

Według danych z roku 2008, 65,2% wszystkich protokołów klinicznych genoterapii dotyczy leczenia choroby nowotworowej. Podejmuje się próby modyfikacji, naprawy bądź inhibicji naturalnych mechanizmów komórkowych, których dysfunkcję obserwuje się w komórkach nowotworowych poprzez wprowadzenie genu terapeutycznego. Przeciwnowotworowa terapia genowa może stanowić alternatywę dla standardowych metod leczenia bądź uzupełniać je, zwiększając ich efektywność. Niekorzystnym zjawiskiem, znacznie obniżającym skuteczność chemioterapii, jest wykształcenie przez komórki nowotworowe oporności na leki. Chemooporność może mieć charakter pierwotny bądź wtórny. Przyczyn niewrażliwości na chemioterapię upatruje się w licznych zmianach, jakie zachodzą na poziomie komórkowym oraz genetycznym. Dotyczą one aktywacji zależnych od ATP pomp, zmian w dystrybucji leków bądź mutacji w genach związanych ze szlakami apoptotycznymi. Poprzez przywrócenie funkcji genomu o charakterze proapoptotycznym można wpłynąć na wrażliwość komórek nowotworowych na leki przeciwnowotworowe. Opisane w niniejszej pracy próby przełamania oporności nowotworów poprzez transfer genów związanych z programowaną śmiercią dotyczą kilku grup czynników. Pierwsza grupa to związane z aktywacją zewnętrznego szlaku apoptotycznego receptory błonowe z rodziny TNF. Do komórek nowotworowych wprowadzane są dodatkowe kopie prawidłowej formy receptora bądź jego ligandu. W przypadku leków indukujących apoptozę kaspazozależną, zwiększoną wrażliwość na chemioterapię uzyskuje się poprzez transfer genów kodujących kaspazy. Przyczyn oporności na cytostatyki upatruje się również w podwyższonej ekspresji inhibitorów apoptozy z rodziny IAP oraz negatywnych regulatorów apoptotycznych z rodziny BAX/BCL-2. Wyciszenie aktywności tych czynników poprzez transfer antysensownych oligonukleotydów zwiększa wrażliwość komórek nowotworowych na leki przeciwnowotworowe. Szereg prób podjęto również w celu przywrócenia funkcji TP53 w nowotworach. Występowanie zmutowanej formy tego czynnika transkrypcyjnego przyczynia się do niewrażliwości na chemioterapię.

Słowa kluczowe: chemooporność, nowotwory, proapoptotyczna terapia genowa

Proapoptotyczna terapia genowa a wrażliwość nowotworów na chemioterapię

Proapoptotic gene therapy and chemosensitivity of cancer cells

Sylwia Rzońca, Maciej Małecki

Zakład Biologii Komórki, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Terapia genowa

Pierwotnie koncepcja terapii genowej dotyczyła transferu do komórek z defektem genetycznym prawidłowej kopii wadliwego genu. Celem takiego postępowania terapeutycznego były głównie choroby dziedziczne, uwarunkowane mutacją jednego genu, np. mukowiscydoza, ciężki złożony niedobór immunologiczny (*severe combined immuno deficiency* – SCID). Rozwój badań nad molekularnymi mechanizmami powstawania chorób, umożliwił zastosowanie genoterapii również w przypadku schorzeń, których przyczyną są zmiany w wielu genach (np. choroby wieńcowo-naczyniowe, AIDS, choroby ośrodkowego układu nerwowego czy nowotwory). W celach terapeutycznych zaczęto wprowadzać do komórek nie tylko prawidłowe kopie genów, których funkcja została zaburzona przez wystąpienie mutacji, ale także dodatkowe kopie genów, kodujących białka o charakterze leczniczym.

Według danych Wiley InterScience z roku 2008, pierwsze miejsce pod względem liczby otwartych protokołów klinicznych terapii genowej zajmują choroby nowotworowe, stanowiąc 65,2% wszystkich prowadzonych protokołów klinicznych.

Genoterapia przeciwnowotworowa ma na celu naprawę, wzmocnienie lub inhibicję naturalnych mechanizmów komórkowych, takich jak cykl komórkowy, angiogeneza czy apoptoza. Może również stanowić terapię wspomagającą dla standardowych metod leczenia. Przykładem jest zastosowanie związanych ze szlakami apoptotycznymi genów w celu zwiększania wrażliwości komórek nowotworowych na leki.

Oporność nowotworów na chemioterapię

Głównym założeniem chemioterapii jest indukcja apoptozy w komórkach nowotworowych z jak najmniejszą szkodą dla zdrowych komórek organizmu. Wyjątkowo dużą przeszkodą dla skuteczności leczenia chemicznego jest oporność nowotworów na chemioterapię. Lekooporność może występować pierwotnie albo wtórnie. Jest to zależne od wyniku selekcji klonów komórek niewrażliwych w trakcie leczenia.

Chemooporność komórek nowotworowych związana jest z licznymi zmianami na poziomie komórkowym oraz genetycznym. Zmiany w mechanizmach komórkowych związane są m.in. z silną aktywacją zależnych od ATP pomp komórkowych, odpowiedzialnych za wyrzut substancji toksycznych poza komórkę [1]. Dotyczą one także dystrybucji leku wewnątrz komórki, w której dochodzi do kumulacji preparatów w organellach (np. w lizosomach) [2]. Genetyczne przyczyny wystąpienia oporności lekowej związane są z mutacjami genów zaangażowanych w systemy naprawcze DNA oraz proces apopto-

According to the data for the year 2008, 65.2% of all gene therapy protocols concern cancer diseases. Transfer of therapeutic genes are attempted for modification, repair, or inhibition of natural cellular mechanisms, whose dysfunction is observed in cancer cells. Gene therapy may provide an alternative to standard therapies, or complement them, increasing their effectiveness. Many changes take place at the cellular and genetic level in cancer cells, causing resistance. These relate to the activation of ATP-dependent pumps, changes in the distribution of drugs or mutations in genes associated with the apoptosis. Restoring the function of proapoptotic genes can affect the sensitivity of cancer cells to drug agents. The attempts described in this paper to overcome resistance of cancer through the transfer of proapoptotic related genes concern several groups of factors. The first group, TNF family receptors, is involved in activation of the extrinsic apoptotic pathway. Transfer, into cancer cells, of additional copies of the correct form of the receptor or its ligands, sensitizes them to anticancer agents. In the case of drug-induced "caspase-dependent" apoptosis, increased sensitivity to chemotherapy is achieved through the transfer of genes encoding caspases. Increased expression of inhibitors of apoptosis IAP and negative regulators of Bcl-2 causes resistance to drugs. Turning off these genes through the transfer of antisense oligonucleotides increases the sensitivity of cancer cells to chemotherapeutics. Several attempts have been made to restore the function of TP53 in cancer. The presence of mutated form of this transcriptional factor contributes to chemoresistance.

Key words: chemoresistance, cancer, proapoptotic gene therapy.

zy. Mechanizmy działania większości leków przeciwnowotworowych oparte są na indukcji apoptozy w komórce, z tego powodu oporność na apoptozę jest bardzo często równoważna z lekoopornością.

Zwiększanie wrażliwości na chemioterapię

Jedną z podstawowych cech odróżniających komórki nowotworowe od komórek prawidłowych jest ich niepohamowany wzrost oraz oporność na sygnały śmierci. Dwa czynniki składają się na nieograniczone zdolności komórek nowotworu do proliferacji – brak kontroli nad podziałami komórkowymi oraz zaburzenia procesów związanych ze śmiercią komórki. Brak prawidłowo działających mechanizmów wykonawczych apoptozy może być przyczyną występowania oporności nowotworów na chemioterapię.

Jedną z metod przywracania komórkom nowotworowym wrażliwości na cytostatyki jest terapia genowa. Poprzez genoterapię można przywrócić komórkom nowotworowym zdolność do aktywacji mechanizmów apoptotycznych, indukowanych przez chemioterapeutyki.

Receptory śmierci – czynniki martwicy nowotworów

Inhibicja procesu apoptozy w komórkach nowotworowych może nastąpić już w momencie indukcji, poprzez zmienioną ekspresję błonowych receptorów z grupy czynników martwicy nowotworów (*tumor necrosis factor* – TNF). Receptory te mogą występować w formie zmutowanej, co uniemożliwia konformacyjne połączenie z ligandem [3]. Brak prawidłowego przewodzenia sygnałów proapoptotycznych zwiększa szanse komórek nowotworowych na przeżycie. Niektóre nowotwory, pomimo wysokiej ekspresji receptora Fas, są odporne na działanie ligandu FasL. Związane jest to z jednoczesnym wysokim poziomem ekspresji fosfatazy FAP-1 [4].

TRAIL (*TNF-related apoptosis inducing-ligand*) jest ligandem dla dwóch receptorów z rodziny TNF, DR4 oraz DR5. Aktywność proapoptotyczna TRAIL jest specyficzna dla komórek nowotworowych [5]. Oporność na apoptozę zależna od TRAIL może być spowodowana niskim poziomem ekspresji receptorów bądź działaniem białka FLIP, który jest inhibitorem dla tego ligandu [6].

Wprowadzenie dodatkowych kopii genu kodującego białko TRAIL do komórek linii raka jajnika (SKOV3, 222, A224, A364, A547, A2780/AD10, Caov-3, A2780/CP70, OVCAR-3, OVCA-429, UCI 101, UCI 107) zwiększa ich wrażliwość na doksorubicynę, paklitaksel oraz cisplatynę [7]. Synergistyczny efekt działania chemioterapii oraz wektora TRAIL zaobserwowano również w liniach komórkowych raka piersi [8]. Potencjał terapeutyczny zaobserwowano także w terapii genowej z zastosowaniem genu kodującego Smac/DIABLO. Białko to będące inhibitorem C-IAP aktywuje zależną od TRAIL ścieżkę apoptozy, zwiększając jednocześnie wrażliwość linii komórkowych raka piersi: MCF-7 oraz MDA-MB-453 na paklitaksel, doksorubicynę, etopozyd oraz tamoksifen [9].

W oporności niezależnej od MDR, przeprowadzano również próby zwiększania wrażliwości linii komórek raka jajnika na inhibitory topoizomerazy II, poprzez transfer zrekombinowanej formy TNF [10]. Wprowadzenie do komórek raka wątroby genu kodującego $I_{\kappa}B$, zwiększa ich wrażliwość na chemioterapię zależną od aktywacji receptorów TNF [11].

Próbowano również zwiększać wrażliwość komórek raka jelita grubego poprzez wyciszenie genu FAP-1.

Kaspazy

Kaspazy jako główne enzymy wykonawcze genetycznie programowanej śmierci są niezbędne do prawidłowego przebiegu apoptozy. Poziom ekspresji kaspaz w wielu nowotworach jest obniżony w stosunku do prawidłowych komórek tej samej tkanki (tab. 1).

Aktywność kaspaz, szczególnie kaspaz efektorowych, jest kluczowa dla indukcji apoptozy. Brak kaspazy 3 jest bezpośrednią przyczyną oporności komórek linii MCF-7 oraz OVP-10 na apoptozę [24]. Brak *CASP3* oraz niski poziom eks-

presji *CASP7*, 8 oraz 10 został stwierdzony w niektórych przypadkach raka nerki [25]. Somaticzna mutacja *CASP7* charakteryzuje 2% nowotworów jelita grubego oraz 3% nowotworów głowy oraz szyi [26]. Obserwowana jest również ograniczona zdolność *CASP8* do tworzenia kompleksu DISC [27]. Przyczyną mogą być liczne mutacje bądź nadmierna metylacja genu. Stwierdzono ponadto występowanie korelacji pomiędzy metylacją *CASP8* i metylacjami genu supresorowego *RASSF1A* w niektórych neuroblastomach dziecięcych.

Mechanizm działania wielu leków przeciwnowotworowych opiera się o indukcję kaskady kaspaz. Liczne opisywane zaburzenia szlaków apoptotycznych są jedną z przyczyn braku wrażliwości na chemioterapię. Przykładem może być linia komórek MCF-7 [28]. Linia komórkowa raka sutka z deficytem *CASP3* jest mało wrażliwa na inhibitory topoisomeras (etopozyd, doksorubicynę). Poprzez wprowadzenie wektora z rearanżowaną *CASP3*, można zwiększyć odpowiedź komórek MCF-7 na te dwa cytostatyki [29]. Synergistyczne działanie proapoptyczne kaspazy 3 z etopozydem zaobserwowano również w warunkach *in vivo*, na szczurzym modelu raka wątroby. Podanie cytostatyku oraz adenowirusowego wektora niosącego gen kaspazy 3 znacznie ogranicza wzrost masy guza [30].

Adenowirusowy transfer kaspazy 8 do komórek raka wątroby HCC zwiększa ich wrażliwość na taksol, kamptotecynę oraz doksorubicynę [31].

Nadmierna metylacja *APAF-1* przyczynia się do hamowania aktywacji apoptosomu, w wyniku czego nie dochodzi do przejścia formy proenzymu *CASP9* w formę aktywną [32]. Wirusowy transfer do komórek nowotworowych prawidłowej formy *APAF-1* zwiększa odpowiedź komórek U373-MG na etopozyd [33] oraz linii komórkowej raka czerniaka [34].

Inhibitory apoptozy – rodzina białek IAP

W komórkach nowotworowych opornych na apoptozę często obserwuje się podwyższony poziom inhibitorów apoptotycznych z rodziny IAP. Wśród wszystkich członków tej grupy białek, szczególne miejsce zajmuje surwiwina, której ekspresja jest specyficzna dla komórek nowotworowych. Przykładem są ostre białaczki [35], rak piersi [36], czy drobnokomórkowy rak płuc [37]. Wykazano także, że inhibitory C-IAP-1, C-IAP-2 mogą wyciszać sygnał apoptotyczny poprzez wiązanie ligandów dla receptorów TNF, TRAF1, TRAF2 [38]. Kolejnym członkiem rodziny białek IAP ekspresywnym na wysokim poziomie w nowotworach jest białko XIAP, które negatywnie reguluje aktywność kaspaz efektorowych *CASP3* oraz *CASP7* w komórkach [39], co przyczynia się do większej oporności na apoptozę.

Inhibujące działanie genu *XIAP* można znieść poprzez transfer antysensownego oligonukleotydu G4 AS ODN. Wyciszenie genu *XIAP* znacznie zwiększa wrażliwość linii komórkowej raka płuc NCI-H460 na doksorubicynę, epirubicynę, etopozyd oraz winblastynę. Pozytywne wyniki uzyskano zarówno w warunkach *in vitro*, jak i na modelu myszy [40]. Transfer siRNA dla genu *XIAP* do linii komórkowych MCF-7 oraz K562 zwiększa odpowiedź na leki przeciwnowotworowe [41, 42].

Podobne działania próbuje się zastosować względem surwiwiny, co opisali Zhang i wsp. [43]. Hamowanie aktyw-

ności antyapoptycznej tego inhibitora poprzez transfer siRNA do komórek raka wątroby zwiększa wrażliwość komórek nowotworowych na chemioterapię. Hamowanie aktywności surwiwiny poprzez działanie rybozymu w komórkach raka prostaty [44] znacząco wpływa na zwiększenie wrażliwości komórek na cisplatynę.

Aktywność inhibitorów apoptozy z grupy IAP można także hamować w sposób pośredni, poprzez wprowadzenie do komórek genu kodującego inhibitor dla NF- κ B-I κ B. W efekcie uzyskuje się komórki wrażliwe na apoptozę indukowaną lekami przeciwnowotworowymi [45].

Rodzina białek regulatorowych BCL-2/BAX

Przyczyn zaburzeń apoptozy w nowotworach upatruje się również w zmianach ekspresji białek regulatorowych z rodziny BCL-2/BAX. Stwierdzono hamujący efekt na apoptozę w obecności nadekspresji białek BCL-2 oraz BCL-XL [46]. Wysoki poziom białka BCL-2 jest często skorelowany z mutacjami w genie *TP53* [47]. Stosunek ilościowy BCL-2/BAX jest zaburzony nie tylko z powodu nadekspresji BCL-2, ale również w wyniku znacznie obniżonej, spowodowanej mutacjami, ekspresji genu *BAX* [48]. Występowanie mutacji w genach proapoptotycznych wskazuje się również np. dla BAK oraz BIK [49].

Odnotowano szereg pozytywnych wyników doświadczalnych prowadzonych w celu zniesienia oporności na leki przeciwnowotworowe poprzez działanie na białka z grupy BCL-2/BAX. Przykładem jest blokowanie aktywności genu *BCL-2* poprzez wprowadzenie sekwencji antysensownej do komórek raka piersi MCF-7. Wyciszenie antyapoptycznego BCL-2 w znacznym stopniu zwiększa wrażliwość komórek na etopozyd oraz doksorubicynę. Przeprowadzane są także próby adenowirusowego transferu *BAX* do komórek nowotworowych bądź genów o charakterze induktorów dla *BAX* np. genu *MDA-7* [50]. Wprowadzenie transgenu *BAX* do linii komórkowej raka trzustki zwiększa ich wrażliwość na gemcytabinę [51]. Zaobserwowano również, że komórki linii komórkowej jelita DLD-1 transfekowanej genem *BAX*

Tabela 1. Ekspresja kaspaz w poszczególnych nowotworach
Table 1. Caspase expression in cancer

Kaspaza	Poziom ekspresji	Nowotwór
kaspaza 1	obniżona	rak prostaty, nowotwór jelita grubego [12]
kaspaza 2	obniżona	białaczka [13]
kaspaza 3	obniżona	rak piersi, rak prostaty, rak szyjki macicy, ostra białaczka limfoblastyczna, rak odbytu [14–18]
kaspaza 6	obniżona	płatkonabłonkowy rak szyjki macicy [19]
kaspaza 7	obniżona	nowotwór jelita [20]
kaspaza 8	obniżona	neuroblastoma dziecięca, RCC, SCLC [21]
kaspaza 9	obniżona	rak jelita grubego [22]
kaspaza 10	obniżona	rak jajnika, białaczka [23]

w wyższym stopniu ulegają śmierci apoptotycznej pod wpływem cytostatyków – doksorubicyny oraz cisplatyny w porównaniu z komórkami nietransfekowanymi [52].

Gen supresorowy *TP53*

Czynnik transkrypcyjny *TP53*, zwany *strażnikiem genu*, jest jednym z głównych regulatorów prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego. W momencie pojawienia się nienaprawialnych uszkodzeń DNA poprzez aktywację genów proapoptotycznych kieruje on komórkę na drogę apoptozy. *TP53* jest również najczęściej mutowanym genem supresorowym w nowotworach (ok. 60% nowotworów). W związku z tak wysoką frekwencją mutacji tego genu oraz szerokim zakresem działania, przywrócenie prawidłowej formy wydaje się być kluczowe w przywracaniu wrażliwości na indukowaną przez chemioterapię apoptozę.

Przeprowadzane są próby transferu niezmutowanej formy genu *TP53* m.in. do komórek raka płuc, piersi, jajnika [53]. Wprowadzenie prawidłowej kopii genu *TP53* za pomocą nośnika adenowirusowego zwiększa wrażliwość nowotworów głowy oraz szyi na docetaksel [54].

Badania nad potencjalnym wykorzystaniem transferu prawidłowej kopii genu *TP53* do komórek nowotworowych osiągnęły już etap badań klinicznych. Aktualnie otwartych jest 69 protokołów klinicznych dotyczących zastosowania tego genu. Najczęściej odnosi się one do nowotworów płuc, głowy oraz szyi [55].

Podsumowanie

Prawie 20 lat badań nad terapią genową pokazało, jak duży potencjał ma w sobie ta metoda terapeutyczna. Trwają prace nad doskonaleniem technicznych aspektów genoterapii, głównie nad nośnikami genów i skutecznością ich wnikania, jednak zebrane w tej pracy wiadomości pokazują istniejące, praktyczne zastosowanie transferu genów w leczeniu chorób nowotworowych.

Oporność komórek nowotworowych na leki jest bardzo poważnym problemem klinicznym, przekładającym się na mniejszą wyleczalność pacjentów z chorobami onkologicznymi. Zastosowanie kombinacji dwóch terapii wydaje się być obiecujące zarówno ze względu na przełamywanie lekooporności, jak i możliwość zmniejszania dawek cytotoksyków.

Piśmiennictwo

- Gottesman MM, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 385-427.
- Matsuo H, Wakasugi M, Takanaga H, Ohtani H, Naito M, Tsuruo T, Sawada Y. Possibility of the reversal of multidrug resistance and the avoidance of side effects by liposomes modified with MRK-16, a monoclonal antibody to P-glycoprotein. *J Control Release* 2001; 77: 77-86.
- Bin L, Thorburn J, Thomas LR, Clark PE, Humphreys R, Thorburn A. Tumor-derived mutations in the TRAIL receptor DR5 inhibit TRAIL signaling through the DR4 receptor by competing for ligand binding. *J Biol Chem* 2007; 282: 28189-94.
- Ivanov VN, Lopez Bergami P, Maulit G, Sato TA, Sassoon D, Ronai Z. FAP-1 association with Fas (Apo-1) inhibits Fas expression on the cell surface. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 3623-35.
- Gura T. How TRAIL kills cancer cells, but not normal cells. *Science* 1997; 277: 815-8.
- Kim K, Fisher MJ, Xu SQ, El-Deiry WS. Molecular determinants of response to TRAIL in killing of normal and cancer cells. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 335-46.
- Cuello M, Ettenberg SA, Nau MM, Lipkowitz S. Synergistic induction of apoptosis by the combination of trail and chemotherapy in chemoresistant ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol* 2001; 81: 380-90.
- Keane MM, Ettenberg SA, Nau MM, Russell EK, Lipkowitz S. Chemotherapy augments TRAIL-induced apoptosis in breast cell lines. *Cancer Res* 1999; 59: 734-41.
- Fandy TE, Shankar S, Srivastava RK. Smac/DIABLO enhances the therapeutic potential of chemotherapeutic drugs and irradiation, and sensitizes TRAIL-resistant breast cancer cells. *Mol Cancer* 2008; 7: 60.
- Cimoli G, Valenti M, Parodi S, Mazzoni A, De Sessa F, Conte P, Russo P. Reversal of "atypical"-multidrug resistance by recombinant human tumor necrosis factor in the human ovarian cancer cell line A2780-DX3. *Oncol Res* 1993; 5: 311-23.
- Tietze MK, Wuestefeld T, Paul Y, Zender L, Trautwein C, Manns MP, Kubicka S. IkappaBalpha gene therapy in tumor necrosis factor-alpha and chemotherapy-mediated apoptosis of hepatocellular carcinomas. *Cancer Gene Ther* 2000; 7: 1315-23.
- Winter RN, Kramer A, Borkowski A, Kyprianou N. Loss of caspase-1 and caspase-3 protein expression in human prostate cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 1227-32.
- Hofmann WK, de Vos S, Tsukasaki K, Wachsman W, Pinkus GS, Said JW, Koeffler HP. Altered apoptosis pathways in mantle cell lymphoma detected by oligonucleotide microarray. *Blood* 2001; 98: 787-94.
- Cheung TH, Chung TK, Lo KW, Yu MY, Krajewski S, Reed JC, Wong YF. Apoptosis-related proteins in cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 2002; 86: 14-8.
- Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, et al. Down-regulation of caspase 3 in breast cancer: a possible mechanism for chemoresistance. *Oncogene* 2002; 21: 8843-51.
- Kolenko V, Uzzo RG, Bukowski R, Bander NH, Novick AC, Finke JH. Dead or dying: necrosis versus apoptosis in caspase deficient human renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 2838-42.
- Kumamoto H, Kimi K, Ooya K. Immunohistochemical analysis of apoptosis-related factors (Fas, Fas ligand, caspase-3 and single-stranded DNA) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2001; 30: 596-602.
- Prokop A, Wieder T, Sturm I, et al. Relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia is associated with a decrease of the Bax/Bcl-2 ratio and loss of spontaneous caspase-3 processing in vivo. *Leukemia* 2000; 14: 1606-13.
- Cheung TH, Chung TK, Lo KW, Yu MY, Krajewski S, Reed JC, Wong YF. Apoptosis-related proteins in cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 2002; 86: 14-8.
- Kolenko V, Uzzo RG, Bukowski R, Bander NH, Novick AC, HSI ED, Finke JH. Dead or dying: necrosis versus apoptosis in caspase deficient human renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 2838-42.
- Shivapurkar N, Reddy J, Matta H, et al. Loss of expression of death-inducing signaling complex (DISC) components in lung cancer cell lines and the influence of MYC amplification. *Oncogene* 2002; 21: 8510-4.
- Kolenko V, Uzzo RG, Bukowski R, Bander NH, Novick AC, HSI ED, Finke JH. Dead or dying: necrosis versus apoptosis in caspase deficient human renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 2838-42.
- Shivapurkar N, Reddy J, Matta H, et al. Loss of expression of death-inducing signaling complex (DISC) components in lung cancer cell lines and the influence of MYC amplification. *Oncogene* 2002; 21: 8510-4.
- Friedrich K, Wieder T, Von Haefen C, Radetzki S, Jänicke R, Schuler-Osthoff K, Dörken B, Daniel PT. Overexpression of caspase-3 restores sensitivity for drug-induced apoptosis in breast cancer cell lines with acquired drug resistance. *Oncogene* 2001; 20: 2749-60.
- Kolenko V, Uzzo RG, Bukowski R, Bander NH, Novick AC, Hsi ED, Finke JH. Dead or dying: necrosis versus apoptosis in caspase deficient human renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 2838-42.

26. Palmerini F, Devilard E, Jarry A, Birg F, Xerri L. Caspase 7 downregulation as an immunohistochemical marker of colonic carcinoma. *Hum Pathol* 2001; 32: 461-7.
27. Shivapurkar N, Reddy J, Matta H, et al. Loss of expression of death-inducing signaling complex (DISC) components in lung cancer cell lines and the influence of MYC amplification. *Oncogene* 2002; 21: 8510-4.
28. Devarajan E, Sahin AA, Chen JS, Krishnamurthy RR, Aggarwal N, Brun AM, Sapino A, Zhang F, Sharma D, Yang XH, Tora AD, Mehta K. Down-regulation of caspase 3 in breast cancer: a possible mechanism for chemoresistance. *Oncogene* 2002; 21: 8843-51.
29. Yang XH, Sladek TL, Liu X, Butler BR, Froelich CJ, Thor AD. Reconstitution of caspase 3 sensitizes MCF-7 breast cancer cells to doxorubicin- and etoposide-induced apoptosis. *Cancer Res* 2001; 61: 348-54.
30. Yamabe K, Shimizu S, Ito T, Yoshioka Y, Nomura M, Narita M, Saito I, Kanegae Y, Matsuda H. Cancer gene therapy using a pro-apoptotic gene, caspase-3. *Gene Ther* 1999; 6: 1952-9.
31. Yamaguchi Y, Shiraki K, Fuke H, Inoue T, Miyashita K, Yamanaka Y, Nakano T. Adenovirus-mediated transfection of caspase-8 sensitizes hepatocellular carcinoma to TRAIL- and chemotherapeutic agent-induced cell death. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763: 844-53.
32. Pommier Y, Sordet O, Antony S, Hayward RL, Kohn KW. Apoptosis defects and chemotherapy resistance: molecular interaction maps and networks. *Oncogene* 2004; 23: 2934-49.
33. Shinoura N, Sakurai S, Shibasaki F, Asai A, Kirino T, Hamada H. Co-transduction of Apaf-1 and caspase-9 highly enhances TP53-mediated apoptosis in gliomas. *Br J Cancer* 2002; 86: 587-95.
34. Soengas MS, Capodici P, Polsky D, et al. Inactivation of the apoptosis effector Apaf-1 in malignant melanoma. *Nature* 2001; 409: 207-11.
35. Tamm I, Kornblau SM, Krajewski S, et al. Expression and prognostic significance of IAP-family genes in human cancers and myeloid leukemias. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1796-1803.
36. Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, Nohara T, Iwamoto M, Tanigawa N. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 127-34.
37. Monzó M, Rosell R, Felip E, et al. A novel anti-apoptosis gene: Re-expression of survivin messenger RNA as a prognosis marker in non-small-cell lung cancers. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2100-4.
38. Notarbartolo M, Cervello M, Dusonchet L, Cusimano A, D'Alessandro N. Resistance to diverse apoptotic triggers in multidrug resistant HL60 cells and its possible relationship to the expression of P-glycoprotein, Fas and of the novel anti-apoptosis factors IAP (inhibitory of apoptosis proteins). *Cancer Lett* 2002; 180: 91-101.
39. Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, Vigna N, Oltsersdorf T, Reed JC. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res* 1991; 58: 5315-20.
40. Hu Y, Chertan-Horvat G, Dragowska V, Baird S, Korneluk RG, Durkin JP, Mayer LD, LaCasse EC. Antisense oligonucleotides targeting XIAP induce apoptosis and enhance chemotherapeutic activity against human lung cancer cells in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2826-36.
41. Lima RT, Martins LM, Guimarães JE, Sambade C, Vasconcelos MH. Chemosensitization effects of XIAP downregulation in K562 leukemia cells. *J Chemother* 2006; 18: 98-102.
42. Guimarães JE, Sambade C, Vasconcelos MH, Lima RT, Martins LM. Specific downregulation of bcl-2 and XIAP by RNAi enhances the effects of chemotherapeutic agents in MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Gene Ther* 2004; 11: 309-16.
43. Zhang W, Chen X, Qiu F. An antisense plasmid targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes hepatocarcinoma cells to chemotherapy. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2003; 23: 387-91.
44. Pennati M, Binda M, Colella G, et al. Ribozyme-mediated inhibition of survivin expression increases spontaneous and drug-induced apoptosis and decreases the tumorigenic potential of human prostate cancer cells. *Oncogene* 2004; 23: 386-94.
45. Paillard F. Induction of apoptosis with I-kappaB, the inhibitor of NF-kappaB. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 1-3.
46. Liu YY, Han TY, Giuliano AE, Cabot MC. Expression of glucosylceramide synthase, converting ceramide to glucosylceramide, confers adriamycin resistance in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 1140-6.
47. Fulda S, Meyer E, Debatin KM. Inhibition of TRAIL-induced apoptosis by BCL-2 overexpression. *Oncogene* 2002; 21: 2283-94.
48. Müllauer I, Gruber P, Seibinger D, Buch J, Wohlfart S, Chott A. Mutation in apoptosis genes: a pathogenetic factor for human disease. *Mutat Res* 2001; 488: 211-31.
49. Tamm I, Kornblau SM, Krajewski S, et al. Expression and prognostic significance of IAP-family genes in human cancers and myeloid leukemias. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1796-803.
50. Su ZZ, Madireddi MT, Lin JJ, et al. The cancer growth suppressor gene mda-7 selectively induces apoptosis in human breast cancer cells and inhibits tumor growth in nude mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14400-05.
51. Xu ZW, Friess H, Büchler MW, Solioz M. Overexpression of Bax sensitizes human pancreatic cancer cells to apoptosis induced by chemotherapeutic agents. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 504-10.
52. Kobayashi T, Sawa H, Morikawa J, Zhang W, Shiku H. Bax induction activates apoptotic cascade via mitochondrial cytochrome c release and Bax overexpression enhances apoptosis induced by chemotherapeutic agents in DLD-1 colon cancer cells. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91: 1264-8.
53. Gómez-Navarro J, Arafat W, Xiang J. Gene therapy for carcinoma of the breast. Pro-apoptotic gene therapy. *Breast Cancer Res* 2000; 2: 32-44.
54. Yoo GH, Piechocki MP, Oliver J, et al. Enhancement of Ad-p53 therapy with docetaxel in head and neck cancer. *Laryngoscope* 2004; 114: 1871-9.
55. <http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/>.

Adres do korespondencji

mgr inż. Sylwia Rzońca

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Curie-Skłodowskiej

ul. Roentgena 5

02-781 Warszawa

e-mail: rzoncas@coi.waw.pl