

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.31/327-006.6-06: 616.98: 578.827.1]-07

DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-3-50-57

Молекулярно-генетический профиль плоскоклеточного рака головы и шеи

А.И. Стукань^{1,2}, В.А. Порханов^{2,3}, В.Н. Бодня^{2,3}, О.Ю. Чухрай¹,
Ю.М. Макарова¹, И.С. Элизбарян²

¹Клинический онкологический диспансер № 1, Краснодар, Россия

²Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

³Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1
им. профессора С.В. Очаповского», Краснодар, Россия

Все больше исследований проводится с целью выявления молекулярных путей канцерогенеза при плоскоклеточном раке головы и шеи (ПРГШ). Обсуждаются новые модели терапии ПРГШ с учетом генетических и биохимических особенностей и акцентом на значимые научные разработки. Разделение ПРГШ на две большие группы в зависимости от ассоциации с вирусом папилломы человека (ВПЧ) с различными показателями выживаемости является значимым достижением последних десятилетий в исследовании канцерогенеза и лечении рака головы и шеи. Известно, что ВПЧ-негативные опухоли возникают при воздействии химических канцерогенов. Патогенез ВПЧ-позитивного ПРГШ связан с воздействием вирусных белков ВПЧ Е6 и Е7. Серьезный интерес вызывают результаты полноэкзомного секвенирования этих опухолей. Паттерн экспрессии молекулярного профиля, характеризующего пути Rb-E2F/p53 различались при ВПЧ-позитивных и ВПЧ-негативных опухолях. При анализе уровня фосфорилированных белков pRb и p16 образцов ПРГШ ВПЧ-позитивные опухоли имели меньшие уровни протеина pRb и высокий уровень p16, в отличие от ВПЧ-негативных образцов ввиду возможности белка ВПЧ Е7 вызывать повреждение Rb. Экспрессия p16 была выше в ВПЧ-позитивных опухолях, что является подтверждением ВПЧ-позитивного статуса опухоли при иммуногистохимическом анализе. Также установлен уровень экспрессии белка p53 с целью уточнения механизма деградации в ВПЧ-позитивных опухолях. В связи с тем что ВПЧ проявляет канцерогенные свойства путем инактивации регуляторов клеточного цикла p53 и pRb, используя экспрессию онкопротеинов Е6 и Е7, мутации p53 не должны играть ведущую роль в ВПЧ-индуцированном туморогенезе. Тем не менее, в отношении ВПЧ-позитивных опухолей ПРГШ имеются противоречивые данные, указывающие на наличие интегрированной ДНК онкогенного штамма, и часть этих опухолей имеет мутации p53. Также экспрессия p53 в ВПЧ-позитивных образцах соответствовала среднему значению экспрессии в ВПЧ-негативных опухолях.

Ключевые слова: рак головы и шеи, плоскоклеточный рак, вирус папилломы человека, p53, p16.

Для цитирования: Стукань А.И., Порханов В.А., Бодня В.Н., Чухрай О.Ю., Макарова Ю.М., Элизбарян И.С. Молекулярно-генетический профиль плоскоклеточного рака головы и шеи. *Медицинский вестник Юга России*. 2018;9(3):50-57. DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-3-50-57

Контактное лицо: Стукань Анастасия Игоревна, jolie86@bk.ru.

Molecular and genetic profile of head and neck squamous cell carcinoma

A.I. Stukan^{1,2}, V.A. Porkchanov^{2,3}, V. N. Bodnya^{2,3}, O.Y. Chjukchray¹,
Y.M. Makarova¹, I.S. Elizbaryan²

¹Clinical Dispensary of Oncology of Ministry of health care of Krasnodar region, Krasnodar, Russia

²Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

³Scientific Investigational Institute State Clinical Hospital №1 n.a. prof. S.V. Ochapovsky, Krasnodar, Russia

To determine the molecular pathways of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) tumorigenesis there are held a great amount of investigations. New therapeutic models for HNSCC are discussed considering genetic and biochemical specifications and taking in account significant scientific strategies. Dividing HNSCC into 2 large groups in accordance to human papilloma virus (HPV) association with different survival rates is a great achievement of the last decades in carcinogenesis researching and treatment of HNSCC. It is well known that chemical carcinogens are the main cause of HPV-negative tumors development. HPV-positive HNSCC is associated with E6 and E7 HPV proteins. The results of whole exome sequencing of HNSCC are of the great interest. Molecular expression profile of Rb-E2F/p53 were different in HPV-positive and HPV-negative tumors. The phosphorylated pRb and p16 proteins analysis showed low pRb and high p16 levels in HPV-positive tumors in

contrast to HPV-negative samples due to the HPV E7 ability to degrade Rb. P16 expression was higher in HPV-positive tumors, so it is immunohistochemical marker of HPV-positive status. The p53 expression pattern is determined also to identify its mechanism of degradation in HPV-positive tumors. Due to carcinogenic HPV ability by inactivation of cell cycle regulators p53 and pRb with the help of E6 and E7 oncoproteins, mutations of TP 53 shouldn't play leading role in HPV-induced tumorigenesis. Nevertheless, there are controversial data concerning HPV-positive tumors that part of them gain p53-mutations at the same time having integrated HPV-genome. The p53 expression in HPV-positive samples was the same as if in the absence of HPV.

Keywords: head and neck cancer, squamous cell cancer, human papilloma virus, p53, p16.

For citation: Stukan A.I., Porkchanov V.A., Bodnya V. N., Chjukhray O.Y., Makarova Y.M., Elizbaryan I.S. Molecular and genetic profile of head and neck squamous cell carcinoma. *Medical Herald of the South of Russia*. 2018;9(3):50-57. (In Russ.) DOI 10.21886/2219-8075-2018-9-3-50-57

Corresponding author: Anastasiya I. Stukan, jolie86@bk.ru.

Введение

Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) занимает пятое место по частоте распространённости среди раковых заболеваний в мире и восьмое место в структуре смертности от онкологических заболеваний [1,2]. За последние десятилетия отмечено улучшение показателей выживаемости при некоторых видах рака, но показатели выживаемости при ПРГШ остались на низком уровне. В мире пятилетняя выживаемость для ПРГШ остаётся менее 50 % [3]. В настоящее время в литературе широко обсуждается вопрос о выделении различных патогенетических подгрупп плоскоклеточного рака головы и шеи, что может привести к персонализации лечения органов головы и шеи и внедрению дополнительных профилактических мероприятий по его предупреждению [4]. Недавно опубликованные данные группой по изучению генома рака The Cancer Genome Atlas (TCGA), где исследованы 279 образцов опухолей ПРГШ, позволили идентифицировать генетические и клинические подтипы рака. Выявлены различия в механизмах и путях регуляции клеточного цикла [5]. Разделение подтипов рака ПРГШ сведено к формированию двух подгрупп на основании ассоциации с вирусом папилломы человека (ВПЧ) — ВПЧ-позитивного и ВПЧ-негативного рака. Это связано с уникальными мутационными профилями и различными механизмами регуляции клеточного цикла.

Путь супрессора опухолевого роста — белка ретинобластомы (pRb)

Комплекс Rb-E2F является значимой системой регуляции клеточного цикла и основной мишенью для канцерогенеза, ассоциированного с вирусом папилломы человека [6,7]. Транскрипционный фактор E2F в норме связан и представлен в комплексе с белком pRb. E2F выполняет функцию контроля транскрипции значительного числа генов, вовлеченных в регулирование клеточного цикла, апоптоза и поддержания стабильности генома. Кроме того, E2F также вовлечен в регуляцию структуры хроматина и старение клетки. Циклин-зависимые киназы 4 и 6 (CDK4 и CDK6), которые активируются циклинами D-типа фосфорилируют pRb, что вызывает высвобождение E2F и транскрипцию E2F-ассоциированных генов. Существует обратная положительная связь, когда при

E2F-опосредованной транскрипции происходит увеличение количества циклинов A-типа и последовательная активация CDK2. Активированная CDK2 далее фосфорилирует pRb, что ведет к высвобождению дополнительного E2F и к прохождению «ограничивающей точки» клеточного цикла. Также в этом процессе присутствует отрицательная обратная связь, когда активация E2F ведет к увеличению pRb вследствие транскрипции гена RB1 и изоляции E2F. Ингибиторы циклин-зависимых киназ (CDK-ингибиторы) p16INK4a и p21Cip1/Waf1 имеют огромное значение в регулировании пути pRb, ингибируя CDK4/CDK6 и CDK2/CDK1-циклин-зависимые комплексы соответственно [7]. Значимая роль пути белка ретинобластомы (Rb) базируется на обнаружении инактивации гена CDKN2A, который кодирует регуляторы клеточного цикла p16/INK4A и p14/Arf/INK4B при ПРГШ. Мутации CDKN2A обнаружены в 7 % опухолей при экзомном секвенировании. Ранее показано, что инактивация CDKN2A при мутации — значительно более редкое событие, чем делеция или эпигенетическая инактивация, что в совокупности ведет к инактивации гена в 75 % ПРГШ. Хотя потеря функции p16/INK4A (генетическая или функциональная) сочетается с плохим прогнозом, данные о потере функции p14/Arf/INK4B (к примеру, метилиция, когда геномный локус не поврежден) разноречивы ввиду повышения чувствительности к радиотерапии. В этом случае при ВПЧ-позитивном ПРГШ инактивация пути Rb достигается посредством экспрессии протеина ВПЧ E7, который связывается с RB1 и отменяет необходимость остановки механизма p16/INK4A. Как результат, происходит экспрессия белка p16 в опухолевых клетках, что является подтверждением ВПЧ-позитивного статуса опухоли при иммуногистохимическом анализе [8].

Супрессор опухолевого роста p53

Мутации в гене-супрессоре опухолевого роста TP53 — наиболее часто встречающееся и раннее генетическое повреждение при ПРГШ. Как и при других раковых опухолях, миссенс-мутации преимущественно ДНК-связанного домена составляют 75 % всех мутаций в гене TP53 и подтверждают доминирующее негативное влияние и усиление активности белка. В иных случаях при ПРГШ дикий тип p53 может быть инактивирован другими механизмами — экспрессией онкопротеина ВПЧ E6, который при связывании с p53 вызывает его протеасом-

ную деградацию, гиперэкспрессией или амплификацией MDM2, которые также вызывают протеасомную деградацию p53. Также это возможно при делеции CDKN2A, что может элиминировать p14/ARF, негативный регулятор белка MDM2. В общем, данные свидетельствуют о том, что путь p53 деактивирован как минимум в 80 % случаев ПРГШ [7].

На протяжении десятилетия изучения белка p53 многочисленные исследования описывали его пролиферативную и трансформирующую активность, так как p53 считался продуктом онкогена. Эта ошибка в первичной классификации p53 была результатом того, что ген TP53, который был клонирован и использован в первичных экспериментах кодировал мутированный вариант гена дикого типа. Супрессорная функция дикого типа p53 опухолевого роста не вызывает сомнений. Таким образом, эти ранние исследования предположили, что мутации p53 могут приводить как к потере функции гена дикого типа и приобретению новых трансформирующих свойств. Таким образом, предполагается, что мутированный p53 выступает в роли онкопротеина. TP53 — наиболее часто мутированный ген при раковых заболеваниях человека различных локализаций [9]. Повреждения найдены в каждом регионе белка [10]. Тем не менее, наиболее часто опухоль-ассоциированные повреждения p53 реализуются в миссенс-мутациях, что приводит к замене единственной аминокислоты в белке p53, который может быть стабильно экспрессирован в опухолевой клетке. Эти мутации, в основном, приводят к потере или ослаблению активности p53. А поскольку p53 в норме выступает как тетрамер, эти мутированные белки также могут функционировать как доминирующие негативные ингибиторы любых оставшихся белков p53 дикого типа. На экспериментальных моделях мышей экспрессия мутированного p53 уменьшает, но не предупреждает терапевтический ответ на восстановление дикого типа белка p53 [11]. Тем не менее, очевидно, что некоторые мутантные формы белка порождают более агрессивный профиль опухоли, подтверждая свои канцерогенные эффекты в прогрессии опухоли.

Ген TP53 локализован в 17p13.1 хромосоме. Он выступает супрессором опухолевого роста посредством нескольких механизмов, а именно при активации временного торможения клеточного цикла, при индукции постоянной остановки клеточного цикла или при запуске запрограммированной клеточной гибели. P53 активирует транскрипцию семейства mir34 микроРНК. Мишенями mir34 являются пролиферативные гены — циклины и антиапоптотические гены, к примеру, BCL2. Потеря функции p53 приводит к тому, что повреждения ДНК не подвергаются репарации; аккумулируются мутации в делящихся клетках, и клетка претерпевает злокачественную трансформацию [12]. Известно, что многие мутации, к примеру, у белков теплового шока, ассоциированы с мутированными формами p53 и приводят к увеличению периода полураспада протеина p53. Мутированный p53 может связываться с диким типом p53 и менять его структуру [13]. Поскольку конформация и олигомеризация p53 весьма важны для функционирования белка, то в этом случае меняются и свойства p53 [14].

Увеличение активности мутированного p53

Увеличение активности мутированного p53 отмечено в случае миссенс-мутации p53, что приводит к экспрессии p53 белка в исходных опухолевых клетках. При этом больные имеют более раннее начало опухолевого процесса, чем пациенты с мутацией p53, приводящей к потере экспрессии p53 [15,16]. На биологических моделях мышей показано, что клетки, экспрессирующие профиль мутированного p53 в опухоли, ведут себя более агрессивно и имеют более высокий метастатический потенциал, нежели клетки с диким типом белка или вообще его не экспрессирующие [17-19]. В исследованиях указывается, что наличие мутированного p53 запускает инвазивность и подвижность клетки, то есть усиливает сигналы через соответствующие рецепторы — рецептор трансформирующего фактора роста b (TGF-b), рецептор эпидермального фактора роста и MET [20-26]. Частично эти ответы отражают способность мутантного p53 промотировать запуск интегрином /RCP клеточный цикл [22,23] или повышать экспрессию рецепторов факторов роста [24,25]. Этот тип белка p53 имеет способность прямого регулирования экспрессии генов [27], хотя цитоплазматическая и митохондриальная активность мутированного p53 в регуляции апоптоза и аутофагии также описана [27-29]. Различные мутированные белки p53 могут напрямую связываться с ДНК с разной степенью селективности [30] и могут прямо контролировать транскрипцию некоторых генов [27]. Но всё больше данных указывает на не прямое воздействие протеинов p53. К примеру, несколько исследований выявили роль TAp63, белка семейства p53 и транскрипционного фактора, который взаимодействует с мутированной формой p53, но не с диким типом белка [31,32].

Различия экспрессии молекулярных маркеров ВПЧ-позитивного и ВПЧ-негативного ПРГШ

Паттерн экспрессии путей Rb-E2F/p53 различен при ВПЧ-позитивных и ВПЧ-негативных опухолях. В исследовании Johnson M.E. и др. для анализа выбраны 25 генов, представленные ключевыми взаимодействующими группами молекул в путях Rb-E2F/p53 (циклины/CDKS, CKI, E2F, RB и TP53), и гены, имеющие отношение к Rb-E2F и p53 по осям (CDKN2A/p14ARF and MDM2). Обработана информация транскриптомного секвенирования TCGA (RNA-seq) 499 опухолей и 43 гистоблоков опухолевой ткани. Визуализировался уровень клеточной мРНК ВПЧ-позитивных и ВПЧ-негативных образцов. ВПЧ-негативные опухоли и подгруппа ВПЧ-позитивных опухолей имели повреждённую экспрессию генов, регулируемую фактором E2F. При исследовании ВПЧ-позитивных образцов ПРГШ подтверждена высокая частота активации генов, что предполагает воздействие ВПЧ на путь Rb-E2F. В ВПЧ-негативных опухолях выявилось значимое различие в распределении активации генов ERG. Таким образом, две подгруппы в этой когорте были различны. Предполагается, что гиперактивация комплекса генов ERG указывает на наличие трёх групп опухолей ПРГШ по профилю активации генов ERG: ВПЧ-позитивные опухоли с высоким уровнем ERG (выраженная регуляция

более 175 генов ERG), ВПЧ-негативные опухоли с высоким уровнем ERG (выраженная регуляция 175 генов ERG), и ВПЧ-негативные опухоли с низким уровнем ERG (выраженная регуляция менее 175 генов ERG).

При анализе уровня фосфорилированных белков pRb и p16 образцов ПРГШ ВПЧ-позитивные опухоли имели меньшие уровни протеина pRb и высокий уровень p16, в отличие от ВПЧ-негативных образцов. Ввиду возможности белка ВПЧ E7 вызывать повреждение Rb, выявлено, что фосфорилированный белок pRb представлен в небольших количествах в ВПЧ-позитивных опухолях в сравнении с ВПЧ-негативными. Экспрессия p16 выше в ВПЧ-позитивных опухолях. Также установлен уровень экспрессии белка p53 для уточнения механизма деградации в ВПЧ-позитивных опухолях. Тем не менее, экспрессия p53 в ВПЧ-позитивных образцах соответствовала среднему значению экспрессии в ВПЧ-негативных опухолях. Мутационный профиль согласовывался с функцией генов ВПЧ E6 E7. E7 инактивирует функцию Rb путем связывания с белком, вызывая его деградацию. Следовательно, присутствие E7 ВПЧ и активированных генов ERG в ВПЧ-позитивных опухолях указывает на то, что транскрипционное угнетение Rb белком ослаблено. Кроме этого, протеин E6 ВПЧ в этих опухолях должен блокировать функцию p53. Это вытекает из профиля экспрессии генов, описанного выше. Что интересно, не выявлено значимой разницы в уровне белка p53 между ВПЧ-позитивными и ВПЧ-негативными опухолями, хотя уровень p53 мРНК был повышен в группе ВПЧ-позитивных опухолей. Остаётся неясным, указывает ли это на то, что протеин ВПЧ E6 не разрушает p53 в этих опухолях или уровень белка p53 в общем снижены как в ВПЧ-позитивных, так в ВПЧ-негативных опухолях ПРГШ. Последнее заключение согласуется с данными указанными ниже, что отчетливо показывает отсутствие активности p53 практически во всех опухолях ПРГШ. Антитело против p53, которое использовалось в анализе всех гистологических блоков опухоли TCGA RPPA связывается как с мутированной, так и немутированной формами белка p53. Факт гиперэкспрессии белка p16 в ВПЧ-позитивных опухолях согласуется с данными всех репортированных исследований [5].

Экспрессия p16 INK4a как суррогатный маркер ВПЧ-статуса при ПРГШ

Параллельно с диагностированием ВПЧ иммуногистохимическое определение экспрессии p16 часто используется как суррогатный биомаркер для выявления ВПЧ-инфекции и активности вирусных онкопротеинов. P16 является геном-супрессором опухолевого роста, который ингибирует циклин-зависимую киназу 4A. В присутствии транскрипционно активного вируса ВПЧ, гипофосфорилированный белок ретинобластомы связывается с онкопротеином ВПЧ E7, что позволяет активатору транскрипции E2F быть конституционально активным, эффективно блокирующим отрицательную обратную связь свободного pRb на ген p16. Происходит гиперэкспрессия p16. Независимо от вариантов терапии, пациенты с ОФПКК и гиперэкспрессией p16 имеют лучший прогноз и клинические исходы. ИГХ P16, в ос-

новном, доступная процедура и стоимость технического исследования существенно дешевле ВПЧ-специфичных тестов. Несколько исследований демонстрируют сложности в ВПЧ-диагностике и при ИГХ p16, так как нет единого подхода к определению гиперэкспрессии p16 по четкому указанию процентов клеток, и критерии позитивности варьирует от 5-75 % до многочисленных менее специфичных вербальных показателей, к примеру, диффузное и сильное ядерное и цитоплазматическое окрашивания. Это может быть проблематично, так как различная степень окрашивания может коррелировать по-разному с ВПЧ-позитивностью и негативностью. Паттерны окрашивания могут четко разделить транскрипционно-активную и неактивную ВПЧ-инфекцию. При этом возможно установить прогноз и клинические исходы. Недавние исследования продемонстрировали значимую корреляцию между экспрессией p16INK4a в качестве суррогатного маркера ВПЧ-инфекции и прогноза при ОФПКК с выявлением ВПЧ в опухолях.

Паттерн экспрессия p53 при ПРГШ

Известно, что ВПЧ проявляет канцерогенные свойства путем инактивации регуляторов клеточного цикла p53 и pRb, используя экспрессию онкопротеинов E6 и E7. Это указывает на то, что мутации p53 не должны играть ведущую роль в ВПЧ-индуцированном туморогенезе. Тем не менее, в отношении ВПЧ-позитивных опухолей ПРГШ имеются противоречивые данные, указывающие на наличие интегрированной ДНК онкогенного штамма, и часть этих опухолей имеют мутации p53. В исследовании Hafkamp Н.С. проанализирована частота выявления ДНК ВПЧ, исследованная методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH), где изучен мутационный статус белка p53 иммуногистохимическим методом и анализ на одноцепочечный конформационный полиморфизм (SSCP) 5-8 экзонов TP53. Исследованы 27 гистоблоков предраковых образований слизистой и 47 случаев ПРГШ. Десять из 47 (21 %) ПРГШ показали наличие ДНК ВПЧ 16 типа в геноме, в том числе, 8 из 12 (67 %) образований небных миндалин. Это подтверждено ИГХ — выявлением гиперэкспрессии p16(INK4A) во всех 10 ВПЧ-позитивных опухолях. В 30 (64 %) из 47 случаях ПРГШ выявлена экспрессия p53, включая и 8 из 10 ВПЧ-позитивных карцином. Тем не менее, в указанных опухолях мутации в 5-8 экзонах гена p53 не идентифицированы.

Выявление экспрессии белка p53 в исследованиях может свидетельствовать о наличии как мутированного, так и дикого типов протеина p53 поскольку используемое во многих исследованиях моноклональное антитело для детекции p53 (DO7) способно связываться с мутированным и немутированным типами белка p53. Тем не менее, предполагается, что ИГХ-детекция p53 с использованием МКА DO7 (Dako Co., Denmark), в основном, ассоциирована с присутствием мутированных форм аллелей TP53. Это обосновано с позиций биологии дикого белка p53, у которого короткий период полураспада, длящийся до 30 мин., ввиду чего он не накапливается до уровня выявления методом ИГХ. В то же время мутированные формы имеют более продолжительный период полураспада, что

обосновывает выявление их иммуногистохимическим методом. Различия в продолжительности периода полураспада форм белка p53 реализуются также в действии на ген TP53 химических веществ, которые повреждают или разрушают ДНК при функциональной деактивации путем связывания протеина p53 другими клеточными белками (mdm-2), а также при воздействии вирусных антигенов ВПЧ Е6 и Е7. По этой причине можно предположить, что 38 % p53-негативных опухолей ПРГШ в исследовании Badulescu Fl. и соавт. могли появиться ввиду биаллельного разрушения гена TP53, низких уровнях мутированного или дикого белка p53, нонсенс-мутациях или повреждении TP53, что невозможно распознать реактивом DO7. Другим возможным объяснением может служить накопление протеина mdm2, что вызвано амплификацией гена, которая провоцирует разрушение p53 и отсутствие иммунореактивности белка p53. Дикий тип белка p53 может увеличиться количественно до уровня выявления его ИГХ-методом во время повреждения клетки при стабилизации немутированного p53 белком mdm2 или вирусными протеинами Т-антигеном SV40 и/или недостаточной функциональной экспрессии белка ВПЧ Е6 [36].

Согласно опубликованным данным, гиперэкспрессия p53, выявленная методом ИГХ при ПРГШ, коррелирует с неблагоприятным прогнозом в отношении показателей

выживаемости. Необходимо отметить, что гиперэкспрессия p53 коррелирует с наличием мутированного p53 при уровне экспрессии 2+ (положительное окрашивание 25–50 % опухолевых клеток) или 3+ (окрашено более 50 % опухолевых клеток); единственным исключением является вариант мутированного p53 -ΔNp63, что говорит о чувствительности к цисплатину и благоприятном прогнозе [37]. В исследовании Wang Z. и соавт, где выявлялась степень экспрессии p53 у 188 больных ВПЧ-положительной ОФПКК в Китае, обнаружено, что 22 ВПЧ-положительных образца были p53-негативными при ИГХ и отсутствовали мутации TP53. Все пациенты без мутаций в экзонах 5-8 гена TP53 имели лучший прогноз ($p = 0.031$) среди 43 секвенированных образцов [38]. Учитывая противоречивые данные по уровням экспрессии молекулярных маркеров ВПЧ-положительного и ПЧ-негативного ПРГШ, целесообразно проведение дополнительных исследований по изучению патогенеза развития рака этой локализации на региональном уровне. Представляет интерес ко-экспрессия протеинов p16 и p53, а также выявление мутаций в гене-супрессоре опухолевого роста p53 в ВПЧ-положительных опухолях.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2015. // *CA Cancer J Clin.* - 2015. - V.65(1). - P.5–29. doi: 0.3322/caac.21254
2. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics 2012. // *CA Cancer J Clin.* - 2012. - V.62(1). - P.10–29. doi: 10.3322/caac.20138
3. Ragin C.C., Modugno F., Gollin S.M. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus. // *J Dent Res.* - 2007. - V. 86. - P.104–14. doi: 10.1177/154405910708600202
4. Brockstein B.E., Vokes E.E. Head and neck cancer in 2010: Maximizing survival and minimizing toxicity. // *Nat Rev Clin Oncol.* - 2011. - V.8(2). - P.72–74. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.226
5. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive genomic characterization of head and neck cancer. // *Nature.* - 2015. - V.517. - P.576–582. doi: 10.1038/nature14129.
6. Galloway D.A., Laimins L.A. Human papillomaviruses: shared and distinct pathways for pathogenesis. // *Curr Opin Virol.* - 2015. - V.14. - P.87–92. doi: 10.1016/j.coviro.2015.09.001.
7. Johnson M.E., Cantalupo P.G., Pipas J.M. Identification of head and neck cancer subtypes based on human papillomavirus presence and E2F-regulated gene expression. // *mSphere.* - 2018. - V.3(1). - P.pii: e00580-17. doi: 10.1128/mSphere.00580-17.
8. Rothenberg S.M., Ellisen L.W. The molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. // *J Clin Invest.* - 2012. - V.122(6). - P.1951. doi: 10.1172/JCI59889
9. Kandoth C., McLellan M.D., Vandin F., Ye K., Niu B., et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. // *Nature.* - 2013. - V.502. - P.333–339. doi: 10.1038/nature12634
10. Leroy B., Fournier J.L., Ishioka C., Monti P., Inga A., et al. The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis. // *Nucleic Ac-*

REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(1):5–29. doi: 0.3322/caac.21254
2. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin* 2012;62(1):10–29. doi: 10.3322/caac.20138
3. Ragin CC, Modugno F, Gollin SM. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus. *J Dent Res.* 2007; 86:104–14. doi: 10.1177/154405910708600202
4. Brockstein BE, Vokes EE. Head and neck cancer in 2010: Maximizing survival and minimizing toxicity. *Nat Rev Clin Oncol.* 2011;8(2):72–74. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.226
5. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive genomic characterization of head and neck cancer. *Nature.* 2015;517:576–582. doi: 10.1038/nature14129.
6. Galloway DA, Laimins LA. Human papillomaviruses: shared and distinct pathways for pathogenesis. *Curr Opin Virol* 2015;14:87–92. doi: 10.1016/j.coviro.2015.09.001.
7. Johnson ME, Cantalupo PG, Pipas JM. Identification of head and neck cancer subtypes based on human papillomavirus presence and E2F-regulated gene expression. *mSphere.* 2018;3(1):pii: e00580-17. doi: 10.1128/mSphere.00580-17.
8. Rothenberg SM, Ellisen LW. The molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Invest.* 2012;122(6):1951. doi: 10.1172/JCI59889
9. Kandoth C, McLellan MD, Vandin F, Ye K, Niu B, et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature.* 2013;502:333–339. doi: 10.1038/nature12634
10. Leroy B, Fournier J.L, Ishioka C, Monti P, Inga A, et al. The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(Database issue):D962–9. doi: 10.1093/nar/gks1033
11. Wang Y, Suh YA, Fuller MY, Jackson J.G, Xiong S, et al. Restoring expression of wild-type p53 suppresses tumor growth but does not cause tumor regression in mice with a p53

- ids Res. Nucleic Acids Res.* - 2013. - V.41(Database issue). - P.D962-9. doi: 10.1093/nar/gks1033
11. Wang Y., Suh Y.A., Fuller M.Y., Jackson J.G., Xiong S, et al. Restoring expression of wild-type p53 suppresses tumor growth but does not cause tumor regression in mice with a p53 missense mutation. // *J. Clin. Invest.* - 2011. - V.121. - P.893–904. doi: 10.1172/jci44504
 12. Stricker T.P., Neoplasia K.V. In: Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Aster J.C., editors. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier. - V. 2010.
 13. Vogelstein B., Kinzler K.W. P53 function and dysfunction. // *Cell.* - 1992. - V.70. - P.523–526. doi: 10.1016/0092-8674(92)90421-8
 14. Bougeard G., Sesboue R., Baert-Desurmont S., Vasseur S., Martin C., et al. Molecular basis of the Li-Fraumeni syndrome: an update from the French LFS families. // *J. Med. Genet.* - 2008. - V.45. - P.535–538. doi: 10.1136/jmg.2008.057570
 15. Zerdoumi Y., Aury-Landas J., Bonai'ti-Pellie C., Derambure C., Sesboue R., et al. Drastic effect of germline TP53 missense mutations in Li-Fraumeni patients. // *Hum. Mutat.* - 2013. - V.34. - P.453–461. doi: 10.1002/humu.22254
 16. Doyle B., Morton J.P., Delaney D.W., Ridgway R.A., Wilkins J.A., Sansom O.J. p53 mutation and loss have different effects on tumorigenesis in a novel mouse model of pleomorphic rhabdomyosarcoma. // *J. Pathol.* - 2010. - V.222. - P.129–137. doi: 10.1002/path.2748
 17. Morton J.P., Timpson P., Karim S.A., Ridgway R.A., Athineos D., et al. Mutant p53 drives metastasis and overcomes growth arrest/senescence in pancreatic cancer. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* - 2010. - V.107. - P.246–251. doi: 10.1073/pnas.0908428107
 18. Olive K.P., Tuveson D.A., Ruhe Z.C., Yin B., Willis N.A., et al. Mutant p53 gain of function in two mouse models of Li-Fraumeni syndrome. // *Cell.* - 2004. - V.119. - P.847–860. doi: 10.1016/j.cell.2004.11.004
 19. Adorno M., Cordenonsi M., Montagner M., Dupont S., Wong C., et al. A Mutant- p53/Smad complex opposes p63 to empower TGFbeta-induced metastasis. // *Cell.* - 2009. - V.137. - P.87–98. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.039
 20. Grugan K.D., Vega M.E., Wong G.S., Diehl J.A., Bass A.J., et al. A common p53 mutation (R175H) activates c-Met receptor tyrosine kinase to enhance tumor cell invasion. // *Cancer Biol. Ther.* - 2013. - V.14(9). - P.853–859. doi: 10.4161/cbt.25406
 21. Muller P.A., Caswell P.T., Doyle B., Iwanicki M.P., Tan E.H., et al. Mutant p53 drives invasion by promoting integrin recycling. // *Cell.* - 2009. - V.139. - P.1327–1341. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.026
 22. Muller P.A., Trinidad A.G., Timpson P., Morton J.P., Zanivan S., et al. Mutant p53 enhances MET trafficking and signalling to drive cell scattering and invasion. // *Oncogene.* - 2012. - V.32. - P.1252–1265. doi: 10.1038/onc.2012.148
 23. Sauer L., Gitenay D., Vo C., Baron V.T. Mutant p53 initiates a feedback loop that involves Egr-1/EGF receptor/ERK in prostate cancer cells. // *Oncogene.* - 2010. - V.29. - P.2628–2637. doi: 10.1038/onc.2010.24
 24. Wang W., Cheng B., Miao L., Mei Y., Wu M. Mutant p53-R273H gains new function in sustained activation of EGFR signaling via suppressing miR-27a expression. // *Cell Death Dis.* - 2013. - V.4. - P.e574. doi: 10.1038/cddis.2013.97
 25. Weisz L., Oren M., Rotter V. Transcription regulation by mutant p53. // *Oncogene.* - 2007. - V.26. - P.2202–2211. doi: 10.1038/sj.onc.1210294
 26. Chee J.L., Saidin S., Lane D.P., Leong S.M., Noll J.E., et al. Wild-type and mutant p53 mediate cisplatin resistance through interaction and inhibition of active caspase-9. // *Cell Cycle.* - 2013. - V.12. - P.278–288. doi: 10.4161/cc.23054
 - missense mutation. // *J. Clin. Invest.* - 2011;121:893–904. doi: 10.1172/jci44504
 12. Stricker T.P., Neoplasia K.V. In: Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Aster J.C., editors. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2010.
 13. Vogelstein B., Kinzler K.W. P53 function and dysfunction. // *Cell.* - 1992;70:523–526. doi: 10.1016/0092-8674(92)90421-8
 14. Bougeard G., Sesboue R., Baert-Desurmont S., Vasseur S., Martin C., et al. Molecular basis of the Li-Fraumeni syndrome: an update from the French LFS families. // *J. Med. Genet.* - 2008;45:535–538. doi: 10.1136/jmg.2008.057570
 15. Zerdoumi Y., Aury-Landas J., Bonai'ti-Pellie C., Derambure C., Sesboue R., et al. Drastic effect of germline TP53 missense mutations in Li-Fraumeni patients. // *Hum. Mutat.* - 2013;34:453–461. doi: 10.1002/humu.22254
 16. Doyle B., Morton J.P., Delaney D.W., Ridgway R.A., Wilkins J.A., Sansom O.J. p53 mutation and loss have different effects on tumorigenesis in a novel mouse model of pleomorphic rhabdomyosarcoma. // *J. Pathol.* - 2010;222:129–137. doi: 10.1002/path.2748
 17. Morton J.P., Timpson P., Karim S.A., Ridgway R.A., Athineos D., et al. Mutant p53 drives metastasis and overcomes growth arrest/senescence in pancreatic cancer. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* - 2010;107:246–251. doi: 10.1073/pnas.0908428107
 18. Olive K.P., Tuveson D.A., Ruhe Z.C., Yin B., Willis N.A., et al. Mutant p53 gain of function in two mouse models of Li-Fraumeni syndrome. // *Cell.* - 2004;119:847–860. doi: 10.1016/j.cell.2004.11.004
 19. Adorno M., Cordenonsi M., Montagner M., Dupont S., Wong C., et al. A Mutant- p53/Smad complex opposes p63 to empower TGFbeta-induced metastasis. // *Cell.* - 2009;137:87–98. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.039
 20. Grugan K.D., Vega M.E., Wong G.S., Diehl J.A., Bass A.J., et al. A common p53 mutation (R175H) activates c-Met receptor tyrosine kinase to enhance tumor cell invasion. // *Cancer Biol. Ther.* - 2013;14(9):853–859. doi: 10.4161/cbt.25406
 21. Muller P.A., Caswell P.T., Doyle B., Iwanicki M.P., Tan E.H., et al. Mutant p53 drives invasion by promoting integrin recycling. // *Cell.* - 2009;139:1327–1341. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.026
 22. Muller P.A., Trinidad A.G., Timpson P., Morton J.P., Zanivan S., et al. Mutant p53 enhances MET trafficking and signalling to drive cell scattering and invasion. // *Oncogene.* - 2012;32:1252–1265. doi: 10.1038/onc.2012.148
 23. Sauer L., Gitenay D., Vo C., Baron V.T. Mutant p53 initiates a feedback loop that involves Egr-1/EGF receptor/ERK in prostate cancer cells. // *Oncogene.* - 2010;29:2628–2637. doi: 10.1038/onc.2010.24
 24. Wang W., Cheng B., Miao L., Mei Y., Wu M. Mutant p53-R273H gains new function in sustained activation of EGFR signaling via suppressing miR-27a expression. // *Cell Death Dis.* - 2013;4:e574. doi: 10.1038/cddis.2013.97
 25. Weisz L., Oren M., Rotter V. Transcription regulation by mutant p53. // *Oncogene.* - 2007;26:2202–2211. doi: 10.1038/sj.onc.1210294
 26. Chee J.L., Saidin S., Lane D.P., Leong S.M., Noll J.E., et al. Wild-type and mutant p53 mediate cisplatin resistance through interaction and inhibition of active caspase-9. // *Cell Cycle.* - 2013;12:278–288. doi: 10.4161/cc.23054
 27. Frank A.K., Pietsch E.C., Dumont P., Tao J., Murphy M.E. Wild-type and mutant p53 proteins interact with mitochondrial caspase-3. // *Cancer Biol. Ther.* - 2011;11:740–745. doi: 10.4161/cbt.11.8.14906
 28. Morselli E., Tasdemir E., Maiuri M.C., Galluzzi L., Kepp O., et al. Mutant p53 protein localized in the cytoplasm inhibits autophagy. // *Cell Cycle.* - 2008;7:3056–3061. doi: 10.4161/cc.7.19.6751
 29. Brazdova M., Navratilova L., Tichy V., Némecova K., Lexa M,

27. Frank A.K., Pietsch E.C., Dumont P., Tao J., Murphy M.E. Wild-type and mutant p53 proteins interact with mitochondrial caspase-3. // *Cancer Biol. Ther.* - 2011. - V.11. - P.740–745. doi: 10.4161/cbt.11.8.14906
28. Morselli E., Tasdemir E., Maiuri M.C., Galluzzi L., Kepp O., et al. Mutant p53 protein localized in the cytoplasm inhibits autophagy. // *Cell Cycle.* - 2008. - V.7. - P.3056–3061. doi: 10.4161/cc.7.19.6751
29. Brazdova M., Navratilova L., Tichy V., Němcova K., Lexa M., et al. Preferential binding of hot spot mutant p53 proteins to supercoiled DNA in vitro and in cells. // *PLoS ONE.* - 2013. - V.8. - P.e59567. doi: 10.1371/journal.pone.0059567
30. Gaiddon C., Lokshin M., Ahn J., Zhang T., Prives C. A subset of tumor-derived mutant forms of p53 down-regulate p63 and p73 through a direct interaction with the p53 core domain. // *Mol. Cell. Biol.* - 2001. - V.21. - P.1874–1887. doi: 10.1128/mcb.21.5.1874-1887.2001
31. Strano S., Fontemaggi G., Costanzo A., Rizzo M.G., Monti O., et al. Physical interaction with human tumor-derived p53 mutants inhibits p63 activities. // *J. Biol. Chem.* - 2002. - V.277. - P.18817–18826. doi: 10.1074/jbc.m201405200
32. McLaughlin-Drubin M.E., Crum C.P., Mungier K. Human papillomavirus E7 oncoprotein induces KDM6A and KDM6B histone demethylase expression and causes epigenetic reprogramming. // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 2011. - V.108. - P.2130–2135. doi: 10.1073/pnas.1009933108.
33. Reed A.L., Califano J., Cairns P., Westra W.H., Jones R.M., et al. High frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. // *Cancer Res.* 1996. - V.56. - P.3630–3633. doi: 10.1016/s0194-5998(97)80093-9
34. Witkiewicz A.K., Knudsen K.E., Dicker A.P., Knudsen E.S. The meaning of p16(ink4a) expression in tumors: functional significance, clinical associations and future developments. // *Cell Cycle.* - 2011. - V.10. - P.2497–2503. doi: 10.4161/cc.10.15.16776.
35. Saad H.M., Al-Hijazi A.Y., Khashman B.M. P53-tumor suppressor gene overexpression in human papilloma virus-infected patients with oral squamous cell carcinoma. // *J Bagh College Dentistry.* - 2011. - V.23. - P.70–76.
36. Badulescu F., Badulescu A., Crisan A., Popescu F.C. Study of the diagnosis and treatment of cancer located in the head and neck and correlation with expression of prognostic markers. // *Rom J Morphol Embryol.* - 2013. - V.54(3). - P.487–497.
37. Wang Z., Xia R.-H., Ye D.-X., Li J. Human Papillomavirus 16 Infection and TP53 Mutation: Two Distinct Pathogeneses for Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma in an Eastern Chinese Population. // *PLoS ONE.* - 2016. - V.11(10). - P.e0164491. doi: 10.1371/journal.pone.0164491
- et al. Preferential binding of hot spot mutant p53 proteins to supercoiled DNA in vitro and in cells. *PLoS ONE.* 2013;8:e59567. doi: 10.1371/journal.pone.0059567
30. Gaiddon C, Lokshin M, Ahn J, Zhang T, Prives C. A subset of tumor-derived mutant forms of p53 down-regulate p63 and p73 through a direct interaction with the p53 core domain. *Mol. Cell. Biol.* 2001;21:1874–1887. doi: 10.1128/mcb.21.5.1874-1887.2001
31. Strano S, Fontemaggi G, Costanzo A, Rizzo MG, Monti O, et al. Physical interaction with human tumor-derived p53 mutants inhibits p63 activities. *J. Biol. Chem.* 2002;277:18817–18826. doi: 10.1074/jbc.m201405200
32. McLaughlin-Drubin ME, Crum CP, Mungier K. Human papillomavirus E7 oncoprotein induces KDM6A and KDM6B histone demethylase expression and causes epigenetic reprogramming. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108:2130 – 2135. doi: 10.1073/pnas.1009933108.
33. Reed AL, Califano J, Cairns P, Westra WH, Jones RM, et al. High frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 1996;56:3630–3633. doi: 10.1016/s0194-5998(97)80093-9
34. Witkiewicz AK, Knudsen KE, Dicker AP, Knudsen ES. The meaning of p16(ink4a) expression in tumors: functional significance, clinical associations and future developments. *Cell Cycle.* 2011;10:2497–2503. doi: 10.4161/cc.10.15.16776.
35. Saad HM, Al-Hijazi AY, Khashman BM. P53-tumor suppressor gene overexpression in human papilloma virus-infected patients with oral squamous cell carcinoma. *J Bagh College Dentistry.* 2011;23:70-76.
36. Badulescu F, Badulescu A, Crisan A, Popescu FC. Study of the diagnosis and treatment of cancer located in the head and neck and correlation with expression of prognostic markers. *Rom J Morphol Embryol.* 2013;54(3):487–497.
37. Wang Z, Xia R-H, Ye D-X, Li J. Human Papillomavirus 16 Infection and TP53 Mutation: Two Distinct Pathogeneses for Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma in an Eastern Chinese Population. *PLoS ONE.* 2016;11(10):e0164491. doi: 10.1371/journal.pone.0164491

Информация об авторах

Анастасия Игоревна Стукань, аспирант кафедры онкологии, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края; Россия, 350040 Краснодар, ул. Димитрова, 146; Кафедра онкологии с курсом торакальной хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 350029 Краснодар, ул. Российская, 140; e-mail: jolier86@bk.ru.

Владимир Алексеевич Порханов, заведующий кафедрой онкологии с курсом торакальной хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной

Information about the authors

Anastasiya I. Stukan, Department of Oncology with Course of Thoracic Surgery of Kuban State Medical University Ministry of Healthcare of Russia Ministry of Healthcare of Russia, 140, Rossiyskaya str., Krasnodar, 350029, Russia; SBEH «Clinical Dispensary of Oncology of Ministry of health care of Krasnodar region, 146, Dimitrova str., Krasnodar, 312510, Russia; e-mail: jolier86@bk.ru.

Vladimir A. Porhanov, Department of Oncology with Course of Thoracic Surgery of Kuban State Medical University Ministry of Healthcare of Russia Ministry of Healthcare of Russia, 140, Rossiyskaya str., Krasnodar, 350029, Russia; SBEH «Scientific Investigational Institute State Clinical Hospital #1 named by professor S.V. Ochapovsky» Ministry of Healthcare

переподготовки специалистов ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 350029 Краснодар, ул. Российская, 140; e-mail: vadimbodnya@rambler.ru.

Вадим Николаевич Бодня, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 350029 Краснодар, ул. Российская, 140; ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. профессора С.В. Очаповского» Минздрава Краснодарского края; Россия, 350086, Краснодар, ул. 1 Мая, д. 167; e-mail: vadimbodnya@rambler.ru.

Ольга Юрьевна Чухрай, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края; Россия, 350040 Краснодар, ул. Димитрова, 146; e-mail: lecabel@rambler.ru.

Юлия Михайловна Макарова, ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края; Россия, 350040 Краснодар, ул. Димитрова, 146; e-mail: bestmakarova@mail.ru.

Игорь Семенович Элизбарян, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 350029 Краснодар, ул. Российская, 140; e-mail: ise95@mail.ru.

of Russia, 167,1 May str., Krasnodar, 350086, Russia; e-mail: vadimbodnya@rambler.ru.

Vadim N. Bodnya, Department of Oncology with Course of Thoracic Surgery of Kuban State Medical University Ministry of Healthcare of Russia Ministry of Healthcare of Russia, 140, Rossiyskaya str., Krasnodar, 350029, Russia; SBEH «Scientific Investigational Institute State Clinical Hospital #1 named by professor S.V. Ochapovsky» Ministry of Healthcare of Russia, 167,1 May str., Krasnodar, 350086, Russia; e-mail: vadimbodnya@rambler.ru.

Olga Yu. Chuhraj, SBEH «Clinical Dispensary of Oncology of Ministry of health care of Krasnodar region, 146, Dimitrova str., Krasnodar, 312510, Russia; lecabel@rambler.ru.

Yuliya M. Makarova, SBEH «Clinical Dispensary of Oncology of Ministry of health care of Krasnodar region, 146, Dimitrova str., Krasnodar, 312510, Russia; e-mail: bestmakarova@mail.ru.

Igor S. Ehlibaryan, FGBEU of HE Kuban State Medical University Ministry of Healthcare of Russia, 4, Sedina str., Krasnodar, 350063, Russia; e-mail: ise95@mail.ru.

Получено / Received: 18.04.2018

Принято к печати / Accepted: 10.07.2018