



MOLEKULARNE PODSTAWY NOWOTWORÓW

Molekularne podłoże raka jelita grubego

Sanford D. Markowitz, MD, PhD, Monica M. Bertagnolli, MD

N Engl J Med 2009; 361: 2449-60.

Dr Markowitz,
Department of Medicine
and Ireland Cancer Center,
Case Western Reserve University
School of Medicine and Case
Medical Center, Cleveland
i Howard Hughes Medical Institute,
Chevy Chase, MD,
Stany Zjednoczone.

Dr Bertagnolli,
Brigham and Women's Hospital,
Boston, Stany Zjednoczone.

Adres do korespondencji:

Dr Markowitz, Division
of Hematology-Oncology,
Case Western Reserve
University, 10900 Euclid Ave.,
Cleveland, OH 44106,
USA;
e-mail: sxm10@cwru.edu
lub Dr Bertagnolli,
Division of Surgical Oncology,
Brigham and Women's Hospital,
75 Francis St., Boston, MA 02115,
USA;
e-mail: mbertagnolli@partners.org

Rak jelita grubego jest na drugim miejscu wśród onkologicznych przyczyn zgonów dorosłych. Co roku w Stanach Zjednoczonych rozpoznaje się 160 000 raków jelita grubego a 57 000 chorych umiera z tego powodu.¹ Początkiem choroby jest łagodny polip gruczolakowaty, który z czasem przekształca się w zaawansowany gruczolak z dysplazją dużego stopnia, po czym ulega progresji do raka inwazyjnego.² Raki inwazyjne ograniczone do ściany okrężnicy (w I lub II stopniu zaawansowania według klasyfikacji guz-węzły chłonne-przerzuty odległe [TNM]) są uleczalne. Jeśli jednak tacy chorzy nie są leczeni, nowotwór zajmuje regionalne węzły chłonne (III stopień zaawansowania), a następnie tworzy przerzuty odległe (IV stopień).³⁻⁵ Chorych na nowotwór w I lub II stopniu zaawansowania można wyleczyć dzięki chirurgicznemu wycięciu, natomiast chorych w III stopniu zaawansowania udaje się wyleczyć w 73% dzięki leczeniu skojarzonemu (operacji z chemioterapią uzupełniającą).^{3,4,6} Dzięki postępom w chemioterapii (terapia celowana) poprawiło się nawet ostatnio przeżycie w tej grupie. Nadal jednak nie udaje się wyleczyć chorych na raka jelita grubego w IV stopniu zaawansowania.^{3,4}

Przebieg kliniczny raka jelita grubego jest wynikiem oddziaływań zachodzących na wielu poziomach (ryc. 1). Poznanie i zrozumienie czynników molekularnych decydujących o indywidualnej podatności na zachorowanie na raka jelita grubego oraz określenie czynników zapoczątkowujących rozwój nowotworu, kierujących jego progresją i odpowiadających za odpowiedź lub oporność na zastosowane leki przeciwnowotworowe, stwarzają duże wyzwanie. Niniejszy artykuł podsumowuje aktualny stan wiedzy, przy czym autorzy są świadomi, że przedstawione w nim zagadnienia to jedynie fragment pełnego obrazu.

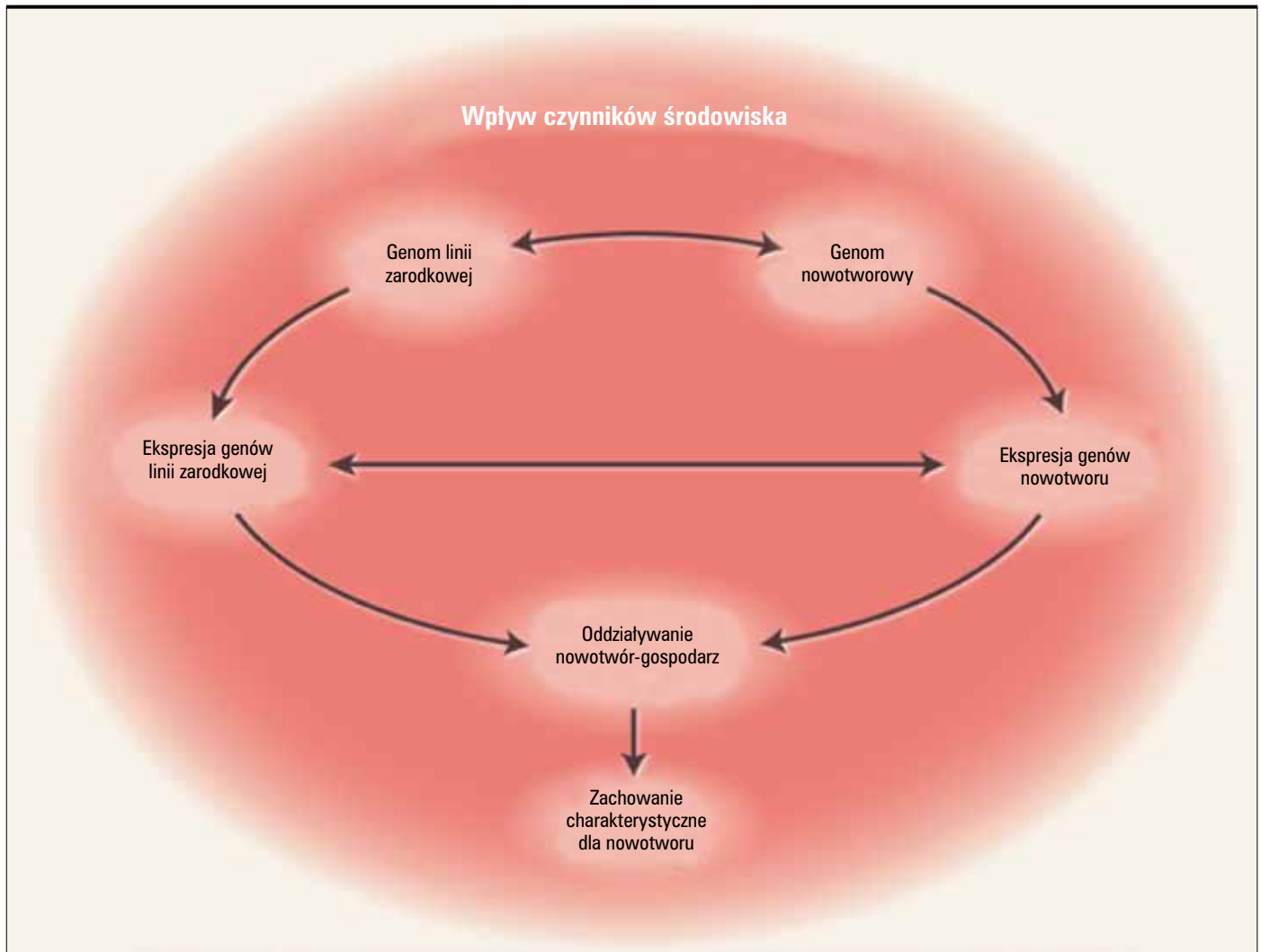
NIESTABILNOŚĆ GENETYCZNA

Utrata stabilności genetycznej może prowadzić do rozwoju raka jelita grubego, ułatwiając nabywanie wielu mutacji towarzyszących nowotworom. W przebiegu tej choroby niestabilność genetyczna przybiera szereg postaci, z których każda ma inną przyczynę (tab. 1).⁷⁻²⁶

Niestabilność chromosomalna

Najczęstszym typem niestabilności genetycznej w raku jelita grubego jest niestabilność chromosomalna. Powoduje ona różne zmiany w liczbie kopii i w strukturze chromosomów.⁷ Niestabilność chromosomalna skutecznie przyczynia się do utraty prawidłowej kopii genów supresorowych nowotworu, takich jak *APC*, *TP53* oraz członka rodziny *SMAD* – *SMAD4*, których prawidłowe działanie zapobiega powstaniu fenotypu nowotworowego.^{2,27,28} W raku jelita grubego występują liczne rzadkie mutacje in-

RYCINA 1



Wieloczynnikowy proces nowotworzenia w raku jelita grubego.

Zdarzenia molekularne prowadzące do inicjacji, promocji i progresji raka jelita grubego zachodzą na wielu powiązanych ze sobą poziomach. W ten dynamiczny proces zaangażowane są oddziaływania między mikrośrodowiskiem guza, cechy linii zarodkowej decydujące o indywidualnej podatności na wystąpienie raka u danej osoby oraz akumulacja zmian somatycznych w nabłonku wyściełającym jelito grube.

aktywujące w genach, których prawidłowe produkty uczestniczą w utrzymywaniu stabilności chromosomalnej w trakcie replikacji. Mutacje w tych genach odpowiadają za większość niestabilności chromosomalnych w nowotworach.⁸ W przeciwieństwie do niektórych innych nowotworów w raku jelita grubego na ogół nie dochodzi do powielenia liczby kopii genów²⁹ oraz do rearanzacji genów.

Zaburzenia naprawy DNA

W podgrupie chorych na raka jelita grubego dochodzi do inaktywacji genów, których aktywność jest niezbędna podczas naprawy błędnie sparowanych zasad DNA. Geny te określa się wspólnym mianem genów naprawy błędnie

sparowanych zasad (ryc. 2 i 3). Taka inaktywacja może być dziedziczna, co ma miejsce w genetycznie uwarunkowanym raku jelita grubego niezwiązanym z polipowatością (hereditary nonpolyposis colon cancer, HNPCC), znanym także jako zespół Lyncha, lub nabyta, np. w nowotworach związanych z wyciszeniem przez metylację genu kodującego jedno z białek uczestniczących w naprawie błędnie sparowanych zasad.

U chorych na HNPCC występujące w komórkach linii zarodkowej zaburzenia w genach naprawy błędnie sparowanych zasad (głównie w *MLH1* i *MSH2*) stwarzają ryzyko wystąpienia raka jelita grubego wynoszące w ciągu całego życia 80%, przy czym do wystąpienia raka na ogół dochodzi około 45 r.ż.^{10-13,30,31} Utrata funkcji naprawy błędnie

TABELA 1

Typy niestabilności genomowej w raku jelita grubego*			
Rodzaj niestabilności i zespół	Rodzaj zaburzenia	Zaangażowane geny	Fenotyp
Niestabilność chromosomalna – utrata heterozygotyczności w wielu loci Zaburzenia w naprawie błędnie sparowanych zasad DNA	Somatyczne	Utrata heterozygotyczności w genach <i>APC</i> , <i>TP53</i> , <i>SMAD4</i> ^{7,8}	Charakterystyczny dla 80-85% sporadycznych raków jelita grubego, zależny od stopnia zaawansowania
Dziedziczny niezwiązany z polipowatością rak jelita grubego	W linii zarodkowej	Mutacje genów linii zarodkowej <i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> ⁹⁻¹⁴	Liczne pierwotne raki jelita grubego, przyspieszona progresja guza oraz zwiększone ryzyko powstawania nowotworów trzonu macicy, żołądka i dróg moczowych
Sporadyczny rak jelita grubego z niedoborem naprawy błędnie sparowanych zasad	Somatyczne	Somatyczna metylacja <i>MLH1</i> ¹⁵⁻¹⁷	Rak jelita grubego o zwiększonym ryzyku niskiego zróżnicowania, częściej umiejscowiony w prawej części okrężnicy, o mniej agresywnym przebiegu klinicznym niż nowotwory bez zaburzeń w naprawie błędnie sparowanych zasad
Fenotyp metylatora wysp CpG – loci będących celem metylacji	Somatyczne	Celami są loci genów <i>MLH1</i> , <i>MINT1</i> , <i>MINT2</i> , <i>MINT3</i> ¹⁸⁻²³	Charakterystyczny dla 15% raków jelita grubego, w większości z nich występuje niedobór naprawy błędnie sparowanych zasad wynikający z utraty przez komórki nowotworowe ekspresji genu <i>MLH1</i>
Zaburzenia naprawy przez wycinanie zasad – polipowatość związana z MYH	W linii zarodkowej	Gen <i>MYH</i> w komórkach linii zarodkowej ²⁴⁻²⁶	Rozwój 15 lub więcej gruczolaków jelita grubego obciążających zwiększonym ryzykiem rozwoju raka jelita grubego

*MYH – homolog mutY.

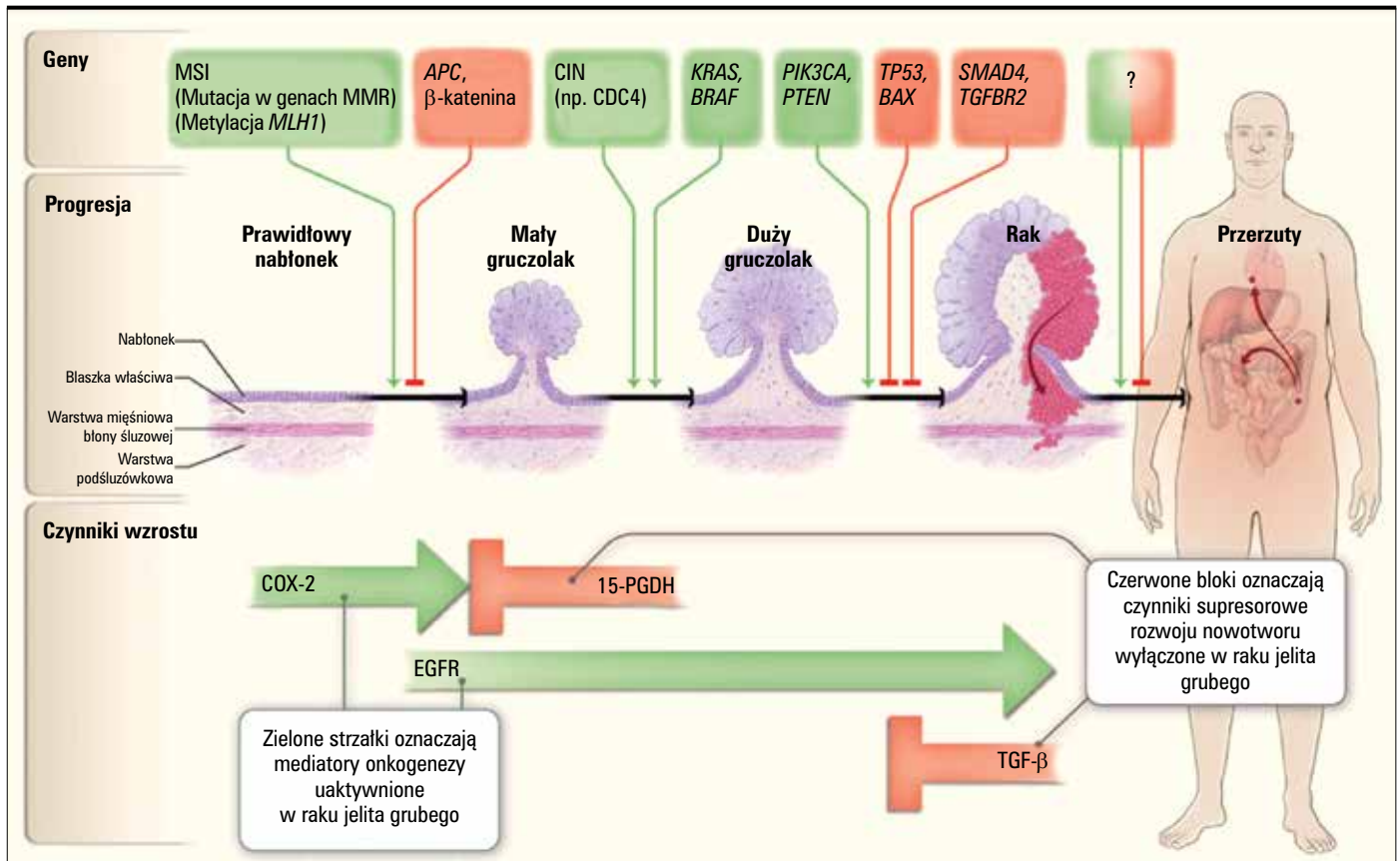
sparowanych zasad u chorych na HNPCC jest skutkiem nie tylko mutacji w genie naprawy błędnie sparowanych zasad w linii zarodkowej, ale także somatycznej inaktywacji allelu typu dzikiego pochodzącego od rodzica.³¹ Niestabilność genetyczna wynikająca z braku naprawy błędnie sparowanych zasad prowadzi do szybkiego wzrostu mutacji i gwałtownie przyspiesza rozwój raka u chorych na HNPCC. W takim przypadku obecność komórek nowotworowych może się ujawnić nawet w ciągu 36 miesięcy od badania kolonoskopowego, podczas którego nie stwierdzono nieprawidłowości.³² Dlatego u nosicieli mutacji HNPCC zaleca się wykonywanie badania kolonoskopowego co roku,^{30,32} a u chorych ze zmianami o dużym stopniu zróżnicowania należy rozważyć profilaktyczne wykonanie kolektomii. Mutacje linii zarodkowej w innym genie kodującym produkt należący do systemu naprawy błędnie sparowanych zasad, *MSH6*, sprzyjają występowaniu rodzinnej postaci nowotworu.^{9,33,34} Somatyczna inaktywacja genów naprawy błędnie sparowanych zasad występuje u około 15% chorych na niewystępującego rodzinnie raka jelita grubego. Do inaktywacji naprawy błędnie sparowanych zasad dochodzi u nich w wyniku wyciszenia regionów promotorowych obu alleli genu *MLH1* na drodze metylacji¹⁵⁻¹⁷ (ryc. 2 i 3).

Utratę naprawy błędnie sparowanych zasad łatwo rozpoznać ze względu na związane z nią zjawisko niestabilności mikrosatelitarnej. Brak możliwości rozpoznania uszkodzeń związanych ze zjawiskiem przesunięcia w nici DNA (wywołanego złym sparowaniem zasad) w sekwencjach mikrosate-

litarnych (sekwencje zawierające powtórzenia jedno-, dwu- i trzynukleotydowe) prowadzi do zmiany rozmiaru powtórzeń rozrzuconych po całym genomie. Innym sposobem pozwalającym na stwierdzenie uszkodzenia w systemie błędnie sparowanych zasad jest analiza immunohistochemiczna umożliwiająca wykrycie utraty jednego z białek uczestniczących w tym mechanizmie naprawy.^{14,35-37} Nowotwory cechujące się brakiem prawidłowej naprawy błędnie sparowanych zasad powstają przede wszystkim w bliższym odcinku jelita grubego i sporadycznie wiążą się z podeszłym wiekiem oraz płcią żeńską.³⁰ Brak prawidłowej naprawy błędnie sparowanych zasad może prowadzić do uszkodzenia genów supresorowych, których fragmenty funkcjonalne zawierają mono- lub dwunukleotydowe powtórzenia, takich jak gen kodujący receptor typu II transformującego czynnika wzrostu β (*TGFBR2*) lub gen białka X związanego z *BCL2* (*BAX*), co może prowadzić do ich inaktywacji.^{2,27,28}

Alternatywną drogą rozwoju raka jelita grubego jest inaktywacja jeszcze w linii zarodkowej genu kodującego białko naprawy przez wycinanie zasad, homologu mutY (*MUTYH*, zwane także jako *MYH*).^{25,33} Białko MYH wycina z DNA 8-oksoguaninę, produkt oksydacyjnego uszkodzenia guaniny.^{24,25,33} U nosicieli dwóch inaktywowanych w linii zarodkowej alleli *MYH* rozwija się fenotyp polipowatości, a wówczas ryzyko zachorowania na raka jelita grubego do 60 r.ż. sięga niemal 100%.³³ Polipowatość związaną z *MYH* rozpoznaje się coraz częściej: u jednej trzeciej osób z 15 lub więcej gruczolakami jelita grubego występuje poli-

RYCINA 2



Geny i szlaki czynników wzrostu kierujące progresją raka jelita grubego.

Podczas progresji raka jelita grubego w genach przedstawionych w górnej części ryciny następują zmiany genetyczne. Szlak niestabilności mikrosatelitarnej (microsatellite instability, MSI) jest inicjowany wystąpieniem mutacji w genach kodujących system naprawy błędnie sparowanych zasad (mismatch-repair, MMR) lub nieprawidłową metylacją *MLH1*. Następnie występują mutacje w genach *TGFBR2* i *BAX*. Nieprawidłowa metylacja *MLH1* i mutacja *BRAF* wiążą się ze szlakiem wydarzeń prowadzącym do rozwinięcia gruczolaka ząbkowanego. Znak zapytania oznacza, że dotychczas nie wykryto zmian genetycznych ani epigenetycznych swoistych dla progresji w postaci przerzutów. W procesie rozwoju raka jelita grubego dochodzi do zakłócenia szlaków regulowanych przez kluczowe czynniki wzrostu przedstawione w dolnej części ryciny. CIN – niestabilność chromosomalna, EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu, 15-PGDH – dehydrogenaza prostaglandyny 15, TGF- β – transformujący czynnik wzrostu β .

powatość związana z *MYH*.³³ Rozpoznanie wymaga przeprowadzenia testów genetycznych mających na celu wykrycie dwóch mutacji, Y165C i G382D, które wspólnie odpowiadają za 85% zachorowań.³³ Jak dotąd w raku jelita grubego nie stwierdzono somatycznej inaktywacji *MYH*.

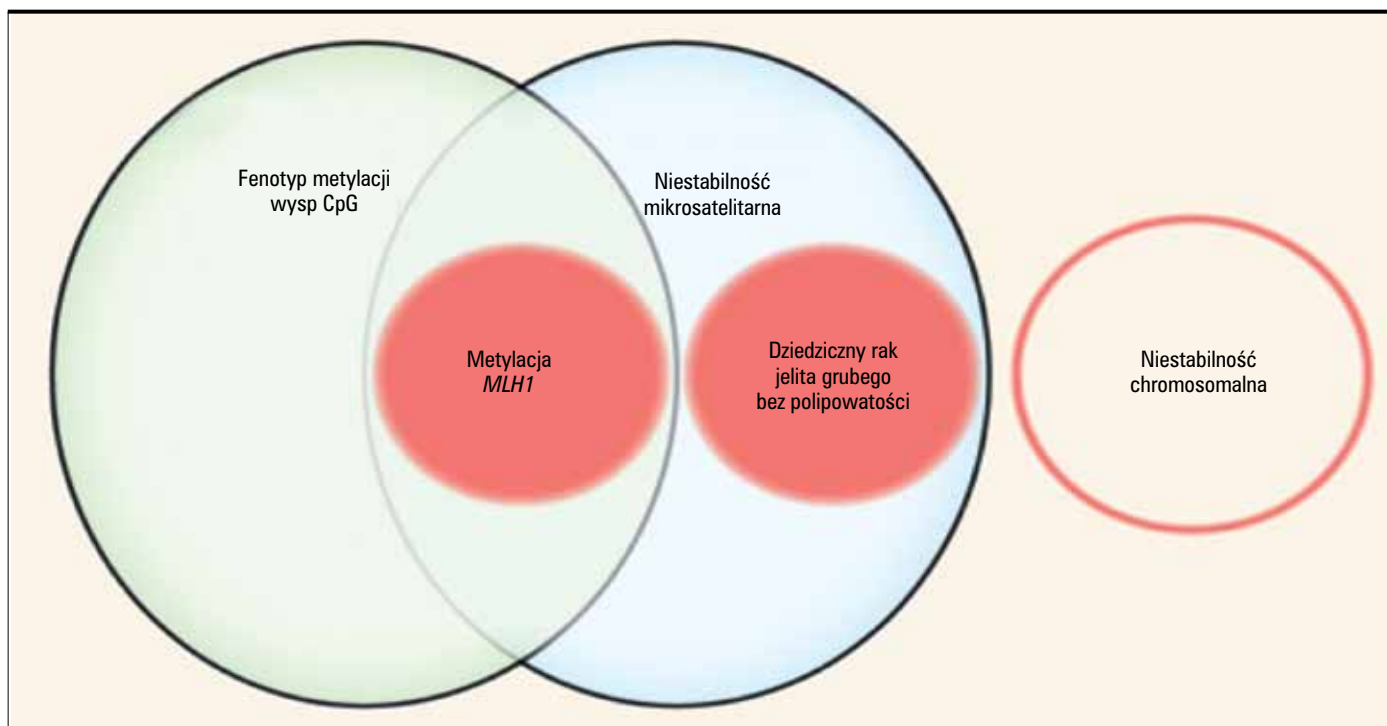
Zaburzenia metylacji DNA

Kolejnym mechanizmem inaktywacji genów u chorych na raka jelita grubego jest epigenetyczne wyciszenie genów, przede wszystkim w wyniku nieprawidłowej metylacji DNA.^{18,20} Metylowana postać cytozyny, w której grupa metylowa jest przyłączona do węgla 5 (5-metylcytosyna), jest piątą zasadą DNA, powstającą w wyniku działania metylaz DNA modyfikujących reszty cytozyn wchodzących w skład dwunukleotydów CpG.¹⁸ W prawidłowym genomie metylacja cytozyn zachodzi jedynie na obszarach

bogatych w CG, położonych poza wyspami CpG występującymi w regionach promotorowych niemal połowy wszystkich genów. W przebiegu raka jelita grubego dochodzi do łagodnego ograniczenia globalnej metylacji reszt cytozyny z jednoczesnym znacznym nasileniem metylacji w regionie określonych, występujących w regionach promotorowych wysp CpG.¹⁸ Metylacja w regionach promotorowych genów prowadzi do epigenetycznego wyciszenia ekspresji genów.¹⁸ W sporadycznych rakach jelita grubego z niestabilnością chromosomalną somatyczne wyciszenie epigenetyczne hamuje ekspresję *MLH1*.¹⁸

Wśród loci ulegających nieprawidłowej metylacji w raku jelita grubego pewna część wydaje się metylowana jako cała grupa. Zjawisko to określa się mianem fenotypu metylatora wysepek CpG (CpG island methylator phenotype, CIMP lub CIMP wysoki).^{18,19} Choć zjawisko to obserwuje się w około 15% raków jelita grubego, molekularny mecha-

RYCINA 3



Szlaki niestabilności genowej prowadzące do rozwoju raka jelita grubego.

Nakładające się zależności definiujące główne szlaki niestabilności genowej w rakach jelita grubego: niestabilność chromosomalna, niestabilność satelitarna wywołana zaburzeniami w genach związanych z naprawą błędnie sparowanych zasad DNA, odziedziczonymi jako zaburzenia w komórkach linii zarodkowej (np. dziedziczny rak jelita grubego bez polipowatości) lub zaburzenia somatyczne (do wystąpienia których dochodzi np. w wyniku nieprawidłowej metylacji i epigenetycznego wyciszenia *MLH1*) oraz fenotyp charakteryzujący się nasileniem metylacji wysp CpG.

nizm CIMP pozostaje nieznaną. Występuje ono niemal we wszystkich nowotworach z zaburzeniem metylacji *MLH1*^{18,19,21,38} (ryc. 2 i 3). Patogenetyczne skutki wyciszenia *MLH1* są dobrze znane, ale rola innych zdarzeń związanych z epigenetycznym wyciszeniem pozostaje przedmiotem intensywnych badań. W raku jelita grubego nieprawidłowa metylacja pośredniego stopnia określa pewien podtyp w CIMP zwany CIMP2 lub CIMP niski. Jak się przypuszcza, odpowiada on za 30% przypadków CIMP.^{22,23} Jeszcze innym przykładem nieprawidłowej metylacji jest metylacja eksonu 3 genu wimentyny. Choć to locus nie ulegający ekspresji zarówno w prawidłowej błonie śluzowej jelita, jak i w raku jelita grubego, to jego nieprawidłową metylację obserwuje się u 53-83% chorych na raka jelita grubego o fenotypie CIMP.^{39,40}

MUTACJE INAKTYWUJĄCE GENY SUPRESOROWE NOWOTWORÓW

APC

W rakach jelita grubego obserwuje się wiele zmian genetycznych, ale w powstawaniu nowotworu szczególną rolę odgrywają niektóre szlaki przekazywania sygnałów

(ryc. 2 i tab. 2).⁴¹⁻⁶² Jedną z tych zmian, aktywacja szlaku przekazywania sygnałów WNT, jest uznawana za zdarzenie inicjujące raka jelita grubego.^{2,28,43} Do przekazywania sygnałów WNT dochodzi, gdy białko β -katenina wiąże się ze swymi partnerami jądrowymi (białkami należącymi do rodziny czynników wzmacniających limfocytów T [TCF]). Połączenie β -katenin z TCF prowadzi do powstania czynnika transkrypcyjnego regulującego ekspresję genów uczestniczących w aktywacji komórkowej.^{2,28,43} Komplex degradujący β -kateninę kontroluje stężenie tego białka za pomocą proteolizy. Składnikiem tego kompleksu jest białko APC, które nie tylko degraduje β -kateninę, ale także hamuje jej jądrową lokalizację.

W raku jelita grubego mutacja inaktywująca gen *APC* należy do najczęściej obserwowanych. Jeśli brakuje czynnego białka APC pełniącego funkcję hamulca β -kateniny, dochodzi do nieprawidłowej ciągłej aktywacji przekazywania sygnałów na szlaku WNT. Mutacje linii zarodkowej w genie *APC* prowadzą do wystąpienia zespołu rodzinnej polipowatości gruczolakowej, dziedzicznej skłonności do wystąpienia raka, w przebiegu którego powstają setki polipów gruczolakowatych. U nosicieli zmutowanego genu ryzyko wystąpienia raka przed 40 r.ż. wynosi niemal 100%.^{2,30,43} Somatyczne mutacje i dele-

TABELA 2

Geny supresorowe nowotworów i onkogeny często związane z rakiem jelita grubego*			
Gen	Częstość występowania zaburzeń %	Typ zaburzeń	Komentarz
<i>APC</i>	85	Aktywacja szlaku przekazywania sygnałów WNT w odpowiedzi na brak degradacji białka β -kateniny ^{41,42}	Mutacja linii zarodkowej w rodzinnej polipowatości gruczolakowej, somatyczna inaktywacja wykrywana w 85% sporadycznych raków jelita grubego ⁴³
<i>MLH1, MSH2, MSH6</i>	15-25	Zaburzenia naprawy pojedynczych błędnie sparowanych zasad DNA pozwalające na akumulację mutacji w onkogenach oraz utrata genów supresorowych ^{10-14,31,35}	Mutacja linii zarodkowej w dziedzicznych rakach jelita grubego bez polipowatości, ³⁰ wyciszenie epigenetyczne prowadzi do utraty ekspresji białka MLH1 przez komórki nowotworu
<i>TP53</i>	35-55	Koduje białko odpowiedzialne za regulację cyklu komórkowego, ^{44,45} mutacje inaktywujące typu zmiany sensu, którym towarzyszy utrata heterozygotyczności w 17p	Mutacja linii zarodkowej w zespole Li-Fraumeni ⁴⁶
<i>TGFBR2</i>	25-30	Receptor odpowiedzialny za szlaki przekazywania sygnałów, pośredniczący w zahamowaniu wzrostu i apoptozie, inaktywacja w wyniku mutacji prowadzącej do przesunięcia ramki odczytu w powtórzeniu poliA w sekwencji kodującej TGFBR2 u chorych z zaburzeniami w naprawie błędnie sparowanych zasad ⁴⁷ lub w wyniku wystąpienia mutacji inaktywujących w domenie kinazowej ^{48,49}	Mutacja występuje w >90% nowotworów z niestabilnością mikrosatelitarną i w 15% raków jelita grubego bez niestabilności sekwencji mikrosatelitarnych ⁵⁰
<i>SMAD4</i>	10-35	Kluczowy składnik szlaku przekazywania sygnałów transformującego czynnika wzrostu β , razem z pokrewnymi białkami SMAD2 i SMAD3, geny <i>SMAD4</i> i <i>SMAD2</i> są położone na chromosomie 18q, częstym miejscem utraty heterozygotyczności w rakach jelita grubego, do inaktywacji dochodzi w wyniku delecji homozygotycznej lub mutacji ^{51,52}	Mutacje linii zarodkowej w rodzinnej młodzieńczej polipowatości, z ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego sięgającym 60% w ciągu 3-4 dekady życia ⁵³
<i>KRAS</i>	35-45	Koduje białko KRAS należące do rodziny białek G. Mutacja w <i>KRAS</i> prowadzi do konstytutywnej aktywacji tej kinazy, a więc do aktywacji szlaków przekazywania sygnałów PI3K–PDK1–PKB i RAF–MEK–ERK1/2, promując w ten sposób przeżycie komórki i zahamowanie apoptozy ^{54,55}	Mutacja linii zarodkowej w zespole sercowo-twarzowo-skrótnym ⁵⁶
<i>BRAF V600E</i>	8-12	Mutacja aktywująca w domenie kinazy serynowej BRAF, białku uczestniczącym w przekazywaniu sygnałów za pośrednictwem szlaku RAF–MEK–ERK1/2, co przypomina biologiczne skutki mutacji <i>KRAS</i> ^{38,57}	Związane z polipowatością rozrostową, ze zwiększoną częstością występowania gruczolaków zębokowanych, ^{58,59} podobnie jak <i>KRAS</i> , mutacja linii zarodkowej w zespole sercowo-twarzowo-skrótnym ⁵⁶
<i>PTEN</i>	10-15	Promocja aktywacji szlaku przekazywania sygnałów PI3K przez utratę funkcji w wyniku wystąpienia mutacji inaktywującej. Prowadzi to do przekazywania sygnałów związanych z przeżyciem komórek i zahamowania apoptozy	Mutacja linii zarodkowej w zespole Cowdena, stwarzająca duże ryzyko raka piersi z większym o 10% ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego, możliwa rola w utrzymaniu stabilności chromosomalnej ⁶⁰⁻⁶²

* ERK – kinaza regulowana sygnałami zewnątrzkomórkowymi, MAPK – kinaza białkowa aktywowana mitogenem, MEK – kinaza MAPK, PDK1 – izoenzym 1 kinazy dehydrogenazy pirogronianowej, PI3K – kinaza 3-fosfatydyloinozytolu, PKB – kinaza białkowa B.

cje inaktywujące obie kopie *APC* występują w większości sporadycznych gruczolaków i raków jelita grubego.^{2,43} Ponadto obserwuje się niewielką podgrupę nowotworów z prawidłowym *APC*, ale z mutacjami w genie β -kateniny, które uniemożliwiają degradację β -kateniny przez białko APC. Ten typ zmiany również prowadzi do aktywacji szlaku przekazywania sygnałów WNT.^{2,41-43}

TP53

Inaktywacja szlaku TP53 w wyniku mutacji jest drugim kluczowym zdarzeniem genetycznym w raku jelita grubego. W większości nowotworów oba allele *TP53* ulegają inaktywacji, na ogół w wyniku wystąpienia mutacji typu zmiany sensu (missense), inaktywującej transkrypcyjną aktywność

TP53, a także w wyniku delecji chromosomu 17p eliminującej drugi allel *TP53*.^{2,27,28,44,45} Prawidłowe białko TP53 pośredniczy w zatrzymaniu cyklu komórkowego i kontrolowaniu śmierci komórki, którą może aktywować wpływ wielu czynników wywołujących stres komórki.⁶³ Inaktywacja TP53 często zbiega się z przemianą dużych gruczolaków w raki inwazyjne.⁶⁴ W wielu rakach jelita grubego z uszkodzeniami w naprawie błędnie sparowanych zasad *TP53* występuje w postaci prawidłowej, choć aktywność szlaku TP53 jest prawdopodobnie ograniczona w wyniku mutacji w *BAX*, kodującym białko proapoptyczne.^{2,28}

Szlak czynnika supresorowego nowotworów TGF- β

Trzecim krokiem na drodze do powstania raka jelita grubego jest następująca pod wpływem mutacji aktywacja szlaku przekazywania sygnałów TGF- β .⁵⁰ W około jednej trzeciej raków jelita grubego mutacje somatyczne przyczyniają się do inaktywacji *TGFBR2*.^{47,49,50,65,66} W nowotworach z zaburzeniami naprawy błędnie sparowanych zasad *TGFBR2* ulega inaktywacji pod wpływem mutacji prowadzących do przesunięcia ramki odczytu w regionie powtórzeń poliadeninowych występującym w sekwencji kodującej *TGFBR2*.⁴⁷ W co najmniej połowie wszystkich raków jelita grubego z prawidłowym przebiegiem naprawy błędnie sparowanych zasad przekazywanie sygnałów przez TGF- β jest hamowane w wyniku występowania mutacji typu zmiany sensu w domenie kinazowej *TGFBR2* lub, częściowo, mutacji i delecji prowadzących do inaktywacji położonego dalej na szlaku przekazywania sygnałów TGF- β genu *SMAD4* albo spokrewnionych z nim czynników transkrypcji *SMAD2* i *SMAD3*.^{29,47,49-51,65-68} Mutacje powodujące inaktywację szlaku TGF- β zbiegają się z przemianą gruczolaka w dysplazję dużego stopnia lub raka.⁶⁹

AKTYWACJA SZLAKÓW ONKOGENNYCH

RAS i *BRAF*

Rozwojowi raka jelita grubego sprzyja działanie kilku onkogenów (ryc. 2 i tab. 2). Mutacje w onkogenach *RAS* i *BRAF*, uruchamiające szlak przekazywania sygnałów aktywowanej mitogenem kinazy białkowej (MAPK), występują w odpowiednio 37 i 13% raków jelita grubego.^{21,55,57,70,71} Mutacje *RAS*, przede wszystkim w *KRAS*, aktywują GTP-azę, która przekazuje sygnał bezpośrednio do RAF. Mutacje *BRAF* uaktywniają kinazę serynowo-treoninową *BRAF*, która następnie uruchamia kaskadę sygnałową MAPK.^{70,71} Mutacje *BRAF* są wykrywane nawet w małych polipach²¹ i w porównaniu do mutacji *RAS* częściej występują w polipach rozrostowych, gruczolakach ząbkowanych i rakach bliższego odcinka jelita grubego, zwłaszcza cechujących się fenotypem CIMP (ryc. 3). Choć z licznymi dużymi zmianami rozrostowymi, określanymi

mi mianem zespołu polipowatości rozrostowej, są obciążeni zwiększonym ryzykiem rozwoju raka jelita grubego, a progresja choroby następuje pośrednio przez zmiany cechujące się w badaniu histopatologicznym ząbkowaną krąwądzią.^{18,22,38,58,59}

Kinaza 3 fosfatydyloinozytolu

W jednej trzeciej raków jelita grubego występują aktywujące mutacje somatyczne w genie *PI3KCA* kodującym katalityczną podjednostkę kinazy 3 fosfatydyloinozytolu (PI3K).⁷² Rzadziej obserwowane zmiany genetyczne, mogące odgrywać rolę podobną do mutacji *PI3KCA*, polegają na utracie PTEN, inhibitora szlaku przekazywania sygnałów PI3K, powieleniu genu substratu 2 receptora insuliny (IRS2), położonego wcześniej na szlaku przekazywania sygnałów aktywatora, a także jednoczesnym powieleniu AKT i PAK4, położonych dalej na szlaku mediatorów sygnałów PI3K.⁷³

SEKWENCJONOWANIE GENOMU RAKA JELITA GRUBEGO

Postępy w metodologii sekwencjonowania DNA umożliwiły ustalenie sekwencji całego genomu nowotworowego u ludzi. Pierwszym przykładem znaczenia tej technologii stał się rak jelita grubego. Pozwoliła ona na niezwykle wydajne zsekwencjonowanie genomów 18 000 osób zarejestrowanych w bazie danych Reference Sequence (RefSeq) przy National Center for Biotechnology Information.^{65,66} Mutacje somatyczne towarzyszące nowotworom wykryto w 848 genach. Wśród nich wyodrębniono 140 genów mogących znacząco wpływać na powstawanie fenotypu nowotworowego, bowiem mutacje tych genów potwierdzono w co najmniej dwóch rakach jelita grubego. Po korekcie uwzględniającej wielkość genu okazało się, że mutacji jest więcej niż można byłoby oczekiwać na podstawie losowego występowania mutacji.

W genomie przeciętnego raka jelita grubego w IV stopniu zaawansowania występuje 15 zmutowanych genów kandydatów oraz 61 zmutowanych tzw. genów pasażerskich (cechujących się bardzo rzadkim występowaniem mutacji). Przewaga rzadkich mutacji w nowotworowych genach kandydatach przyczynia się do wyjątkowej różnorodności genetycznej raków jelita grubego odzwierciedlającej różnorodność ich przebiegu klinicznego. Tak duża różnorodność genetyczna utrudnia określenie klinicznego wpływu poszczególnych mutacji. Ponadto pierwsze wyniki należy interpretować ostrożnie, bowiem niektóre mutacje uznawane początkowo za rzadkie w raku jelita grubego okazały się później bardziej powszechnymi i prawdopodobnie patogennymi w innych typach nowotworów (np. mutacja *IDH1*, obserwowana początkowo w jednym z raków jelita grubego, po czym wykryta również w wielu glejakach).^{65,66,74}

Dzięki zastosowaniu wielkoskalowego sekwencjonowania genomu raka jelita grubego ujawniono kolejne geny,

w których często występują mutacje. Są wśród nich geny receptorów dla efryny, *EPHA3* i *EPHB6* (kinazy tyrozynowe receptorowe), ulegające wspólnie mutacji w około 20% raków jelita grubego, a także gen *FBXW7* odgrywający rolę w szlaku degradacji białek regulującym cyklinę E i zmutowany w 14% raków jelita grubego.^{65,66,75} Poważnym wyzwaniem jest wyjaśnienie roli, jaką w procesie kancerogenezy odgrywają produkty 140 genów. To z kolei może doprowadzić do znalezienia nowych punktów uchwytu dla leków o ukierunkowanym działaniu.

ZMIANY GENOMU I PROGRESJA NOWOTWORU

Sformułowana wstępnie sekwencja wydarzeń powodujących przemianę gruczolaka w raka^{2,28,43} stała się modelem ukazującym rozwój raka jelita grubego, podczas którego stopniowo następują swoiste mutacje sprzyjające rozwojowi tego nowotworu. Model ów pozwala przewidzieć występowanie mutacji odpowiadających za określone cechy nowotworu, takie jak powstawanie przerzutów regionalnych lub odległych (ryc. 2). Nieoczekiwanie analiza wyników sekwencjonowania całego genomu pierwotnych raków jelita grubego oraz przerzutów odległych u tych samych chorych nie ujawniła występowania nowych mutacji w przerzutach.⁷⁶ Oznacza to, że nowe mutacje nie są niezbędne, by komórki nowotworu opuściły jego pierwotne ognisko i osiedliły się w narządach odległych. Ponieważ kolejne generacje mutacji odgrywają rolę zegara biologicznego, odkrycie takich samych mutacji w przerzutach odległych i pierwotnym ognisku nowotworu oznacza, że rozsiew komórek nowotworowych jest gwałtowny i następuje w czasie krótszym niż 24 miesiące od ostatniej mutacji zachodzącej w pierwotnym nowotworze.⁷⁶

SZLAKI PRZEMIAN CZYNNIKÓW WZROSTU

Zaburzenie regulacji szlaku przekazywania sygnałów prostaglandyny

W raku jelita grubego powszechnie występuje aktywacja szlaków czynników wzrostu (ryc. 2). Wczesnym i kluczowym etapem w rozwoju gruczolaka jest aktywacja szlaku sygnalizacji prostaglandynowej.^{77,78} Ta nieprawidłowość może albo być wywoływana procesem zapalnym, albo być związana z mitogenną stymulacją aktywności COX-2, enzymu pośredniczącego w syntezie prostaglandyny E₂, silnie związanej z rakiem jelita grubego.⁷⁸ Aktywność prostaglandyny E₂ może również wzrastać w odpowiedzi na utratę dehydrogenazy 15 prostaglandyny (15-PGDH), enzymu ograniczającego szybkość degradacji prostaglandyny.⁷⁹⁻⁸¹ Zwiększone stężenie COX-2 stwierdza się u dwóch trzecich chorych na raka jelita grubego,^{78,82} a w 80% gruczolaków i raków jelita grubego następuje utrata 15-PGDH.⁷⁹ Badania kliniczne wykazały, że zahamowanie COX-2 niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi zapobiega powstawaniu nowych gruczolaków⁸³⁻⁸⁶ i pośredniczy w regresji już istniejących gruczolaków.⁸⁷

W raku jelita grubego, a także gen *FBXW7* odgrywający rolę w szlaku degradacji białek regulującym cyklinę E i zmutowany w 14% raków jelita grubego.^{65,66,75} Poważnym wyzwaniem jest wyjaśnienie roli, jaką w procesie kancerogenezy odgrywają produkty 140 genów. To z kolei może doprowadzić do znalezienia nowych punktów uchwytu dla leków o ukierunkowanym działaniu.

Receptor naskórkowego czynnika wzrostu

Naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor, EGF) jest rozpuszczalnym białkiem o działaniu troficznym na komórki jelita. Wyniki badań klinicznych potwierdzają ważną rolę przekazywania sygnałów za pośrednictwem receptora EGF (EGF receptor, EGFR) w podgrupie raków jelita grubego.⁸⁸⁻⁹¹ EGFR pośredniczy w przekazywaniu sygnałów przez aktywację kaskad MAPK i PI3K. Niedawno opublikowane dane kliniczne wykazują, że zaawansowany rak jelita grubego z mutacjami promującymi rozwój nowotworu w tych szlakach, w tym mutacjami aktywującymi w *KRAS*,⁹²⁻⁹⁴ *BRAF*^{95,96} i podjednostce p110 PI3K,⁹⁷ nie odpowiadają na leczenie ukierunkowane przeciw EGFR.

Czynnik wzrostu śródbłonna naczyń

Czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor, VEGF) ulega ekspresji po urazie lub w czasie rozrostu tkanki prawidłowej, przyczyniając się do powstawania nowych naczyń krwionośnych podścieliska (angiogenezy). Badania kliniczne wskazują na rolę szlaków angiogenezy w rozwoju i zagrożeniu wynikającym z rozprzestrzeniania się raka jelita grubego. Leczenie przeciwciałem skierowanym przeciw VEGF, bewacyzumabem, wydłuża średnio o 4,7 miesiąca przeżycie całkowite chorych na zaawansowanego raka jelita grubego (15,6 miesiąca po leczeniu standardowym).⁹⁸ Znalezienie molekularnych różnic między nowotworami, które dobrze odpowiedzą na takie leczenie a nowotworami, w których nie będzie ono skuteczne, nadal jest wyzwaniem dla badaczy.

SZLAKI PRZEMIAN KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Uważa się, że komórki macierzyste raka jelita grubego są zdolne do samoodnowy.⁹⁹⁻¹⁰² Zgodnie z definicją pojedyncze komórki macierzyste raka jelita grubego mogą się osiedlić w sprzyjającym miejscu, takim jak wątroba, w którym dają początek przerzutom. Obecnie nie jest możliwe wyodrębnienie pojedynczych komórek macierzystych raka, choć pewne białka powierzchniowe komórek (np. CD133, CD44, CD166 oraz dehydrogenaza aldehydowa 1) są ich obiecującymi markerami. Prawidłowe komórki macierzyste znajdują się w kryptach jelitowych. Zachowanie przez nie zdolności do podziału i różnicowania zależy od oddziaływań związanych z przyleganiem i rozpuszczalnością w obrębie podścieliska i nabłonka. Zmiany w tych mechanizmach regulatorowych w komórkach macierzystych raka jelita grubego stwarzają obiecujące pole badań, ponieważ czynniki kontrolujące wzrost tych komórek można teoretycznie wykorzystywać w zapobieganiu temu nowotworowi i leczeniu dotkniętych nim chorych.

TABELA 3

Prognostyczne i predykcyjne markery DNA w raku jelita grubego*	
Marker DNA	Komentarze
Prognostyczne	
<i>APC</i>	Mutacja linii zarodkowej definiuje zespół predysponujący do zachorowania na raka jelita grubego, rodzinną polipowatość gruczolakową (FAP), stwarzającą ryzyko wystąpienia raka jelita grubego w ciągu życia wynoszące 80-100%. U chorych z mutacjami linii zarodkowej <i>APC</i> wykonuje się profilaktyczną kolektomię lub proktokolektomię.
<i>MLH1, MSH2, MSH6</i>	Mutacja linii zarodkowej w tych i, rzadziej, w innych genach związanych z naprawą błędnie sparowanych zasad definiuje dziedzicznego raka jelita grubego bez polipowatości, ryzyko wystąpienia raka jelita grubego wynosi 40-80%, zwiększone jest również ryzyko wystąpienia raka trzonu macicy. Chorzy z mutacjami linii zarodkowej w genach związanych z naprawą błędnie sparowanych zasad są poddawani częstym kolonoskopiom i mogą być kandydatami do profilaktycznej kolektomii oraz histerektomii (kobiety).
Wyciszenie genu <i>MLH1</i> związane z metylacją	Somatyczna inaktywacja <i>MLH1</i> w pierwotnych rakach jelita grubego potwierdzona występowaniem niestabilności mikrosatelitarnej DNA lub utratą przez komórki guza ekspresji białka <i>MLH1</i> , potwierdzoną w analizie immunohistochemicznej, częściej występuje w rakach jelita grubego we wczesnym stopniu zaawansowania niż w chorobie bardziej zaawansowanej. Inaktywacja może być markerem choroby o wolniejszym przebiegu. Taka choroba lepiej rokuje, jeśli nie podejmuje się chemioterapii adiuwantowej. ^{103,104}
Utrata heterozygotyczności 18q	Somatyczna utrata heterozygotyczności w chromosomalnym locus 18q, miejscu zawierającym geny związane z rakiem jelita grubego (<i>SMAD4</i> i <i>SMAD2</i>), związana jest z gorszymi wynikami leczenia u chorych na raka w II lub III stopniu zaawansowania niż u chorych na nowotwory, w których oba rodzicielskie allele są zachowane w pozycji 18q. ¹⁰⁵
Predykcyjne	
<i>KRAS</i>	Mutacja somatyczna prowadzi do trwałej aktywacji sygnałowej szlaków <i>MAPK</i> i <i>PI3K</i> . Chorzy na raka jelita grubego w IV stopniu zaawansowania i z aktywującymi mutacjami w genie <i>KRAS</i> nie odpowiadają na leczenie inhibitorami <i>EGFR</i> . ⁹²⁻⁹⁴
<i>BRAF V600E</i>	Somatyczna mutacja aktywująca tę kinazę. Prowadzi do trwałej aktywacji sygnałów szlaku <i>MAPK</i> . Chorzy na raka jelita grubego w IV stopniu zaawansowania i z aktywującą mutacją <i>BRAF V600E</i> nie odpowiadają na leczenie inhibitorami <i>EGFR</i> . ⁹⁵
Wyciszenie <i>MLH1</i> związane z metylacją	Utrata funkcji związanej z naprawą błędnie sparowanych zasad może stać się przyczyną utraty funkcji innych genów supresorowych guza (np. <i>TGFBR2</i> i <i>BAX</i>). Chorzy na nowotwory, w których naprawa błędnie sparowanych zasad jest upośledzona, mogą nie odpowiadać na leczenie fluorouracyłem i lepiej odpowiadać na schematy terapeutyczne zawierające irynotekan. ^{106,107}

BAX – białko X towarzyszące BCL2, EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu, MAPK – kinaza proteinowa aktywowana mitogenem, PI3 – kinaza 3-fosfatydilinozytolu, TGFBR2 – receptor β typu II transformującego czynnika wzrostu.

MARKERY PREDYKCYJNE I PROGNOZTYCZNE

Wykorzystanie ogromnej wiedzy o zmianach w genomie komórki nowotworowej raka jelita grubego w badaniach translacyjnych, których celem jest stworzenie testów predykcyjnych i prognostycznych, stanowi ciągle wyzwanie dla badaczy (tabela. 3). Dobrym przykładem wykorzystania genomiki w leczeniu jest dziś zależność między statusem genów kodujących elementy szlaku przekazywania sygnałów EGFR, RAS i BRAF a terapią ukierunkowaną przeciw EGFR.⁹²⁻⁹⁶ Kilka markerów genomowych znajduje zastosowanie jako markery rokownicze. Na przykład mutacje linii zarodkowej w genach supresorowych nowotworów, takich jak *APC*, *MLH1* i *MSH2*, wskazują na duże ryzyko wystąpienia raka jelita grubego i wyznaczają częstość wykonywania badań kontrolnych w kierunku tego nowotworu, a także wskazania do przeprowadzenia profilaktycznych zabiegów chirurgicznych. Wartość rokownicza innych markerów jest umiarkowana i nie została potwierdzona, nie są one za-

tem wykorzystywane obecnie w bezpośredniej praktyce. Sporadyczne raki jelita grubego z zaburzeniami w naprawie błędnie sparowanych zasad rokiem rokuje do- brze,^{35,103,105,108} natomiast w rakach jelita grubego w II i III stopniu zaawansowania złe rokowanie wiąże się z delecją p27 (regulator proapoptyczny cyklu komórkowego¹⁰⁹) lub utratą heterozygotyczności w locus chromosomalnym 18q.¹⁰⁵

NIEINWAZYJNE BADANIA MOLEKULARNE

Opracowanie nowych narzędzi diagnostyki molekularnej służących wczesnemu wykrywaniu raka jelita grubego to ważny przykład przełożenia znajomości biologii raka jelita grubego na praktykę kliniczną. Jednym z przykładów jest opracowanie testów służących wykrywaniu mutacji swoistych dla raka jelita grubego i związanej z nim nieprawidłowej metylacji DNA w DNA izolowanym z próbek kału chorych na raka jelita grube-

go lub zaawansowane gruczolaki. Czulość tych testów w rozpoznawaniu raka jelita grubego we wczesnym stopniu zaawansowania sięga 46-77% i jest większa niż czulość testów wykrywających krew utajoną w kale, choć nie wykazano ich przewagi w zapobieganiu zgonom z powodu raka jelita grubego.^{39,110-113} Badanie wyodrębnionego z kału DNA w kierunku raka jelita grubego dołączono do wytycznych American Cancer Society dotyczących badań przesiewowych.¹¹⁴ Wydaje się, że z jednakową czulością pozwala ono na rozpoznawanie zaawansowanych gruczolaków.¹¹⁵ W praktyce klinicznej mogą się okazać przydatne badania wykrywające DNA z próbek pozbawionych komórek plazmatycznych, choć nadal są one w fazie opracowywania.¹¹⁵ Przedmiotem badań są również testy oceniające swoiste dla nowotworu białka osocza oraz profile RNA. Nadal nie ustalono optymalnego odstępu między kolejnymi badaniami, a także wiarygodności i efektywności kosztowej badań DNA uzyskanego z kału w porównaniu z nowszymi testami immunologicznymi wykrywającymi krew utajoną w kale.¹¹⁶

ROLA CZYNNIKÓW GENETYCZNYCH W PODATNOŚCI POPULACJI

Epidemiologia molekularna oraz badania z udziałem bliźniąt wskazują, że 35 do 100% raków jelita grubego rozwija się u osób, które odziedziczyły cechy predysponujące je do wystąpienia choroby.¹¹⁷⁻¹¹⁹ Ponadto w niektórych rodzinach występuje zespół podobny do HNPCC, któremu prawdopodobnie nie towarzyszą żadne zaburzenia naprawy błędnie sparowanych zasad.¹²⁰ Szereg loci w genomie, w których mogą znajdować się geny podatności o dużym stopniu penetracji, wykryto za pomocą badania sprzężeń,¹²¹⁻¹²³ ale mutacje leżące u ich podłoża pozostają nieznane. Badania asocjacyjne obejmujące cały genom doprowadziły też do identyfikacji wariantów DNA linii zarodkowej, które są silnie związane z podatnością na zachorowanie. Kliniczne znaczenie tych odkryć pozostaje jednak ograniczone, ponieważ względne ryzyko związane z tymi wariantami jest niewielkie.¹²⁴⁻¹²⁹

PIŚMIENNICTWO

1. Jemal A, Siegel I, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008;58:71-96.
2. Kinzler KW, Vogelstein B. Colorectal tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, eds. The genetic basis of human cancer. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2002: 583-612.
3. Libutti SK, Saltz LB, Tepper JE. Colon cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles and practice of oncology. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 1232-84.
4. Compton C, Hawk ET, Grochow L, Lee F, Ritter M, Niederhuber JE. Colon cancer. In: Abeloff MD, Armitage J,

- Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna GW, eds. *Abeloff's clinical oncology*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2008:1477-534.
5. Markowitz SD, Dawson DM, Willis J, Willson JK. Focus on colon cancer. *Cancer Cell* 2002;1:233-6.
6. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2343-51.
7. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature* 1997;386:623-7.
8. Barber TD, McManus K, Yuen KW, et al. Chromatoid cohesion defects may underlie chromosome instability in human colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 3443-8.

9. Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, et al. Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 1997;17:271-2.
10. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, et al. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 1993;75:1215-25.
11. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei YF, et al. Mutations of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* 1994;263:1625-9.
12. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993;75:1027-38. [Erratum, *Cell* 1994; 77: 167.]

PODSUMOWANIE

Badania ułatwiające zrozumienie molekularnego podłoża raka jelita grubego dostarczyły ważnych narzędzi, umożliwiających wykonywanie testów genetycznych w obciążających dużym ryzykiem rodzinnych formach tego nowotworu. Ponadto pozwoliły na wyodrębnienie markerów predykcyjnych pozwalających na dobór chorych do stosowania określonych klas leków. W nielicznych przypadkach pozwoliły też uzyskać narzędzia diagnostyki molekularnej umożliwiające nieinwazyjne wykrywanie nowotworów we wczesnej fazie rozwoju. Wyodrębniono też szlaki przemian biologicznych, które mogą się stać punktem uchwytu działania nowych leków. Chociaż niektóre często występujące mutacje są atrakcyjnymi potencjalnymi celami ukierunkowanego leczenia, również zachęcającymi punktami uchwytu mogą być powszechnie występujące szlaki przekazywania sygnałów, których przebieg zależy od tych mutacji. Ostatnie osiągnięcia w pracach nad testami molekularnymi służącymi wczesnemu wykrywaniu raków jelita grubego wskazują, że znajomość statusu genów i szlaków kontrolujących wczesne etapy rozwoju choroby oraz zrozumienie mechanizmów decydujących o podatności poszczególnych osób na wystąpienie choroby może już wkrótce odegrać kluczową rolę w procesie leczenia.

Zrozumienie sygnałów decydujących o rozwoju fenotypu sprzyjającego tworzeniu przerzutów dostarczy informacji koniecznych do opracowania leków pozwalających na kontrolę lub zapobieganie wystąpieniu zaawansowanych form nowotworu. Dzięki znaczącym postępom dokonany ostatnio w rozumieniu biologii raka jelita grubego można mieć nadzieję na znaczące postępy w terapii tego nowotworu.

Dr Markowicz zgłasza, że jest współautorem patentów przyznanych Exact Sciences i LabCorp oraz ma udział w zyskach uzyskanych ze sprzedaży produktów oceniających stan metylacji DNA genu wimentyny, zgodnie z przepisami Case Western Reserve University. Nie zgłoszono innych potencjalnych konfliktów interesów, które mogłyby mieć wpływ na niniejszy artykuł.

From The New England Journal of Medicine 2009; 361: 2449-2460. Translated and reprinted in its entirety with permission of the Massachusetts Medical Society. Copyright © 2009, 2010 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

13. Bronner CE, Baker SM, Morrison PJ, et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* 1994; 368: 258-61.
14. Ionov Y, Peinado M, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993; 363: 558-61.
15. Kane MF, Loda M, Gaida GM, et al. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. *Cancer Res* 1997;57:808-11.
16. Herman JG, Umar A, Polyak K, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 6870-5.
17. Veigl ML, Kasturi L, Olechnowicz J, et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:8698-702.
18. Issa JP. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4:988-93.
19. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman J, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:8681-6.
20. Kondo Y, Issa JP. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004; 23: 29-39.
21. Noshko K, Irahara N, Shima K, et al. Comprehensive biostatistical analysis of CpG island methylator phenotype in colorectal cancer using a large population-based sample. *PLoS One* 2008;3(11):e3698.
22. Shen L, Toyota M, Kondo Y, et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:18654-9.
23. Barault L, Charon-Barra C, Jooste V, et al. Hypermethylator phenotype in sporadic colon cancer: study on a population-based series of 582 cases. *Cancer Res* 2008; 68:8541-6.
24. Jones S, Emmeron P, Maynard J, et al. Biallelic germline mutations in MYH predispose to multiple colorectal adenoma and somatic G:C:T>A mutations. *Hum Mol Genet* 2002;11:2961-7.
25. Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, et al. Inherited variants of MYH associated with somatic G:C:T>A mutations in colorectal tumors. *Nat Genet* 2002;30:227-32.
26. Cleary SP, Cotterchio M, Jenkins MA, et al. Germline MutY human homologue mutations and colorectal cancer: a multisite case-control study. *Gastroenterology* 2009; 136:1251-60.
27. Grady WM, Markowitz S. Colorectal cancer: genetic alterations. In: Kelsen D, Daly J, Kern S, Levin B, Tepper J, eds. *Gastrointestinal oncology: principles and practice*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:685-702.
28. Fearon ER, Bommer GT. Molecular biology of colorectal cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. *DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology*. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008:1218-31.
29. Leary RJ, Lin JC, Cummins J, et al. Integrated analysis of homozygous deletions, focal amplifications, and sequence alterations in breast and colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105:16224-9.
30. Lynch HT, Lynch JF, Lynch PM, Attard T. Hereditary colorectal cancer syndromes: molecular genetics, genetic counseling, diagnosis and management. *Fam Cancer* 2008; 7:27-39.
31. Boland CR, Koi M, Chang DK, Carethers JM. The biochemical basis of microsatellite instability and abnormal immunohistochemistry and clinical behavior in Lynch syndrome: from bench to bedside. *Fam Cancer* 2008;7:41-52.
32. Järvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, et al. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 2000;118:829-34.
33. Kastrinos F, Syngal S. Recently identified colon cancer predispositions: MYH and MSH6 mutations. *Semin Oncol* 2007;34:418-24.
34. Kolodner RD, Tytell JD, Schmeits JL, et al. Germ-line msh6 mutations in colorectal cancer families. *Cancer Res* 1999;59:5068-74.
35. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993; 260:816-9.
36. Aaltonen LA, Peltomäki P, Leach FS, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993;260:812-6.
37. Hampel H, Frankel WL, Martin E, et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med* 2005;352:1851-60.
38. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet* 2006;38:787-93.
39. Chen WD, Han ZJ, Skoletsky J, et al. Detection in fecal DNA of colon cancer-specific methylation of the non-expressed vimentin gene. *J Natl Cancer Inst* 2005;97: 1124-32.
40. Zou H, Harrington JJ, Shire AM, et al. Highly methylated genes in colorectal neoplasia: implications for screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:2686-96.
41. Korinek V, Barker N, Morin PJ, et al. Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma. *Science* 1997; 275: 1784-7.
42. Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, et al. Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science* 1997;275:1787-90.
43. Goss KH, Groden J. Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. *J Clin Oncol* 2000;18: 1967-79.
44. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, et al. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989;244:217-21.
45. Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER, Willson JK, Vogelstein B. Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. *Science* 1990;249:912-5.
46. Malkin D, Li FP, Strong LC, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990;250:1233-8. [Erratum, 1993; 259:878.]
47. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, et al. Inactivation of the type II TGF- β receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995;268:1336-8.
48. Parsons R, Myeroff LL, Liu B, et al. Microsatellite instability and mutations of the transforming growth factor type II receptor gene in colorectal cancer. *Cancer Res* 1995;55:5548-50.
49. Grady WM, Myeroff LL, Swinler SE, et al. Mutational inactivation of transforming growth factor receptor type II in microsatellite stable colon cancers. *Cancer Res* 1999; 59:3204.
50. Grady WM, Markowitz SD. TGF- β signaling pathway and tumor suppression. In: Derynck R, Miyazawa K, eds. *The TGF- β family*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008:889-938.
51. Thiagalingam S, Lengauer C, Leach FS, et al. Evaluation of candidate tumour suppressor genes on chromosome 18 in colorectal cancers. *Nat Genet* 1996;13:343-6.
52. Takagi Y, Kohmura H, Futamura M, et al. Somatic alterations of the DPC4 gene in human colorectal cancers *in vivo*. *Gastroenterology* 1996;111:1369-72.
53. Howe JR, Roth S, Ringold JC, et al. Mutations in the SMAD4/DPC4 gene in juvenile polyposis. *Science* 1998; 280:1086-8.
54. Downward J. Ras signalling and apoptosis. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8:49-54.
55. Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature* 1987; 327:293-7.
56. Aoki Y, Niihori T, Narumi Y, Kure S, Matsubara Y. The RAS/MAPK syndromes: novel roles of the RAS pathway in human genetic disorders. *Hum Mutat* 2008; 29:992-1006.
57. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417:949-54.
58. O'Brien MJ. Hyperplastic and serrated polyps of the colorectum. *Gastroenterol Clin North Am* 2007;36: 947-68.
59. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 2007;50:113-30.
60. Liaw D, Marsh DJ, Li J, et al. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nat Genet* 1997;16:64-7.
61. Marsh DJ, Dahia PL, Zheng Z, et al. Germline mutations in PTEN are present in Bannayan-Zonana syndrome. *Nat Genet* 1997;16:333-4.
62. Yin Y, Shen WH. PTEN: a new guardian of the genome. *Oncogene* 2008;27:5443-53.
63. Vazquez A, Bond EE, Levine AJ, Bond GL. The genetics of the p53 pathway, apoptosis and cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:979-87.
64. Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, et al. p53 Gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 1990;50:7717-22.
65. Sjöblom T, Jones S, Wood LD, et al. The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 2006;314:268-74.
66. Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 2007;318:1108-13.
67. Eppert K, Scherer SW, Ozcelik H, et al. MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGF- β -regulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell* 1996;86:543-52.
68. Riggins GJ, Thiagalingam S, Rozenblum E, et al. MAD-related genes in the human. *Nat Genet* 1996;13:347-9.
69. Grady WM, Rajput A, Myeroff L, et al. Mutation of the type II transforming growth factor- β receptor is coincident with the transformation of human colon adenomas to malignant carcinomas. *Cancer Res* 1998;58:3101-4.
70. Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. Tumorigenesis: RAS/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002;418:934.
71. Siena S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Balfour J, Bardelli A. Biomarkers predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1308-24.
72. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 2004;304:554.
73. Parsons DW, Wang TL, Samuels Y, et al. Colorectal cancer: mutations in a signalling pathway. *Nature* 2005; 436:792.
74. Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008;321:1807-12.
75. Rajagopalan H, Jallepalli PV, Rago C, et al. Inactivation of hCDC4 can cause chromosomal instability. *Nature* 2004; 428:77-81.

76. Jones S, Chen WD, Parmigiani G, et al. Comparative lesion sequencing provides insights into tumor evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:4283-8.
77. Markowitz SD. Aspirin and colon cancer – targeting prevention? *N Engl J Med* 2007;356:2195-8.
78. Cha YI, DuBois RN. NSAIDs and cancer prevention: targets downstream of COX-2. *Annu Rev Med* 2007;58:239-52.
79. Yan M, Rerko RM, Platzer P, et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase, a COX-2 oncogene antagonist, is a TGF- β -induced suppressor of human gastrointestinal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:17468-73.
80. Myung SJ, Rerko RM, Yan M, et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase is an *in vivo* suppressor of colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:12098-102.
81. Backlund MG, Mann JR, Holla VR, et al. 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase is down-regulated in colorectal cancer. *J Biol Chem* 2005;280:3217-23.
82. Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin use and risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2. *N Engl J Med* 2007;356:2131-42.
83. Baron JA, Cole BF, Sandler RS, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2003;348:891-9.
84. Sandler RS, Halabi S, Baron JA, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348:883-90. [Erratum, *N Engl J Med* 2003;348:1939.]
85. Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG, et al. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2006;355:873-84.
86. Arber N, Eagle CJ, Spicak J, et al. Celecoxib for the prevention of colorectal adenomatous polyps. *N Engl J Med* 2006;355:885-95.
87. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RKS, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 2000;342:1946-52.
88. Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ, Needle MN, Kopit J, Mayer RJ. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 2004;22:1201-8.
89. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;351:337-45.
90. Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2005;352:476-87.
91. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:1658-64.
92. Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1626-34.
93. Lièvre A, Bachet JB, Boige V, et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2008;26:374-9.
94. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1757-65.
95. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:5705-12.
96. Wong R, Cunningham D. Using predictive biomarkers to select patients with advanced colorectal cancer for treatment with epidermal growth factor receptor antibodies. *J Clin Oncol* 2008;26:5668-70. [Erratum, *J Clin Oncol* 2009;27:3070.]
97. Jhawer M, Goel S, Wilson AJ, et al. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. *Cancer Res* 2008;68:1953-61. [Erratum, *Cancer Res* 2008;68:6859.]
98. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335-42.
99. Boman BM, Huang E. Human colon cancer stem cells: a new paradigm in gastrointestinal oncology. *J Clin Oncol* 2008;26:2828-38.
100. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007;445:106-10.
101. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007;445:111-5.
102. Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, et al. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:10158-63.
103. Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, et al. Microsatellite instability in sporadic colon cancer is associated with an improved prognosis at the population level. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:917-23.
104. Kim GP, Colangelo LH, Wieand HS, et al. Prognostic and predictive roles of high-degree microsatellite instability in colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative Study. *J Clin Oncol* 2007;25:767-72.
105. Watanabe T, Wu T-T, Catalano PJ, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001;344:1196-206.
106. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247-57.
107. Bertagnolli MM, Niedzwiecki D, Compton CC, et al. Microsatellite instability predicts improved response to adjuvant therapy with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in stage III colon cancer: Cancer and Leukemia Group B Protocol 89803. *J Clin Oncol* 2009;27:1814-21.
108. Ogino S, Noshro K, Kirkner GJ, et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009;58:90-6.
109. Bertagnolli MM, Warren RS, Niedzwiecki D, et al. p27Kip1 in stage III colon cancer: implications for outcome following adjuvant chemotherapy in Cancer and Leukemia Group B protocol 89803. *Clin Cancer Res* 2009;15:2116-22.
110. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, Turnbull BA, Ross ME. Fecal DNA *versus* fecal occult blood for colorectal-cancer screening in an average-risk population. *N Engl J Med* 2004;351:2704-14.
111. Itzkowitz SH, Jandorf L, Brand R, et al. Improved fecal DNA test for colorectal cancer screening. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:111-7.
112. Itzkowitz S, Brand R, Jandorf L, et al. A simplified, non-invasive stool DNA test for colorectal cancer detection. *Am J Gastroenterol* 2008;103:2862-70.
113. Ahlquist DA, Sargent DJ, Loprinzi CL, et al. Stool DNA and occult blood testing for screen detection of colorectal neoplasia. *Ann Intern Med* 2008;149:441-50.
114. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *CA Cancer J Clin* 2008;58:130-60.
115. Li M, Chen WD, Papadopoulos N, et al. Sensitive digital quantification of DNA methylation in clinical samples. *Nat Biotechnol* 2009;27:858-63.
116. Hundt S, Haug U, Brenner H. Comparative evaluation of immunohistochemical fecal occult blood tests for colorectal adenoma detection. *Ann Intern Med* 2009;150:162-9.
117. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer: analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000;343:78-85.
118. Hemminki K, Mutanen P. Genetic epidemiology of multistage carcinogenesis. *Mutat Res* 2001;473:11-21.
119. Cannon-Albright L, Skolnick M, Bishop T, Lee R, Burt R. Common inheritance of susceptibility to colonic adenomatous polyps and associated colorectal cancers. *N Engl J Med* 1988;319:533-7.
120. Lindor NM, Rabe K, Petersen GM, et al. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X. *JAMA* 2005;293:1979-85.
121. Wiesner GL, Daley D, Lewis S, et al. A subset of familial colorectal neoplasia kindreds linked to chromosome 9q22.2-31.2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:12961-5.
122. Papaemmanuil E, Carvajal-Carmona L, Sellick GS, et al. Deciphering the genetics of hereditary non-syndromic colorectal cancer. *Eur J Hum Genet* 2008;16:1477-86.
123. Neklason DW, Kerber RA, Nilson DB, et al. Common familial colorectal cancer linked to chromosome 7q31: a genomewide analysis. *Cancer Res* 2008;68:8993-7.
124. Zanke BW, Greenwood CM, Rangrej J, et al. Genome-wide association scan identifies a colorectal cancer susceptibility locus on chromosome 8q24. *Nat Genet* 2007;39:989-94.
125. Tomlinson I, Webb E, Carvajal-Carmona L, et al. A genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility variant for colorectal cancer at 8q24.21. *Nat Genet* 2007;39:984-8.
126. Broderick P, Carvajal-Carmona L, Pittman AM, et al. A genome-wide association study shows that common alleles of SMAD7 influence colorectal cancer risk. *Nat Genet* 2007;39:1315-7.
127. Tomlinson IP, Webb E, Carvajal-Carmona L, et al. A genome-wide association study identifies colorectal cancer susceptibility loci on chromosomes 10p14 and 8q23.3. *Nat Genet* 2008;40:623-30.
128. Tenesa A, Farrington SM, Prendergast JG, et al. Genome-wide association scan identifies a colorectal cancer susceptibility locus on 11q23 and replicates risk loci at 8q24 and 18q21. *Nat Genet* 2008;40:631-7.
129. Houlston RS, Webb E, Broderick P, et al. Meta-analysis of genome-wide association data identifies four new susceptibility loci for colorectal cancer. *Nat Genet* 2008;40:1426-35.