

Nowotworzenie i markery molekularne raka tarczycy

Guennadi Kouniavsky, Martha A. Zeiger

Current Opinion in Oncology 2010, 22: 23-29.

Dr Kouniavsky, Endocrine Surgery,
The Johns Hopkins Medical
University School of Medicine,
Baltimore, Maryland,
Stany Zjednoczone
i Department of General Surgery
and Surgical Oncology,
Sheba Medical Center,
Tel Hashomer, Izrael.

Dr Zeiger, Endocrine Surgery,
Oncology, Cellular and Molecular
Medicine, The Johns Hopkins
Medical University School
of Medicine, Baltimore, Maryland,
Stany Zjednoczone.

Adres do korespondencji:
Martha A. Zeiger, MD, FACS, FACE,
The Johns Hopkins Medical
Institutions, 600 N Wolfe Street,
Blalock 606, Baltimore,
MD 21287, USA;
e-mail: mzeiger@jhmi.edu

CEL PRACY

Przedstawienie najnowszych osiągnięć w zakresie poznawania mechanizmów prowadzących do rozwoju raka tarczycy oraz ich wpływu na praktykę kliniczną.

OSTATNIE ODKRYCIA

Do najnowszych i obiecujących odkryć w omawianej dziedzinie należy poznanie dodatkowych nieprawidłowości w kluczowych szlakach przemian występujących w przebiegu nowotworów tarczycy (RET-Ras-BRAF-MEK, RET- β -kateniny, TRK-PI3K-AKT i MDM-TP53-PTEN), polimorfizmów pojedynczych nukleotydów związanych z podatnością na zachorowanie na raka tarczycy, wyciszenia epigenetycznego, alternatywnego składania oraz zaburzeń ekspresji genów. Dzięki postępowi w badaniach podstawowych będzie możliwe lepsze zrozumienie złożonych mechanizmów regulacyjnych oraz poznanie czynników prowadzących do powstawania zaburzeń molekularnych.

PODSUMOWANIE

Wyniki prowadzonych obecnie badań być może pozwolą na rozwiązanie takich problemów klinicznych, jak interpretacja niejednoznacznych wyników biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, a także umożliwią opracowanie skuteczniejszych algorytmów leczenia chorych na różnicowanego oraz anaplastycznego raka tarczycy.

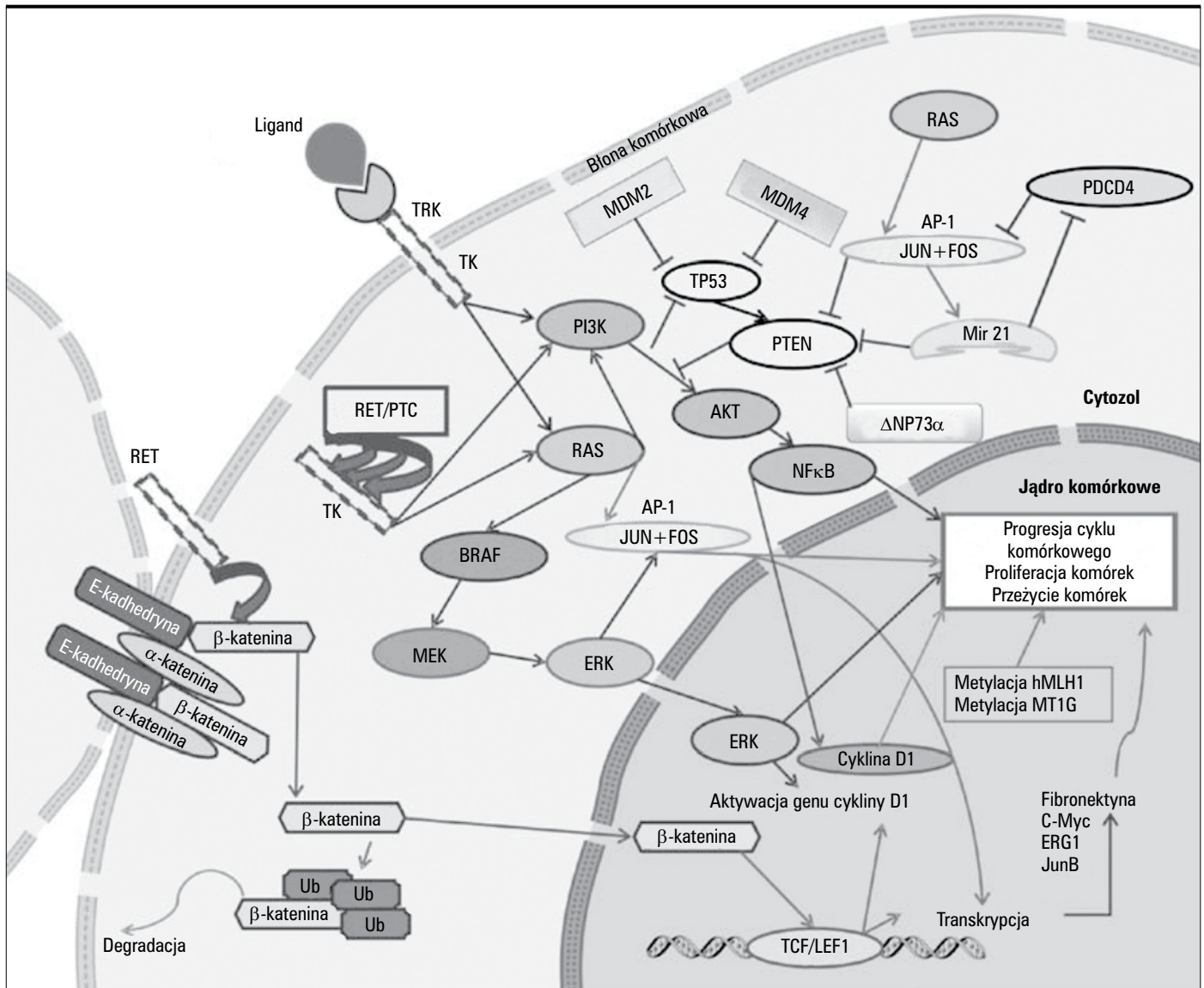
SŁOWA KLUCZOWE

alternatywne składanie, rearanżacja genów, zaburzenia molekularne, polimorfizmy pojedynczych nukleotydów, powstawanie raka tarczycy

WPROWADZENIE

Autorzy przeanalizowali piśmiennictwo poświęcone powstawaniu raka tarczycy, skupiając się na ciekawych i nowatorskich odkryciach opublikowanych w ciągu ostatnich 18 miesięcy. Przegląd uporządkowano według typów zaburzeń molekularnych, w tym genetycznych, epigenetycznych, szlaków przenoszenia sygnałów, alternatywnego składania, ekspresji genów i regulacji cyklu komórkowego. W celu uproszczenia tego podsumowania wiele ostatnich odkryć wymieniono w tabeli oraz na bardziej przejrzystej, a zarazem przedstawiającej wzajemne zależności rycinie (ryc. 1).

RYCINA 1



Schematyczne podsumowanie wymienionych w artykule szlaków sygnałowych prowadzących do powstania nowotworu pęcherzykowego tarczycy. AKT – kinaza białkowa B, BRAF – homolog B1 onkogenu wirusowego mięsaka mysiego V-raf, MDM – murine double minute, MEK – kinaza białkowa aktywowana miogieniem, NFκB – czynnik jądrowy kappa B, RET – protoonkogen RET, PTC – rak brodawkowaty tarczycy, PTEN – homolog fosfatazy i tensyny, TRK – receptor kinazy tyrozynowej.

PREDYSPOZYCJA GENETYCZNA

Ostatnio znaczne zainteresowanie wzbudziło zagadnienie genetycznych predyspozycji do zachorowania na raka tarczycy, któremu poświęcono kilka doniesień¹⁻⁸ (tabela). Wiadomo, że 5-10% raków brodawkowatych tarczycy (papillary thyroid cancer, PTC) występuje rodzinnie, najprawdopodobniej na podłożu zaburzeń wielogenowych. W jednym z najnowszych badań¹ przeprowadzono analizę asocjacyjną całego genomu w populacjach islandzkiej i hiszpańskiej, znanych ze skłonności do zachorowania na raka tarczycy. Stwierdzono, że z zachorowaniem wiązały się dwa

warianty genów na chromosomach 9q22.33 i 14q13.3. U osób homozygotycznych w zakresie obu wariantów, ryzyko wystąpienia raka tarczycy zwiększało się niemal sześciokrotnie. Co ciekawe, okazało się, że zidentyfikowane regiony odpowiadają genom dla czynnika transkrypcyjnego TTF2 (transcription termination factor 2), znanego również pod nazwą FOXE 1 (fork-head box E 1), oraz TTF1, znanego pod nazwą NKX2-1 (NK2 homeobox 1), które odgrywają kluczową rolę w procesie różnicowania tarczycy oraz uczestniczą w regulacji tyreoglobuliny i tyreoperoksydazy. W innym badaniu,² na podstawie analizy molekularnej u członków 26 rodzin obciążonych PTC i czerniakiem

TABELA

Podsumowanie piśmiennictwa poświęconego umiejscowieniu genów podatności na raka tarczycy, opublikowanego w ciągu ostatnich 18 miesięcy

Autor	Chromosom	Gen	Czynność	Swoisty typ nowotworu
Gudmundsson i wsp. ¹	9q22.33	<i>FOXE1</i>	Różnicowanie tarczycy	PTC i FTC
	14q13.3	<i>NKX2-1</i>		
He i wsp. ²	8q24	<i>AKO23948</i>	Niekodujący RNA	PTC
Jazdzewski i wsp. ³	5q33	<i>Premir-146a</i>	Regulacja genowa	PTC
Penna-Martinez i wsp. ⁴	2q12-14	<i>VDR</i>	Receptor witaminy D	FTC
Ho i wsp. ⁵	19q13.2-13.3	<i>XRCC1</i>	Naprawa DNA	PTC i FTC
Chiang i wsp. ⁶	19q13.2-13.3	<i>XRCC1</i>	Geny naprawy wycinania zasad DNA	PTC i FTC
	1q41-42	<i>ADRPT</i>		
Baida i wsp. ⁷	1p12	<i>Nieznany</i>	Nieznana	PTC, FTC i HCC
		<i>WDR3, SPAG1, GDAP2</i>	Transdukcja sygnału	
Dardano i wsp. ⁸	12q24	<i>P2X₇R</i>	Receptor purynergiczny	FVPTC

FTC – rak pęcherzykowy tarczycy, FVPTC – wariant pęcherzykowy raka brodawkowego, HCC – rak z komórek Hürthle'a, PTC – rak brodawkowy tarczycy.

jako locum podatności genowej na zachorowanie wskazano 8q24, gdzie znajdują się geny dla tyreoglobuliny oraz *SLA* (Src-like adaptor). *SLA* jest kodowany przez sekwencje intronowe na antysensowej nici genu dla tyreoglobuliny. Choć nie stwierdzono w tych genach żadnych mutacji, uważa się, że genem związanym z podatnością na zachorowanie na raka tarczycy jest niekodujący gen RNA (*AK23948*).

W grupie chorych⁴ o genotypie zbadanym pod kątem polimorfizmów w obrębie genu dla receptora witaminy D wykryto szczególnie haplotyp, któremu towarzyszy zwiększone ryzyko wystąpienia raka pęcherzykowego tarczycy. W dwóch grupach^{5,6} wykazano, że z zachorowaniem na PTC wiąże się swoisty polimorfizm pojedynczych nukleotydów (single-nucleotide polymorphism, SNP) w genie odpowiadającym za naprawę DNA (naprawa uszkodzeń spowodowanych promieniowaniem X uzupełniająca niepełną naprawę w komórkach 1 chomików chińskich, X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 1, *XRCC1*), przy czym jest to jedyny znany polimorfizm związany swoiście z ryzykiem przerzutów do węzłów chłonnych. Dodatkowy polimorfizm dotyczy nieznanego regionu na 1p12 oraz receptora purynergicznego na 12q24.^{7,8} W miarę rozwoju technologii genomowej oraz biologii komputerowej znacznie poprawi się umiejętność identyfikacji loci podatności genetycznej na rozwój raka tarczycy.

NABYTE MUTACJE SOMATYCZNE

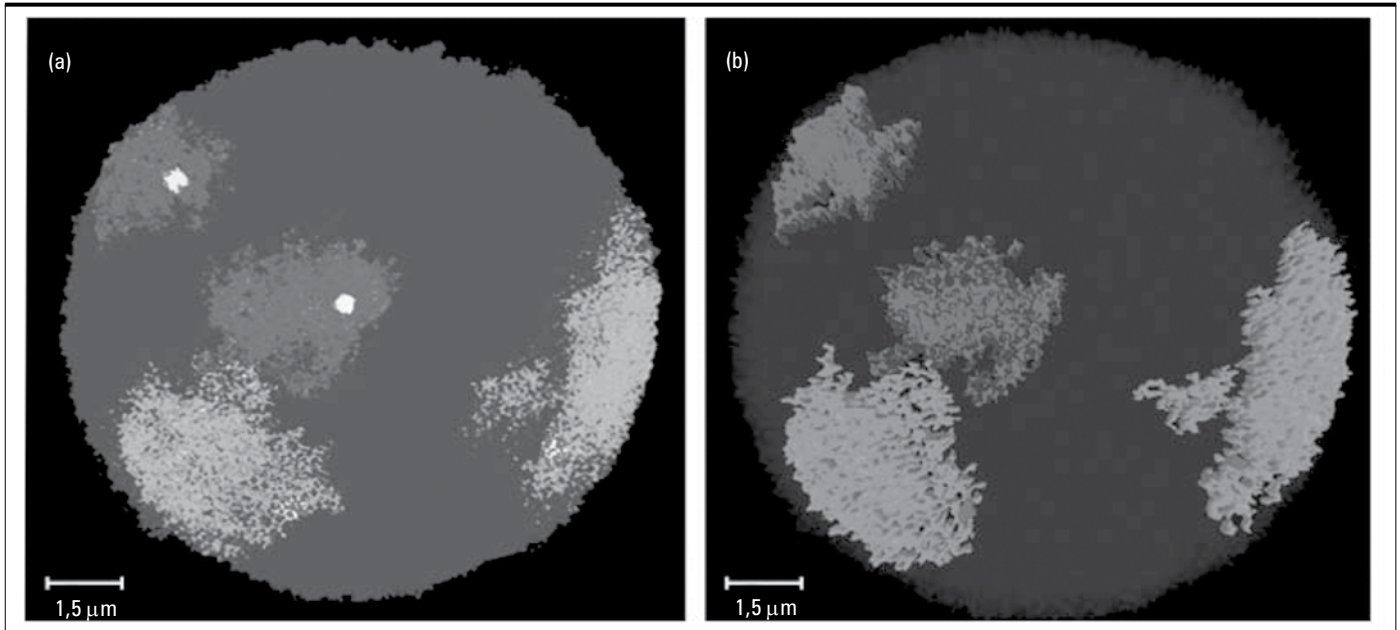
W raku tarczycy często znajduje się mutacje somatyczne. W ponad 70% przypadków raka brodawkowego stwierdza się homolog B1 onkogenu wirusowego mięsaka mysiego V-raf (V-raf murine sarcoma oncogene homolog B1, *BRAF*), mutacje protoonkogenu *ret (RET)/PTC* lub *RAS*. Z kolei w 80% raków pęcherzykowych rozpoznaje się mutacje *RAS* lub sparowanego genu kasetowego 8/re-

ceptora γ aktywowanego przez proliferator peroksisomu (paired box gene 8/peroxisome proliferator-activated receptor γ , *PAX8/PPAR γ*). Mutacje te na ogół wykluczają się wzajemnie. W dużym badaniu prospektywnym prowadzonym w dwóch ośrodkach Nikiforov i wsp.⁹ wykazali, że wykorzystanie panelu tych mutacji jako badań diagnostycznych zwiększa dokładność badania cytologicznego materiału pobranego drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej (fine needle aspiration, FNA), zwłaszcza w przypadku niejednoznacznych wyników.

REARANŻACJA GENÓW

Rekombinacja chromosomalna spowodowana inwersją wewnątrzchromosomalną lub translokacją między chromosomami jest w przypadku nowotworów tarczycy dobrze znana i opracowano jej modele. Przykładami translokacji między chromosomami w rakach pęcherzykowych tarczycy są translokacja genów *PAX8* na chromosomie 2q13 i *PPAR γ* na chromosomie 3p25. Wiadomo również, że gen związany z gruczolakami tarczycy (thyroid adenoma associated, *THADA*) na 2p21 ulega fuzji z niezidentyfikowanymi genami na 3p25 lub 7p15. Typowym przykładem translokacji wewnątrzchromosomalnej w PTC jest translokacja genu *RET* z innymi genami znajdującymi się na 10q. Najpowszechniej spotykaną mutacją jest *RET/PTC1*, która polega na wymianie *RET* na 10q11.2 z genem *H4* (10q21) i *RET/PTC3*, w której biorą udział *RET* i koaktywator receptora jądrowego 4 (nuclear receptor coactivator 4, *NCOA4*) (10q11.2). Do innej dobrze poznanej rearanżacji między chromosomami w PTC (genu dla receptora kinazy tyrozynowej, tyrosine kinase receptor, *TKR*) dochodzi w następstwie fuzji genu receptora typu 1 dla neurotropowej kinazy tyrozynowej (*NTRK1*) (1q23) z białkiem związanym z kompleksem porów jądrowych (nuclear pore complex-associated protein, *TPR*) lub z tro-

RYCINA 2



Obrazy hybrydyzacji fluorescencyjnej *in situ* jądra komórki pęcherzykowej tarczycy.

Dwa dolne obszary odpowiadają terytoriom chromosomu 2, natomiast dwa górne obszary terytoriom chromosomu 7 (a i b). Białe fragmenty pośrodku chromosomu 7 (a) odpowiadają genowi *BRAF*. Obszary świecenia na obrzeżu chromosomu 2 odpowiadają genowi *THADA* (b). Reprodukowane za zgodą Gandhi i wsp.^{10••}

pomiozyna 3 (*TPM3*), znajdujących się na chromosomie 1q25. Ponadto niezmiernie interesującym przykładem translokacji wewnątrzchromosomalnej jest gen *BRAF* (7q34) oraz gen białka 9 kotwiczącego A-kinazę (A-kinase anchor protein 9, *AKAP9*) (7q21-22).

W dobrze przeprowadzonym badaniu Gandhi i wsp.^{10••} metodą interfazowej hybrydyzacji fluoroscencyjnej *in situ* i trójwymiarowej mikroskopii konfokalnej wykazali, że poszczególne typy rearanżacji chromosomalnej zależą od trójwymiarowej architektury jądrowej oraz od lokalizacji poszczególnych loci genetycznych w obrębie terytoriów chromosomów. Chromosomy ulegają organizacji w poszczególne terytoria podczas interfazy. Stwierdzono, że geny biorące udział w rearanżacjach międzychromosomalnych były położone bliżej krawędzi terytoriów chromosomów niż geny uczestniczące w inwersjach wewnątrz danego chromosomu. Takie umiejscowienie ułatwia zatem translokację między dwoma różnymi chromosomami (ryc. 2).^{10••}

EPIGENETYCZNE WYCISZANIE GENÓW

Przyczyną upośledzenia funkcji genu może być również wyciszenie epigenetyczne, czyli proces, w którym promotor genu ulega hipermetylacji, a w związku z tym wyciszeniu. Do nieprawidłowej hipermetylacji dochodzi w kilku genach związanych z rakiem tarczycy. Gen naprawczy niedopasowanego DNA, *hMLH1*, jest hipermetylowany w 21% PTC, co wydaje się związane z mutacją T1799A

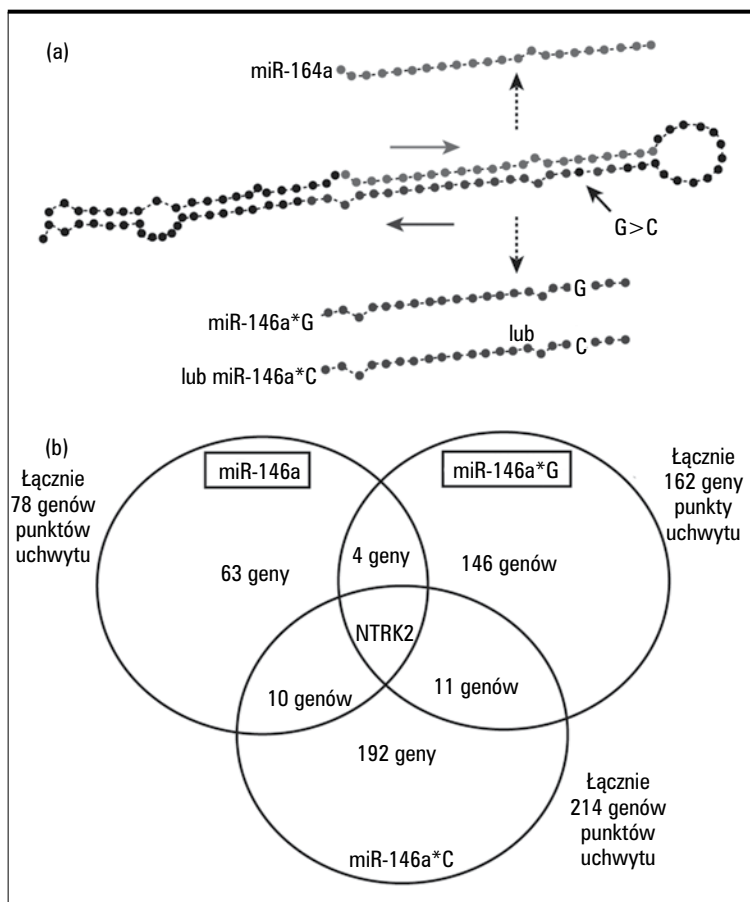
genu *BRAF*.¹¹ Ci sami autorzy wykazali, że w 13% PTC dochodzi do hipermetylacji genu naprawiającego wycięcia nukleotydów, jądrowego antygenu proliferujących komórek (proliferating cell nuclear antigen, *PCNA*), a u 5% do hipermetylacji genu odpowiadającego za naprawę wycięcia zasad *OCG1*.¹¹ Nieprawidłowości budowy ostatniego z tych genów mogą prowadzić do braku możliwości naprawy DNA i wynikających z tego mutacji.

Stwierdzono również hipermetylację promotorów genów regulujących metalotioneiny. Metalotioneiny regulują ekspresję genów za pośrednictwem wpływu na dostępność jonów metali ciężkich, np. cynku, które wiążą się z wieloma białkami. Wykazano zmniejszenie ekspresji kilku genów dla metalotionein oraz wyciszenie genu promotorowego dla metalotioneiny 1G (*MT1G*) w wyniku jego metylacji.^{12,13} W dobrze zaprojektowanym badaniu stwierdzono, że przywrócenie ekspresji *MT1G* zmniejsza *in vitro* proliferację komórek raka tarczycy obciążonych mutacją *BRAF* oraz zaburza nowotworzenie tych samych komórek *in vivo*.¹⁴

ROLA SZLAKÓW SYGNAŁOWYCH

Gujral i wsp.^{15•} badali rolę szlaku sygnałowego RET- β -kateniny w procesie prowadzącym do rozwoju raka rdzeniastego tarczycy. Wiadomo, że β -katenina uczestniczy w procesach adhezji komórek, tworzenia przetrzutów i w przekazywaniu sygnałów. Nieco wcześniej

RYCINA 3



Struktura i geny będące punktami uchwytu dla trzech dojrziałych mikroRNA powstałych z premiR-146a.

(a) Przewidywana struktura premiR-146a (nić górna), nić pasażerska miR-146a*G i miR-146a*C (nici dolne), G/C SNP (strzałka), (b) Geny punkty uchwytu trzech dojrziałych produktów premiR-146a. SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu. Reprodukowano za zgodą z Jazdzewski i wsp.^{35••}

stwierdzono,¹⁶⁻¹⁸ że w źle zróżnicowanych PTC utrata β -kateniny błonowej koreluje ze zwiększeniem jej akumulacji w cytozolu i jądrach komórkowych. Gujral i wsp.^{15•} wykazali, że zależna od RET fosforylacja tyrozyny w obrębie β -kateniny powoduje jej nagromadzenie w jądrach komórkowych i pobudzenie szlaków transkrypcyjnych związanych m.in. z procesami proliferacji. Co więcej, u łysych myszy zahamowanie ekspresji genu β -kateniny zmniejsza pobudzany przez RET wzrost nowotworu i jego inwazyjność, co może mieć znaczenie dla potencjału przerzutowego raka rdzeniastego tarczycy.

ALTERNATYWNE SKŁADANIE

Dzięki alternatywnemu składaniu mRNA poszczególne geny mogą ulec ekspresji w różnych izoformach, a co za tym idzie, translacji do kilku różnych białek. Uważa się, że jest

to zjawisko kluczowe dla regulacji ekspresji genów. Mechanizm ten odpowiada za niezmierną różnorodność budowy białek, a ostatecznie za złożoną regulację. Autorzy niniejszego artykułu wykazali, że produkty alternatywnego składania genu odwrotnej transkryptazy ludzkiej telomerazy (human telomerase reverse transcriptase, *hTERT*) w komórkach raka tarczycy znacząco różnią się od stwierdzanych w komórkach łagodnych nowotworów tarczycy.^{19•} Stwierdzono, że w komórkach raka tarczycy dochodzi do większej ekspresji aktywnej postaci *hTERT* o pełnej długości cząsteczki w porównaniu z wariantem dominującym z ujemną α -delecją, z nieaktywną β -delecją lub wariantów z α - β -delecją. W łagodnych guzach tarczycy stwierdzano zjawiska przeciwne. Autorzy zaproponowali, by dostrzeżone przez nich różnice wykorzystać jako markery pozwalające odróżnić łagodne guzki tarczycy od złośliwych oraz jako badanie wspomagające FNA, gdy zmiany są niejednoznaczne lub podejrzane o charakter złośliwy.

Alternatywne składanie wydaje się również istotne dla członków rodziny genów *MDM* (murine double minute), które są kluczowymi regulatorami genu supresorowego, *TP53*. Najlepiej scharakteryzowano gen *MDM2*, którego produkt jest swoistą ligazą E3-ubikwityny oraz represorem transkrypcji *TP53*.²⁰ Wykazano, że również *MDM4* ujemnie reguluje zależne od *TP53* zatrzymanie cyklu komórkowego oraz wykazuje właściwości antyproliferacyjne i proapoptotyczne.^{21,22} Jednak jego krótszy wariant, *MDM4-S*, jeszcze silniej niż prawidłowy *MDM4* hamuje *TP53*.^{23,24} *MDM4-211* jest aberracyjnie ciętą postacią *MDM4*, która wykazuje aktywność stabilizatora *MDM2*, nasilając w ten sposób inaktywację *TP53*. Wyjaśnienie tego złożonego powiązania przybliżyli Prodosmo i wsp.^{25•}, którzy ujawnili hamowanie ekspresji *MDM4* mRNA i występowanie wariantów *MDM4-S* oraz *MDM4-211*. Autorzy ci nieoczekiwanie odkryli, że w PTC poziom ekspresji *MDM4* był zmniejszony i korelował odwrotnie ze stopniem złośliwości nowotworu. Ponieważ w nowotworach tarczycy występują również *MDM-S* oraz *MDM4-211*, będące *in vitro* nawet silniejszymi inhibitorami *TP53*, zaproponowano, by te właśnie warianty uznać za pierwotne inhibitory *TP53*.

Gen *TP73* jest członkiem rodziny genów *TP53*.²⁶ W większości raków tarczycy stwierdza się nadmierną ekspresję Δ NP73 α ²⁷ produktu alternatywnego cięcia o działaniu dominującym przeciw *TP73* i przeciw *TP53*.^{28,29} W przeciwieństwie do białek *TP73* i *TP53*, które aktywują *PTEN* (fosfatazę i homolog tensyny; phosphatase and tensin homolog, *PTEN*), Δ NP73 α wiążąc się z promotorem *PTEN*, hamuje jego ekspresję.^{30•} Wiadomo, że w nowotworach tarczycy jest zmniejszona ekspresja *PTEN*, będącego genem supresorowym nowotworów oraz genu fosfatazy lipidowej, która hamuje szlak kinazy fosfoinozytydu-3/kinazy białkową B (phosphoinositide-3-kinase/protein kinase B, *PI3K/AKT*).³¹⁻³³ Zależne od Δ NP73 α zahamowanie ekspresji *PTEN* zwiększa aktywację *AKT*, a ostatecznie nasila zjawiska zależne od *MDM2*: ubikwitynację oraz zmniejszenie stężenia

białka TP53, co w rezultacie prowadzi do osłabienia apoptozy. Oprócz *MDM4-S* i *MDM4-211* w złożonym procesie regulacji genów supresorowych nowotworów *TP53* i *PTEN*, pełniących istotną rolę w szlakach ważnych dla rozwoju raka tarczycy, bierze zatem udział jeszcze jeden produkt alternatywnego cięcia, Δ NP73 α .

MIKRORNA

MikroRNA (miR lub miRNA) to małe, niekodujące, jednoniciowe cząsteczki RNA o długości 21-23 nukleotydów. Pełnią one zazwyczaj rolę ujemnych regulatorów ekspresji genów ukierunkowanych na swoiste cząsteczki mRNA, hamujących te cząsteczki oraz translację białek. W takim właśnie mechanizmie uczestniczą w regulacji rozwoju, apoptozy i proliferacji komórek oraz w procesie hematopoezy. Powstają z pierwotnych transkryptów DNA (pre-mikroRNA), z których tworzą się prekursorowe struktury dwuniciowe fałdujące się w formie szpilki do włosów. Z nici wiodącej powstają dojrzałe cząsteczki miRNA, a druga jest tzw. nicią pasażerską ulegającą później degradacji. Za komplementarność i regulację mRNA odpowiada od 2 do 8 nukleotydów dojrzałego miRNA, noszących nazwę regionu nasiennego.

Wiadomo, że w PTC dochodzi do znacznego zwiększenia ekspresji miRNA-146a.³⁴ Jazdzewski i wsp.³⁵ wykazali skojarzenie genetyczne między PTC a SNP (rs2910164) w prekursorowym miRNA-146a. Udowodnili, że u chorych będących heterozygotami pod względem SNP ryzyko rozwoju PTC było większe. W późniejszym doniesieniu wykazano, że nici miRNA u heterozygot były złożone z dojrzałego miR-146a z nici wiodącej oraz nici miR-146a*G lub miR-146a*C (ryc. 3).³ Każda z tych nici reguluje swoiste mRNA. Autorzy postulowali, że w odróżnieniu od homozygot za predyspozycję i rozwój PTC u heterozygot odpowiadała regulacja swoistych genów.

Inni autorzy wykazali,³⁶ że w linii komórkowej tarczycy szczura FRTL-5 cząsteczki miRNA określane jako miR-21 pozostają w bardzo bliskim związku z czynnikiem transkrypcyjnym (AP-1) i RAS. Udowodniono, że miR-21 jest indukowany przez AP-1 w odpowiedzi na RAS. Ta interakcja Ras-Ap1-miR-21 prowadzi do zmniejszenia ekspresji supresorów guza, PTEN i zaprogramowanej śmierci komórki 4 (programmed cell death 4, PDCD4). Co ciekawe, znanym celem biochemicznym dla AP-1 jest metaloperoksydaza zębów komórki.

PROFILE EKSPRESJI GENÓW

Postępy w technologii mikromacierzy i projektowania genomu stworzyły warunki do profilowania ekspresji genów dla wielu nowotworów. W celu wyodrębnienia markerów ułatwiających różnicowanie między łagodnymi i złośliwymi guzkami tarczycy oraz odniesienia

do zmian nieokreślonych zespół, do którego należą autorzy tego artykułu, przeanalizował osiem podtypów guzów tarczycy, w tym cztery nowotwory złośliwe, takie jak PTC, pęcherzykowy wariant PTC, raka z komórek Hürthle'a oraz rak pęcherzykowy.³⁷ Wyłoniono 75 genów, których ekspresja w nowotworach złośliwych była inna niż w zmianach łagodnych. W komórkach raka tarczycy stwierdzono nadmierną ekspresję zarówno genów *HMG2* (high mobility group AT-hook 2, *HMG2*), jak i genu gruczolaka wielopostaciowego (pleomorphic adenoma, *PLG1*). Białka HMG biorą udział w wielu procesach biologicznych, w tym embriogenezie, różnicowaniu i transformacji nowotworowej. Stwierdzono, że geny tych białek mogą ulec rearanzacji w wielu nowotworach łagodnych i nadmiernej ekspresji rakach. *PLG1* jest czynnikiem transkrypcyjnym z domeną palca cynkowego, który ulega dodatknej regulacji w wielu innych rodzajach nowotworów. Dalsza ocena tych dwóch i dodatkowych genów zapowiada się obiecująco pod kątem opracowania panelu markerów genetycznych przydatnych w diagnostyce różnicowej podejrzanych guzków tarczycy.

Wiseman i wsp.³⁸ przebadali metodą mikromacierzy ponad 200 guzów tarczycy, wykorzystując 57 markerów. Stwierdzili, że w odróżnianiu zmian łagodnych od nowotworów złośliwych pomocne jest badanie ekspresji różnych kombinacji genów następujących białek: galektyny 3, cytokeratyny 19, czynnika wzrostu śródbłonna naczyń, Aurory-A, TP16, AR i HBME-1. Dalsza praca nad tymi obiecującymi zestawami paneli diagnostycznych będzie polegała na sprawdzeniu ich przydatności podczas badań niejednoznacznego lub podejrzanego materiału pobranego drogą FNA tarczycy jako uzupełnienie tradycyjnej oceny cytologicznej.

ZDARZENIA PODCZAS WCZESNEJ FAZY ROZWOJU NOWOTWORU TARCZYCY

Badania porównujące różnice ekspresji genów w mikroogniskach raka i w zaawansowanych rakach brodawkowatych tarczycy mogą teoretycznie dostarczyć informacje o kolejności zdarzeń w trakcie powstawania nowotworu. Kluczowymi elementami w mechanizmie cyklu komórkowego są cykliny i zależne od cyklin kinazy. Wykazano,^{18,39} że będąca protoonkogenem cyklina D1 pozwala przewidzieć rokowanie u chorych na raka tarczycy. Z różnicowaniem w kierunku raka tarczycy wiąże się również surwiwina.⁴⁰ Antonaci i wsp.⁴¹ badali ekspresję genu cyklina D1 i surwiwiny w preparatach 67 PTC. Stwierdzono nadmierną ekspresję tych genów zarówno w mikroogniskach, jak i zaawansowanych rakach brodawkowatych tarczycy oraz w przerzutach do węzłów chłonnych, przy braku ekspresji w tkance prawidłowej, co potwierdza hipotezę, że geny te są odpowiedzialne za wczesne zdarzenia w progresji raka tarczycy.

Szlak AKT odgrywa ważną rolę w proliferacji i przeżyciu komórek. Stwierdzono,⁴²⁻⁴⁵ że w nowotworach tarczycy szlak ten ulega nieprawidłowej aktywacji. Najważniejszym elementem szlaku AKT jest podjednostka PI3KCA, regulowana również przez RAS. Hou i wsp.⁴⁶ stwierdzili, że w gruczolakach tarczycy, raku pęcherzykowym oraz w raku anaplastycznym tarczycy dochodzi do postępującej aktywacji szlaku PI3K/AKT z towarzyszącą metylacją PTEN, czynnika hamującego ten szlak.

PÓŹNE ZDARZENIA, RAK ANAPLASTYCZNY I TEORIA INICJACYJNYCH KOMÓREK NOWOTWOROWYCH (NOWOTWOROWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH)

W rakach anaplastycznych tarczycy wykazano nadmierną ekspresję receptora naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor, EGFR), płytkopochodnego czynnika wzrostu β (platelet-derived GFR β , PDGFR β) oraz ludzkiego EGFR2.⁴⁷ Te receptory kinaz tyrozynowych były nieobecne lub ich ekspresja była niewielka w sąsiadujących tkankach prawidłowych oraz w wysoko zróżnicowanych rakach tarczycy. Co więcej, zastosowanie wobec linii komórkowej FRO, znanej z ekspresji EGFR1, erlotynibu, wybiórczego inhibitora kinazy tyrozynowej EGFR, wywierało efekt antyproliferacyjny.⁴⁸ Wyniki tego badania potwierdzono,⁴⁹ stwierdzając zwiększoną liczbą kopii EGFR i PDGFR β w liniach komórkowych raka anaplastycznego i pęcherzykowego.

Nowotworowe komórki inicjacyjne (inaczej macierzyste) mają zdolność samoodnowy i wytwarzania zróżnicowanych klonów. Prolinina 1 (CD133) jest glikoproteiną ulegającą ekspresji w komórkach macierzystych układu krwiotwórczego oraz błonach komórek progenitorowych. Metodą barwienia immunohistochemicznego występowa-

nie prolminy wykazano w 80% biopatów raka anaplastycznego, nie stwierdzono jej natomiast w sąsiadujących prawidłowych komórkach pęcherzykowych, co potwierdza znaczenie nowotworowych komórek macierzystych w rozwoju raka tarczycy.⁵⁰

PODSUMOWANIE

W ciągu ostatnich 18 miesięcy odkryto wiele zaburzeń molekularnych i ważnych szlaków wpływających na rozwój i progresję nowotworów tarczycy. Dogłębnie przeanalizowano wiele wcześniejszych spostrzeżeń, jak też dokonano licznych nowych odkryć. Wyniki prowadzonych obecnie badań pozwolą rozwiązać takie problemy kliniczne, jak przykładowo interpretacja niejednoznacznego materiału cytologicznego guzków tarczycy pobranego drogą FNA, umożliwią lepsze dostosowanie algorytmów leczenia do rzeczywistej sytuacji klinicznej oraz skuteczniejsze leczenie chorych na raka anaplastycznego tarczycy.

OŚWIADCZENIE

Dr Kouniavsky otrzymał grant od Israel Cancer Association i American Physicians Fellowship for Medicine in Israel.

Tłumaczenie oryginalnej angielskiej wersji artykułu z Current Opinion in Oncology, January 2010; 22 (1): 23-29, wydawanego przez Lippincott Williams & Wilkins. Lippincott Williams & Wilkins nie ponosi odpowiedzialności za błędy powstałe w wyniku tłumaczenia ani nie popiera i nie poleca jakichkolwiek produktów, usług lub urzędzeń.

PIŚMIENNICTWO

- szczególnie interesujące
- wyjątkowo interesujące

- 1 Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, et al. Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. *Nat Genet* 2009;41:460–464.
- 2 He H, Nagy R, Liyanarachchi S, et al. A susceptibility locus for papillary thyroid carcinoma on chromosome 8q24. *Cancer Res* 2009;69:625–631.
- 3 Jazdzewski K, Liyanarachchi S, Swierniak M, et al. Polymorphic mature microRNAs from passenger strand of premiR-146a contribute to thyroid cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:1502–1505.
- 4 Penna-Martinez M, Ramos-Lopez E, Stern J, et al. Vitamin D receptor polymorphisms in differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid* 2009;19:623–628.
- 5 Ho T, Li G, Lu J, et al. Association of XRCC1 polymorphisms and risk of differentiated thyroid carcinoma: a case-control analysis. *Thyroid* 2009;19:129–135.
- 6 Chiang FY, Wu CW, Hsiao PJ, et al. Association between polymorphisms in DNA base excision repair genes XRCC1, APE1, and ADPRT and differentiated thyroid carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:5919–5924.
- 7 Baida A, Akdi M, Gonzalez-Flores E, et al. Strong association of chromosome 1p12 loci with thyroid cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:1499–1504.
- 8 Dardano A, Falzoni S, Caraccio N, et al. 1513A>C polymorphism in the P2X7 receptor gene in patients with papillary thyroid cancer: correlation with histological variants and clinical parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:695–698.
- 9 Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, et al. Molecular testing for mutations in improving the fine needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2092–2098.
- Pierwsze duże prospektywne badanie, którego celem było określenie przydatności diagnostycznej testów z zakresu biologii molekularnej w udoskonaleniu interpretacji materiału z FNA guzków tarczycy przez wykorzystanie panelu znanych mutacji.
- 10 Gandhi MS, Stringer JR, Nikiforova MN, et al. Gene position within chromosome territories correlates with their involvement in distinct rearrangement types in thyroid cancer cells. *Genes Chromosomes Cancer* 2009;48:222–228.
- Ważne badanie, w którym wykazano, że trójwymiarowa organizacja chromosomów podczas interfazy wpływa na translokacje genów wewnątrz chromosomów lub między chromosomami u chorych na raka tarczycy.
- 11 Guan H, Ji M, Hou P, et al. Hypermethylation of the DNA mismatch repair gene hMLH1 and its association with lymph node metastasis and T1799A BRAF mutation in patients with papillary thyroid cancer. *Cancer* 2008;113:247–255.
- 12 Huang Y, Prasad M, Lemon WJ, et al. Gene expression in papillary thyroid carcinoma reveals highly consistent profiles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:15044–15049.
- 13 Huang Y, de la Chapelle A, Pellegata NS. Hypermethylation, but not LOH, is associated with the low expression of MT1G and CRABP1 in papillary thyroid carcinoma. *Int J Cancer* 2003;104:735–744.

- 14 Ferrario C, Lavagni P, Gariboldi M, et al. Metallothionein 1G acts as an oncosuppressor in papillary thyroid carcinoma. *Lab Invest* 2008;88:474–481.
- 15 Gujral TS, van Veelen W, Richardson DS, et al. A novel RET kinase-beta-catenin signaling pathway contributes to tumorigenesis in thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2008;68:1338–1346.
- Opis nowego mechanizmu aktywacji szlaku sygnałowego β -kateniny przez receptor RET.
- 16 Garcia-Rostan G, Camp RL, Herrero A, et al. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *Am J Pathol* 2001;158:987–996.
- 17 Rocha AS, Soares P, Fonseca E, et al. E-cadherin loss rather than beta-catenin alterations is a common feature of poorly differentiated thyroid carcinomas. *Histopathology* 2003;42:580–587.
- 18 Lantsov D, Meirmanov S, Nakashima M, et al. Cyclin D1 overexpression in thyroid papillary microcarcinoma: its association with tumour size and aberrant beta-catenin expression. *Histopathology* 2005;47:248–256.
- 19 Wang Y, Kowalski J, Tsai HL, et al. Differentiating alternative splice variant patterns of human telomerase reverse transcriptase in thyroid neoplasms. *Thyroid* 2008;18:1055–1063.
- Innowacyjne badanie, w którym określono występujące wzory wariantów alternatywnego cięcia *bTERT* w łagodnych i złośliwych guzach tarczycy jako uzupełnienie FNA.
- 20 Momand J, Jung D, Wilczynski S, Niland J. The MDM2 gene amplification database. *Nucleic Acids Res* 1998;26:3453–3459.
- 21 Marine JC, Francoz S, Maetens M, et al. Keeping p53 in check: essential and synergistic functions of Mdm2 and Mdm4. *Cell Death Differ* 2006;13:927–934.
- 22 Marine JC, Dyer MA, Jochemsen AG. MDMX: from bench to bedside. *J Cell Sci* 2007;120:371–378.
- 23 Rallapalli R, Strachan G, Cho B, et al. A novel MDMX transcript expressed in a variety of transformed cell lines encodes a truncated protein with potent p53 repressive activity. *J Biol Chem* 1999;274:8299–8308.
- 24 Bartel F, Schulz J, Bohnke A, et al. Significance of HDMX-S (or MDM4) mRNA splice variant overexpression and HDMX gene amplification on primary soft tissue sarcoma prognosis. *Int J Cancer* 2005;117:469–475.
- 25 Prodosmo A, Giglio S, Moretti S, et al. Analysis of human MDM4 variants in papillary thyroid carcinomas reveals new potential markers of cancer properties. *J Mol Med* 2008;86:585–596.
- W badaniu oceniono ekspresję *MDM2* i *MDM4* oraz ich wariantów cięcia w raku brodawkowatym tarczycy.
- 26 Lohrum MA, Vousden KH. Regulation and function of the p53-related proteins: same family, different rules. *Trends Cell Biol* 2000;10:197–202.
- 27 Frasca F, Vella V, Aloisi A, et al. p73 tumor-suppressor activity is impaired in human thyroid cancer. *Cancer Res* 2003;63:5829–5837.
- 28 Ishimoto O, Kawahara C, Enjo K, et al. Possible oncogenic potential of DeltaNp73: a newly identified isoform of human p73. *Cancer Res* 2002;62:636–641.
- 29 Dominguez G, Garcia JM, Pena C, et al. DeltaTap73 upregulation correlates with poor prognosis in human tumors: putative *in vivo* network involving p73 isoforms, p53, and E2F-1. *J Clin Oncol* 2006;24:805–815.
- 30 Vella V, Puppini C, Damante G, et al. DeltaNp73alpha inhibits PTEN expression in thyroid cancer cells. *Int J Cancer* 2009;124:2539–2548.
- Odkryto nowy mechanizm regulacji ekspresji PTEN przez TP73 oraz zbadano jego znaczenie w powstawaniu nowotworów tarczycy.
- 31 Bruni P, Boccia A, Baldassarre G, et al. PTEN expression is reduced in a subset of sporadic thyroid carcinomas: evidence that PTEN-growth suppressing activity in thyroid cancer cells mediated by p27kip1. *Oncogene* 2000;19:3146–3155.
- 32 Gimm O, Perren A, Weng LP, et al. Differential nuclear and cytoplasmic expression of PTEN in normal thyroid tissue, and benign and malignant epithelial thyroid tumors. *Am J Pathol* 2000;156:1693–1700.
- 33 Di Loreto C, Tell G, Pestrin M, et al. PTEN and Egr-1 expression in thyroid proliferative lesions. *Cancer Lett* 2005;224:105–109.
- 34 He H, Jazdzewski K, Li W, et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:19075–19080.
- 35 Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, et al. Common SNP in premiR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:7269–7274.
- W ramach badania przeprowadzono kilka doświadczeń, w których wykazano, że heterozygotyczny charakter SNP (rs2910164) w obrębie prekursora mikroRNA-146a predysponuje do rozwoju raka brodawkowatego tarczycy.
- 36 Talotta F, Cimmino A, Matarazzo MR, et al. An autoregulatory loop mediated by miR-21 and PDCD4 controls the AP-1 activity in RAS transformation. *Oncogene* 2009;28:73–84.
- Opisano nowy mechanizm regulacji kompleksu AP-1 w szlaku RAS oraz istotną rolę onkomiR-21 w tym procesie.
- 37 Prasad NB, Somervell H, Tufano RP, et al. Identification of genes differentially expressed in benign *versus* malignant thyroid tumors. *Clin Cancer Res* 2008;14:3327–3337.
- Jedna z najpełniejszych analiz mikromacierzy materiału z guzów tarczycy, w której badano osiem rodzajów guzków tarczycy w kierunku różnicujących je wzorów ekspresji genów.
- 38 Wiseman SM, Melck A, Masoudi H, et al. Molecular phenotyping of thyroid tumors identifies a marker panel for differentiated thyroid cancer diagnosis. *Ann Surg Oncol* 2008;15:2811–2826.
- Panel znanych markerów molekularnych poddano badaniu z wykorzystaniem mikromacierzy tkankowych w celu określenia lepszego narzędzia diagnostycznego dla FNA tarczycy.
- 39 Khoo ML, Ezzat S, Freeman JL, Asa SL. Cyclin D1 protein expression predicts metastatic behavior in thyroid papillary microcarcinomas but is not associated with gene amplification. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1810–1813.
- 40 Ito Y, Yoshida H, Urano T, et al. Survivin expression is significantly linked to the dedifferentiation of thyroid carcinoma. *Oncol Rep* 2003;10:1337–1340.
- 41 Antonaci A, Consorti F, Mardente S, et al. Survivin and cyclin D1 are jointly expressed in thyroid papillary carcinoma and microcarcinoma. *Oncology reports* 2008;20:63–67.
- 42 Ringel MD, Hayre N, Saito J, et al. Overexpression and overactivation of Akt in thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2001;61:6105–6111.
- 43 Miyakawa M, Tsushima T, Murakami H, et al. Increased expression of phosphorylated p70S6 kinase and Akt in papillary thyroid cancer tissues. *Endocr J* 2003;50:77–83.
- 44 Vasko V, Saji M, Hardy E, et al. Akt activation and localisation correlate with tumour invasion and oncogene expression in thyroid cancer. *J Med Genet* 2004;41:161–170.
- 45 Kada F, Saji M, Ringel MD. Akt: a potential target for thyroid cancer therapy. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2004;4:181–185.
- 46 Hou P, Ji M, Xing M. Association of PTEN gene methylation with genetic alterations in the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling pathway in thyroid tumors. *Cancer* 2008;113:2440–2447.
- 47 Elliott DD, Sherman SI, Busaidy NL, et al. Growth factor receptors expression in anaplastic thyroid carcinoma: potential markers for therapeutic stratification. *Hum Pathol* 2008;39:15–20.
- 48 Landriscina M, Piscazzi A, Fabiano A, et al. Targeting epidermal growth factor receptor 1 signaling in human thyroid-stimulating hormone-independent thyroid carcinoma FRO cells results in a more chemosensitive and less angiogenic phenotype. *Thyroid* 2009;19:629–637.
- 49 Liu Z, Hou P, Ji M, et al. Highly prevalent genetic alterations in receptor tyrosine kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/akt and mitogen-activated protein kinase pathways in anaplastic and follicular thyroid cancers. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3106–3116.
- 50 Friedland S, Lu M, Schultz A, et al. CD133⁺ anaplastic thyroid cancer cells initiate tumors in immunodeficient mice and are regulated by thyrotropin. *PLoS One* 2009;4:e5395.