

Biologia nowotworów z założenia jest dziedziną poznawczą, której efekty winny znaleźć zastosowanie w praktyce onkologicznej. Już od chwili zaproponowania przez A. Knudsona „hipotezy dwóch zdarzeń” znaczną część badań nakierowano na udział onkogenów i supresorowych genów przeciwnowotworowych (TSG) w procesie onkogenezy. Rolą TSG jest przeciwdziałanie transformacji nowotworowej, poczynając od blokowania niekontrolowanej proliferacji zainicjowanych komórek. Poznanie licznych TSG wymusiło wprowadzenie ich funkcyjnej klasyfikacji. W wyniku badań przeciwnowotworowych genów supresorowych prowadzonych za pomocą technik cytogenetycznych i molekularnych wykazano, że wbrew wcześniejszym poglądom funkcja genów supresorowych nie jest ograniczona do etapu inicjacji, lecz TSG odgrywają znaczącą rolę także w progresji nowotworów głowy i szyi, w tym w stadium formowania przerzutów. Kilka niezależnych zjawisk obejmujących aberracje chromosomowe (głównie delecje, rzadziej pęknięcia chromatyd), utratę heterozygotyczności (LOH), występowanie mutacji genowych oraz metylacji DNA (najczęściej regionów promotorowych genu), prowadzi do dysfunkcji genu, prowadzącej do całkowitego braku ekspresji lub syntezy niefunkcjonalnego produktu białkowego.

Ustalenia na temat TSG znalazły zastosowanie w opracowaniu testów diagnostycznych i predykcyjnych. Pozwalają one, m.in. na ocenę dalszej przeżywalności. Trwają próby optymalizacji radioterapii opartej na stanie funkcjonalnym niektórych genów supresorowych. Podejmuje się również prace nad terapią genową, polegającą na wprowadzaniu prawidłowych genów p53 i p16. Niemniej w dalszym ciągu istnieje przewaga ustaleń poznawczych nad aplikacyjnymi.

Słowa kluczowe: nowotwory głowy i szyi, przeciwnowotworowe geny supresorowe.

Rola przeciwnowotworowych genów supresorowych w nowotworach głowy i szyi

Function of tumor suppressor genes in head and neck cancer

Krzysztof Szyfter^{1,2}, Maciej Kujawski¹, Katarzyna Szukała¹

¹Institut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu

²Klinika Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej AM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

WPROWADZENIE

Wieloetapowość i kompleksowość procesu kancerogenezy i onkogenezy powodują, że wszelkie proste i uniwersalne twierdzenia w tej dziedzinie natychmiast podlegają konieczności formułowania dodatkowych sprecyzowań, dotyczących zakresu ważności i listy wyjątków. Dotyczy to także etapu kancerogenezy, którego siłą sprawczą mają być uszkodzenia DNA. Aby taki związek przyczynowy był prawdziwy, należy uwzględnić 2 fakty. Po pierwsze – powstanie uszkodzeń DNA natychmiast uruchamia wysoko sprawny proces naprawy DNA, który w określonych warunkach może doprowadzić do całkowitego powrotu do prawidłowej cząsteczki

DNA. Po drugie – tylko uszkodzenia regionów DNA, w których znajdują się geny czynne w procesie nowotworzenia (tabela), o ile nie zostaną naprawione, skutkują wejściem komórki na drogę transformacji nowotworowej.

Z wymienionych w tabeli grup genów uwagę badaczy przyciągają te, których udział w procesie nowotworzenia jest już ujęty w nazewnictwie, a więc onkogeny i przeciwnowotworowe geny supresorowe (ang. *tumor suppressor genes* – TSG). Z definicji, onkogeny za pośrednictwem swoich produktów zwanych onkoproteinami działają na rzecz wzrostu i proliferacji komórek oraz utraty kontroli nad

Tab. Geny czynne w procesie nowotworzenia

Grupy genów czynnych w procesie nowotworzenia:

- ▶ geny (ryzyka) wysokiej penetracji odpowiadające za wystąpienie określonego typu nowotworu,
- ▶ geny (ryzyka) niskiej penetracji odpowiadające za metabolizm kancerogenów (aktywacja, detoksykacja) i naprawę DNA,
- ▶ onkogeny i geny przeciwnowotworowe (regulacja proliferacji komórek),
- ▶ geny regulacji apoptozy,
- ▶ geny czynne w procesie angiogenezy,
- ▶ geny związane z przerzutowaniem.

The first goal of tumor biology is to gain knowledge on mechanisms of carcinogenesis and oncogenesis and only then to pass it to a clinical practice. The two-hit hypothesis proposed by A. Knudson has stimulated intensive studies on oncogenes and tumor suppressor genes (TSG) and their role in oncogenesis. A discovery of numerous TSG has resulted in their functional classification. A significance of TSG is associated with their inhibitory role in neoplastic transformation, starting from blocking uncontrolled proliferation of an initiated cell. The cytogenetic and molecular studies have shown that the significance of TSG defects is not restricted to cancer initiation as they are involved in head and neck cancer progression as well. The loss of the TSG function can result from the following independent genetic/molecular events: (i) chromosome aberrations dominated by deletions, then chromatide breaks, (ii) loss of heterozygosity (LOH), (iii) frequent gene mutations and (iv) DNA methylation (usually in a gene promoter region) followed by a lack of gene expression or production of a non-functional gene product. The findings have been applied to establish some diagnostic and prognostic tests. The latter could help in the estimation of the survival period of cancer subjects. There are many attempts to optimize radiotherapy protocols in relation to the TSG structure and function. Studies on gene therapy protocols exploring p53 and p16 genes were also started. Nevertheless, extended knowledge concerning TSG did not produce too many applications so far.

Key words: head and neck cancer, tumor suppressor genes.

tym procesem. Natomiast geny supresorowe zasadniczo w normie przeciwdziałają temu procesowi, do czego może wystarczać niewielka ekspresja. Wystąpienie uszkodzeń DNA oraz podjęcie ekspresji przez onkogeny winno napotkać pełną odpowiedź ekspresyjną i funkcjonalną genów supresorowych, całkowicie zabezpieczającą komórkę przed transformacją nowotworową. W rzeczywistości geny supresorowe nie wypełniają swojej funkcji, bowiem ulegają różnego rodzaju uszkodzeniom, o czym będzie mowa w dalszym ciągu artykułu. Zatem w skrótowym ujęciu, transformacja nowotworowa następuje w wyniku podjęcia działania przez onkogeny z równoczesną dysfunkcją genów supresorowych [1, 2].

FUNKCJA GENÓW SUPRESOROWYCH W ŚWIELE HIPOTEZY DWÓCH ZDARZEŃ KNUDSONA

Zagadnienie podejmowania lub utraty czynności genów w procesie nowotworzenia zostało objęte *hipotezą dwóch zdarzeń* przez Alberta Knudsona [3]. Według pierwotnego brzmienia warunkiem podjęcia procesu nowotworowego jest posiadanie w obrębie genów czynnych w tym procesie jednej mutacji wrodzonej, do której genotoksyczne środowisko dodaje kolejną mutację. Chociaż hipoteza Knudsona w brzmieniu pierwotnym okazała się niewystarczająca, to jednocześnie pozwalała na jej dalszą rozbudowę i dostosowanie do gromadzonych wyników badawczych [4–6].

Należało uwzględnić przynajmniej 2 fakty. Po pierwsze – stwierdzono występowanie wyższej liczby mutacji w komórkach nowotworowych, niż wynikało to z oceny ekspozycji na egzogenne czynniki genotoksyczne i wydajności procesu naprawy DNA [4, 7]. Częściowym wyjaśnieniem okazało się

uwzględnienie endogennego pochodzenia znacznej części mutacji. Dalej, wprowadzono pojęcie **fenotypu mutatorowego**, nawiązującego do klonalnej selekcji komórek, które po nabyciu mutacji zyskują korzystniejsze warunki wzrostu niż inne komórki [8]. Jednocześnie poznawanie kolejnych genów supresorowych i ich funkcjonowania w zabezpieczaniu przed inicjacją i progresją nowotworu pozwoliło na przyjęcie następującej klasyfikacji funkcjonalnej, dla której nie uzgodniono jeszcze jednolitego polskiego nazewnictwa:

- ▶ *gatekeepers* – w grupie tej mieszczą się geny bezpośrednio przeciwdziałające proliferacji komórek albo przez spowolnienie tego procesu, albo kierowanie ich w stronę apoptozy;
- ▶ *caretakers* – geny tej grupy działają na proliferujące komórki pośrednio poprzez udział w naprawie uszkodzeń i mutacji DNA (znaczną część tej grupy stanowią geny naprawcze) lub zabezpieczają przed wystąpieniem niestabilności genetycznej (mikrosatelitarnej, chromosomowej),
- ▶ *landscaper* – geny tak nazwane regulują mikrośrodowisko, w którym wzrastają komórki transformowane nowotworowo [9, 10].

Powyższy podział do pewnego stopnia odpowiada klasom genów supresorowych, przeciwdziałającym odpowiednio etapom inicjacji, progresji i tworzenia przerzutów przez nowotwory [10]. Niemniej podział nie jest ostry i te same geny mogą być zaliczane do różnych grup, gdy zakres ich aktywności jest większy.

Powyższe ustalenia pozwoliły na ponowną ocenę minimalnej liczby mutacji inicjującej nowotwór. W pracy Tomlinsona i wsp. [6] postulowana jest konieczność trzeciego zdarzenia. Większość autorów idzie dalej i biorąc pod uwagę zależność między intensywnością ekspozycji, wydajnością naprawy DNA, kumu-

lacją uszkodzeń materiału genetycznego z wiekiem oraz częstością występowania nowotworów wylicza minimum na poziomie 6–12 niezbędnych zdarzeń genetycznych, po których komórka nieodwracalnie podejmuje proces nowotworzenia [8]. W nowotworach głowy i szyi minimum wyliczono na poziomie 6–10 zdarzeń genetycznych [11]. O wieloetapowości i stopniu skomplikowania mechanizmu nowotworzenia świadczy fakt, że w komórkach nowotworów rozpoznawalnych klinicznie notuje się tysiące mutacji na poziomie DNA i komórek, co opisuje się łącznie jako niestabilność genetyczną [4, 7, 8].

USZKODZENIA GENÓW SUPRESOROWYCH

Do wypełnienia funkcji przez geny supresorowe wymagane jest zachowanie pełnej, prawidłowej struktury obu ich kopii, czyli alleli. Tymczasem w odniesieniu do tej grupy genów rozpoznano dotąd przynajmniej 4 omówione niżej mechanizmy prowadzące do zablokowania ich funkcji.

Aberracje chromosomowe. Balaśnie oczywisty powód braku aktywności genów supresorowych wynika z delecji tych fragmentów chromosomów, gdzie są one zlokalizowane. Analiza delecji znajduje zastosowanie i wobec całego kariotypu [12], jak i poszczególnych chromosomów czy ich ramion [13, 14]. W nowotworach głowy i szyi najczęściej deletowane są chromosomy: 3p, 5q, 8p, 18q, 21q i Y [11, 12]. Trzeba podkreślić, że pierwsze ustalenia na temat lokalizacji i funkcji genów supresorowych są wynikiem badań nad cytogenetyką nowotworów. Przydatność wykazują klasyczne techniki cytogenetyczne oraz cytogenetyka molekularna, w obrębie której wyróżnia się porównawczą hybrydyzację genomów (ang. *comparative genomic hybridization* – CGH). Poza delecjami innym

uszkodzeniem chromosomowym wpływającym na aktywność genu jest występowanie miejsca łamliwego 3p14.2. Zlokalizowany w tym regionie gen FHIT często wykazuje dysfunkcję w nowotworach głowy i szyi, polegającą na całkowitym braku transkryptu lub produkcji skróconego, nietrwałego transkryptu i co za tym idzie, braku funkcjonalnego produktu białkowego [15, 16]. Inne częste miejsca łamliwe to 1p36, 3q21, 5p14, 7p13, 8q31, 9q32 i 11q13 [11].

Utrata heterozygotyczności – (ang. *loss of heterozygosity* – LOH) jest jednym z przejawów niestabilności genetycznej. W omawianym kontekście oznacza, że w danym *locus* mikrosatelitarnym 2 allele mogą różnić się między sobą ilością sekwencji powtarzalnych, co znane jest też pod nazwą polimorfizmu sekwencji mikrosatelitarnych. LOH w *locus* genu supresorowego oznacza zatem całkowitą lub częściową utratę jednego allele, co jest jednoznaczne z brakiem lub upośledzeniem funkcji tego genu [17]. Badania nad LOH mieszczące się na pograniczu cytogenetyki i technik molekularnych pozwoliły na zlokalizowanie w chromosomach regionów, gdzie utrata materiału genetycznego w nowotworach lub pewnych ich stadiach wskazywała na obecność genów supresorowych [18]. Powiązanie LOH z przebiegiem choroby nowotworowej pozwoliło na rozpoznanie roli niektórych genów supresorowych w różnych stadiach choroby nowotworowej [19, 20].

Mutacje genowe. Wysoka podatność genów supresorowych na powstawanie mutacji została poznana wcześniej, głównie na podstawie badań genu *p53*. Stwierdzono, że mutacje punktowe tego genu mają miejsce w licznych nowotworach a ich występowanie wskazuje na obecność *gorących* miejsc w obrębie genomu [21]. Obserwacje te potwierdzono w no-

wotworach głowy i szyi [22], gdzie częstość mutacji *p53* jest szczególnie wysoka. Powiązanie uszkodzeń DNA generowanych pod wpływem benzo(a)pirenu z profilem mutacji *p53* w raku płuc [23] pozostaje do dzisiaj jednym z najważniejszych dowodów kancerogenności dymu tytoniowego. Odkrycie wysokiej mutabilności *p53* w toku dalszych badań rozciągnięto na *p16*, *BRCA1*, *BRCA2* i inne geny supresorowe [24]. Znaczna część tych mutacji ma charakter nonsensowny i uniemożliwia produkcję prawidłowego produktu białkowego.

Metylacja DNA. Mechanizm regulacji ekspresji genu na drodze metylacji/demetylacji znany od ponad ćwierć wieku, znajduje zastosowanie wobec genów supresorowych. Profil metylacji jest częścią charakterystyki danego genu, a jego zmiany prowadzą do zmienionej ekspresji. W przypadku genów supresorowych zaobserwowano częstą hipermetylację regionów promotorów genów supresorowych, prowadzącą do zablokowania ekspresji [25]. Wiele z tych genów, związanych z nowotworami dziedzicznymi w analogicznych nowotworach sporadycznych ma zmetylowane sekwencje promotorowe [26]. Badania wspomniane tutaj znajdują się w obrębie zainteresowań nowej gałęzi wiedzy wyodrębnionej pod nazwą epigenomiki.

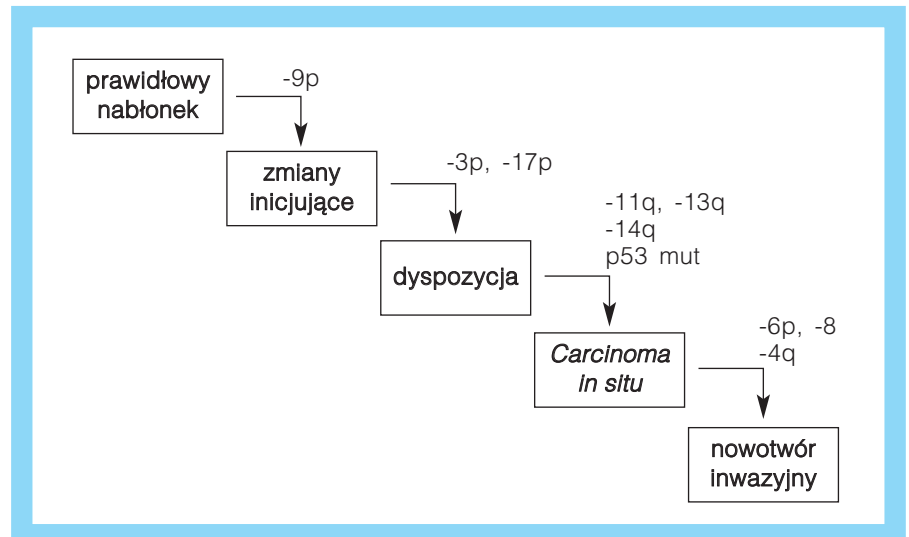
ROLA GENÓW SUPRESOROWYCH W INICJACJI NOWOTWORÓW GŁOWY I SZYI

Początkowo fakt utraty funkcji przez geny supresorowe łączono wyłącznie z inicjacją procesu nowotworowego. Jednak już wczesne prace zwróciły uwagę na fakt, że dezaktywacja niektórych genów supresorowych występuje później w stosunku do innych. Przykładem jest analiza dysfunkcji genów su-

presorowych *p16* i *p53*, uczestniczących w regulacji cyklu komórkowego. We własnych badaniach wykazaliśmy wyższą częstość utraty heterozygotyczności w *locus p53* niż *p16* w raku krtani [27]. Jednak zestawienie z wynikami pracy Gonzalesa i wsp. [19] i uwzględnienie charakterystyki klinicznej guzów, z których pozyskiwano materiał dowiodło, że LOH genu *p16* następuje we wczesnych stadiach nowotworów głowy i szyi, a genu *p53* ma charakter stały w przebiegu choroby [28].

Kluczowe znaczenie w dalszych badaniach nad powiązaniem funkcji genów supresorowych i przebiegu nowotworów głowy i szyi miała hipoteza sformułowana w zespole D. Sidransky'ego [29]. Według tej hipotezy (znanej od nazwiska pierwszego autora jako hipoteza Califano) utrata *loci* chromosomowych nie następuje przypadkowo, lecz odpowiada progresji wydarzeń histologicznych od łagodnej hiperplazji po przerzutujące stadium nowotworu (ryc.). Hipoteza uwzględniająca z cytogenetycznego punktu widzenia wyłącznie delecje chromosomów (a raczej ich fragmentów) okazała się znakomitą siłą napędową badań prowadzących do znaczących osiągnięć.

Ustalenie, że deaktywacja *p16* ma miejsce w najwcześniejszych etapach onkogenezy głowy i szyi ma obecnie charakter pewności [18, 30–32]. Wiadomo, że deaktywacja *p16* może być wynikiem delecji fragmentu chromosomu 9p [12], utraty heterozygotyczności [18, 27], hipermetylacji sekwencji promotorowej genu [31] lub też stanowić fragment złożonego procesu obejmującego deaktywację *p16*, aktywację onkogenu kodującego cyklinę D1 i aktywację telomerazy [32]. Dalsze badania wykazały, że w wyniku alternatywnego składania powstają 2 różne produkty białkowe genu *p16*. Częściowe zróżnicowanie funkcji wy-



Ryc. Model dynamiki delecji chromosomowych w przebiegu nowotworów głowy i szyi wg Califano i wsp. (1996) [29]

kazano w doświadczeniach na liniach komórkowych, ale nie wiadomo jak przekłada się to na sytuację *in vivo* [33].

Poszukując wczesnych wydarzeń w przebiegu nowotworów głowy i szyi wskazano także na region 8p21–22, ulegający częstym delecjom i prawdopodobnie mieszczący gen supresorowy, którego dotąd nie zidentyfikowano [34].

Trudniejsza jest interpretacja delecji krótkiego ramienia chromosomu 3p. Nie ma wątpliwości, że ramię 3p ulega bardzo częstym delecjom w nowotworach głowy i szyi, ale różnice w częstości delecji występują pomiędzy subregionami 3p, co może dowodzić zlokalizowania w tym ramieniu kilku loci o aktywności supresorowej. Analiza markerów mikrosatelitarnych i cytogenetyka wskazują na region 3p25.1, który jest różny od genu supresorowego mającego znaczenie w zespole Hippel-Landau [35], 3p21.3 [36] oraz 3p12–21 i 3p21–24 [37]. Wyniki te pochodzą z badań materiału klinicznego z różnych operowanych nowotworów głowy i szyi [35], nosogardzieli [37] i linii komórkowych wyprowadzonych z nowotworów głowy i szyi [36]. Autorzy tych prac podejrzewają udział tych genów supresorowych we wczesnym stadium rozwoju choroby ale nie wykluczają roli w progresji [35].

ROLA GENÓW SUPRESOROWYCH W PROGRESJI NOWOTWORÓW GŁOWY I SZYI

Jak już wspomniano wcześniej, zdecydowanie istotna w całym przebiegu nowotworów jest rola genu *p53*. Przeciwciała przeciwko białku TP53 pojawiają w osoczu chorych na nowotwory jamy ustnej jeszcze przed wystąpieniem jednoznacznych objawów klinicznych. Poziom krążących przeciwciał jest ściśle powiązany ze wzrostem i odróżnicowaniem guza [38].

W przebiegu raka głowy i szyi obserwuje się akumulację niefunkcjonalnego białka TP53, czemu towarzyszy gromadzenie się defektów genetycznych, za czym z kolei postępuje wzrost niestabilności genetycznej [39]. Natomiast nadekspresja genu *p53* w niezmięnionej błonie śluzowej otaczającej nowotwory głowy i szyi wskazuje na zwiększone prawdopodobieństwo powstania drugiego pierwotnego nowotworu, niezależnie od tego czy powstaje białko funkcjonalne, czy uszkodzone [40]. Niefunkcjonalne białko powstaje na bazie zmutowanego genu *p53*, a powstanie mutacji w nowotworach układu oddechowego wiąże się z uprzednią ekspozycją na dym

tytoniowy. Modelowy dowód Denis-senki i wsp. [23] na generację mutacji genu *p53* pod wpływem genotoksycznych składników dymu tytoniowego w liniach komórkowych został poparty analizą mutacji w materiale klinicznym pochodzącym z nowotworów głowy i szyi [28, 41] i piersi [42]. Dalej idące próby powiązania profilu mutacji genu *p53* z agresywnością nowotworów płaskonabłonkowych nie przyniosły jednoznacznych wyników [43].

W kilku przypadkach udało się wykazać związek między dysfunkcją genu supresorowego a niepomyślnymi rokowaniami dla pacjentów z nowotworami głowy i szyi. Takie asocjacje interpretuje się jako dowód na udział danego genu w progresji choroby nowotworowej. Dotyczy to przypuszczalnego genu ulokowanego w regionie 1p11–1p13 [44], genu kodującego białko p21 uczestniczące w blokadzie cyklin [45], przypuszczalnego genu umiejscowionego w regionie 2q31–32 [46] i genu supresorowego PTEN/MMAC1 zlokalizowanego w *locus* chromosomowym 10q23 [47].

Więcej uwagi poświęcono delecjom w ramieniu 18q, które są jedną z najczęstszych aberracji w nowotworach głowy i szyi. W wyniku prac zespołu T.E. Careya (Ann Arbor, USA) ustalono pozycję przypuszczalnego genu (genów?) supresorowego w 18q11–12 i 18q21–23 oraz wykazano, że delecje w tym regionie najczęściej występują w agresywnych formach guza oraz oznaczają zdecydowanie złe rokowanie [48–50].

Bardziej pracochłonna była ocena roli genów supresorowych umiejscowionych w ramieniu chromosomowym 13q. W ramieniu tym wykryto liczne miejsca delecyjne [51], pokrywające się z lokalizacją przynajmniej trzech genów supresorowych: *Rb*, *BRCA2* i *ING1* [52]. Początkowo sprzeczne wyniki wiązały się ze stosowaniem różnych technik molekularnych i cytogene-

tycznych. Na tym właśnie tle zarysowały się różnice poglądów na temat roli genu supresorowego *Rb1* o niekwestionowanym znaczeniu w rozwoju siatkówczaka i niektórych nowotworów dziedzicznych. Ostatecznie jednak głównie w oparciu o techniki FISH i LOH można było wskazać na istotną rolę genów *Rb1* i *ING1* w powstawaniu przerzutów nowotworów głowy i szyi do okolicznych węzłów chłonnych [14, 53, 54].

Powyższe ustalenia dowiodły, że defekty genów supresorowych mają miejsce w całym przebiegu onkogenezy, a także mogą wpływać sprawczo na progresję nowotworów głowy i szyi, biorąc udział w przerzutowaniu [55].

WYKORZYSTANIE KLINICZNE BADAŃ NAD GENAMI SUPRESOROWYMI

Rysują się 3 kierunki aplikacyjne wykorzystania ustaleń dotyczących funkcji genów supresorowych w nowotworach głowy i szyi.

Pierwszym kierunkiem, który już pojawiał się w tekście jest zastosowanie oznaczeń do celów diagnostycznych i predykcyjnych. W grę wchodzi po pierwsze informacja cytogenetyczna, sprowadzająca się do monitorowania określonych delecji [48, 56] i LOH [46, 53]. Ten nurt jest dosyć dobrze rozwinięty i może funkcjonować pod warunkiem współdziałania z doświadczonym zespołem cytogenetycznym. Badać można także uszkodzenia i mutacje DNA [31, 43] oraz poziom białkowego produktu genu z odróżnieniem białka prawidłowego (funkcjonalnego) i nieprawidłowego [38, 40, 45, 57]. Do badania zmian struktury DNA potrzebne są techniki molekularne, a oceny poziomu białka najczęściej wystarcza (immuno)histochemia.

Podjęmuje się również próby wykorzystania informacji na temat stanu funkcjonalnego genów supresorowych do optymalizacji radioterapii. Dotyczy to zarówno ra-

diowrażliwości komórek nowotworowych i radiooporności komórek prawidłowych. Punktem łączącym oba kierunki jest zjawisko apoptozy, w którym uczestniczy m.in. gen *p53*. Badania nad powiązaniem wzoru mutacyjnego *p53* [58] i ekspresji TP53 [59] nie przyniosły dotąd zadowalających wyników, a dalsze prace zmierzają raczej do równoległej analizy kilku genów współuczestniczących w apoptozie.

Dysponując wiedzą o dysfunkcji określonych genów trudno było nie rozpocząć badań nad wykorzystaniem tej wiedzy do stworzenia protokołu leczenia nowotworów głowy i szyi za pomocą terapii genowej. Badania zogniskowały się na genie *p53*, a wyniki, które nie wyszły jeszcze poza fazę wstępną, zostały krytycznie omówione przez Partridge [60]. Zaproponowano także wykorzystanie genu supresorowego *p16* [61].

UWAGI KOŃCOWE

Prowadzenie wielotorowych badań nad rolą genów supresorowych w inicjacji i przebiegu nowotworów głowy i szyi przyniosło ogromny postęp w rozumieniu biologii tych nowotworów. Niemniej pozostaje szereg otwartych pytań, do których należą: tendencja do wznowy, częste występowanie drugich pierwotnych nowotworów oraz oporność na chemioterapię. Niewykluczone, że odpowiedzi pojawią się właśnie w wyniku kontynuacji badań nad rolą onkogenów i genów supresorowych.

Wyniki badań w przewadze mają charakter poznawczy, a uchwytany charakter aplikacyjny mają jak dotąd tylko niektóre testy diagnostyczne i predykcyjne.

PIŚMIENNICTWO

1. Chorąży M. *Molekularne aspekty kancerogenezy*. Nowotwory 1997; 47: 251–63.
2. Vineis P. *Cancer as an evolutionary process at the cell level: an epidemio-*

- logical perspective. Carcinogenesis* 2003; 24: 1-6.
3. Knudson AG. *Overview: Genes that predispose to cancer. Mutat Res* 1991; 247: 185-90.
 4. Boland RC, Ricciardello L. *How many mutations does it take to make a tumor? Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 14675-7.
 5. Davenport MP, Ward RL, Hawkins NJ. *The null oncogene hypothesis and protection from cancer. J Med Genet* 2002; 39: 12-5.
 6. Tomlinson IPM, Royle R, Houlston RS. *Two hits revisited again. J Med Genet* 2001; 38: 81-5.
 7. Loeb LA, Loeb KR, Anderson JP. *Multiple mutations and cancer. Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 776-81.
 8. Loeb LA. *A mutator phenotype in cancer. Cancer Res* 2001; 61: 3230-9.
 9. Kinzler KW, Vogelstein B. Gatekeepers and caretakers. *Nature* 1997; 386: 761-3.
 10. Macleod K. *Tumor suppressor genes. Curr Opin Genet Dev* 2000; 10: 1-93.
 11. Sidranski D. Molecular genetics of head and neck cancer. *Curr Opin Oncol* 1995; 7: 229-33.
 12. Bockmühl U, Schlüns K, Schmidt S, Mattias S, Petersen I. *Chromosomal alterations during metastasis formation of head and neck scc. Gene Chromosomes Cancer* 2002; 33: 29-35.
 13. Maestro R, Piccinin S, Doglioni C, Gasparotto D, Vukosavljevic T, Sulfuro S, Barzan L, Bolocchi M. *Chromosome 13q deletion mapping in head and neck scc: Identification of two distinct regions of preferential loss. Cancer Res* 1996; 56: 1146-50.
 14. Kujawski M, Rydzanicz M, Sarlomo-Rikala M, Szyfter K. *Rearrangement involving the 13q chromosome arm committed to the progression of laryngeal squamous cell carcinoma. Cancer Genet Cytogenet* 2002; 137: 54-8.
 15. Mao L, Fan YH, Lotan R, Hong WK. *Frequent abnormalities of FHIT, a candidate tumor suppressor gene, in head and neck cancer cell lines. Cancer Res* 1996; 56: 5128-31.
 16. Virgilio L, Shuster M, Gollin SM, Veronese ML, Ohta M, Huebner K, Croce CM. *FHIT gene alterations in head and neck scc. Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9770-5.
 17. Miyakis S, Spandidos A. *Allelic loss in breast cancer. Cancer Detect Prev* 2002; 26: 426-434.
 18. Partridge M, Emilion G, Pateromiche-lakis S, Phillips E, Langdon J. *Location of candidate tumour suppressor gene loci at chromosomes 3p, 8p and 9p for oral scc. Int J Cancer* 1999; 83: 318-25.
 19. Gonzales MV, Pello MF, Lopez-Larrea C, Suarez C, Menendez MJ, Coto E. *Loss of heterozygosity and mutation analysis of the p16 (9p21) and p53 (17p13) genes in scc of the head and neck. Clin Cancer Res* 1995; 1: 1043-9.
 20. El-Naggar AK, Hurr K, Batsakis JG, Luna MA, Goepfert H, Huff V. *Sequential LOH at microsatellite motifs in preinvasive and invasive head and neck squamous carcinoma. Cancer Res* 1995; 55: 2656-9.
 21. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. *Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. Nature* 1989; 342: 705-8.
 22. Somers KD, Merrick MA, Lopez ME, Incognito LS, Schechter GL, Casey G. *Frequent p53 mutations in head and neck cancer. Cancer Res* 1992; 52: 5997-6000.
 23. Denissenko MF, Pao A, Tang M-sh. *Pfeifer GP. Preferential formation of B (a) P adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. Science* 1996; 274: 430-2.
 24. Hussain SP, Harris CC. *Molecular epidemiology of human cancer: Contribution of mutation spectra of tumor suppressor genes. Cancer Res* 1998; 58: 4023-37.
 25. Garinis GA, Patrinos GP, Spanakis GP, Menounos PG. *DNA hypermethylation: when tumour suppressor genes go silent. Human Genet* 2002; 111: 115-27.
 26. Jones PA, Baylin SB. *The fundamental role of epigenetic events in cancer. Nat Genet* 2002; 3: 415-28.
 27. Louhelainen J, Szyfter K, Szyfter W, Hemminki K. *LOH and microsatellite instability in larynx cancer. Int J Oncol* 1997; 10: 247-52.
 28. Golusiński W, Olofsson J, Szmeja Z, Szyfter K, Szyfter W, Biczysko W, Hemminki K. *Alteration of p53 gene structure and function in laryngeal scc. Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997; 254, suppl. 1: 133-7.
 29. Califano J, van der Riet P, Westra W, et al. *Genetic progression model for head & neck cancer: Implications for field cancerization. Cancer Res* 1996; 56: 2488-92.
 30. Reed AL, Califano J, Cairns P, et al. *High frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck scc. Cancer Res* 1996; 56: 3630-3.
 31. Sanchez-Cespedes M, Esteller M, Wu L, et al. *Gene promoter hypermethylation in tumors and serum of head & neck cancer patients. Cancer Res* 2000; 60: 892-5.
 32. Soria JC, Morat L, Commo F, Dabit D, Perie S, Sabatier L, Fouret P. *Telomerase activation cooperates with inactivation of p16 in early head and neck tumorigenesis. Br J Cancer* 2001; 84: 504-11.
 33. Liggett WH, Sewell DA, Rocco J, Ahrendt SA, Koch W, Sidransky D. *p16 and p16 (are potent growth suppressors of head and neck scc in vitro. Cancer Res* 1996; 56: 4119-23.
 34. El-Naggar AK, Coomes MM, Batsakis JG, Hong WK, Goepfert H, Kagan J. *Localization of chromosome 8p regions involved in early tumorigenesis of oral and laryngeal squamous carcinoma. Oncogene* 1998; 16: 2983-7.
 35. Rowley H, Jones A, Spandidos D, Field J. *Definition of TSG locus on the short arm of chromosome 3 in scc of the head & neck by means of microsatellite markers. Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 122: 497: 501.
 36. Buchhagen DL, Worsham MJ, Van yke DL, Carey TE. *Two regions of homozygosity on chromosome 3p in scc of the head & neck: Comparison with cytogenetic analysis. Head Neck* 1996; 18: 529-37.
 37. Cheng Y, Poulos NE, Lung ML, Hampton G, Baoxiang O, Lerman MI, Stanbridge EJ. *Functional evidence for a nasopharyngeal carcinoma TSG that maps at chromosome 3p21.3. Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 3042-3.
 38. Ralhan R, Nath N, Agarwal S, Mathur M, Wasyluk B, Shukla NK. *Circulating p53 antibodies as early markers of oral cancer: Correlation with p53 alterations. Clin Cancer Res* 1998; 4: 2147-52.
 39. Shin DM, Charuruks N, Lippman SM, Lee JJ, Ro JY, Hong WK, Hittelman WN. *p53 protein and genomic instability in head & neck multistep tumorigenesis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 603-9.
 40. Homann N, Nees M, Conradt Ch, Dietz A, Weidauer H, Maier H, Bosch FX. *Overexpression of p53 in tumor-distant epithelia of head and neck cancer patients is associated with an increased incidence of second primary carcinoma. Clin Cancer Res* 2001; 7: 290-6.

41. Liloglou T, Scholes AGM, Spandidos DA, Vaughan ED, Jones AS, Field JK. *p53 mutations in scc of the head & neck predominate in a subgroup of former and present smokers with a low frequency of genetic stability.* Cancer Res 1997; 57: 4070-4.
42. Conway K, Edmiston SN, Cui L, et al. *Prevalence and spectrum of p53 mutations associated with smoking in breast cancer.* Cancer Res 2002; 62: 1987-95.
43. Bolshakov S, Walker ChM, Strom SS, et al. *p53 mutations in human aggressive and nonaggressive basal and scc.* Clin Cancer Res 2003; 9: 228-34.
44. Jin Y, Jin Ch, Wennerberg J, Mertens F, Höglund M. *Cytogenetic and FISH characterization of chromosome 1 rearrangements in head & neck carcinomas delineate a target region for deletions within 1p11-1p13.* Cancer Res 1998; 58: 5859-65.
45. Erber R, Klein W, Andl Th, Enders Ch, Born Al, Conradt Ch, Bartek J, Bosch FX. *Aberrant p21CIP1/WAF1 protein accumulation in head-and-neck cancer.* Int J Cancer 1997; 74: 383-9.
46. Ranson DT, Barnett CT, Bot J, de Boer B, Metcalf C, Davidson JA, Turbett GR. *LOH on chromosome 2q: Possibly a poor prognostic factor in head & neck cancer.* Head Neck 1998; 20: 404-10.
47. Poetsch M, Lorenz G, Kleist B. *Detection of new PTEN/MMAC1 mutations in head & neck scc with loss of chromosome 10.* Cancer Genet Cytogenet 2002; 132: 20-24.
48. Frank ChJ, McClatchey KD, Devaney KO, Carey ThE. *Evidence that loss of chromosome 18q is associated with tumor progression.* Cancer Res 1997; 57: 824-927.
49. Jones WW, Raval JR, Beals TF, et al. *Frequent LOH on chromosome arm 18q in scc.* Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1997; 123: 610-4.
50. Veltman JA, van Weert I, Aubele M, Bot FJ, Ramaekers FCS, Manni JJ. *Specific steps in aneuploidization correlate with LOH of (p21, 17p13, and 18q21) in the progression of pre malignant laryngeal lesions.* Int J Cancer 2001; 91: 193-9.
51. Gupta VK, Schmidt AP, Pashia ME, Sunwoo JB, Scholnick JB. *Multiple regions of deletion on chromosome arm 13q in head-and-neck scc.* Int J Cancer 1999; 84: 453-7.
52. Sanchez-Céspedes M, Okami K, Cairns P, Sidransky D. *Molecular analysis of the candidate tumor suppressor gene ING1 in human head and neck tumors with 13q deletions.* Genes Chromosomes Cancer 2000; 27: 319-22.
53. Harada H, Tanaka H, Shimada Y, Shinoda M, Imamura M, Ishizaki K. *Lymph node metastasis is associated with allelic loss on chromosome 13q12-13 in esophageal scc.* Cancer Res 1999; 59: 3724-9.
54. Gunduz M, Ouchida M, Fukushima K, Hanafusa H, Etani T, Nishiola Sh, Nishizaki K, Shimizu K. *Genomic structure of the human ING1 gene and tumor-specific mutations detected in HNSCC.* Cancer Res 2000; 60: 3143-6.
55. Yokota J. *Tumor progression and metastasis.* Carcinogenesis 2000; 3: 497-503.
56. Bockmühl U, Chandramohan SI, Ferrell RE, Gollin SM. *Association of 8p23 deletions with poor survival in head & neck cancer.* Otolaryngol Head Neck Surg 2001; 124: 451-5.
57. Geisler SA, Olshan AF, Weissler MC, Cai J, Funkhouser WK, Smith J, Vick K. *p16 and p53 protein expression as prognostic indicators of survival and disease recurrence from head and neck cancer.* Cancer Res 1996; 56: 4119-23.
58. Saunders ME, MacKenzie R, Shipman R, Fransen E, Gilbert R, Jordan RCK. *Patterns of p53 gene mutations in head & neck cancer. Full length gene sequencing and results of primary radiotherapy.* Clin Cancer Res 1999; 5: 2455-63.
59. Couture Ch, Raybaud-Diogene H, Tettu, Bairati I, Murry D, Allard J, Fortin A. *p53 and ki-67 as markers of radioresistance in head & neck carcinoma.* Cancer 2002; 94: 713-22.
60. Partridge M. *Current status of genetics for prediction, prognosis, and gene therapy.* Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2000; 8: 69-79.
61. Rocco JW, Li D, Liggett WH, Duan L, Saunders JK, Sidransky D, O'Malley BW. *p16INK4A adenovirus-mediated gene therapy for human head & neck scc.* Clin Cancer Res 1998; 4: 1697-1704.

ADRES DO KORESPONDENCJI

prof. dr hab. **Krzysztof Szyfter**
 Instytut Genetyki Człowieka PAN
 ul. Strzeszyńska 32
 tel. 0 (prefiks) 61 8233011
 faks 0 (prefiks) 61 8233235
 e-mail: szyfkris@rose.man.poznan.pl