ler) etkileşimler üzerinden PDAC mikro ortamını etkilemektedir. Yapılan çalışmalar p53'ün metabolik yeniden programlamayı, otofajiyi ve ferroptozu etkileyerek PDAC mikro çevresini şekillendirdiği (28) ve mutant p53'ün (örneğin p53^{R273H}), PDAC hücrelerinin gemitabine karşı direnci arttırdığı gösterilmiştir (29). Genetiği değiştirilmiş farelerde yapılan çalışmalarda KRAS mutasyonu ve mutant p53 (Trp53^{R172H}) birlikteliğinin karaciğer metastazı ve hızlı PDAC başlangıcına yol açtığını göstermiştir. İnsan PDAC örneklerinde de p53 kaybının KrasG12D eksprese eden hücrelerin tutulmasına izin vererek tümör oluşumunu ve KRAS kaynaklı büyüme durmasından kaçışı kolaylaştırdığı ve mutant p53 birikiminin metastazı teşvik ettiği gösterilmiştir (30). Mutasyonların çoğunlukla geç evre pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN)'lerde meydana gelmesi p53'ün PDAC'ye dönüşümü engellemedeki rolünü göstermektedir. p53'ün, NDRG1 promotörüne bağlanması NDRG1 ekspresyonunu indüklemektedir. Bu durum, p53 indüksiyonundan sonra NDRG1'in upregüle edildiği kolon kanseri hücre hatında (DLD-1) tespit edilmiştir. Stein ve ark. (2004) (31), DLD-1 hücrelerinde p53 aracılı apoptoz için gerekli genlerden biri olarak tanımladıkları NDRG1'in p53 indüksiyonunu takiben upregüle olduğunu göstermişlerdir. Bu yanıtın p53 indüklendikten sadece 8 saat sonra ortaya çıkması NDRG-1'in p53 için erken bir hedef olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmada ayrıca p53 ekspresyonunun siRNA kullanılarak seçici olarak susturulması DLD-1 hücrelerinde NDRG-1 ekspresyonunun azalmasıyla sonuçlanmıştır (31). Ardından Croessman ve ark. (2015) (32) çalışmasında NDRG-1'in hücresel proliferasyonu kontrol edebilen p53'e duyarlı bir gen olduğu gösterilmiştir. Her iki çalışma NDRG-1

ekspresyonunun DNA hasarına neden olan ajanlar tarafından p53'e bağımlı bir şekilde indüklendiğini göstermektedir. Bu veriler birlikte ele alındığında kanserlerde sık rastlanan p53 ekspresyon kaybının NRDG-1 ekspresyonunun azalmasından sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

3.3. NDRG1 ve SMAD4

Pankreas kanserinde tanımlanan bir diğer yaygın genetik değişiklik *DPC4* (Pankreas Kanseri lokus 4'te Silinmiş, *SMAD4*) tümör baskılayıcı geninin inaktivasyonudur. Kromozom18 q21.1'de bulunan *DPC4* geni SMAD4'ü kodlamaktadır. SMAD4, hücre büyümesi, farklılaşma, apoptoz ve göç gibi temel hücresel süreçleri yöneten Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF- β) sinyal yolağında önemli bir araçtır. TGF- β ligandının TGF- β tip II reseptörüne (T β RII) bağlanmasıyla başlayan sinyal, TGF- β tip I reseptörünün (T β RI) T β RII ile hetero-tetramerik bir kompleks oluşturmasını sağlamaktadır. Daha sonra T β RI tarafından fosforillenen SMAD2 ve SMAD3, SMAD4 ile bir kompleks oluşturur. SMAD2/3/4 kompleksi çekirdeğe translokasyon yapar ve ko-transkripsiyonel faktörlerle birlikte spesifik DNA bölgelerine bağlanarak apoptoz ve hücre döngüsünün durmasında rol oynayan genlerin aktivesini düzenlerler (33, 34) (Şekil 3).



Şekil 3: TGF- β /SMAD sinyal yolağı (33).

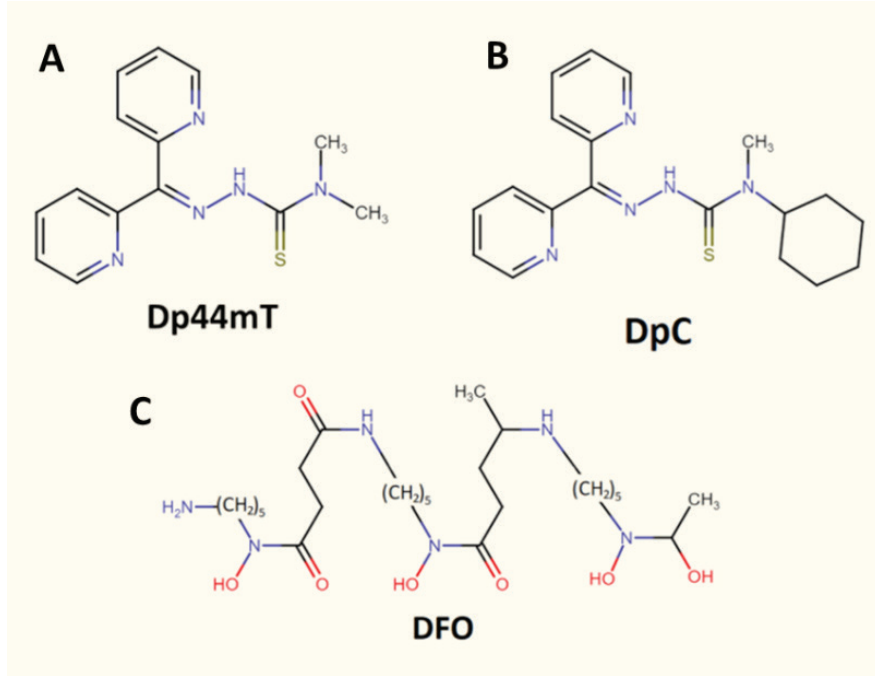
Hücre çoğalmasının kontrolünde, hücre döngüsünün durdurulmasında ve apoptozun başlatılmasında etki göstererek hasarlı hücrelerin ortadan kaldırılmasında rol oynayan SMAD4 tümör oluşumunda önemli bir aracıdır. SMAD4, tümör büyümesi, yara iyileşmesi ve kanser metastazı üzerinde etkili bir süreç olan Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT)'in düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle SMAD4 fonksiyonundaki bozulmanın otofaji, invazyon ve metastazın yer aldığı kanser progresyonuyla ilişkisi onun hücresel tepkiler ve hastalığın tüm sürecinde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (34).

PK'ların yaklaşık %55'inde SMAD4'ü kodlayan *DPC4* geni ya homozigot delesyon (%30) ya da ikinci kopya kaybıyla (%25) birlikte intragenik bir mutasyon sonucu inaktive olmaktadır. SMAD4 değişiklikleri pankreas karsinogenezinde nispeten geç evrelerde meydana gelmektedir. Zayıf farklılaşmış pankreas adenokarsinomunda SMAD4 ekspresyon kaybı önemli ölçüde daha yüksek sıklıktadır. Ayrıca rezeksiyondan sonra sağ kalım süresi sağlam *DPC4* genine sahip PK hastalarında mutant *DPC4* genine sahip hastalara kıyasla daha uzun bulunmuştur. SMAD4 inaktivasyonunun p16/INK4a inaktivasyonu ile birlikte gözlenmesi de onun PK patogenezindeki önemini göstermektedir (35). PK hastalarında yapılan bir çalışmada, vakaların %43'ünde SMAD4 ekspresyonu tespit edilmezken, %45'inde pozitif bulunmuştur. Sağlam SMAD4 ekspresyonuna sahip hastalar SMAD4 ekspresyonu olmayan hastalara göre artmış ortalama sağkalım sergileyerek prognozda önemli ölçüde iyileşme göstermişlerdir (36). Farklı 22 PK hücre hattının analizinde PDAC'la en çok ilişkilendirilen K-ras, p53, p16 ve *DPC4* genlerindeki değişikliklerin dizi analizi ile araştırıldığı bir diğer çalışmada vakaların %32'sinde *DPC4*'ün homozigot delesyonu tespit edilmiş ve bu durum sadece KRAS, p53 ve p16'da eş zamanlı değişikliklerin olduğu vakalarda gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, pankreas karsinomu patogenezinde geç evrelerde *DPC4* inaktivasyonunun gerçekleştiğini düşündürmektedir (37). PDAC progresyonunda SMAD4 varlığı/yokluğuna göre TGF- β 1 ile indüklenen otofajinin araştırıldığı bir diğer çalışmada, otofaji belirteci olan yüksek LC3B ekspresyonunun TGF- β 1 ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada TGF- β 1 ile indüklenen otofajinin SMAD4-negatif hücrelerde daha belirgin olduğu gözlenmiştir. SMAD4-pozitif hücrelerde ise TGF- β 1 indüksiyonu proliferasyonu inhibe edip apoptozu teşvik ederken, hücre migrasyonu ve epitelyal-mezenkimal geçişi arttırarak ikili etki göstermiştir. PDAC hastalarında yapılan çalışmada, SMAD4-negatif vakalarda LC3B ekspresyonunun kötü prognoz ile korelasyonu tespit edilmiş ve potansiyel prognostik bir belirteç olarak önerilmiştir (38).

NDRG1'in PK hücrelerinde anahtar tümör baskılayıcı SMAD4'ün ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. SMAD4 ifadesindeki artış ERK fosforilasyonunu inhibe ederek RAS/RAF/MEK/ERK yolağının inhibisyonuyla sonuçlanmaktadır (18). NDRG1'in neden olduğu SMAD4 ekspresyonundaki artış G1'de hücre döngüsünün durdurulması ve sikline bağımlı kinaz inhibitörü p21'in ekspresyonunun indüklenmesi gibi SMAD4'ün diğer tümör baskılayıcı etkilerinin de aktivasyonuna neden olmaktadır. NDRG1'in TGF- β /SMAD4 sinyal yolağı üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (39), NDRG1 aşırı ekspresyonu durumunda epitelyal belirteçler olan E-cadherin ve β -catenin'in korunduğu ve TGF- β ile uyarılan hücre göçü ve invazyonun inhibe edildiği gösterilmiştir. Aksine, NDRG1 ekspresyonundaki azalma; epitelden fibroblastik benzeri fenotipe morfolojik değişiklikler, EMT'yi indüklemesi aracılığıyla migrasyon ve invazyonda artış yanında TGF- β 'nın onkojenik etkilerinde de artışla ilişkilendirilmiştir. Bu gözlemin arkasındaki mekanizmada NDRG1 ekspresyonu ile protein düzeyinde baskılandığı gösterilen SMAD2, SMAD3, Snail ve Slug moleküllerinin yer aldığı TGF- β yolunun downregülasyon hedefleri yer almaktadır (22, 39). Bulgular birlikte değerlendirildiğinde, NDRG1'in TGF- β ile indüklenen EMT'yi kısıtlayarak metastazı önleyebileceğine işaret etmektedir.

4. Pankreas Kanseri NDRG1 Hedefli Tedavi Yaklaşımları

Mevcut kanıtlar çok sayıda sinyal yolunu düzenleyen NDRG1'in hücre sinyallemesinde merkezi bir rol oynadığına işaret etmektedir. Son çalışmalar NDRG1 ekspresyonunun, di-2-piridilketon tiyosemikarbazonlar sınıfının demir/bakır şelatörleri olan, di-2-piridilketon 4,4 dimetil-3 tiyosemikarbazon (Dp44mT, **Şekil 4A**) ve di-2-piridilketon 4-sikloheksil-4-metil-3 tiyosemikarbazon (DpC; **Şekil 4B**) gibi yeni nesil anti-kanser ajanları tarafından in vitro ve in vivo olarak birçok kanser türünde belirgin şekilde arttırılabildiğini göstermiştir (40).



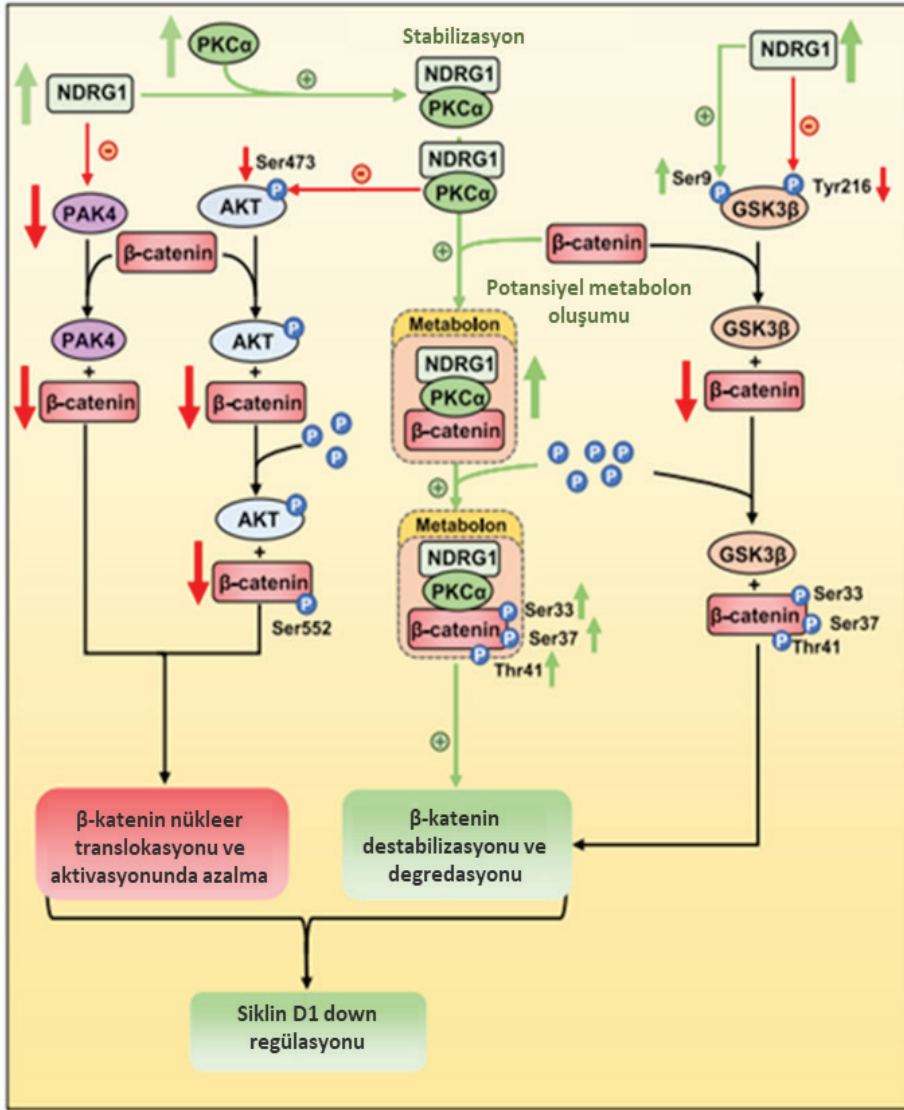
Şekil 4. Metal-bağlayıcı ajanların kimyasal yapıları: **(A)** di-2-piridilketon 4,4 dimetil-3 tiyosemikarbazon (Dp44mT); **(B)** di-2-piridilketon 4-sikloheksil-4-metil-3 tiyosemikarbazon (DpC); **(C)** Desferrioksamin (DFO).

Bu bileşiklerin güçlü ve seçici anti-kanser etkinliğine sahip olduğu ve kanser hücrelerinde hipoksi ile indüklenen faktör-1 α (HIF-1 α) bağımlı ve bağımsız mekanizmalar aracılığıyla NDRG1'i belirgin şekilde arttırdığı gösterilmiştir. Tipik şelatörlerden (örneğin, desferrioksamin (DFO); **Şekil 4C**) farklı olarak bu bileşikler optimum dozlarda tüm vücutta demir ve/veya bakır tükenmesine neden olmayan yeni nesil ligandlardır. Bu ligandların etki mekanizması gerçekte demir ve/veya bakırın bağlanmasını ve sitotoksik reaktif oksijen türleri üreten redoks aktif komplekslerin oluşumuna dayanmaktadır. 'Çift yumruk (double punch)' olarak adlandırılan aktiviteleri hücrelerin proliferasyonu için kritik olan demiri tüketirken aynı zamanda kanser hücresi lizozomlarına zarar veren ve apoptoz ve hücre ölümünü indükleyen redoks aktif demir/bakır komplekslerin oluşumu ile sonuçlanmaktadır (40).

Kovacevic ve ark. (2016), çalışmalarında pankreas ve kolon kanseri hücre hatlarında NDRG1'in epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptörü (EGFR) ve ErbB ailesi üyelerinden insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) ve HER3 üzerindeki rolünü araştırmışlardır (41). Çalışma bulguları NDRG1'in, EGF ligandına yanıt olarak EGFR, HER2 ve HER3'ün ekspresyonunu ve aktivasyonunu önemli ölçüde azalttığını,

aynı zamanda EGFR/HER2 ve HER2/HER3 heterodimerlerinin oluşumunu engellediğini göstermektedir. Bu çalışma ayrıca Dp44mT ve DpC'nin özellikle hücre zarında EGFR seviyelerini önemli ölçüde azalttığını ve EGF'e yanıt olarak EGFR'in aktivasyonunu engellediğini göstermiştir. DpC muamelesi PANC-1 ve HT-29 hücre hatlarında HER2 ve HER3'ün hem düzeylerinde azalma hem de aktivasyonlarının inhibisyonuyla sonuçlanmıştır. İn vitro verilerle uyumlu olarak PANC-1 ksenograftları kullanılarak yapılan in vivo analizler de hem Dp44mT hemde DpC ajanının tümör dokularındaki EGFR, HER2 ve HER3 seviyelerini belirgin şekilde azalttığını göstermektedir. NDRG1 hem Dp44mT hem de DpC tarafından belirgin şekilde upregüle edilmesine rağmen, bu iki ajanın aracılık ettiği EGFR down-regülasyonunun sadece Dp44mT için NDRG1'e bağımlı olduğu gösterilmiştir. Bu durum, iki ajanın yakın yapısal benzerliğine rağmen, DpC'nin EGFR'yi henüz tanımlanmamış başka mekanizmalarla inhibe ettiğine işaret etmektedir. Kovacevic ve ark. (2016) çalışmalarında ayrıca pankreas (PANC-1 ve MIAPaCa-2) ve kolon (HT-29 ve HCT-116) hücre hatlarının Dp44mT ve DpC'ye karşı klinik kullanılan EGFR inhibitörü Erlotinib'e kıyasla çok daha duyarlı olduğunu göstermiştir (41). Dolayısıyla, Dp44mT ve DpC'nin NDRG1 ve EGFR'yi hedefleme ve erlotinib'e karşı direnci aşma yeteneği, kanser tedavisi için yenilikçi bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. PK gibi tedavisi zor bir kanser için NDRG1'in hücrel sinyalizasyonu down-regüle edici etkilerine bir mekanizma öneren bu sonuçlar, geleneksel EGFR inhibitörlerine dirençli tümörlerin tedavisi için de yeni bir yaklaşım ortaya koymaktadır.

Farklı PK hücrelerinde yapılan son çalışmada WNT/ β -katenin sinyalizasyonunun da NDRG1 ekspresyonunun tetiklediği çok yönlü mekanizmalarla inhibe edildiğini göstermiştir (42). NDRG1'in aşırı ekspresyonunun neden olduğu PKCa'nın ekspresyonundaki artışın, NDRG1'in PKCa ile birleşmesine ve PKCa stabilizasyonuna yol açtığı ve böylece β -kateninin spesifik kalıntılarından (Ser33, Ser37 ve Thr41) fosforilasyonu ve degradasyonuna sebep olduğu gösterilmiştir. Bu bulgulara dayanarak protein kinaz Ca (PKCa), NDRG1 ve β -katenin arasında anti-onkojenik aktiviteyi destekleyebilecek potansiyel bir metabolon tanımlamıştır. Artan PKCa ekspresyonu protein kinaz B (AKT) aktivasyonunda da azalmayla ilişkilendirilmiştir. Bu ikincil etkisinin, β -katenin'in Ser552'de AKT aracılı fosforilasyonunda ve böylece transkripsiyonel aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca artan NDRG1 ekspresyonuyla nükleo-sitoplazmik mekik proteini p21-aktivite kinaz 4'ün (PAK4) seviyelerinde de azalma gözlenmiştir (**Şekil 5**) ki bu β -katenin'in transkripsiyonel aktivitesinde azalmayla ilişkilidir (42).



Şekil 5: NDRG1’in aşırı ekspresyonunun, pankreas kanseri hücrelerinde metabolon oluşumunu içeren çok yönlü mekanizmalarla WNT/β-katenin sinyalini engellemesi (42).

Bu bulgular NDRG1’in PK hücrelerinde çok yönlü efektör mekanizmalarla WNT sinyalini ve anahtar down-regülasyon efektör olan siklin D1’in ekspresyonunu inhibe ettiğini önermektedir. Çalışmada ayrıca tiyosemikarbazonlardan Dp44mT, DpC ve (E)-3-phenyl-1-(2-pyridinyl)-2-propen-1-one 4,4-dimethyl-3-thiosemicarbazone (PPP44Mt)’nin genetik olarak aşırı eksprese edilmiş NDRG1’i taklit ettiği ve yukarıda bahsedilen mekanizmaları kullanarak WNT sinyal yolağının inhibisyonunda etkili oldukları gösterilmiştir. PK hücrelerinde Dp44mT, DpC ve PPP44mT’nin PKCα up-regülasyonu, β-katenin ve PAK4 down-regülasyonu, GSK3β ekspresyon ve aktivasyonunun inhibisyonu ve siklin D1 ekspresyonunun

baskılanmasını sağladıkları ve genetik olarak aşırı ifade edilen NDRG1'i taklit ettikleri görülmektedir. SKMel-28 melanom hücrelerinde de NDRG1 indükleyici terapötik ajanların (DpC ve DFO) PKC α proteininin up-regülasyonunu ve β -kateninin down-regülasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, SKMel-28 melanom hücrelerinde, AsPC-1 pankreas kanseri hücrelerinde (pozitif kontrol), T47D meme kanseri hücreleri ile Kelly ve SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde *NDRG1* susturulması PKC α protein seviyelerinde down-regülasyonla sonuçlanmıştır. Bu çalışmalar, farklı kanser türlerinde hem NDRG1'in hemde NDRG1 indükleyici ajanlarının sergiledikleri antitümör aktivitenin, en azından kısmen, PKC α ekspresyonundaki etkileri aracılığıyla gerçekleştiğini öne sürmektedir (40, 43). WNT sinyalizasyonunun hedeflenmesiyle NDRG1'in çok yönlü işlevlerine kanıt sağlayan bu bulgular bu molekülün anti-kanser ajanlarla hedeflenerek PK ile ilerlemesi ve metastazını önlenmesinde potansiyel katkı sağlayabilecek yeni bir tedavi stratejisi sunmuştur.

PK hücrelerinde NDRG1'in ER-stresi aracılı otofajik yolak üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (44), NDRG1'in aşırı ekspresyonunun, PERK/eIF2 eksenini baskılayarak hem bazal hem de ER stresine bağlı otofajiyi inhibe ettiği rapor edilmiştir. NDRG1 aracılı pro-survival otofajik yolağın baskılanmasının apoptozu indüklediğini gösteren çalışmada ayrıca NDRG1'in aşırı ekspresyonu çoklu pro-apoptotik belirteçlerde artışla, anti-apoptotik protein Bcl-2 seviyelerinde ise azalma ile ilişkilendirilmiştir. NDRG1 aşırı ekspresyon ve susturma modellerini kullanarak Dp44mT kaynaklı NDRG1 ve LC3-II ekspresyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, Dp44mT'ün başlangıçta NDRG1 ve LC3-II seviyelerini ve 24 saatlik inkübasyon sonrası otofajiyi indüklediği gözlenmiştir. Buna karşılık, NDRG1 aşırı ekspresyonu bu zaman diliminde Dp44mT kaynaklı LC3-II seviyelerini azaltmıştır. İleri analizlerde, Dp44mT ile muamele edilen hücrelerde endojen NDRG1'in susturulmasının LC3-II seviyelerinde artışla sonuçlanması, Dp44mT'nin LC3-II kaynaklı otofajiyi indükleme yeteneğinin endojen NDRG1 ekspresyonu tarafından baskılandığına kanıt sağlamıştır. Dp44mT tarafından NDRG1 ve LC3-II eşzamanlı olarak upregüle edilirken, NDRG1 stres koşulları altında LC3-II ekspresyonu/otofajiyi baskılayıcı olarak hareket etmektedir. Bu durum NDRG1'in bir stres yanıt proteini olması ve dolayısıyla up-regülasyonunun stres kaynaklı LC3-II ekspresyonu ve otofajiyi baskılamak için işlev görmesiyle açıklanabilir. Bu çalışma NDRG1'in anti-metastatik etki mekanizmalarında onun otofajik inhibitör etkisinin de katkısı olduğunu göstermektedir (44).

Tüm bu çalışmalarda elde edilen veriler, NDRG1'in PK patogenezinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceğini öne sürerek, bu proteinin farmakolojik olarak hedeflenmesinin daha fazla araştırma ve geliştirmeye değer, umut verici bir tedavi stratejisi olabileceğini göstermektedir.

5. Sonuç

Pankreas kanseri, agresif doğası ve konvansiyonel tedavilere direnç göstermesi nedeniyle zorlu bir hastalıktır. Hastalığın daha etkin tedavisi ve sağkalım oranlarının artışı için moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi elzemdir. PK patojenezinde anahtar sinyal yollarını düzenleyerek ve tümör baskılayıcılarla etkileşime girerek önemli rol oynayan NDRG1, hedefe yönelik tedaviler için umut verici bir adaydır. PK hastalarında NDRG1'in işlevini artıran veya aktivitesini taklit eden yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi klinik sonuçları iyileştirebilir. Daha da önemlisi, NDRG1'in etki mekanizmalarını detaylı aydınlatmaya ve klinik uygulamalardaki potansiyelini keşfetmeye odaklanacak gelecekteki araştırmalar PK'nın erken tanısına da olanak sağlayabilir.

Teşekkür

Yazarlar İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne teşekkür ederler.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Araştırma Desteği

Araştırma desteği yoktur.

Yazarların Katkısı

Fikir/Kavram: S. Raday, H. Yılmaz Aydoğan; **Tasarım ve Dizayn:** S. Raday, H. Yılmaz Aydoğan; **Denetleme/ Danışmanlık:** H. Yılmaz Aydoğan; **Kaynaklar:** S. Raday, H. Yılmaz Aydoğan; **Literatür Taraması:** S. Raday; **Yazı Yazan:** S. Raday, H. Yılmaz Aydoğan; **Eleştirel İnceleme:** H. Yılmaz Aydoğan

Kaynaklar

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229-63.
2. Dumlu EG, Karakoc D, Ozdemir A. Nonfunctional Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Advances in Diagnosis, Management, and Controversies. *Int Surg.* 2015;100(6):1089-97.
3. Wood LD, Canto MI, Jaffee EM, Simeone DM. Pancreatic Cancer: Pathogenesis, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterology.* 2022;163(2):386-402.e1.
4. Natsu J, Nagaraju GP. Gemcitabine effects on tumor microenvironment of pancreatic ductal adenocarcinoma: Special focus on resistance mechanisms and metronomic therapies. *Cancer Lett.* 2023;573:216382.

5. Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouche O, Guimbaud R, Becouarn Y, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 2011;364(19):1817-25.
6. Bae DH, Jansson PJ, Huang ML, Kovacevic Z, Kalinowski D, Lee CS, et al. The role of NDRG1 in the pathology and potential treatment of human cancers. *J Clin Pathol*. 2013;66(11):911-7.
7. Ghafouri-Fard S, Ahmadi Teshnizi S, Hussien BM, Taheri M, Sharifi G. A review on the role of NDRG1 in different cancers. *Mol Biol Rep*. 2023;50(7):6251-64.
8. Mustonen V, Muruganandam G, Loris R, Kursula P, Ruskamo S. Crystal and solution structure of NDRG1, a membrane-binding protein linked to myelination and tumour suppression. *FEBS J*. 2021;288(11):3507-29.
9. Murray JT, Campbell DG, Morrice N, Auld GC, Shpiro N, Marquez R, et al. Exploitation of KESTREL to identify NDRG family members as physiological substrates for SGK1 and GSK3. *Biochemical Journal*. 2004;384(3):477-88.
10. Park KC, Menezes SV, Kalinowski DS, Sahni S, Jansson PJ, Kovacevic Z, et al. Identification of differential phosphorylation and sub-cellular localization of the metastasis suppressor, NDRG1. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018;1864(8):2644-63.
11. Murakami Y, Hosoi F, Izumi H, Maruyama Y, Ureshino H, Watari K, et al. Identification of sites subjected to serine/threonine phosphorylation by SGK1 affecting N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1)/Cap43-dependent suppression of angiogenic CXC chemokine expression in human pancreatic cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010;396(2):376-81.
12. Zhang J, Chen S, Zhang W, Zhang J, Liu X, Shi H, et al. Human differentiation-related gene NDRG1 is a Myc downstream-regulated gene that is repressed by Myc on the core promoter region. *Gene*. 2008;417(1-2):5-12.
13. Fernandez PC, Frank SR, Wang L, Schroeder M, Liu S, Greene J, et al. Genomic targets of the human c-Myc protein. *Genes Dev*. 2003;17(9):1115-29.
14. Han LL, Hou L, Zhou MJ, Ma ZL, Lin DL, Wu L, et al. Aberrant NDRG1 methylation associated with its decreased expression and clinicopathological significance in breast cancer. *J Biomed Sci*. 2013;20(1):52.
15. Chang X, Zhang S, Ma J, Li Z, Zhi Y, Chen J, et al. Association of NDRG1 gene promoter methylation with reduced NDRG1 expression in gastric cancer cells and tissue specimens. *Cell Biochem Biophys*. 2013;66(1):93-101.
16. Li Q, Chen H. Transcriptional silencing of N-Myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1) in metastatic colon cancer cell line SW620. *Clin Exp Metastasis*. 2011;28(2):127-35.
17. Angst E, Dawson DW, Nguyen A, Park J, Go VL, Reber HA, et al. Epigenetic regulation affects N-myc downstream-regulated gene 1 expression indirectly in pancreatic cancer cells. *Pancreas*. 2010;39(5):675-9.
18. Kovacevic Z, Chikhani S, Lui GY, Sivagurunathan S, Richardson DR. The iron-regulated metastasis suppressor NDRG1 targets NEDD4L, PTEN, and SMAD4 and inhibits the PI3K and Ras signaling pathways. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(8):874-87.
19. Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, Link W, Leal JF. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008;8(3):187-98.
20. Bandyopadhyay S, Pai SK, Hirota S, Hosobe S, Tsukada T, Miura K, et al. PTEN up-regulates the tumor metastasis suppressor gene Drg-1 in prostate and breast cancer. *Cancer research*. 2004;64(21):7655-60.
21. Unoki M, Nakamura Y. Growth-suppressive effects of BPOZ and EGR2, two genes involved in the PTEN signaling pathway. *Oncogene*. 2001;20(33):4457-65.
22. Kovacevic Z, Chikhani S, Lui GY, Sivagurunathan S, Richardson DR. The iron-regulated metastasis suppressor NDRG1 targets NEDD4L, PTEN, and SMAD4 and inhibits the PI3K and Ras signaling pathways. *Antioxidants & redox signaling*. 2013;18(8):874-87.
23. Pearce LR, Sommer EM, Sakamoto K, Wullschleger S, Alessi DR. Protor-1 is required for efficient mTORC2-mediated activation of SGK1 in the kidney. *Biochemical Journal*. 2011;436(1):169-79.
24. Sun J, Zhang D, Bae D-H, Sahni S, Jansson P, Zheng Y, et al. Metastasis suppressor, NDRG1, mediates its activity through signaling pathways and molecular motors. *Carcinogenesis*. 2013;34(9):1943-54.
25. Mello SS, Flowers BM, Mazur PK, Lee JJ, Muller F, Denny SK, et al. Multifaceted role for p53 in pancreatic cancer suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(10):e2211937120.

26. Liu Y, Su Z, Tavana O, Gu W. Understanding the complexity of p53 in a new era of tumor suppression. *Cancer Cell*. 2024;42(6):946-67.
27. Luo J. KRAS mutation in pancreatic cancer. *Semin Oncol*. 2021;48(1):10-8.
28. McCubrey JA, Yang LV, Abrams SL, Steelman LS, Follo MY, Cocco L, et al. Effects of TP53 Mutations and miRs on Immune Responses in the Tumor Microenvironment Important in Pancreatic Cancer Progression. *Cells*. 2022;11(14):2155.
29. Fiorini C, Cordani M, Padroni C, Blandino G, Di Agostino S, Donadelli M. Mutant p53 stimulates chemoresistance of pancreatic adenocarcinoma cells to gemcitabine. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1853(1):89-100.
30. Morton JP, Timpson P, Karim SA, Ridgway RA, Athineos D, Doyle B, et al. Mutant p53 drives metastasis and overcomes growth arrest/senescence in pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(1):246-51.
31. Stein S, Thomas EK, Herzog B, Westfall MD, Rocheleau JV, Jackson RS, et al. NDRG1 is necessary for p53-dependent apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(47):48930-40.
32. Croessmann S, Wong HY, Zabransky DJ, Chu D, Mendonca J, Sharma A, et al. NDRG1 links p53 with proliferation-mediated centrosome homeostasis and genome stability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(37):11583-8.
33. Hata A, Chen Y-G. TGF- β signaling from receptors to Smads. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2016;8(9):a022061.
34. Zhao M, Mishra L, Deng CX. The role of TGF-beta/SMAD4 signaling in cancer. *Int J Biol Sci*. 2018;14(2):111-23.
35. Xia X, Wu W, Huang C, Cen G, Jiang T, Cao J, et al. SMAD4 and its role in pancreatic cancer. *Tumour Biol*. 2015;36(1):111-9.
36. Tascilar M, Skinner HG, Rosty C, Sohn T, Wilentz RE, Offerhaus GJ, et al. The SMAD4 protein and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2001;7(12):4115-21.
37. Moore PS, Sipos B, Orlandini S, Sorio C, Real FX, Lemoine NR, et al. Genetic profile of 22 pancreatic carcinoma cell lines. Analysis of K-ras, p53, p16 and DPC4/Smad4. *Virchows Arch*. 2001;439(6):798-802.
38. Liang C, Xu J, Meng Q, Zhang B, Liu J, Hua J, et al. TGFB1-induced autophagy affects the pattern of pancreatic cancer progression in distinct ways depending on SMAD4 status. *Autophagy*. 2020;16(3):486-500.
39. Chen Z, Zhang D, Yue F, Zheng M, Kovacevic Z, Richardson DR. The iron chelators Dp44mT and DFO inhibit TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition via up-regulation of N-Myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1). *J Biol Chem*. 2012;287(21):17016-28.
40. Whitnall M, Howard J, Ponka P, Richardson DR. A class of iron chelators with a wide spectrum of potent antitumor activity that overcomes resistance to chemotherapeutics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(40):14901-6.
41. Kovacevic Z, Menezes SV, Sahni S, Kalinowski DS, Bae DH, Lane DJ, et al. The Metastasis Suppressor, N-MYC Downstream-regulated Gene-1 (NDRG1), Down-regulates the ErbB Family of Receptors to Inhibit Downstream Oncogenic Signaling Pathways. *J Biol Chem*. 2016;291(3):1029-52.
42. Gholam Azad M, Hussaini M, Russell TM, Richardson V, Kaya B, Dharmasivam M, et al. Multi-modal mechanisms of the metastasis suppressor, NDRG1: Inhibition of WNT/ β -catenin signaling by stabilization of protein kinase α . *J Biol Chem*. 2024;300(7):107417.
43. Yuan J, Lovejoy DB, Richardson DR. Novel di-2-pyridyl-derived iron chelators with marked and selective antitumor activity: in vitro and in vivo assessment. *Blood*. 2004;104(5):1450-8.
44. Sahni S, Bae D-H, Lane DJ, Kovacevic Z, Kalinowski DS, Jansson PJ, et al. The metastasis suppressor, N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1), inhibits stress-induced autophagy in cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(14):9692-709.