

Geny rodziny *myb* (*a-*, *b-* i *c-myb*) kodują czynniki transkrypcyjne, odgrywające kluczową rolę w kontroli wzrostu i różnicowania komórek. Białko *b-Myb* ulega ekspresji we wszystkich komórkach dzielących się, podczas gdy ekspresja *a-Myb* i *c-Myb* jest charakterystyczna dla wybranych tkanek. Ekspresja *b-Myb* i *c-Myb* rozpoczyna się w fazie G1 i osiąga maksimum w fazie S cyklu komórkowego. Podstawową rolę genu *b-myb* wydaje się być regulacja proliferacji komórek, podczas gdy *c-myb* kontroluje raczej rozpoczęcie różnicowania. Protoonkogen *c-myb* ulega silnej ekspresji w niezróżnicowanych komórkach hemopoetycznych, zaś jego zahamowanie powoduje rozpoczęcie końcowego różnicowania. Nadekspresja genów *myb* była wykrywana w różnych ludzkich nowotworach. Blokowanie ich funkcji wydaje się być obiecującą strategią leczenia nowotworów. Praca omawia dotychczasowe wyniki badań nad wykorzystaniem hamowania ekspresji tych genów do inhibicji wzrostu nowotworów *in vitro* oraz *in vivo* z uwzględnieniem wyników badań klinicznych. Ponadto zostaną omówione propozycje zwiększenia efektywności opisanej strategii.

Słowa kluczowe: *myb*, rak, białaczka, oligonukleotydy antysensowne, leczenie przeciwnowotworowe.

Geny *myb* jako cel terapii przeciwnowotworowej

The myb genes as a target for anticancer therapy

Wojciech Z. Pawlak

Laboratorium Onkologii Molekularnej, Klinika Onkologii, Centralny Szpital Kliniczny, Wojskowa Akademia Medyczna, Warszawa

Chirurgia, radioterapia i chemioterapia jako podstawowe metody leczenia nowotworów osiągnęły pewne *plateau* możliwości. Dalszy postęp – wyrażony przede wszystkim wydłużeniem całkowitego czasu przeżycia – jest możliwy m.in. poprzez poszukiwanie nowych punktów uchwytu dla działania leków oraz rozwój biologicznych metod terapii. W ten nurt poszukiwań wpisuje się koncepcja wykorzystania genów *myb* i ich produktów jako celu terapii przeciwnowotworowej.

MYB JAKO ONKOGENY

Ogólna charakterystyka rodziny onkogenów *myb* została już przedstawiona [1]. Geny te działają jako stymulatory podziałów komórkowych i inhibitory różnicowania. Białka *Myb* zbudowane są wg wspólnego planu i wykazują dość dużą homologię. Podstawowa forma *c-Myb* zbudowana jest z 636 reszt aminokwasowych i ma masę cząsteczkową 75 kDa. Część ludzkich komórek hemopoetycznych zawiera długą formę *c-Myb* (masa cząsteczkowa 89 kDa, 757 reszt aminokwasowych), powstającą w wyniku alternatywnego składowania transkryptu genu *c-myb*. Dodatkowe reszty aminokwasowe kodowane są przez tzw. ekson 9A, czyli 363 pary zasad położone między eksonem 9 i 10. Białka *a-Myb*

i *b-Myb* zawierają w cząsteczce odpowiednio 751 i 704 reszty aminokwasowe [2].

Poszczególne geny *myb* charakteryzują się zróżnicowanymi wzorcami ekspresji. Filogenetycznie najstarszy *b-myb* jest aktywny w zasadzie we wszystkich komórkach dzielących się, natomiast białka *c-Myb* i *a-Myb* są obecne w ograniczonej liczbie tkanek i narządów (tab. 1.). Ponadto w przypadku istnienia koekspresji *b-myb* i *c-myb* uruchomienie i zahamowanie wytwarzania kodowanych przez nie białek występuje w różnym czasie. Ludzkie komórki prekursorowe hemopoezy izolowane z krwi obwodowej stanowią dobry model ilustrujący tę sytuację. Wyjściowo komórki te wykazują ekspresję tylko *c-myb*. Dodanie do hodowli czynników wzrostu (stymulacja proliferacji i różnicowania) aktywuje *b-myb* przy zachowaniu ekspresji *c-myb*. W czasie dalszego różnicowania jako pierwsza zanika ekspresja *c-myb* [15]. Powyższe fakty świadczą o zróżnicowanej roli poszczególnych białek *Myb*. Można założyć, że *b-Myb* bierze udział głównie w kontroli proliferacji komórek, natomiast *c-Myb* przede wszystkim uczestniczy w regulacji różnicowania.

Zmiany ekspresji *c-myb* wykryto w różnych ludzkich nowotwo-

Three members of myb gene family (a-, b- and c-myb) encode transcription factors. These proteins display a high degree of homology within their DNA-binding domain, and play the key role in cell cycle progression, differentiation and survival. The b-Myb protein is expressed in all dividing cells, in contrary the expression of a-Myb and c-Myb appears to be rather tissue specific. The b-Myb and c-Myb expression being induced within the G1 phase of the cell cycle and persisting at maximal levels through S phase. Inhibition of these proteins synthesis by treatment of cells with antisense oligonucleotides indicates that both transcription factors are required for transition from the G1 to S phase of the cell cycle. Expression of a-Myb shows no correlation with cell cycling, implying that it has no direct role in the cell proliferation. The normal c-myb protooncogene is expressed at high levels in immature hematopoietic cells, and decrease its expression is related to terminal differentiation. The different patterns of expression of c-myb and b-myb are exemplified by human progenitor cells. Generally, b-Myb may have a general role in cell proliferation, whereas c-Myb may have a specific role in differentiation. Overexpression of myb genes is presented in many hematological malignancies and cancers. Therefore, disruption of myb functions seem to be a promising strategy for the treatment of human malignancies. In this work, the results of *in vitro* and *in vivo* including clinical studies will be discussed. In chronic myelogenous leukaemia, antisense oligonucleotides against c-myb were used in *ex vivo* to purging before autologous bone marrow transplantation, and also in systemic treatment for blast crisis patients. The same or similar antisense oligonucleotides were tested in cell cultures and animal models of other leukaemias, me-

Tab. 1. Miejsca ekspresji genów *myb* u ssaków

Gen	Miejsce ekspresji	Piśmiennictwo
a-myb	1) rozwijający się centralny system nerwowy,	3
	2) centra rozmnażania limfocytów B,	4, 5
	3) nabłonek przewodów gruczołów mlekowych,	6
	4) komórki rozrodcze w jądrze,	3
	5) dzielące się komórki mięśni gładkich,	7
	6) jajnik	8
b-myb	w zasadzie wszystkie komórki dzielące się	9
c-myb	1) komórki hemopoetyczne,	10, 11
	2) limfocyty T,	12
	3) dzielące się komórki mięśni gładkich,	7
	4) niedojrzałe komórki nabłonka (jelito grube, układ oddechowy, skóra, siatkówka, gruczoły mlekowe)	13, 14

rach (tab. 2.). Jednakże w odróżnieniu od modeli doświadczalnych (hodowle komórkowe i nowotwory *in vivo* u kurcząt i myszy) nie wyjaśniono dotychczas w zadowalającym stopniu mechanizmu aktywacji onkogennej *c-myb* u ludzi. W czasie indukcji doświadczalnych białaczek i chłoniaków przekształcenie protoonkogenu *c-myb* w onkogen może odbywać się na co najmniej 2 sposoby:

- 1) mutacje powodujące skrócenie białka c-Myb prowadzą do rozwoju ostrych postaci białaczek – Myb działa przede wszystkim jako inhibitor różnicowania,
- 2) nadekspresja *pełnowymiarowego* c-Myb generuje wolniejszą transformację ze znacznie częstszym różnicowaniem (białaczki i chłoniaki przewlekłe) – Myb stymuluje proliferację, co prowadzi do zwiększenia puli komórek niezróżnicowanych [33].

Chociaż *c-myb* spełnia warunki niezbędne do uznania go za onkogen, to niektóre fakty wskazują na konieczność współdziałania innych czynników genetycznych w transformacji nowotworowej wywołanej aktywacją tego onkogenu [34–36]. Postulowany jest udział kinaz (np. pim-1, JAK/STAT) stymulowanych przez nadekspresję zmutowanego genu *ras*, a także nadekspresji onkogenów rodziny *myc* [37].

Podczas kryzy blastycznej T-komórkowej w przebiegu przewlekłej białaczki szpikowej wykryto mutację *c-myb* polegającą na utracie domeny wiążącej inhibitory ekspresji. Domena ta zlokalizowana jest przy końcu 3' eksonu 9. Wydaje się, że opisana mutacja jest nabywana w czasie progresji choroby – znaleziono ją w materiale pobieranym od pacjenta po jej wykryciu, ale nie znaleziono w preparatach uzyskanych w fazie przewlekłej [38]. Jednakże poszukiwanie mutacji w obrębie negatywnej domeny regulacyjnej u 26 pacjentów z białaczkami szpikowymi wykonane przez inny zespół dało wyniki negatywne [39].

Obserwowano sprzężenie między ekspresją receptorów estrogennych (ER) i *c-myb* w komórkach raka piersi. Guzy (oraz wyprowadzone z nich linie komórkowe) ER-pozytywne wykazywały obecność *c-myb* mRNA, podczas gdy w rakach ER-negatywnych nie stwierdzono ekspresji *c-myb* (24).

Nadekspresja *c-myb* jest obecna w komórkach nabłonka przełyku objętego metaplastją Barretta. Dalszy statystycznie znamieny wzrost ekspresji obserwowano w rakach przełyku rozwijających się na podłożu tej nieprawidłowości. Co ciekawe, ekspresja *c-myb* w prawidłowej błonie śluzowej

lanoma, brain tumours, and colon cancer. The progress is moot to use novel modalities following as: 1) enhancing anti-myb drugs activity by modification of their structure and delivery to the target cells, 2) better understanding of the role of the particular myb genes in human cancer, 3) explanation of relations between their abnormal function and drug resistance.

Key words: myb, cancer, leukaemia, antisense oligonucleotides, anticancer therapy.

Tab. 2. Nadekspresja *c-myb* w ludzkich nowotworach. W nawiasach podano numer źródła wg wykazu piśmiennictwa

1. Ostra białaczka szpikowa [16]
2. Przewlekła białaczka szpikowa [17]
3. Białaczka limfatyczna T-komórkowa [18]
4. Czerniak złośliwy [19]
5. <i>Neuroblastoma</i> [20]
6. <i>Glioblastoma</i> [21]
7. Rak nosogardła [22]
8. Rak piersi [23, 24]
9. Niedrobnokomórkowy rak płuca [25]
10. Drobnokomórkowy rak płuca [26]
11. Rak przełyku [27]
12. Rak trzustki [28]
13. Rak okrężnicy [29, 30]
14. Rak endometrium [31]
15. <i>Teratocarcinoma</i> [32]

przełyku u pacjentów z rakiem tego narządu była znacznie większa od analogicznej ekspresji u osób zdrowych [27].

Dotychczas nie przedstawiono danych, które pozwoliłyby na jednoznaczne zaliczenie *b-myb* i *a-myb* do onkogenów. Jednakże wyniki kilku doświadczeń wskazują na ich ważną rolę w regulacji wzrostu komórek nowotworowych. Nadekspresja *a-myb* jest obecna w chłoniaku Burkitta, ostrej białaczce limfoblastycznej z komórek B oraz w ok. 25 proc. przypadków przewlekłej białaczki limfatycznej [40]. Natomiast *b-myb* jest wysoce aktywny w różnych ludzkich liniach białaczkowych, przy czym zahamowanie jego ekspresji znacząco obniża potencjał proliferacyjny tych komórek [41]. Ciekawe obserwacje dotyczą również zachowania się *in vitro* komórek linii neuroblastoma w zależności od działania *b-myb* – transfekcja dodatkową kopią tego genu powoduje zahamowanie różnicowania

i zwiększenie proliferacji w odpowiedzi na czynniki wzrostu [42].

W liniach ER-negatywnych ludzkiego raka piersi wykrywano wysoką ekspresję *a-myb* mRNA. Wiadomo, że ekspresja *a-myb* jest niezbędna do prawidłowego rozwoju nabłonka przewodów mlekowych w czasie ciąży. Z drugiej strony – myszy *knock-out* płci żeńskiej pozbawione receptora progesteronowego wykazują niemal identyczne zmiany fenotypowe gruczołów mlekowych, jak zwierzęta pozbawione *a-myb*. Być może istotnym czynnikiem w rozwoju raka piersi u kobiet jest brak zahamowania ekspresji *a-myb* w nabłonku przewodów mlekowych po zakończeniu proliferacji związanej z ciążą [2].

MYB JAKO CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Blokowanie czynności onkogenów jest jedną z eksperymentalnych strategii leczenia nowotworów złośliwych. Zahamowanie ekspresji danego genu można przeprowadzić na różnych poziomach. Do tego służą tzw. leki oligonukleotydowe. Obecnie znane są następujące klasy tych potencjalnych leków [43]:

- 1) tzw. *antygenowe* oligodezoksyrybonukleotydy, które hamują transkrypcję genów poprzez tworzenie struktur trójniciowych z komplementarnymi fragmentami dwuniciowego genomowego DNA,
- 2) rybozomy (oligonukleotydy katalityczne) degradujące RNA i w ten sposób hamujące translację,
- 3) oligodezoksyrybonukleotydy antysensowne (antysensy zbudowane z DNA), które wiążą się z komplementarnymi odcinkami mRNA i również hamują translację,
- 4) antysensowne oligorybonukleotydy (RNA-antysensy) tworzące z komplementarnymi frag-

- mentami mRNA dwuniciowe hybrydy typu RNA-RNA powodujące przerwanie translacji,
- 5) aptamery, hamujące czynność danego genu na poziomie produktu (wiążą się z określonymi białkami),
 - 6) tzw. pułapki oligonukleotydowe (ang. *oligonucleotide decoys*) zawierające sekwencje wiążące odpowiednie czynniki transkrypcyjne i na tej drodze uniemożliwiające transkrypcję genów docelowych.

Dotychczas w celu blokowania ekspresji genów *myb* w komórkach nowotworowych wykorzystywano w zasadzie tylko strategię antysensownych oligodezoksyrybonukleotydów (AO), opisaną w pkt 3. powyższego wykazu.

Choroby mielo- i limfoproliferacyjne

Pierwsze próby wykorzystania genów *myb* jako celu interwencji terapeutycznej dotyczyły białaczek. Zahamowanie ekspresji *c-myb* przez AO wyraźnie hamuje proliferację linii komórkowych ostrej białaczki szpikowej. Podobne zjawisko obserwowano w wielu przypadkach białaczek limfocytarnych T-komórkowych [18]. Natomiast w przewlekłej białaczce szpikowej (CML) inhibicji ulegały linie komórkowe wyprowadzone z materiału uzyskanego podczas kryzy blastycznej – podobny efekt nie występował w przypadku komórek pozyskiwanych w fazie przewlekłej choroby [44]. Badania *in vivo* na mysim modelu ludzkiej białaczki szpikowej potwierdziły skuteczność anty-*c-myb* AO w hamowaniu proliferacji komórek białaczkowych [45].

Jednocześnie zaobserwowano bardzo ciekawe zjawisko. Jeżeli badane AO zostaną dodane do mieszaniny komórek białaczkowych i normalnych komórek hemopoetycznych, to w ponad 70 proc.

przypadków komórki nowotworowe zostaną wyeliminowane z hodowli. Jest to skutek zahamowania ekspresji *c-myb* przez AO [17]. Opisany efekt został wykorzystany do opracowania protokołu oczyszczania materiału przeszczepowego *ex vivo* w przypadkach leczenia CML z wykorzystaniem autologicznej transplantacji szpiku [46].

Dotychczas nie opublikowano pełnych wyników badania klinicznego, dotyczącego systemowego podawania anty-*c-myb* AO pacjentom z CML w fazie kryzy blastycznej. Według protokołu AO podawano dożylnie w dawkach 0,3–2,0 mg/kg m.c./d we wlewie ciągłym przez 7 dni – cykle powtarzane co 28 dni. Wyniki I fazy badania wskazują na dobrą tolerancję leczenia [46].

Próbowano kojarzyć anty-*c-myb* AO z małymi dawkami cytostatyków w badaniach *in vitro* z użyciem linii komórkowej BV173 (CML). Wstępne wyniki były zachęcające – stwierdzono wyraźną supresję proliferacji komórek białaczkowych przy niewielkim wpływie na prawidłowe komórki hemopoetyczne [47]. Dotychczas nie opublikowano wyników podobnych badań *in vivo*.

Guzy lite

Przeprowadzono badania *in vivo* nad wpływem zablokowania ekspresji *c-myb* na wzrost ludzkiego czerniaka. Komórki 5 linii tego nowotworu wszczepiano dootrzewnowo myszom nagim immunologicznie. Następnie zwierzętom podawano podskórnie w ciągłym wlewie anty-*c-myb* AO. Zaobserwowano wyraźne zwolnienie wzrostu guzów w porównaniu z grupą kontrolną. Intryguje fakt, że zahamowanie ekspresji *c-myb* było przejściowe, natomiast spowolnienie wzrostu guzów utrzymywało się znacznie dłużej [48]. Anty-*c-myb* AO wykazują silne działanie supresyjne na wzrost komórek

czerniaka *in vitro* także w skojarzeniu z cytotoksycznymi limfocytami T [47].

Anty-*c-myb* AO powodują zahamowanie ekspresji mRNA i białka w hodowli ludzkiego glejaka zarodkowego (*glioblastoma*). Efekt ten przekłada się na zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych [49]. Dotychczas nie opublikowano danych na temat zastosowania badanych AO w leczeniu guzów mózgu u ludzi. Zahamowanie proliferacji obserwowano również w hodowli komórek ludzkiej linii neuroblastoma poddanej działaniu AO. Jako nośnika dla AO użyto w tym doświadczeniu immunoliposomów opłaszczonych przeciwciałem przeciwko cząsteczce disialogangliozydu charakterystycznego dla komórek neuroblastoma [21].

Niektóre linie komórkowe ludzkiego raka okrężnicy (LoVo, LoVo/Dx, Colo 205) wykazują nadekspresję *c-myb*. Dodanie do ich hodowli anty-*c-myb* AO powoduje wyraźne obniżenie ekspresji *c-myb*. Komórki hodowane w obecności AO mają wyraźnie mniejszą zdolność do proliferacji i łatwiej ulegają różnicowaniu [50].

CO MOŻNA ZROBIĆ?

Wydaje się, że geny rodziny *myb* są interesującym celem dla terapii przeciwnowotworowej. Wiele prac wykonanych na modelach zwierzęcych wskazuje na kluczową rolę zmian ekspresji tych genów w proliferacji komórek nowotworowych. Dotyczy to szczególnie chorób mielo- i limfoproliferacyjnych, choć w guzach litych rola genów *myb* wydaje się być również znacząca. Dalszy postęp na drodze do wykorzystania ingerencji w działanie genów *myb* podczas leczenia nowotworów u ludzi jest możliwy poprzez:

- 1) lepsze poznanie mechanizmów działania AO wykorzystywanych

- do blokowania ekspresji *myb* oraz wzmocnienie ich potencjału przeciwnowotworowego poprzez modyfikację budowy i sposobów dostarczania do komórek,
- 2) dokładne poznanie roli genów *myb* w biologii ludzkich nowotworów (szczególnie guzów litych),
 - 3) wyjaśnienie związków między nadekspresją *myb* a opornością na leczenie,
 - 4) precyzyjne określenie mechanizmów nabywania aktywności onkogennej przez geny *myb* w ludzkich nowotworach.

Istnieje kilka przesłanek pozwalających na dalsze poszukiwania w wymienionych obszarach.

Konstruowanie AO posiadających specyficzną strukturę 2-rzędową, może poprawić ich właściwości przeciwnowotworowe. Przykładem może być *anti-c-myb* AO zawierający podwójny motyw pętli [51].

Ostatnio wykazano, że inhibitor cyklooksygenazy-2 (COX-2) hamują wzrost ludzkich komórek białaczkowych. Badania przeprowadzono na liniach białaczki monocytowej (U-937) i białaczki mieloblastycznej (ML-1). Do hamowania czynności COX-2 używano związku NS-398 oraz nabumetonu, natomiast do blokowania ekspresji genu *cox-2* na poziomie translacji – AO komplementarnego z mRNA *cox-2*. Proliferacja była zahamowana w większym stopniu po zastosowaniu NS-398 lub nabumetonu w porównaniu z hodowlami poddanymi działaniu AO. Taki wynik wskazuje na dwojakie działanie badanych inhibitorów COX-2. Mogą one hamować proliferację komórek białaczkowych zarówno w sposób zależny, jak i niezależny od blokowania aktywności COX-2 [52].

Skądinąd wiadomo, że w promotorze genu *cox-2* znajduje się 13 miejsc wiążących c-Myb [53]. Zatem c-Myb może być kluczowym aktywatorem ekspresji *cox-2*. Dokładne wyjaśnienie zależności między ekspresją genów *myb* i *cox-2* mogło by stanowić istotny element w projektowaniu nowych strategii leczenia przeciwnowotworowego.

Zahamowanie ekspresji *c-myb* może zmieniać podatność komórek nowotworowych na leki cytotoksyczne. Badania przeprowadzone na liniach raka okrężnicy opornych na cisplatynę (SW480DDP i SW620DDP) wykazały silniejszą ekspresję *c-myb* w porównaniu z ich odpowiednikami wrażliwymi na ten lek (linie SW480 i SW620). Dodanie do hodowli komórek opornych *anti-c-myb* AO hamowało ekspresję *c-myb* i zwiększało ich wrażliwość na cisplatynę. Natomiast komórki wyjściowo wrażliwe na cisplatynę, po zastosowaniu AO nie zwiększały swojej podatności na ten lek [54].

Do wykorzystania pozostaje możliwość indukcji odpowiedzi immunologicznej przeciwko ewentualnym mutantom *myb* obecnym w komórkach ludzkich nowotworów. Ta nowatorska strategia zaczyna być rozpatrywana przede wszystkim w kontekście eliminacji na drodze immunologicznej komórek nowotworowych ze zmutowanym genem *p53* [55]. Podstawową przeszkodą jest tu brak dostatecznej znajomości mechanizmów aktywacji onkogennej *myb* w ludzkich nowotworach – przede wszystkim bardzo mało wiadomo na temat ewentualnych mutacji.

PODZIĘKOWANIA

Autor dziękuje Panu prof. dr. hab. med. Cezaremu Szczylikowi za inspirację do podjęcia badań nad rolą genów *myb* w biologii nowotworów.

PIŚMIENNICTWO

1. Pawlak W, Szczylik C. Współczesna Onkologia 1999; 3: 239-40.
2. Oh IH, Reddy P. Oncogene 1999; 18: 3017-33.
3. Mettus RV, Litvin J, Wali A, et al. Oncogene 1994; 9: 3077-86.
4. Foos G, Grimm S, Klempnauer KH. Oncogene 1994; 9: 2481-88.
5. Golay J, Broccoli V, Lamorte G, et al. J Immunol 1998; 160: 2786-93.
6. Toscani A, Mettus RV, Coupland R, et al. Nature 1997; 386: 713-17.
7. Marhamati DJ, Bellas RE, Arsura M, et al. Mol Cell Biol 1997; 17: 2448-57.
8. Trauth K, Mutschler B, Jenkins NA, et al. EMBO J 1994; 13: 5994-6005.
9. Nomura N, Takahashi M, Matsui M, et al. Nucl Acids Res 1988; 16: 11075-89.
10. Gonda TJ, Shieness DK, Bishop JM. EMBO J 1982; 4: 1767-75.
11. Duprey SP, Boettiger D. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82: 6937-41.
12. Gewirtz AM, Anfossi G, Venturelli D, et al. Science 1989; 245: 180-3.
13. Queva C, Ness SA, Grasser FA, et al. Development 1992; 114: 125-33.
14. Sitzmann J, Noben-Trauth K, Klempnauer KH. Oncogene 1995; 11: 2273-79.
15. Sala A, Watson A. J Cell Physiol 1999; 179: 245-50.
16. Gopal V, Hulette B, Li YQ, et al. Leuk Res 1992; 16: 1003-11.
17. Calabretta B, Sims RB, Valtieri M, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 1991: 2351-55.
18. Venturelli D, Mariano MT, Szczylik C, et al. Cancer Res 1990; 50: 7371-5.
19. Dasgupta P, Reddy EP. Oncogene 1989; 4: 1419-23.
20. Thiele CJ, Cohen SP, Israel MA. Mol Cell Biol 1988; 8: 1677-83.
21. Pagnan G, Stuart DD, Pastorino F, et al. J Natl Cancer Inst 2000; 92: 253-61.
22. Hui AB, Lo KW, Teo PM. Int J Oncol 2002; 20: 467-73.
23. Cline MJ, Battifora H, Yokota J. J Clin Oncol 1987; 5: 999-1006.
24. Guerin M, Sheng Z, Riou G. Oncogene 1990; 5: 131-35.
25. Cline MJ, Battifora H. Cancer 1987; 60: 2669-74 – Errata In: Cancer 1988; 61: 1064.
26. Griffin CA, Baylin SB. Cancer Res 1985; 45: 272-5.
27. Brabender J, Lord RV, Danenberg KD, et al. J Surg Res 2001; 99: 301-6.

28. Wallrapp C, Müller-Pillasch F, Solinas-Toldo S, et al. *Cancer Res* 1997; 57: 3135-9.
29. Torelli G, Venturelli D, Colo A, et al. *Cancer Res.* 1987; 47: 5266-9.
30. Alitalo K, Winqvist R, Lin CC, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 4534-8.
31. Gulpide E. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 405-16.
32. Janssen JWG, Vernole P, de Boer PAJ, et al. *Cytogenet Cell Genet* 1986; 41: 129-35.
33. Lipsick JS. *Oncogene* 1996; 13: 223-35.
34. Press RD, Reddy EP, Ewert DL. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 2278-90.
35. Le Rouzic E, Perbal B. *J Virol* 1996; 70: 7414-27.
36. Badiani PA, Kioussis D, Swirsky DM, et al. *Oncogene*; 13: 2205-12.
37. Weston K. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 76-81.
38. Tomita A, Watanabe T, Kosugi H, et al. *Leukemia* 1998; 12: 1422-9.
39. Lutwyche JK, Keough RA, Hughes TP, et al. *Br J Hematol* 2001; 114: 632-4.
40. Golay J, Luppi M, Songia S, et al. *Blood* 1996; 87: 1900-11.
41. Arsurra M, Introna M, Passerini F, et al. *Blood* 1992; 79: 2708-16.
42. Raschella G, Negrone A, Sala A, et al. *J Biol Chem* 1995; 270: 8540-5.
43. Pawlak W, Zolnierok J, Sarosiek T, et al. *Cancer Treat Rev* 2000; 26: 333-50.
44. Szczylik C, Skorski T, Malaguarnera L, et al. *Folia Histochem Cytobiol* 1996; 34: 129-34.
45. Ratajczak MZ, Kant JA, Luger SM, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 89: 11823-7.
46. Gewirtz AM. *Oncogene* 1999; 18: 3056-62.
47. Nieborowska -Skorska M, Nakashima M, Ratajczak M, et al. *Folia Histochem Cytobiol* 1994; 32: 35-40.
48. Hijiya N, Zhang J, Ratajczak MZ, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4499-503.
49. Hall WA, Flores EP, Low WC. *Neuro-surgery* 1996; 38: 376-83.
50. Melani C, Rivoltini L, Parmiani G, et al. *Cancer Res* 1991; 51: 2897-901.
51. Moon IJ, Choi K, Choi YK, et al. *J Biol Chem* 2000; 275: 4647-53.
52. Nakanishi Y, Kamijo R, Takizawa M, et al. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1570-78.
53. Ramsay RG, Friend A, Vizantios Y, et al. *Cancer Res* 2000; 60: 1805-9.
54. Funato T, Satou J, Kozawa K, et al. *Oncol Rep* 2001; 8: 807-10.
55. Vogelstein B, Kinzler KW. *Nature* 2001; 412: 865-6.

ADRES DO KORESPONDENCJIdr med. **Wojciech Z. Pawlak**

Klinika Onkologii CSK WAM

ul. Szaserów 128

00-909 Warszawa

e-mail: wojpaw@cskwam.mil.pl

*Praca finansowana ze środków
KBN – projekt nr 6 PO5B 097 21.*