

Плоскоклеточный рак головы и шеи: новые перспективы лечения?

Т. Брауншвейг¹, А. Левандровски¹, Д. Сметс¹, М.В. Болотин²

¹Институт патологии клиники Университета RWTH, Аахен, Германия;

²ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва

Перевод: Ю.В. Алымов

Контакты: Михаил Викторович Болотин bolotin1980@mail.ru

Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) составляет около 3 % всех злокачественных опухолей у мужчин и 1,5 % всех злокачественных опухолей у женщин. В то время как число больных раком гортани снижается, число пациентов (в особенности молодого возраста) из группы высокого риска, больных раком ротовой полости, ассоциированным с вирусом папилломы человека (ВПЧ), увеличивается.

Плоскоклеточный рак, ассоциированный с ВПЧ, чаще поражает орофарингеальную область и характеризуется лучшим прогнозом. Гораздо реже ВПЧ выявляется при гипофарингеальном раке и еще реже при плоскоклеточном раке носоглотки и гортани. Наиболее частым подтипом ВПЧ, ассоциированным с ПРГШ, является подтип 16, на 2-м месте по частоте встречаемости стоит подтип 18. В качестве иммуногистохимического маркера выступает экспрессия гена p16 INK4A (цитоплазматический и ядерный). В проведенном нами небольшом исследовании была установлена 100 % положительная корреляционная связь между наличием экспрессии p16 INK4A и ВПЧ. Плоскоклеточный рак полости рта наиболее часто диагностируется у пациентов моложе 50 лет; распространенность составляет 20 %.

В то время как злокачественные опухоли высокого риска, ассоциированные с ВПЧ, характеризуются очень незначительным количеством мутаций сигнальных молекул, участвующих в передаче информации с тирозинкиназных рецепторов, злокачественные опухоли, негативные в отношении ВПЧ, зачастую сопровождаются беспорядочными ДНК-мутациями, включая мутации генов-онкосупрессоров, таких как p53 и CDKN2A. Данная закономерность часто прослеживается при злокачественных опухолях, индуцированных различными токсическими веществами (например, табачный дым). Тем не менее на данный момент ведутся дискуссии по поводу того, могут ли некоторые подтипы ПРГШ являться следствием так называемых «драйверных» (иницирующих) мутаций, т. е. мутаций важных звеньев сигнальных путей и мутаций тирозинкиназных рецепторов (например, рецепторов к факторам роста фибробластов (FGF-рецепторы), протеинтирозинфосфатазы (PTEN), гена PIK3CA). При плоскоклеточном раке нижних дыхательных путей, трахеи, бронхов и легких, который также является следствием воздействия различных токсических веществ, эти «драйверные» мутации встречаются в 20 % случаев.

Опухоли, развившиеся вследствие драйверных мутаций, особенно затрагивающих тирозинкиназные и другие ассоциированные сигнальные пути, поддаются лечению с помощью низкомолекулярных лекарственных препаратов, ингибиторов тирозинкиназы и сигнальных киназ, таких как эрлотиниб, воздействующий на эпидермальный фактор роста (EGF), или вемурафениб, взаимодействующий с белком B-RAF.

Необходима дополнительная стратификация ПРГШ с целью внедрения в практику широкого спектра ингибиторов, предназначенных, по крайней мере, для данной подгруппы пациентов.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак, голова и шея, плоскоклеточный рак головы и шеи, плоскоклеточный рак ротоглотки, вирус папилломы человека, мутации, исследование, мутации, p16 INK4A, p16

Squamous cell carcinoma of the head and neck: new avenues of treatment?

T. Braunschweig¹, A. Lewandrowski¹, D. Smeets¹, M.V. Bolotin²

¹Institute of Pathology, RWTH University Clinic Aachen, Germany;

²Russian Children Clinical Hospital, Ministry of Health of Russia, Moscow

Squamous cell carcinoma of the head and neck counts for 3 % of all cancers in men and half of this number less in women with a 5-year survival of 61 %. While the number of laryngeal carcinoma is decreasing, carcinoma of the oral cavity related to an infection by the human papilloma virus (HPV), high-risk subtypes is increasing, especially in younger patients.

HPV related squamous cell carcinomas show better survival data, especially in regard to recurrence free rates or secondary carcinoma of adjacent locations. Squamous cell carcinomas related to the presence of HPV DNA material is almost exclusively found in carcinoma of the oral cavity and oropharyngeal mucosa. Much less frequently HPV is present in hypopharyngeal carcinomas and even less number of cases of squamous cell carcinoma with proof for HPV in the nasopharynx and larynx. In case of evidence for HPV DNA; most cases are positively tested for subtype 16, followed by subtype 18. As a surrogate immunohistochemical marker, p16 INK4A is stained positive, cytoplasmic and nuclear. In a small study by ourselves, we found a positive correlation in 100 % of p16 INK4A positivity and positive HPV testing. Oral squamous cell carcinoma is more frequently related to HPV in patients below 50 years of age with a prevalence of ca. 20 %.

Whilst HPV high-risk positive carcinomas show very few mutations in single signalling molecules of the downstream receptor tyrosin kinase pathways, HPV negative carcinomas show in many cases a chaotic DNA mutation type with typical mutations in tumor suppressor genes, as p53 and CDKN2A. This pattern is often seen in carcinoma types develop from a summation of accidental mutations often caused by toxins (e.g. inhaled cigarette smoke). However, it is discussed and under investigation whether a subset of head and neck squamous cell carcinomas

develop from so called driver mutations, as are called mutations in critical members of signalling pathways and receptor tyrosin kinases, e. g. FGF receptors, PTEN, PIK3CA. In a similar group of squamous cell carcinomas, those of the lower airways, trachea, bronchi and lung parenchyma, also massively caused by inhaled toxins, a subset of 20 % show these driver mutations.

Tumors with driver mutations, especially related to tyrosin kinases and depending pathways are eligible for small molecule therapeutics, inhibitors of tyrosin kinases and signalling kinases, e. g. Erlotinib in EGF receptor or Vemurafinib for B-RAF.

There is much need for further stratification of head and neck squamous cell carcinoma to introduce the wide field of inhibitors at least to a subset of these patients.

Key words: squamous cell carcinoma, head and neck, HNSCC, OPSCC, HPV, mutations, trial, mutations, p16 INK4A, p16

Введение

Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) занимает 6-е место среди всех злокачественных опухолей в мире. Соотношение заболеваемости между мужчинами и женщинами – 2:1 [1, 2]. Не вызывает сомнений тот факт, что основным этиологическим фактором развития ПРГШ является курение и употребление алкоголя, особенно крепких спиртосодержащих напитков [3]. С начала 1980-х годов ученые начали обсуждать роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в развитии ПРГШ, в основном рака гортани [4, 5]. Однако в последние годы больше внимания стало уделяться риску развития злокачественных опухолей ротоглотки на фоне ВПЧ-инфекции. Частота выявления ВПЧ при опухолях данной локализации варьирует от 20 до 60 %, при этом в 80–90 % случаев диагностируется ВПЧ 16-го типа, в остальных случаях – ВПЧ 18-го типа. Оба подтипа вируса являются факторами высокого риска [6–10]. За последнее десятилетие в Ирландии было отмечено увеличение частоты развития ВПЧ-ассоциированного плоскоклеточного рака ротовой полости и ротоглотки у мужчин на 4,3 %, а у женщин на 4,9 % [11]. При анализе возраста пациентов мы установили, что ВПЧ-ассоциированный плоскоклеточный рак ротоглотки чаще всего встречается у пациентов моложе 50 лет [9]; аналогичные данные были получены Surad et al. в 2013 г. [7]. Хотя гистологические признаки ВПЧ-ассоциированного и ВПЧ-негативного плоскоклеточного рака являются одинаковыми (см. рис. 1а, б), для проведения дальнейших исследований и разработки различных лечебных подходов необходимо разделять эти 2 данных варианта опухолей. Диагностика ВПЧ может быть основана на исследовании его специфической ДНК, содержащейся в ДНК опухолевой клетки, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), ферментного анализа или секвенирования. Другим, более простым способом выявления ВПЧ может быть иммуногистохимическое исследование, направленное на обнаружение продукта экспрессии гена *p16*, которым является белок *ink4A*. Ген *p16(ink4A)* является специфическим вариантом гена *CDKN2A*, локализуемым рядом со сплайс-вариантом *p14(ARF)*, и представляет собой косвенный маркер ВПЧ-инфекции, ассоциированной с высоким риском развития рака шейки матки [12, 13].

В связи с автоматизацией генного секвенирования и использования мощных аппаратов, способных анализировать до 6 млрд пар азотистых оснований за 24 ч, был предложен термин «секвенирование нового поколения» [14]. В настоящее время многие исследователи с помощью данных аппаратов изучают целые экзомы опухолей. Генетический материал 2 подтипов ПРГШ (ВПЧ-ассоциированного и ВПЧ-негативного, связанного с курением и употреблением алкоголя) характеризуется различными результатами при секвенировании [15]. При ВПЧ-ассоциированном ПРГШ наблюдается лишь небольшое количество мутаций. В основном это мутации гена *PIK3CA*, которые сопровождаются изменением функций клетки и автономной активацией АКТ-сигнального пути (рис. 2). При отсутствии ВПЧ-инфекции отмечалась большая разнородность генетических мутаций, особенно затрагивающих гены-онкосупрессоры, такие как *p53* или *CDKN2A*. Другие семейства сигнальных генов, активность которых регулируется тирозинкиназными рецепторами (см. рис. 2), также подвергаются мутациям (рис. 3), однако с меньшей частотой (в 5–8 % случаев) [16]. Так, например, при плоскоклеточном раке легкого может наблюдаться амплификация гена, кодирующего рецептор фактора роста фибробластов 1-го типа (*FGFR1*) [16, 17]. При аденокарциномах, таких как аденокарцинома легкого, зачастую диагностируется мутация генов, кодирующих рецептор эпидермального фактора роста (*EGFR*) и белок *KRAS*. Эта мутация сопровождается самоактивацией *RAS-RAF* сигнального пути и пролиферацией опухолевых клеток (см. рис. 2). При ПРГШ мутации в 12-м кодоне гена *KRAS* наблюдаются только в 3 % случаев и не влияют на ответ на прогноз [18]. Мутации гена *EGFR* отсутствуют, и лишь в небольшом проценте случаев наблюдается амплификация *EGFR* [19].

Диагностика

Основной метод диагностики ПРГШ – биопсия. Для постановки точного диагноза обычно бывает достаточно проведения гистологического исследования со стандартной окраской препарата гематоксилином и эозином (см. рис. 1а). В научной литературе не описаны гистологические различия между ВПЧ-положительным и ВПЧ-негативным плоскоклеточным раком. Согласно нашим исследованиям гистологические раз-

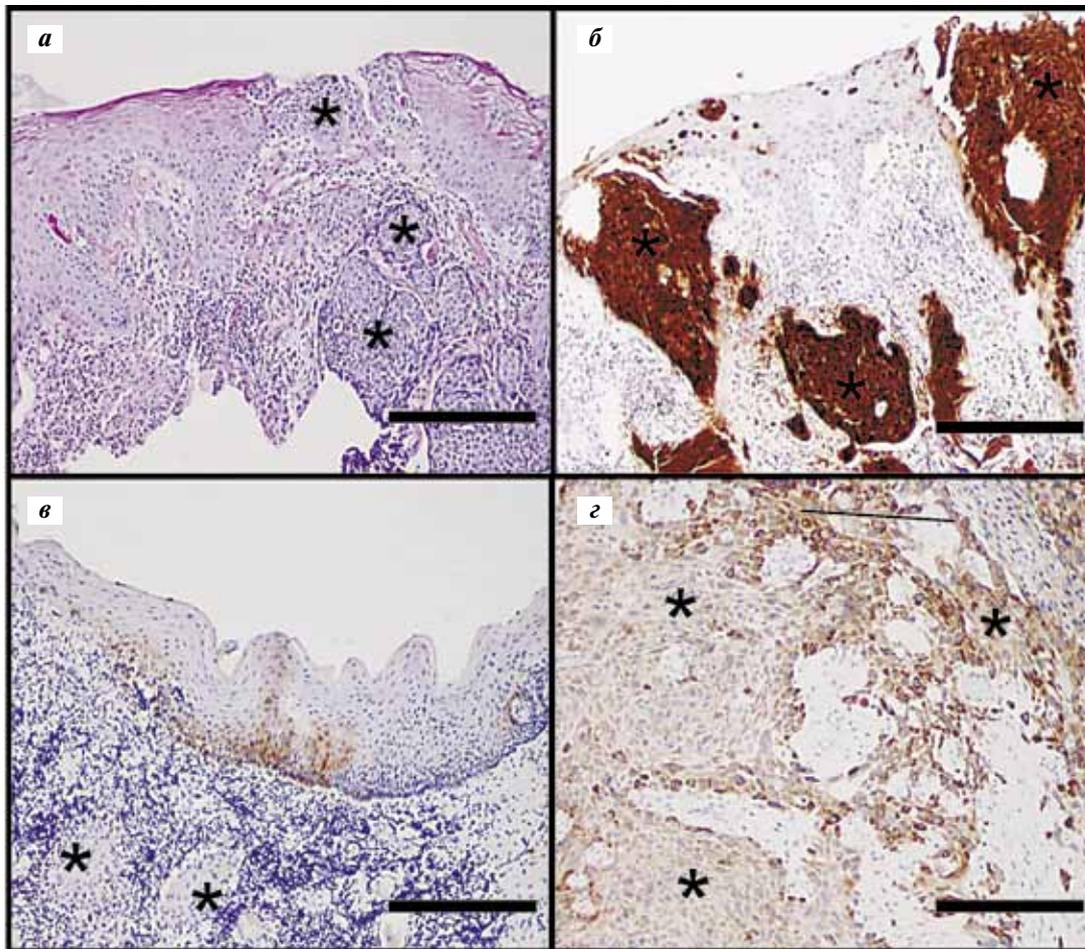


Рис. 1. Плоскоклеточный рак: а – плоскоклеточный рак ротоглотки, G2, неороговевающий; б – опухоль аналогичного гистологического типа с наличием продуктов экспрессии гена *p16 INK4A*, которые имеют характерную иммуногистохимическую окраску в цитоплазме и ядре и свидетельствуют о наличии ВПЧ-инфекции высокого риска (также имеется ВПЧ 16-го типа); в – плоскоклеточный рак ротоглотки, прорастающий в неизмененный плоский эпителий и характеризующийся фокальными участками окрашивания, позитивными в отношении *p16 INK4A*. Данный характер окрашивания свидетельствует об отсутствии ВПЧ; г – неороговевающий плоскоклеточный рак ротоглотки с окрашиванием цитоплазмы, специфичным в отношении *p16 INK4A*. Данный характер окрашивания также не ассоциирован с ВПЧ-инфекцией высокого риска. Иммуногистохимический анализ: DAKO; набор реактивов Envision Kit; антитела: Santa Cruz, *p16 INK4A*; горизонтальные отметки на рисунках по длине соответствуют 500 мкм

личия между этими двумя подтипами плоскоклеточного рака также отсутствуют. «Золотым стандартом» диагностики ВПЧ-инфекции является выделение ДНК из опухолевой ткани: ПЦР, специфичная в отношении ВПЧ, субтипирование с помощью гибридационно-ферментного анализа ДНК или секвенирования. Данный метод исследования является продолжительным (2 сут) и дорогостоящим.

Новая предложенная методика, заключающаяся в гибридизации *in situ* ДНК, специфичной в отношении ВПЧ, оказалась низкочувствительной и низкоспецифичной [20]. Согласно опубликованным в 2001 г. данным, ВПЧ-инфицирование высокого риска эпителия шейки матки сопровождается экспрессией опухолевыми клетками гена *p16 INK4a* [13]. Повышение активности гена *p16 INK4A* является следствием того, что на фоне инфицирования ВПЧ высокого риска

происходит подавление активности или полная инактивация 2 генов-онкосупрессоров, таких как *p53* и ген-супрессор ретинобластомы (*Rb1*). Участки вирусной ДНК (Е6 и Е7) специфически взаимодействуют с белками, кодируемыми этими двумя генами, в результате чего запускается неконтролируемая пролиферация клеток и подавляется апоптоз [9].

Согласно нескольким публикациям и нашим данным белок, кодируемый геном *p16 INK4A*, является наиболее целесообразным для диагностики косвенным белковым маркером наличия ВПЧ-инфекции высокого риска [9, 10, 21]. При ВПЧ-негативном ПРГШ, который зачастую сопровождается наличием мутации гена *CDKN2A*, отмечается мутация гена *p16 INK4A*, в результате которой перестает синтезироваться белок *p16*. Иммуногистохимическое окрашивание, направленное на выявление *p16 INK4A*, является высокоэф-

фективным методом диагностики ВПЧ-инфекции. На рис. 1б, в, г показано иммуногистохимическое окрашивание продукта экспрессии гена *p16 INK4A*. Во всех представленных случаях также проводилась контрольная ПЦР. На рис. 1б представлено характерное окрашивание белка p16, свидетельствующее о наличии инфицирования ВПЧ высокого риска (подтипы 16 или 18). Наблюдается сильное окрашивание цитоплазмы и ядра. На рис. 1г представлен случай плоскоклеточного рака ротоглотки; когда наблюдается умеренное окрашивание цитоплазмы, при этом ПЦР свидетельствует об отсутствии ВПЧ. Клетки рядом расположенного неизмененного плоскоклеточного эпителия характеризуются локальной реактивной и умеренно выраженной положительной реакцией на *p16 INK4A*, которая не является признаком наличия ВПЧ. Таким образом, иммуногистохимическое исследование с целью выявления гена *p16 INK4A* может оказаться высокоинформативным методом при наличии метастазов плоскоклеточного рака в лимфатические узлы шеи без выявленного первичного очага. Однако необходимо подчеркнуть, что в неясных ситуациях при очаговом характере окрашивания рекомендуется проведение исследований, направленных на выявление ДНК ВПЧ.

Стандартом лечения распространенного ПРГШ является проведение лучевой терапии зачастую в сочетании с химиотерапией цетуксимабом (моноклональное антитело, подавляющее активность EGFR) [19, 22]. При анализе результатов лечения было достоверно показано, что пациенты с ВПЧ-ассоциированным плоскоклеточным раком имеют лучший прогноз. Положительные результаты иммуногистохимического анализа, направленного на выявление *p16 INK4A*, были расценены как наилучший прогностический маркер при плоскоклеточном раке ротоглотки [23, 24]. При наличии экспрессии белка p16 5-летняя выживаемость составила 60 %, в то время как при отсутствии экспрессии данного белка аналогичный показатель составил 24,5 %. Даже при наличии отдаленных метастазов прогноз у пациентов с плоскоклеточным раком ротоглотки, ассоциированным с экспрессией белка p16, значительно лучше, чем у больных с отсутствием экспрессии данного белка. Стандартными признаками, учитываемыми при стадировании и классификации опухолевого заболевания, являются дифференцировка, размер опухоли, инвазия в окружающие ткани и наличие метастазов. Однако все они оказались менее прогностически значимыми, чем результаты иммуногистохимического анализа, направленного на определение *p16 INK4A*. Наряду с некоторыми авторами мы предлагаем включить в классификацию опухолей такой дополнительный признак, как p16 INK4A-статус [25]. Так же в ряде исследований было показано, что при ВПЧ-негативных опухолях, ассоциированных с курением

и употреблением алкоголя, имеются несколько фокусов малигнизации в эпителии, в отличие от ВПЧ-ассоциированного плоскоклеточного рака, который представлен одним фокусом малигнизации. Эти данные так же объясняют тот факт, что при ВПЧ-негативных карциномах рецидивы возникают гораздо чаще [19].

Новые методы лечения

Моноклональные антитела (антитела к CD20, ритуксимаб) впервые стали использоваться при лечении злокачественных опухолей в конце 1980-х годов [26]. В настоящее время эффективность данных препаратов не вызывает сомнения и они включены в протоколы лечения различных злокачественных опухолей. Так, например, при аденокарциномах, которые избыточно экспрессируют белок HER2/neu или EGFR, успешно используются такие моноклональные антитела, как трастузумаб и цетуксимаб. Как уже было сказано ранее, цетуксимаб вошел в стандарты лечения даже ПРГШ [19, 22].

Новым поколением лекарственных средств, пришедшим на смену моноклональным антителам, являются низкомолекулярные препараты, которые подавляют звенья сигнальных путей и активность других белковых структур. Эти ингибиторные молекулы могут взаимодействовать с рецепторами и подавлять выработку сигнальных белков или структурных белков митотического веретена [27].

Данные низкомолекулярные ингибиторы еще не утверждены в качестве стандартов лечения ПРГШ, но многие из них находятся на этапе клинических исследований.

При ВПЧ-ассоциированном ПРГШ наблюдается небольшое количество специфических мутаций гена *PIK3CA*, благодаря чему имеется возможность таргетной терапии, направленной на сигнальный путь PI3K-3CA/AKT/mTOR. В ходе начальных исследований с использованием ингибиторов mTOR, таких как эверолимус и темсиролимус, были получены хорошие результаты [28, 29].

В случае ВПЧ-негативного плоскоклеточного рака (см. рис. 3) основной мутацией является мутация гена, кодирующего белок p53 (62 % случаев). Данный ген является онкосупрессором, а мутация подавляет его активность. Таким образом, одним из способов лечения ассоциированных с данной мутацией опухолей является внедрение немутантного гена *p53* в опухолевые клетки для реактивации синтеза нормального белка p53. На данный момент исследуется эффект ингибиторов белка mdm2, который подавляет активность белка p53 [30]. Среди других мутаций, которые наиболее часто встречаются при плоскоклеточном раке, — мутации в генах *SYNE1* и *NOTCH1*, регулирующие процесс созревания и дифференцировки клеток (20 и 14 % соответственно). В исследованиях в эксперименте с ксенотрансплантатом рака поджелудочной

железы удалось добиться успешного воздействия на сигнальный путь Notch с помощью экспериментальных препаратов [31]. Мутации гена *CDKN2A*, кодирующего белки-оноксупрессоры p16 INK4A и p14 ARF, наблюдаются в 12 % случаев. При данных мутациях, так же как и при мутациях p53, проводятся исследования эффективности заместительной терапии, однако данные исследования все еще не достигли уровня клинических испытаний [32]. В некоторых случаях (8 и 7 % соответственно) отмечаются мутации генов *PICK3CA* и *PTEN*, благодаря чему при данной злокачественной опухоли также применяется методика, описанная ранее и направленная на воздействие на mTOR сигнальный путь. Другими достаточно часто встречающимися мутациями являются мутации белков FAT1 и MILL2. FAT1 относится к белкам семейства кадгеринов, активирующих сигнальный путь WNT, однако его роль в таргетной терапии злокачественных опухолей еще не изучена [33].

Реже наблюдается амплификация тирозинкиназного рецептора FGFR1. Значимость данной амплификации на данный момент неясна, однако активация FGFR1 приводит к активации сигнальных путей, таких как RAS/RAF или АКТ (представлены на рис. 2). На данный момент в клинических исследованиях изучается эффективность применения специфических мультикиназных ингибиторов FGFR-рецепторов при различных типах злокачественных опухолей, таких как немелкоклеточный рак легкого. При этом были достигнуты определенные успехи. Однако что касается ПРГШ, данные препараты все еще находятся на этапе доклинических испытаний на клеточных линиях [34, 35].

Более подробная информация о текущих клинических исследованиях представлена в списке междуна-

родных исследований, публикуемом Национальным институтом здравоохранения США в Бетесде и представленном на электронном ресурсе <http://www.clinicaltrials.gov>.

Что касается исследований ПРГШ, проводимых в Российской Федерации, на данный момент имеется информация о 3 таких исследованиях:

1. Исследование по опухолям головы и шеи LUX 1 – Сравнение эффективности афатиниба и метотрексата при рецидиве или метастазах ПРГШ после химиотерапии препаратами платины.

2. Исследование по опухолям головы и шеи LUX 2 – Сравнение эффективности афатиниба и плацебо при ПРГШ после проведения химиолучевой терапии.

Афатиниб является ингибитором EGFR нового поколения, который успешно прошел исследования при немелкоклеточном раке легкого.

3. Эффективность и безопасность использования инъекционных форм лейкоцитарного интерлейкина при опухолях ротовой полости.

В 3-м исследовании изучается возможность локального контроля плоскоклеточного рака ротовой полости с помощью цитокинов и хемокинов.

Заключение

ПРГШ на поздних стадиях все еще остается заболеванием с плохим прогнозом в случае невозможности выполнения радикального оперативного вмешательства. Несмотря на значительный прогресс в лекарственной терапии ПРГШ, в настоящее время имеется целый ряд новых препаратов, эффективность которых еще не сравнивалась с эффективностью традиционных методов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

- Haddad R.I. and D.M. Shin. Recent advances in head and neck cancer. *N Engl J Med* 2008;359(11):1143–54.
- Jemal A., Siegel R., Xu J., Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60(5):277–300.
- Brennan J.A., Boyle J.O., Koch W.M. et al. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995;332(11):712–7.
- Syrjanen K., Syrjanen S. and Pyrhonen S. Human papilloma virus (HPV) antigens in lesions of laryngeal squamous cell carcinomas. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1982;44(6):323–34.
- Syrjanen K.J. and Syrjanen S.M. Histological evidence for the presence of condylomatous epithelial lesions in association with laryngeal squamous cell carcinoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1981;43(4):181–94.
- Quintero K., Giraldo G.A., Uribe M.L. et al. Human papillomavirus types in cases of squamous cell carcinoma of head and neck in Colombia. *Braz J Otorhinolaryngol* 2013;79(3):375–81.
- Curado M.P. and Boyle P. Epidemiology of head and neck squamous cell carcinoma not related to tobacco or alcohol. *Curr Opin Oncol* 2013;25(3):229–34.
- van Monsjou H.S., van Velthuisen M.L., van den Brekel M.W. et al. Human papillomavirus status in young patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2012;130(8):1806–12.
- Smeets D., Ertmer K., Braunschweig T., Bolotin M.V. HPV in squamous epithelial lesions of the head and neck: different affection of different tumors. *Tumors of the head and neck (in russian)* 2011;1:61–5.
- Thomas J. and Primeaux T. Is p16 immunohistochemistry a more cost-effective method for identification of human papilloma virus-associated head and neck squamous cell carcinoma? *Ann Diagn Pathol* 2012;16(2):91–9.
- National Cancer Registry Ireland Cancer Trends, 2011.10.
- Kelley M.J., Otterson G.A. et al. CDKN2 in HPV-positive and HPV-negative cervical-carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 1995;63(2):226–30.
- Klaes R., Friedrich T., Spitkovsky D. et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001;92(2):276–84.

14. Mardis E.R. Next-generation DNA sequencing methods. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008;9:387–402.
15. Lechner M., Frampton G., Fenton T. et al. Targeted next-generation sequencing of head and neck squamous cell carcinoma identifies novel genetic alterations in HPV+ and HPV- tumors. *Genome Med* 2013;5(5):49.
16. Stransky N., Egloff A.M., Tward A.D. et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science* 2011;333(6046):1157–60.
17. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. Cancer Genome Atlas Research Network. *Nature* 2012;489(7417):519–25.
18. Bissada E., Abboud O., Abou Chacra Z. et al. Prevalence of K-RAS Codons 12 and 13 Mutations in Locally Advanced Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Impact on Clinical Outcomes. *Int J Otolaryngol* 2013;2013:848021.
19. Leemans C.R., Braakhuis B.J. and Brakenhoff R.H. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2011;11(1):9–22.
20. Schlecht N.F., Brandwein-Gensler M., Nuovo G.J. et al. A comparison of clinically utilized human papillomavirus detection methods in head and neck cancer. *Mod Pathol* 2011;24(10):1295–305.
21. El-Naggar A.K. and Westra W.H. p16 expression as a surrogate marker for HPV-related oropharyngeal carcinoma: A guide for interpretative relevance and consistency. *Head Neck* 2012;34(4):459–61.
22. Specenier P. and Vermorken J.B. Cetuximab: its unique place in head and neck cancer treatment. *Biologics* 2013;7:77–90.
23. Granata R., Miceli R., Orlandi E. et al. Tumor stage, human papillomavirus and smoking status affect the survival of patients with oropharyngeal cancer: an Italian validation study. *Ann Oncol* 2012;23(7):1832–7.
24. Chen Y.J., Rau K.M., Chien C.Y. et al. High p16 expression predicts a positive response to chemoradiotherapy in stage IVa/b head and neck squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011;12(3):649–55.
25. Fischer C.A., Kampmann M., Zlobec I. et al. p16 expression in oropharyngeal cancer: its impact on staging and prognosis compared with the conventional clinical staging parameters. *Ann Oncol* 2010;21(10):1961–6.
26. Press O.W., Appelbaum F., Ledbetter J.A. et al. Monoclonal antibody 1F5 (anti-CD20) serotherapy of human B cell lymphomas. *Blood* 1987;69(2):584–91.
27. Newman S. Eribulin, a simplified ketone analog of the tubulin inhibitor halichondrin B, for the potential treatment of cancer. *Curr Opin Investig Drugs* 2007;8(12):1057–66.
28. Owonikoko T.K. and Khuri F.R. Targeting the PI3K/AKT/mTOR Pathway. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2013;2013:395–401.
29. Herzog A., Bian Y., Vander Broek R. et al. PI3K-mTOR inhibitor PF-04691502 anti-tumor activity is enhanced with induction of wild-type TP53 in human xenograft and murine knockout models of head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2013 May 2.
30. Jiang T., Zhou C., Gu J. et al. Enhanced therapeutic effect of cisplatin on the prostate cancer in tumor-bearing mice by transfecting the attenuated Salmonella carrying a plasmid co-expressing p53 gene and mdm2 siRNA. *Cancer Lett* 2013 May 29.
31. Yabuuchi S., Pai S.G., Campbell N.R. et al. Notch signaling pathway targeted therapy suppresses tumor progression and metastatic spread in pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2013;335(1):41–51.
32. Allay J.A., Steiner M.S., Zhang Y. et al. Adenovirus p16 gene therapy for prostate cancer. *World J Urol* 2000;18(2):111–20.
33. Sadeqzadeh E., de Bock C.E. and Thorne R.F. Sleeping Giants: Emerging Roles for the Fat Cadherins in Health and Disease. *Med Res Rev* 2013 May 29.
34. Ren M., Hong M., Liu G. et al. Novel FGFR inhibitor ponatinib suppresses the growth of non-small cell lung cancer cells overexpressing FGFR1. *Oncol Rep* 2013;29(6):2181–90.
35. Sweeny L., Liu Z., Lancaster W. et al. Inhibition of fibroblasts reduced head and neck cancer growth by targeting fibroblast growth factor receptor. *Laryngoscope* 2012;122(7):1539–44.