



## Kolorektal Kanser Metastazının Moleküler Mekanizması ve Organotropizm Molecular Mechanism of Metastasis in Colorectal Cancer and Organotropism

Zeynep Sađnak Yılmaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylöl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

### ÖZ

Metastaz, kanser hücrelerinin anatomik olarak uzak organ bölgelerine yayılmasını ve daha sonra yabancı doku mikro ortamlarına adaptasyonunu içeren metastaz kaskadı olarak adlandırılan çok aşamalı moleküler ve biyolojik bir süreçtir. Metastaz, kolorektal kanser (KRK) hastalarında başlıca ölüm nedenidir. KRK'nin en yaygın metastaz bölgeleri karaciğer ve peritondur. Metastaz kaskadında en önemli ve geniş alanı epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) oluşturmaktadır. EMT, transkripsiyon faktörleri, sinyal yollarını ve miRNA'lar gibi birçok faktörün etkili olduğu bir süreçtir. Primer tümörün epitel özellikleri, integrinler ve ekzozomal integrinler, kanser kök hücre fenotipi, miRNA ekspresyonu, anjiogenez ve ekstrasvazyonda etkili faktörler, organların fizyolojik özellikleri ve vaskülarizasyon metastatik yolun belirlenmesine yani organotropizme katkıda bulunmaktadır. Organotropizmde etkili olan bu mekanizmalar ayrıntılı olarak bu derlemede ele alınmaktadır. KRK'de metastaz gelişiminin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması, metastatik KRK hastalarında hedefe yönelik tedavi açısından büyük katkı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** kolorektal kanser, metastaz, organotropizm

### ABSTRACT

Metastasis is a multistep molecular and biological process called the metastasis cascade that involves the anatomically spread of cancer cells to distant organ regions and their subsequent adaptation to foreign tissue microenvironments. Metastasis is the major cause of death in colorectal cancer (CRC) patients. Liver and peritoneum are the most common metastasis sites of CRC. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) constitutes the most important and wide area in the metastasis cascade. EMT is a process in which many factors such as transcription factors, signal pathways and miRNAs are effective. Epithelial characteristics of the primary tumor, integrins and exosomal integrins, cancer stem cell phenotype, miRNA expression, factors affecting angiogenesis and extravasation, physiological characteristics of organs and vascularization contribute to the determination of the metastatic pathway, namely organotropism. These mechanisms that are effective in organotropism are discussed in detail in this review. A better understanding of the mechanisms underlying metastasis development in CRC will greatly contribute to targeted therapy in metastatic CRC patients.

**Keywords:** colorectal cancer, metastasis, organotropism

**Başvuru Tarihi:** 13.03.2021 **Kabul Tarihi:** 25.10.2021

**Correspondence:** Zeynep Sađnak Yılmaz, Dokuz Eylöl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

**E-mail:** zeynep.sagnak@hotmail.com

Kocaeli Medical Journal published by Cetus Publishing.

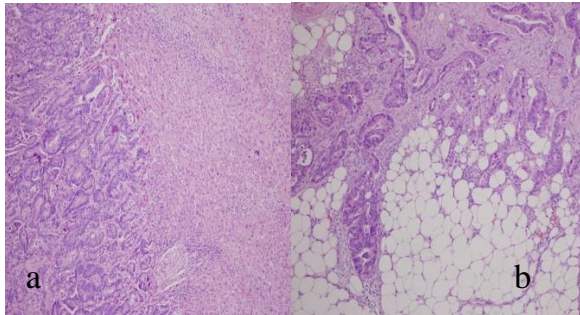


Kocaeli Medical Journal 2021 <https://kocaelimj.org>

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial International License.

## GİRİŞ

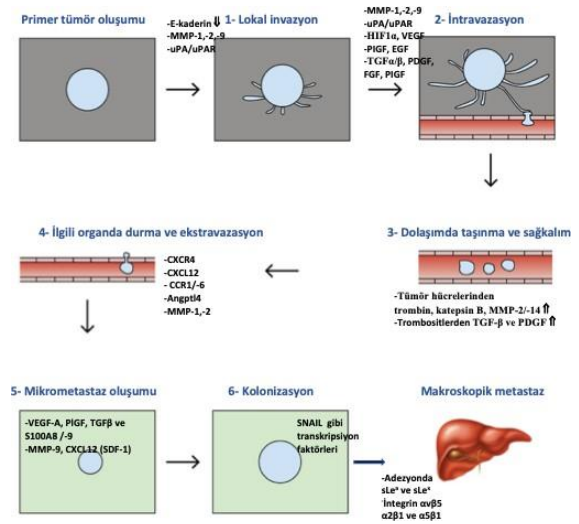
Kolorektal kanser (KRK) tüm kanserler arasında üçüncü sırada görülmektedir (1). Hastaların çoğunun başlıca ölüm nedeni metastazdır. KRK en sık karaciğere ve peritona metastaz yapmaktadır (Şekil 1) (2). Bunu akciğer metastazı izlemektedir. Kemik ve beyin metastazı ise nadir olarak saptanmıştır (3). Hastaların yaklaşık %20'si en sık karaciğerde olmak üzere senkron metastaz göstermektedir ve yaklaşık %60 kadarı 5 yıl içinde uzak metastaz geliştirmektedir (2). Periton metastazı ise hastaların %25'inde izlenmektedir ve kötü prognozla ilişkilidir (4). KRK'de peritoneal yayılım, diğer organlara metastaz olmadığı takdirde tümörün lokal olarak agresifleşmesi olarak yorumlanabilir (5). Bu derlemede moleküler ve biyokimyasal olarak karmaşık bir süreç olan metastazın tüm basamakları irdelenmiş olup KRK'nin metastazında organotropizmde etkili faktörler incelenmiştir. Ayrıca KRK'nin en sık metastaz yaptığı bölgeler olan karaciğer ve periton metastazı arasındaki moleküler farklılıklardan da bahsedilmektedir.



**Şekil 1:** a- Kolon adenokarsinomun karaciğer metastazının mikroskopik incelemesi. Sağda karaciğer parankim dokusu, solda adenokarsinoma ait malign glandüler yapılar izlenmektedir. (Hematoksilen & Eozin x 100). b- Kolon adenokarsinomun periton metastazının mikroskopik incelemesi. Periton yağ dokusunda malign glandlar görülmektedir (Hematoksilen & Eozin x 100).

## METASTAZIN MEKANİZMASI

Metastazın hücresel ve moleküler temelini anlamak için en çok bilinen yaklaşım, Isaiah J. Fidler tarafından 2003 yılında önerilen ve ardından 2011 yılında Scott Valastyan tarafından uyarlanan invazyon-metastaz kaskadı kavramıdır (6,7). Metastaz kaskadı, lokal invazyon, intravazyon, dolaşımda taşınma ve sağkalım, ilgili organda durma ve ekstravazyon, mikrometastaz ve metastatik kolonizasyon olmak üzere altı basamak altında toplanmaktadır (7,8) (Şekil 2).



**Şekil 2:** Metastaz oluşum basamakları ve her basamakta etkili medyatörler gösterilmektedir.

### Lokal İnvazyon - Epitelyal Mezenkimal Geçiş (EMT)

Epitelyal hücreler tarafından eksprese edilen bir transmembran protein olan E-kaderin, epitel hücre polaritesini korumada ve hücrelerin epitel özelliklerini sürdürmesini sağlayan hücre-hücre temaslarının sabitlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (9). Epitelyal mezenkimal geçiş (EMT), epitel hücrelerinin hücre-hücre etkileşimini kaybetmesini ve invazyon ile metastaz için gerekli olan mezenkimal özellikler kazanmasını sağlayan bir programdır. Artmış hareketlilik, invazivlik, apoptoza karşı artan direnç ve ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin bozulması bu geçişi desteklemektedir (10). E-kaderinin aşağı regülasyonu (down regülasyon) hücreler arası

etkileşimi azaltarak lokal invazyonun ilk basamağını oluşturmaktadır (11). E-kaderin ekspresyonunun azalması lenf nodu metastazı, ileri evre, kötü diferansiyasyon ve vasküler invazyon ile ilişkilidir. E-kaderin düzeyindeki azalmayı, genellikle epitelyal olmayan dokularda bulunan bir adezyon molekülü olan N-kaderin düzenlenmesi izler. N-kaderin, fibroblast büyüme faktörü (FGF) reseptörü sinyali ve nükleer- $\beta$  katenin aktivitesini artırarak tümörün ilerlemesini desteklemektedir. KRK'de E-kaderin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri doğrudan ve dolaylı inhibitör olmak üzere iki gruba ayrılabilir. SNAI1 ve 2, ZEB1 ve 2, E12 / E47, Brachyury ve AP4 transkripsiyon faktörleri doğrudan E-kaderin promoterine bağlanır ve doğrudan E-kaderin inhibisyonuna sebep olur. Dolaylı inhibitör olan TWIST1,2, FOXC2, TCF4, SOX2, OCT4, Nanog, PROX1, SIX1, PRRX1, HMGA1 ve Fra-1 transkripsiyon faktörleri ise E-kaderin transkripsiyon inhibitörlerini aktive ederek etki gösterir. KRK'lerde AP4, SOX2 ve OCT4 inhibitörleri özellikle karaciğer metastazını indüklemektedir. SNAI2'nin ekspresyon artışı, güçlü vimentin ekspresyonu ile önemli ölçüde ilişkilidir ve hem SNAI2 hem de vimentin ekspresyonu, lenf nodu metastazı ve kötü prognoz ile bağlantılıdır (2). Primer tümörden ayrılış sonrası tümör hücreleri, matriks metalloproteinaz (MMP)-1,-2,-9 ve proteolitik ürokinaz tipi plazminojen aktivatör sisteminin (uPA/uPAR) aktivasyonu sonucu ECM'yi yıkar. Böylece EMT, migrasyon ve sonrasında bazal membrana adezyon gerçekleştirilir (12). Tümör invazyonu ile birlikte genellikle stromada yanıt olarak makrofajlar, nötrofiller, dendritik hücreler ve T ile B lenfositlerden oluşan inflamasyon izlenmektedir. Sitotoksik CD8 (+) T lenfositler tümör hücrelerinin eliminasyonunu kontrol eder ve yüksek CD8 infiltrasyonu gösteren tümörler, düşük metastaz ve iyi prognoz ile ilişkilendirilmektedir. CD4 (+) T lenfositler ise makrofajları aktive ederek tümör hücrelerinde epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) sinyali aktive ederek tümör invazyonunu desteklemektedir (7,8).

EMT süreci, tümör mikroçevresindeki çok sayıda hücre dışı sinyal tarafından tetiklenir ve ardından iç sinyal yollarının aktivasyonu sağlanır. Tüm ana sinyal yollarının EMT'de etkileri olduğu ve KRK ilerlemesine farklı şekilde katkıda bulunduğu bilinmektedir. WNT sinyal yolağının anormal

aktivasyonu  $\beta$ -katenin bağımlı sinyali artırarak tümör ilerlemesini desteklemektedir. WNT yol ağının anormal aktivasyonu  $\beta$ -katenin'i yıkan kompleksin inhibisyonuna yol açarak serbest sitozolik  $\beta$ -katenin düzeyini arttırmaktadır.  $\beta$ -katenin de nükleusa yer değiştirerek WNT hedef gen transkripsiyonunu indükleyen transkripsiyon faktörü TCF4'e bağlanıp hücre proliferasyon artışına sebebiyet vermektedir. E-kaderin baskılayıcıları olan ZEB1 ve SNAI1'in aktivasyonu ve MT1-MMP9 ve LAMC2'nin yukarı regülasyonu (up regülasyonu) KRK'nin invazyon yeteneğine destek olmaktadır. APC ve AXIN2 gibi tümör baskılayıcı genlerin inaktive edici mutasyonları, WNT yolağının up regülasyonuna yol açarak EMT'yi teşvik etmektedir (13).

KRK'lerin %40-50'sinde transforme edici büyüme faktörü (TGF)- $\beta$  / SMAD sinyal yolunu inaktive eden mutasyonlar tespit edilmiş olup tümör invazyonunu desteklemektedir. Mutasyonların yokluğunda, SMAD2 ve 3 TGF- $\beta$  tarafından aktive edilir ve SMAD4 ile birlikte çekirdeğe aktararak transkripsiyonu düzenler. Mutasyonların varlığında, SMAD4 kaybı STAT3'ün baskılanmasına engel olacak ve bu durum da STAT3'ün anormal aktivasyonu ve E-kaderin, N-kaderin ve vimentin ekspresyonunun artmasına sebebiyet verecektir (2). KRK'lerde SMAD4 kaybı metastatik KRK'lerin %30'unda bulunur ve karaciğer metastazını öngören bir proteindir (14). ADAM9, membrana sabitlenmiş bir metalloproteazdır ve ECM'nin bir komponentidir. Metastatik KRK'lerde ADAM9 düzeyi artış göstermektedir. KRK'nin karaciğer metastazında hepatik stellat hücreleri tarafından salgılanan ADAM9, KRK hücrelerine bağlanarak tümör-ECM etkileşimi yoluyla karsinom invazyonunu desteklemektedir (2).

### **İntravazasyon**

Tümör hücreleri venler ve lenfatik damar içerisine girerek intravazasyon basamağını gerçekleştirmektedirler. Bu işlemde lokal invazyondan sorumlu MMP-1,-2,-9 ile uPA/uPAR rol oynamaktadır. Ayrıca vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) yeni damarların oluşumunu sağlayarak tümörün beslenmesini ve oksijen desteğini sağlamaktadır (12). Anjiyogenez, tümör büyümesinde ve metastatik tümör hücrelerinin taşınmasında çok önemli bir adım olarak kabul edilir. Anjiyogenez sadece tümör büyümesini

sürdürmek için değil, aynı zamanda mevcut dolaşım sistemine bağlanan yeni damarlar oluşturarak tümör hücrelerinin vasküler yatağa girmesini sağlamak için de gereklidir. Bu vasküler yeniden şekillenme, endotel hücrelerinin proanjiyogenik faktörlerle aktivasyonunu gerektirmektedir (15). VEGF aile üyeleri olan VEGF A, B, C, D ve plasental büyüme faktörü (PIGF) anjiyogenezin en önemli indüktörleri olarak kabul edilmektedir (16). Hipoksi, hipoksi ile indüklenebilir faktör1-alfa (HIF1 $\alpha$ ) aracılığı ile hipoksik hücrelerden VEGF salınımına yol açmaktadır. VEGF ekspresyonu için diğer tetikleyiciler epidermal büyüme faktörü (EGF), TGF- $\alpha$  ve - $\beta$ , trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve FGF'dir (2).

IL33, tümör hücreleri, mikroçevre ve anjiyogenezin kendi içinde etkileşimde olmasını sağlayan bir medyatördür. Tümör hücreleri tarafından salgılanan bu sitokin, VEGF salgılayan miyeloid hücreleri toplayarak anjiyogenezi indüklemektedir. Ayrıca, makrofajları ve miyeloid hücreleri hareket ettirerek stromayı metastatik mikroçevre için uygun hale getirmektedir. Böylece KRK'nin karaciğer metastazını dolaylı olarak teşvik etmektedir (17).

### **Dolaşımda Taşınma ve Sağkalım**

Tümör hücrelerinin çoğunluğu hemodinamik süreçler, sitotoksik immün hücrelerin saldırısı ve anoikis adı verilen apoptozis mekanizması sonucu dolaşımdan uzaklaştırılır ve metastaz önlenir. Tümör hücrelerinin küçük bir kısmı ise dolaşımda hayatta kalarak metastaz oluşturmaktadır (18). Tümör hücreleri integrin gibi moleküllerde değişiklik meydana getirerek anoikisten kaçabilmektedirler (7). Ayrıca tümör hücreleri trombin, katepsin B, kanser prokoagülanları ve MMP-2, MMP-14 salgılayarak kendi etrafında trombosit agregasyonunu sağlar ve böylece immün cevaptan kendilerini korurlar (19). Trombositlerden salınan TGF- $\beta$  ve PDGF, doğal öldürücü (NK) hücrelerin aktivitesini inhibe eder. Trombositler, fibrinojen ile birleşerek kanser hücrelerini NK hücrelerden fiziksel olarak korurlar. Bu trombosit kılıf tümör hücrelerinin ekstrasvazasyonu ve uzak organ metastaz bölgesine yerleşiminde de etkilidir (20).

### **İlgili Organda Durma ve Ekstrasvazasyon**

Tümör hücrelerinin belirli dokularda metastaz göstermesine doku tropizmi denir ve mekanizması henüz tam olarak anlaşılammıştır. Bununla birlikte organlara özgü kemokinlerin salınımı ve tümör yüzeyinde bu kemokinlere uygun reseptörlerin bulunması tümör hücrelerini metastaz yapacağı organa çekmektedir. En iyi bilinen örnek, akciğer kanserinde kemokin reseptörü 4'ün (CXCR4) ekspresyonudur. CXCR4 ekspresyonuna sahip tümörler, ligandı olan C-X-C kemokin ligand 12 (CXCL12)'yi yüksek düzeyde eksprese eden organlara göç etmektedir. CXCR4'ün ayrıca bazı mide, kolorektal ve pankreas karsinomlarında salgılandığı gösterilmiştir. Gastrointestinal kanserlerde karaciğer metastazına özgü diğer reseptörler CXCR1/-2 ve kemokin reseptörü (CCR)1/-6'dır (8). EGFR eksprese eden tümör hücreleri ise daha çok santral sinir sistemini (SSS) tercih etmektedirler (21). Doku tropizmi yalnızca tümörün gideceği metastatik bölgeleri tahmin etmeye yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda gelecekte antimetastatik ilaç tedavisi için bir hedef olabilir (8).

Dolaşımdaki tümör hücreleri, organların damar sistemine ulaştıklarında öncelikle lümen içinde büyüyerek mikrokoloni oluştururlar. Sonrasında ise ekstrasvazasyon ile organ parankim dokusuna ulaşırlar (22). Uzak organda durma ve ekstrasvazasyon aşamasında tümör hücrelerinin damardan ayrılması anjiopietin-4 ve MMP-1, MMP-2 faktörlerinin vasküler geçirgenliği artırması ile gerçekleştirilmektedir (7). Ekstrasvazasyon, trombositler ve nötrofiller aracılığıyla da desteklenmektedir (20). Tümör hücrelerinin öncelikle stromadaki inflamasyonu uyararak ve inflamasyonu kendi lehine kullanarak metastazı desteklediği bilinmektedir. Stromadaki CD4 (+) T lenfositler de tümör ilişkili makrofajları (TAM) uyararak tümör hücrelerindeki EGFR sinyal yolağını aktive ederek bu sürece katkıda bulunmaktadır. IL-4 ise meme kanseri hücreleri tarafından salgılanmaktadır ve TAM'lardaki katepsin proteaz aktivitesini uyararak tümör hücrelerinin invazyon yeteneğini arttırdığı bilinmektedir (21).



### Mikrometastaz Oluşumu

Ekstravazasyondan sonra, dolaşımdaki tümör hücreleri hedef organ dokusuna ulaşarak burada yaşamaları için belirli koşullar yaratması gerekmektedir. Yeni mikroçevreye zayıf adaptasyon nedeniyle çoğu tümör hücresi ya ekstravazasyondan sonra elimine edilir ya da yıllarca latent halde kalır. Bu hücreler, sonradan hipoksi, fibrozis, iltihaplanma gibi mikroçevredeki prometastatik değişiklikler ile aktive edilebilmektedir (20). Tümör hücreleri, büyüme faktörleri olan VEGF-A, PlGF, TGF- $\beta$  ve inflamatuvar proteinler olan S100A8/-9'un metastaz yapacağı bölgede up regülasyonuna yol açar. Henüz tümör hücrelerini barındırmayan ve metastaza zemin hazırlayan bu ortam premetastatik niche (niş) olarak adlandırılmaktadır (23). VEGF reseptörü ekspresyon eden hematopoietik kök hücreleri kemik iliğinden metastaz alanına doğru yol alırlar. Bu hücreler MMP-9 salgılayıp integrinleri uyarırlar. Böylece tümör hücreleri için kemoatraktan olan CXCL12, diğer adıyla stromal hücreden türetilmiş faktör-1 (SDF-1) salınımı gerçekleşmiş olur (21).

### Metastatik Kolonizasyon

Oluşan mikrometastazlar farklı doku ya da organlara giderek makroskopik metastaz oluşturabilir. Kanser hastalarının %50'sinde bu metastaz odakları saptanmaktadır. Bazı durumlarda tümör hücreleri adaptif (edinsel) immünite sayesinde metastatik odak oluşturmadan kemik iliğinde yıllarca sessiz kalabilmektedir. Bu duruma metastatik latency (latensi) denilmektedir. Metastatik latensinin otokrin WNT inhibisyonu ile kontrol edildiği yakın zamanda ispat edilmiştir (24). Bir süre sonra SNAIL gibi transkripsiyon faktörlerinin aktifleşmesi gibi genetik modifikasyonlar ve mikroçevre etkisi ile immünsupresyon oluşması tümör hücrelerinin metastaz yapmasını desteklemektedir (8,18,25).

### ORGANOTROPİZMDE ETKİLİ FAKTÖRLER

Her organın vasküler besin kaynağı ve stromal bileşenleri farklılık göstermektedir. Bu nedenle kanser hücreleri farklı organlara metastaz yapabilmektedir (26). Organa özgü dolaşım sistemi ve damarların anatomisi metastatik yayılmayı etkilemektedir. Ancak bu, çoğu kanserde gözlemlenen organa özgü metastaz yani

organotropizmi tam olarak açıklamamaktadır (27). Farklı kanser hücreleri tarafından salınan faktörler ve tümör hücreleri ile mikroçevresi arasındaki etkileşim de metastatik organotropizmden sorumludur. Şu ana kadar malign epitelyal tümörlerde organotropizm üzerine az çalışma mevcut olmakla birlikte yakın zamanda organotropizmin metastatik süreçte çok önemli bir rol oynadığı keşfedilmiştir (2).

### Epitel Hücre Özellikleri

p120 katenin, adezyon sırasında E-kaderinin bağlayıcı ve stabilize edici ortağıdır. Mono-allel p120 katenin kaybı, karaciğer metastazını hızlandırmaktadır. Bununla birlikte, her iki p120 katenin allelinin kaybı, karaciğer metastazının gerçekleşmemesi ile sonuçlanmaktadır. Bunun nedeni, kanser hücrelerinin komşu epitelyal hücreler ile yeni temaslar kuramamasıdır. Bununla birlikte, akciğer organotropizmi, bi-allel p120 katenin kaybı olan hücrelerde de gösterilmiştir. Yani akciğer metastazı p120 katenin ekspresyonundan bağımsızdır. Karşılaştıracak olursak epitel hücrelerinin karakterleri ve özelliklerinin korunması, karaciğer organotropizmi için gerekli görülürken akciğer organotropizminde etkisi olmadığı sonucu ortaya çıkmaktadır. Karaciğer metastazında p120 katenin ve E-kaderin gibi faktörler aracılığıyla epitel hücre metastazı desteklenirken bir yandan E-kaderin baskılanmasının EMT ana mekanizması oluşu bir paradokstur ve metastatik kaskadın karmaşıklığını ispat etmektedir (28).

### İntegrinler

Lenfosit fonksiyonu ile ilişkili antijen-1 (LFA-1), immün hücrelerin inflamasyon altında karaciğeri istila etmek için kullandıkları adeziv bir integrindir. Ancak son zamanlarda bu integrinin, KRK dahil solid tümörler üzerinde de ekspresyon edildiği gösterilmiştir. LFA-1'in  $\beta$ 2 alt birimi integrin aktivasyonu, adezyon ve sinyal iletimi için gereklidir ve KRK tümör hücrelerinde karaciğer organotropizmini modüle etmektedir (29). Kemokin olan CXCL12'nin, reseptörü CXCR4'e bağlanması, karaciğer metastazını indükleyerek tümör hücrelerinin ekstravazasyonunu kolaylaştırmaktadır.  $\alpha$ 2 $\beta$ 1 ve  $\alpha$ 5 $\beta$ 1, tümör hücre yüzeyinde ekspresyon edilen ve karaciğer stromasıyla etkileşime girmeyi

sağlayan integrin kompleksleridir. Bu integrinlerin azalması ise tümör hücrelerinin ECM bileşenleri ile doğrudan etkileşimini önleyerek karaciğer metastazını önlemektedir (30).

Tümör hücreleri tarafından sentezlenen ekzozomal integrinler, tümör hücresi henüz yerleşmeden metastaz organında mikroçevre olarak tanımlanan premetastatik niş oluşumunu başlatmaktadır. Ekzozomal integrinler, inflamasyonu uyararak ve SRC proto-onkogen tirozin kinaz (SRC) aktivasyonu ve S100 ekspresyonu yoluyla vasküler geçirgenliği arttırarak bu mikroçevreye yayılmış tümör hücrelerinin ekilmesi için bir alan hazırlamaktadır. Kupffer hücrelerine bağlanan integrin  $\alpha\beta 5$ , karaciğer metastazı ile ilişkili bulunmuştur (31).

### **Anjiogenez ve Lenfanjiogenez**

HIF1 $\alpha$  ve VEGF yanı sıra TWIST proteinlerinin ekspresyonunun artışı anjiogenezi uyarmaktadır. İlginç bir şekilde, meme kanserinden kaynaklanan karaciğer metastazlarının hipoksi sonucu artmış anjiogeneze bağımlı olmadığı tespit edilmiştir. KRK karaciğer metastazlarında ise bu hipoksiye bağlı mekanizmalar etkili bulunmuştur (32). KRK'deki metastaz mekanizmaları göz önüne alındığında, anjiogenezin hepatik ve peritoneal yayılma arasında farklılık gösterdiği görülmektedir. Karaciğer metastazları, hematojen yayılmanın sonucudur. Primer tümörün etrafında yeni küçük damarların oluşumu da tümör hücrelerinin kan dolaşımına girmesine yardım etmektedir. Tümör hücreleri karaciğere ulaştıklarında, metastatik odağın büyümesi ve proliferasyonu için tekrar anjiogenez gereklidir. Primer tümörün kendisi ve karaciğer parankim hücreleri VEGFR-1 eksprese ederek metastatik süreci desteklemektedir (2). Peritoneal karsinomatozis, hematojen yayılım ile değil lenfatik yayılım ile veya periton boşluğuna tümör hücresinin geçişi ve devamında peritonun daha uzak bölgelerine ilerlemesi ile ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, anjiogenez, bu yayılımda anahtar bir unsur olarak görülmemektedir ancak tümör hücrelerinin peritona ulaştıktan sonra proliferasyonu ve büyümesi için anjiogenez gereklidir (33). Ayrıca peritoneal karsinomatoziste anoikisten kaçınmak için kallikrein ile ilişkili peptidazlar (örn: KLK7) aktive edilir ve tümör

hücreleri kümeler oluşturarak çoğalır. Bu mekanizma tümör hücrelerinin kimyasal ve mekanik olarak trombositler tarafından korunduğu hematojen yayılmadan farklıdır (34).

Lenfanjiogenezden bahsedecek olursak VEGF reseptör 3 (VEGFR-3) aracılığıyla etki gösteren VEGF-C/-D, kanserde lenfanjiogenezin esas düzenleyicisidir. Artmış VEGF-C/-D ekspresyonu, lenfatik damar yoğunluğu ve lenf nodu metastazı artışına sebep olmaktadır. Lenfatik endotelial hücrelerde VEGFR-3 aktivasyonu, MAPK ve AKT sinyal yollarını da indükleyerek hücre proliferasyonu ve göçü ile apoptozdan kaçışı sağlamaktadır (8). Lenfatik endotelial hücreler (LEH) ve tümör hücreleri arasındaki hücreye özgü etkileşimler, lenfatik damar invazyonunda önemli bir yer kaplamaktadır. Tümör hücresinin LEH'lere kemotaksisi ve çoğalması, 'kemotaksis -lenfanjiogenez hipotezi' olarak adlandırılmaktadır ve tümör kaynaklı VEGF-C tarafından yönlendirilmektedir. VEGF aile üyelerine ek olarak, çok sayıda başka büyüme faktörünün, lenfatik damarların gelişimi, proliferasyonu, dallanması ve korunmasında önemli roller oynadığı bilinmektedir. Bunlar arasında PDGF-BB, FGFF2, anjiyopoietin 1 ve 2, hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (GF-1 ve IGF-2) yer almaktadır. Yapılan çalışmalar LEH'lerin kanser hücrelerini doğrudan çekebilen kemotaktik maddeler salgıladığını göstermektedir. LEH tarafından sekrete edilen kemokinlerin (CCL21/SLC, CXCL12/SDF-1) tümör hücrelerinde yer alan reseptörlere (örn: CCR-7, CXCR-4, CXCR-3) spesifik olduğu ortaya koyulmuştur (35).

### **Kanser Kök Hücre Fenotipi**

Kanser kök hücreleri güçlü bir migrasyon ve invazyon yeteneğine sahiptir. KRK'deki metastatik yayılmanın, kanser kök hücre belirteçlerinin farklı ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. KRK'de karaciğer metastazı CD133, CD44 ve  $\beta$ -katenin ekspresyonu ile bağlantılıdır. Oysa peritoneal karsinomatoziste bu kök hücre belirteçlerinin ekspresyonu bulunmaz (36). OCT4 gen ekspresyonu artışının karaciğer metastazını indüklediği tespit edilmiştir. Gene kök hücre

belirteçlerinden Notch1 ve ALDH1, lenf nodu metastazı, ileri evre ve tümör nüksü ile ilişkilidir (2). Ayrıca kanser kök hücreleri TGF- $\beta$  reseptörlerini veya SMAD sinyal dönüştürücü proteinlerini devre dışı bırakan mutasyonlar nedeniyle genellikle TGF- $\beta$ 'ya yanıt vermez. Bununla birlikte, bu hücreler, stromal fibroblastlardan IL-11 üretimi ile karaciğerde metastaz oluşumunu arttıran TGF- $\beta$ 'yi bol miktarda salgılar. IL-11 daha sonra KRK kök hücrelerinde karaciğerde hayatta kalmayı destekleyen STAT3 sinyalini aktive etmektedir (27). Deneysel bir çalışmada akciğer metastatik kanser kök hücrelerinin TGF- $\beta$ 3 sekrete ederek akciğer fibroblastlarında ECM proteini periostinin ekspresyonunu uyardığı saptanmıştır. Artan periostin seviyeleri WNT sinyalini uyararak sonuçta akciğer kolonizasyonunu desteklemektedir (37).

### miRNA

EMT'nin düzenlenmesinde yer alan çok fazla miRNA olduğu unutulmamalıdır. miRNA'ların sadece EMT'de değil, aynı zamanda premetastatik nişte metabolizmayı değiştirerek ve kanser kök hücresi aracılı metastazı düzenleyerek organotropizmde de rol oynadıkları gösterilmiştir. KRK ve peritoneal karsinomatozisli hastalar yüksek miR-31-5p ekspresyonu gösterirken, KRK ve karaciğer metastazı olan hastalar düşük bir miR-31-5p ekspresyonu göstermektedir (38). Metastatik kolonizasyonda miR-20 aşırı ekspresyonunun akciğerin metastatik kolonizasyonunu desteklediği bilinmektedir (39). Ayrıca karaciğere metastaz yapan KRK hücrelerinde down regüle edilen iki mikroRNA (miR-551a ve miR-483) tespit edilmiş olup bu durum beyin tipi-kreatin kinazın (CKB) ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır. Kanser hücreleri, karaciğerdeki yüksek seviyelerde CKB'yi biyoenerjik ihtiyaçları için kullanmaktadır. MikroRNA miR-200 ise EMT ile karmaşık bir şekilde bağlantılıdır ve aşırı ekspresyonu, akciğerin metastatik kolonizasyonunu desteklemektedir (27).

### Organların Özellikleri ve Vaskülarizasyon

Beyindeki veya akciğerlerdeki damarların tersine, hepatik vaskülarizasyon sinüzoidal endotelden oluşur yani organize subendotelyal bazal membrana sahip değildir. Bu sebeple, tümör hücre ekstrasvazasyonu karaciğerde, beyin veya akciğerlere

göre daha kolay sayılabilir (40). Hematojen yayılda KRK hücrelerinin hepatik sinüzoid endoteline tutunması CD44'un hiyaluronik aside bağlanması ve kan grubu antijenleri sLe<sup>a</sup> ve sLe<sup>x</sup>'in selektinlere ve müsinlere bağlanmasını gerektirmektedir. Veriler, kan grubu antijenlerinin yalnızca hematojen yayılda rol oynadığını, adezyon moleküllü olan L1CAM ve proteoglikanların ise yalnızca peritoneal yayılmaya katkıda bulunduğunu göstermektedir (2). Bununla birlikte, karaciğer parankimi, doğuştan gelen immün sistem hücreleri açısından zengindir ve bu da aslında potansiyel olarak kanser hücrelerine engel teşkil etmektedir. Bununla birlikte pro-apoptotik TNF ilişkili apoptozu indükleyen ligandın (TRAIL) karaciğerde yerleşik NK hücre aktivasyonunu inhibe edici de metastazı arttırmaktadır (27). Bazı kanser hücreleri glikoziltransferazlar St6GalnAc4 ve C2GnT2'yi eksprese eder. Böylece galektin-3 ligandının tümör hücreleri üzerindeki glikozilasyonu değişmekte ve galektin-3 eksprese eden miyeloid hücreler ile etkileşim artmaktadır. Anormal glikozilasyon ve yüksek galektin-3 seviyeleri metastatik ilerleme ile ilişkilidir (41). Deneysel modellerde, meme kanseri hücreleri ve hepatositler arasındaki klaudin-2 aracılı hücre-hücre etkileşimleri, Met reseptör tirozin kinazın (c-Met) indüksiyonuna ve karaciğer metastazının uyarılmasına yol açmıştır. KRK ve akciğer kanseri hücreleri, karaciğer metastazını destekleyen kemokin ligandı 2 (CCL2) ve IL-6 gibi faktörler aracılığıyla miyeloid hücre popülasyonlarını harekete geçirdiği ortaya koyulmuştur (27,41).

Akciğer kılcıl damarları, bir bazal membran ve bitişik alveolar hücrelerle çevrelenmiş endotel hücreleri ile kaplıdır (26). Bu yapısal engelleri aşmak için meme kanseri ve melanom hücrelerinin SPARC ve ANGPTL4 gibi spesifik medyatörler eksprese ettiği saptanmıştır. Bu medyatörlerin ekspresyonu, endotelyal hücreler arasındaki hücre-hücre bağlantılarını ayırarak akciğerdeki tümör hücrelerinin ekstrasvazasyonunu desteklemektedir (27). Akciğer parankimindeki ekstrasvazasyondan sonra, tümör-stroma etkileşimleri, kanser hücrelerinde hayatta kalması ve kolonizasyonunda kritik bir rol oynamaktadır. Akciğer metastatik kanser kök hücrelerinin periostinin ekspresyonu WNT sinyalini uyararak sonuçta akciğer kolonizasyonunu



desteklemektedir. Ayrıca fibroblastlar veya tümör hücrelerinin heksamerik glikoprotein tenasin C (TNC) ekspresyonu, Notch sinyal çıkışını güçlendirerek tümör hücrelerinin hayatta kalmasını ve akciğerde kolonizasyonunu sağlamaktadır (27,37).

Kemik metastazında ise kemik iliğindeki sinüzoid adı verilen küçük kan damarları, hematopoietik hücrelerin geçişine izin vermek için fenestre endotel ile kaplanmıştır. Dolaşımdaki tümör hücrelerinin kemik iliği sinüzoidlerinden geçişi kılcal damarlara göre daha kolaydır. Ek olarak osteoblastlar da kanser hücrelerini kemik iliğine toplayan CXCL12, RANKL, OPN veya BMP gibi çeşitli kemotaktik faktörler salgılamaktadır (42). Kemik iliğine ekstrasvazyondan sonra, kanser hücreleri, CXCL12 ve IGF1 gibi faktörlerin salınımını artırarak PI3K-AKT sinyalini uyararak kanser hücrelerinin hayatta kalmasını sağlamaktadır. SRC sinyalinin yüksek aktivasyonu ve CXCR4'ün yüksek ekspresyonuna sahip kanser hücreleri, kemik iliğinde tümör hücrelerinin sağkalımını artırarak metastaza destek olmaktadır. Ek olarak, yüksek SRC aktivitesinin TRAIL'in proapoptotik sinyaline engel olduğu gösterilmiştir (27,43). Ayrıca  $\alpha 4\beta 1$  integrin ve ligandı ile vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM1) ekspresyonu, mikrometastaz oluşumuna destek olmaktadır (27). SSS'ye metastaz, esas olarak beyin parankimini ve leptomeninksi içermektedir (44). Beyin parankimine girmek için, kanser hücrelerinin kan-beyin bariyerini oluşturan mikrokapiller duvarı geçmesi gerekir. Bu alan bazal membran, perisitler ve astrosit uzantıları ile kaplanmış sıkıca bağlı endotel hücrelerinden oluşmaktadır. Bu engeli aşmak ve beyin parankimine erişmek için kanser hücreleri özel mekanizmalara ihtiyaç duymaktadır. Sialil transferaz ST6GalNac5, COX2, HB-EGF, MMP-2, mir-105 ve proteaz katepsin S bu işlemin moleküler medyatörlerinden bazılarıdır (27). Metastatik kanser hücreleri, beyin parankiminde çeşitli hücre tipleriyle karşılaşmaktadır. Özellikle astrositler, kanser hücrelerine büyümeye izin veren bir mikro ortam sağlayabilmektedir. Fakat öncelikle kanser hücrelerinin astrosit kaynaklı hücre ölümünden kaçabilmesi gerekir. Beyin metastazının ksenograft modellerinde, aktive edilmiş astrositler pro-apoptotik sitokin Fas ligandını (FasL) aşırı eksprese ettiği ve metastatik hücreleri

öldürmek için plazminojen aktivatörü salınmasını sağladığı gösterilmiştir. Beynin metastatik hücreleri, anti-plazminojen aktivatörü eksprese ederek tümör hücrelerini FasL etkisinden koruyarak hayatta kalmasını sağlamaktadır (45). Hayatta kalan kanser hücreleri, metastazı destekleyen Notch sinyal aktivasyonu ve endotelin üretimini sağlamak için de astrositleri indüklemektedir. Ayrıca WNT yolağı tarafından düzenlenen lenfoid güçlendirici bağlayıcı faktör 1 (LEF1) ve Homeobox proteini HoxB9 genleri özellikle beyne metastatik hücre istilası ve koloni oluşumunda rol oynamaktadır. Beyin metastazlı hastalar WNT hedef genlerinde ekspresyon artışı göstermektedir (27).

Peritona istila, tümör hücreleri veya stromal hücreler tarafından salgılanan MMP'ler (MMP-2,-7,-9) gibi proteolitik enzimler gerektirmektedir. İstiladan sonra, tümör hücrelerinin sadece yeni mikro ortamda hayatta kalması değil, aynı zamanda IGF-1 ve HIF1 $\alpha$  ve VEGF gibi anjiyogenez teşvik edici faktörlerle birlikte proliferasyonu sürdürebilmesi lazımdır. IGF-1 mRNA'nın, karaciğer metastazlarına kıyasla peritoneal yayılmada aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir (34). Bununla birlikte peritoneal metastazda mikroçevrede peritoneal makrofajlar, mezotelyal hücreler ve fibroblastlar bulunmaktadır. Peritoneal invazyon, tümörün ilerlemesini ve metastazı kolaylaştıran, invaziv tümör mikro ortamını oluşturan, peritoneal elastik laminanın ötesinde tümör invazyonu olarak tanımlanır. Periton sıvısında bulunan mezenkimal kök hücre özelliklerini gösteren CD90 (+) / CD45 (-) mezotelyal benzeri hücrelerin periton boşluğunda metastazı arttırdığı çalışmalarda saptanmıştır. Bu hücreler kollajen 1, alfa düz kas aktini ( $\alpha$ -SMA) ve vimentin eksprese ederek miyofibroblastlara benzer şekilde davranır ve böylece tümör mikroçevresi yaratarak peritoneal metastaz gelişiminde destekleyici bir rol oynamaktadır (46).

## Sonuç

Kanser hücrelerinin metastazı, sayısız farklı gen ve yolun dahil olduğu karmaşık bir süreçtir. Kanser hücreleri, metastatik potansiyele ulaşmak için çok aşamalı bir süreçten geçerek sonunda



uzak organlarda metastaz yapmaktadır. Bu derlemede, KRK'nin metastatik yayılım süreci moleküler mekanizmalar ışığında incelemiştir ve organotropizmde etkili faktörler açıklanmıştır. Mevcut veriler, EMT'nin tümör yayılımının özellikle başlangıç aşamalarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Yapılan çalışmalar da tümör mikroçevresinin tümör proliferasyonundan periton veya uzak organlarda kolonizasyonuna kadar metastazın tüm aşamalarında önemli bir rol oynadığını kanıtlamaktadır. KRK hücrelerinin yayılma yolunu nasıl seçtikleri ve özellikle KRK açısından organotropizmin altında yatan mekanizmalar ortaya çıkarılmaya yakın zamanda başlanılmıştır. Yeni çalışmalar ile metastatik organotropizmde altta yatan mekanizmaların açıklığa kavuşturulması hedefe yönelik tedavi açısından büyük katkı sağlayacaktır. Özellikle metastatik kolonizasyonun en kritik medyatörlerini belirlemek bu konuda en faydalı yol gösteren olacaktır.

### TEŞEKKÜR

Değerli katkıları için Prof. Dr. Safiye Aktaş'a teşekkürlerimi sunarım.

### KAYNAKLAR

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394-424. Erratum in: *CA Cancer J Clin.* 2020;70:313.
2. Pretzsch E, Bösch F, Neumann J, Ganschow P, Bazhin A, Guba M, et al. Mechanisms of Metastasis in Colorectal Cancer and Metastatic Organotropism: Hematogenous versus Peritoneal Spread. *J Oncol.* 2019;2019:1-13.
3. Qiu M, Hu J, Yang D, Cosgrove DP, Xu R. Pattern of distant metastases in colorectal cancer: a SEER based study. *Oncotarget.* 2015;6(36):38658-66.
4. Segelman J, Granath F, Holm T, Machado M, Mahteme H, Martling A. Incidence, prevalence and risk factors for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Br J Surg.* 2012;99(5):699-705.
5. van Gestel YRBM, Thomassen I, Lemmens VEPP, Pruijt JFM, van Herk-Sukel MPP, Rutten HJT, et al. Metachronous peritoneal

carcinomatosis after curative treatment

- of colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2014;40(8):963–9.
6. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer.* 2003;3(6):453–8.
  7. Valastyan S, Weinberg RA. Tumor Metastasis: Molecular Insights and Evolving Paradigms. *Cell.* 2011;147(2):275–92.
  8. Pachmayr E, Treese C, Stein U. Underlying Mechanisms for Distant Metastasis - Molecular Biology. *Visc Med.* 2017;33(1):11–20.
  9. van Roy F. Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(2):121–34.
  10. Cao H, Xu E, Liu H, Wan L, Lai M. Epithelial–mesenchymal transition in colorectal cancer metastasis: A system review. *Pathol - Res Pract.* 2015;211(8):557–69.
  11. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-Mesenchymal Transitions in Development and Disease. *Cell.* 2009;139(5):871–90.
  12. Chiang SPH, Cabrera RM, Segall JE. Tumor cell intravasation. *Am J Physiol Physiol.* 2016;311(1):C1–14.
  13. Novellademunt L, Antas P, Li VSW. Targeting Wnt signaling in colorectal cancer. A Review in the Theme: Cell Signaling: Proteins, Pathways and Mechanisms. *Am J Physiol Physiol.* 2015;309(8):C511–21.
  14. Reinacher-Schick A, Baldus SE, Romdhana B, Landsberg S, Zapatka M, Mönig SP, et al. Loss of Smad4 correlates with loss of the invasion suppressor E-cadherin in advanced colorectal carcinomas. *J Pathol.* 2004;202(4):412–20.
  15. Weis SM, Cheresh DA. Tumor angiogenesis: molecular pathways and therapeutic targets. *Nat Med.* 2011;17(11):1359–70.
  16. Dimova I, Popivanov G, Djonov V. Angiogenesis in cancer - general pathways and their therapeutic implications. *J BUON.* 2014;19(1):15–21.
  17. Zhang Y, Davis C, Shah S, Hughes D, Ryan JC, Altomare D, et al. IL-33 promotes growth and liver metastasis of colorectal cancer in mice by remodeling the tumor microenvironment and inducing angiogenesis. *Mol Carcinog.* 2017;56(1):272–87.

18. Kozłowski J, Kozłowska A, Kocki J. Breast cancer metastasis – insight into selected molecular mechanisms of the phenomenon. *Postepy Hig Med Dosw.* 2015;69:447–51.
19. Jurasz P, Alonso-Escolano D, Radomski MW. Platelet-cancer interactions: mechanisms and pharmacology of tumour cell-induced platelet aggregation. *Br J Pharmacol.* 2004;143(7):819–26.
20. Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell.* 2017;168(4):670–91.
21. Özkara G, Öztürk O AH. Kanser ve metastaz: Hücre Adezyon Molekülleri ve Hücreler Arası Bağlantıların Önemi. *Experimed.* 2020;10(1):38–48.
22. DeNardo DG, Barreto JB, Andreu P, Vasquez L, Tawfik D, Kolhatkar N, et al. CD4+ T Cells Regulate Pulmonary Metastasis of Mammary Carcinomas by Enhancing Protumor Properties of Macrophages. *Cancer Cell.* 2009;16(2):91–102.
23. Psaila B, Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(4):285–93.
24. Malladi S, Macalinao DG, Jin X, He L, Basnet H, Zou Y, et al. Metastatic Latency and Immune Evasion through Autocrine Inhibition of WNT. *Cell.* 2016;165(1):45–60.
25. Farahani E, Patra HK, Jangamreddy JR, Rashedi I, Kawalec M, Rao Pariti RK, et al. Cell adhesion molecules and their relation to (cancer) cell stemness. *Carcinogenesis.* 2014;35(4):747–59.
26. Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(4):274–84.
27. Obenauf AC, Massagué J. Surviving at a Distance: Organ-Specific Metastasis. *Trends in Cancer.* 2015;1(1):76–91.
28. Reichert M, Bakir B, Moreira L, Pitarresi JR, Feldmann K, Simon L, et al. Regulation of Epithelial Plasticity Determines Metastatic Organotropism in Pancreatic Cancer. *Dev Cell.* 2018;45(6):696–711.
29. Benedicto A, Marquez J, Herrero A, Olaso E, Kolaczowska E, Arteta B. Decreased expression of the  $\beta 2$  integrin on tumor cells is associated with a reduction in liver metastasis of colorectal cancer in mice. *BMC Cancer.* 2017;17(1):827.
30. Chen W, Hoffmann AD, Liu H, Liu X. Organotropism: new insights into molecular mechanisms of breast cancer metastasis. *npj Precis Oncol.* 2018;2(1):4.
31. Hoshino A, Costa-Silva B, Shen T-L, Rodrigues G, Hashimoto A, Tesic Mark M, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature.* 2015;527(7578):329–35.
32. Stessels F, Van den Eynden G, Van der Auwera I, Salgado R, Van den Heuvel E, Harris AL, et al. Breast adenocarcinoma liver metastases, in contrast to colorectal cancer liver metastases, display a non-angiogenic growth pattern that preserves the stroma and lacks hypoxia. *Br J Cancer.* 2004;90(7):1429–36.
33. Lemoine L, Sugarbaker P, Van der Speeten K. Pathophysiology of colorectal peritoneal carcinomatosis: Role of the peritoneum. *World J Gastroenterol.* 2016;22(34):7692.
34. de Cuba EM V., Kwakman R, van Egmond M, Bosch LJW, Bonjer HJ, Meijer GA, et al. Understanding molecular mechanisms in peritoneal dissemination of colorectal cancer. *Virchows Arch.* 2012;461(3):231–43.
35. Royston D, Jackson DG. Mechanisms of lymphatic metastasis in human colorectal adenocarcinoma. *J Pathol.* 2009;217(5):608–19.
36. Neumann J, Löhns L, Albertsmeier M, Reu S, Guba M, Werner J, et al. Cancer Stem Cell Markers Are Associated With Distant Hematogenous Liver Metastases But Not With Peritoneal Carcinomatosis in Colorectal Cancer. *Cancer Invest.* 2015;33(8):354–60.
37. Malanchi I, Santamaria-Martínez A, Susanto E, Peng H, Lehr H-A, Delaloye J-F, et al. Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature.* 2012;481(7379):85–9.
38. Heublein S, Albertsmeier M, Pfeifer D, Loehrs L, Bazhin A V., Kirchner T, et al. Association of differential miRNA expression with hepatic vs. peritoneal metastatic spread in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2018;18(1):201.

39. Korpai M, Ell BJ, Buffa FM, Ibrahim T, Blanco MA, Celià-Terrassa T, et al. Direct targeting of Sec23a by miR-200s influences cancer cell secretome and promotes metastatic colonization. *Nat Med.* 2011;17(9):1101–8.
40. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(8):563–72.
41. Reticker-Flynn NE, Bhatia SN. Aberrant Glycosylation Promotes Lung Cancer Metastasis through Adhesion to Galectins in the Metastatic Niche. *Cancer Discov.* 2015;5(2):168–81.
42. Weilbaecher KN, Guise TA, McCauley LK. Cancer to bone: a fatal attraction. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(6):411–25.
43. Zhang XHF, Wang Q, Gerald W, Hudis CA, Norton L, Smid M, et al. Latent Bone Metastasis in Breast Cancer Tied to Src-Dependent Survival Signals. *Cancer Cell.* 2009;16(1):67–78.
44. Eichler AF, Chung E, Kodack DP, Loeffler JS, Fukumura D, Jain RK. The biology of brain metastases—translation to new therapies. *Nat Rev Clin Oncol.* 2011;8(6):344–56.
45. Valiente M, Obenauf AC, Jin X, Chen Q, Zhang XH-F, Lee DJ, et al. Serpins Promote Cancer Cell Survival and Vascular Co-Option in Brain Metastasis. *Cell.* 2014;156(5):1002–16.
46. Kitayama J, Emoto S, Yamaguchi H, Ishigami H, Watanabe T. CD90(+) Mesothelial-Like Cells in Peritoneal Fluid Promote Peritoneal Metastasis by Forming a Tumor Permissive Microenvironment. Orsulic S, editor. *PLoS One.* 2014;9(1):e86516.