

Fattori ereditari nei tumori dell'apparato digerente

Antonio PERCESEPE e Maurizio PONZ DE LEON

Dipartimento di Medicina Interna, Policlinico, Università degli Studi, Modena

Riassunto. - Le neoplasie dell'apparato digerente costituiscono un eccellente modello per lo studio dei fattori ereditari implicati nell'eziopatogenesi dei tumori. Studi epidemiologici in popolazioni ad alto rischio (Cina, Iran) hanno tuttavia svelato una forte aggregazione familiare per il cancro esofageo con fino al 60% dei pazienti a familiarità positiva. In circa il 10-15% dei casi di cancro gastrico viene riportata una storia familiare positiva per tale neoplasia. Aggregazioni familiari sono particolarmente frequenti per l'istotipo "diffuso". Le neoplasie dello stomaco fanno parte integrante dello spettro neoplastico del cancro coloretale ereditario non poliposico, a trasmissione autosomica dominante. Le due principali forme di tumore ereditario del colon sono rappresentate dalla poliposi familiare e dal cancro coloretale ereditario non poliposico. Aggregazioni familiari sono state descritte in circa il 10% delle neoplasie coloretali. Per quanto riguarda infine il cancro pancreatico, segnalazioni aneddotiche ed uno studio caso controllo hanno evidenziato un aumento del rischio in pazienti con storia familiare, sia genericamente positiva per neoplasia, rischio relativo (RR) pari a circa 2, che specifica per carcinoma pancreatico (RR: 5 circa).

Parole chiave: tumori, colon, stomaco, pancreas, esofago.

Summary (Hereditary factors in digestive cancers). - Gastrointestinal tumours are an excellent model for the investigation of hereditary factors in cancer. Epidemiological studies on high risk population (China, Iran) evidenced a strong familiarity for esophageal cancer with up to 60% of the affected patients reporting a positive family history. About 10-15% of gastric cancer patients show a positive family history for this neoplasm. The proportion is even higher for the "diffuse" histological type. Gastric cancer belongs to the neoplastic spectrum of hereditary nonpolyposis colorectal cancer, a genetic disease with an autosomal dominant pattern of inheritance. Familial polyposis coli and hereditary nonpolyposis colorectal cancer are the two main hereditary colon cancer syndromes. Familiar aggregation have been observed in about 10% of colorectal cancer cases. As for pancreatic cancer, anecdotal reports and one case control study have shown an increased risk of pancreatic carcinoma in patients with a positive family history both for all cancers (relative risk, RR, 2), and specific for pancreatic cancer (RR: 5).

Key words: tumours, colon, stomach, pancreas, esophagus.

Introduzione

Le neoplasie dell'apparato digerente rappresentano una delle maggiori cause di morbosità e mortalità per cancro, sia nei paesi occidentali che nei paesi in via di sviluppo, con sensibili variazioni geografiche nella localizzazione a livello dei diversi distretti dell'apparato gastroenterico. Infatti, il cancro del colon rappresenta la seconda causa di morbosità per neoplasia nei paesi industrializzati con 130000-150000 nuovi casi annui nel Nord America [1] e simili proporzioni negli altri paesi occidentali, con un'incidenza annua stimata intorno ai 50 casi/100000 abitanti nel Nord Italia [2]. Analogamente il carcinoma gastrico, che nei paesi più sviluppati sta registrando una notevole diminuzione di incidenza, resta ancora la seconda causa di morte al mondo per cancro, con circa 650000 nuovi casi all'anno [3]. Esistono poi delle realtà locali dove la frequenza di alcune neoplasie (ad es. il carcinoma esofageo in Iran e nei paesi del lito-

rale Caspico ed il cancro dello stomaco in alcune regioni della Cina) assume proporzioni endemiche, che vengono spiegate in termini non soltanto di esposizione a determinati fattori ambientali, ma anche, probabilmente, di suscettibilità individuale allo sviluppo di tali neoplasie.

Multifattorialità dei tumori dell'apparato digerente

Tra i numerosi agenti che determinano la suscettibilità a sviluppare neoplasie (quelli che sono usualmente definiti "fattori di rischio"), sia i fattori genetici che ambientali sono considerati di primaria importanza. Le ipotesi sulla predisposizione genetica allo sviluppo di tumori derivano dall'osservazione che soggetti appartenenti a determinate famiglie presentano una incidenza di cancro fino a 1000 volte superiore rispetto alla popolazione generale (ad es. nella poliposi familiare del colon). Allo stesso tempo, la principale causa delle ampie variazioni geografiche nell'incidenza di neoplasia sembra

risiedere per larga parte in una differente suscettibilità genetica o razziale. Un supporto a tale ipotesi viene da studi sui migranti in cui i tassi di incidenza di determinate neoplasie risultano differenti rispetto agli altri gruppi etnici nella nuova regione di residenza, ma anche rispetto a quelli della stessa etnia nella madrepatria, suggerendo quindi, oltre ai fattori genetici, l'importanza dei fattori ambientali a cui gli individui sono esposti (ad es. fattori dietetici e nutrizionali) [4]. Generalizzando, nella maggior parte dei pazienti con cancro sarà l'esposizione a determinati carcinogeni ambientali a determinare il processo neoplastico, verosimilmente interagendo con svariati quanto ancora largamente sconosciuti fattori predisponenti, intesi sia come alterazioni genetiche, che come fenotipi per il metabolismo di agenti esogeni.

Il modello di carcinogenesi progressiva

Il processo di carcinogenesi può essere descritto in due fasi: l'iniziazione, fase in cui si verifica il danno del DNA, e la promozione, ove si ha lo sviluppo del tumore dalle cellule che hanno subito il danno genetico; quest'ultimo non è dunque sufficiente per lo sviluppo del cancro, essendo altresì richiesto lo stimolo addizionale di promotori, che probabilmente agiscono con meccanismo non genetico. L'ipotesi oggi più accreditata suggerisce che il processo carcinogenetico sia di natura progressiva, mediante il realizzarsi e l'accumularsi in determinati cloni cellulari di lesioni critiche che conferiscono a tali cellule un vantaggio di crescita sulle altre e quindi concorrono a determinare il fenotipo neoplastico [5]. Fra le neoplasie meglio studiate ed utilizzate come modello di tumorigenesi vi sono quella gastrica e quella colonica: studi di cinetica cellulare hanno evidenziato che nei soggetti normali la proliferazione cellulare è limitata alla base della cripta coloretale o della fossetta gastrica. La comparsa di cellule in fase S del ciclo replicativo nei compartimenti superiori della cripta colica o della foveola gastrica, ed il loro progressivo accumulo alla superficie dell'epitelio [6] è uno dei meccanismi ipotizzati per lo sviluppo di lesioni precancerose (ad es. polipo adenomatoso del colon), che, attraverso diversi gradi di displasia, potranno determinare la trasformazione maligna, l'invasione dei tessuti, fino allo sviluppo di metastasi. L'ampia disponibilità di materiale biotico - per la facilità nel raggiungere tali strutture con manovre strumentali relativamente semplici - ha permesso l'approfondimento delle nostre conoscenze sui diversi stadi della carcinogenesi, e la formulazione di ipotesi sui meccanismi genetici che sottendono lo sviluppo e la progressione delle neoplasie dell'apparato digerente.

Scopo di questo capitolo è illustrare il ruolo dei fattori ereditari nell'eziopatogenesi dei tumori gastrointestinali, analizzando separatamente i diversi distretti dell'apparato.

Tumori dell'esofago

Il cancro esofageo è una neoplasia ad alta malignità che, nonostante i progressi in campo terapeutico, mostra ancor oggi una sopravvivenza a 5 anni inferiore al 5%. L'identificazione di precursori morfologici ha portato alla definizione di una ipotetica sequenza patogenetica che dall'esofagite cronica, attraverso differenti gradi di displasia, conduce all'espressione del fenotipo neoplastico vero e proprio. Uno degli aspetti più tipici del cancro esofageo è costituito dalle profonde differenze geografiche di incidenza: si registrano infatti tassi molto elevati in poche, ben definite popolazioni, e variazioni nell'incidenza anche di 500 volte da un'area all'altra o addirittura in differenti gruppi etnici all'interno dello stesso paese, suggerendo così che almeno in una parte dei casi l'eziologia possa essere di tipo genetico [7].

Fattori ereditari nelle precancerose esofagee

Le ipotesi sull'esistenza di precursori morfologici e sulla sequenza patogenetica nel cancro esofageo sono state documentate in particolar modo per alcune delle popolazioni a maggior rischio (Cina settentrionale e litorale Caspico). Tale modello di carcinogenesi è risultato applicabile sia nelle popolazioni occidentali, ove i fattori implicati sono di tipo ambientale (consumo di alcol e fumo di sigaretta), che nelle popolazioni a maggior incidenza, ove è stato ipotizzato il ruolo di nitrosamine, micotossine, e dell'ingestione di bevande ad elevata temperatura.

In paesi extraeuropei, l'esofagite cronica è stata proposta come lesione precancerosa per la sua elevata prevalenza (in uno studio su soggetti asintomatici, 354 di sesso maschile e 184 di sesso femminile, rispettivamente il 43.5 e il 35.9% hanno mostrato segni istologici di gastrite cronica), solitamente in età precoce, in aree ad elevato rischio per cancro esofageo, in assenza di sintomi e localizzata nel terzo medio o distale dell'esofago [8]. Al contrario, nelle popolazioni occidentali l'esofagite cronica appare associata alla presenza di reflusso gastroesofageo e localizzata per lo più nella porzione cardiaca [9]. In uno studio endoscopico condotto in una regione della Cina ad alta incidenza di carcinoma esofageo, lo Huixian, i fattori di rischio positivamente associati con la presenza di esofagite moderata o severa sono risultati l'ingestione di bevande ad elevata temperatura, la presenza di esofagite nei familiari di 1° grado ed una storia familiare positiva per carcinoma esofageo [10]. Più definito è il rapporto tra displasia e cancro esofageo: in uno studio prospettico, lo sviluppo di cancro si è osservato nel 34% di soggetti con displasia, contro soltanto il 4% dei controlli con sola esofagite. In pazienti con displasia severa, la progressione a carcinoma è avvenuta nel 30% dei casi [11].

Fattori ereditari nel carcinoma esofageo

Fino a tempi piuttosto recenti, il cancro esofageo è stato prevalentemente associato a fattori ambientali. Nelle popolazioni ad alto rischio invece, recenti studi hanno suggerito un ruolo anche per i fattori genetici, svelando una forte aggregazione familiare per questo tipo di cancro. In uno studio caso-controllo è stata comparata l'aggregazione familiare di cancro in due regioni della Cina con differente incidenza della malattia: nella regione ad alto rischio almeno il 60% dei pazienti riportava una storia familiare positiva, contro il 43% nella regione a basso rischio [7]. In uno studio di popolazione, svolto in un comune del Linxian, regione ad alta incidenza (68 000 abitanti, con un tasso di mortalità per cancro esofageo di 121/100 000 abitanti), il rischio relativo nei consanguinei di pazienti affetti è risultato di 4,9, con gradiente negativo direttamente proporzionale alla distanza dal probando nell'albero genealogico [12]. In uno studio simile, in uno dei distretti a più alta incidenza di cancro esofageo (tasso di mortalità: 188/100 000 abitanti), il rischio relativo è risultato di 2,0 nei consanguinei di pazienti affetti [13]. In un'altra zona ad elevata incidenza di cancro esofageo, il litorale Caspico (Iran), si è riscontrato un eccesso di mortalità per tale neoplasia nella popolazione turcomanna rispetto alla non-turcomanna. In aggiunta, il 47% dei pazienti della popolazione turcomanna mostrava una storia familiare positiva per cancro esofageo, contro solo il 2% della popolazione non-turcomanna [14]. Nel più recente di tali studi, svolto nella regione del Linxian, mediante analisi della segregazione in 221 pedigree nucleari di pazienti affetti da carcinoma esofageo, si è ipotizzato l'effetto di un gene trasmesso per via autosomica recessiva. Tale modello mendeliano è risultato superiore al modello ambientale ed a quello di "non-trasmissione" nella spiegazione dei dati. La frequenza stimata dei portatori del gene putativo nella popolazione in esame era del 19%, con una proporzione di individui con suscettibilità genetica al cancro esofageo pari alla radice quadrata della frequenza, ovvero circa il 4%, anche se gli autori non escludono che nelle famiglie che vivono nelle regioni ad alto rischio l'esposizione ai medesimi fattori ambientali possa contribuire a spiegarne l'aggregazione [15].

Principali alterazioni biomolecolari del carcinoma esofageo

Anche la carcinogenesi esofagea sembra essere un processo "multistep", che coinvolge alterazioni di oncogeni e geni oncosoppressori [16]. Lo studio biomolecolare del cancro esofageo è stato recentemente rivolto sul gene *p53*, la cui mutazione è considerata un evento rilevante nella carcinogenesi in molti organi umani [17].

Mediante immunocistochemica, in lesioni neoplastiche esofagee, si è dimostrato come l'accumulo intracellulare della proteina *p53*, espressione di una mutazione del gene, aumenti in relazione al progredire della neoplasia esofagea, dall'iperplasia delle cellule basali attraverso la displasia, fino al carcinoma *in situ* [18, 19]. Mutazioni di *p53*, generalmente risultanti nella sintesi di una proteina troncata [20], sembrano dunque coinvolte nella progressione neoplastica di molte delle lesioni precancerose esofagee, mediante l'induzione di una instabilità genomica in cellule nelle quali ulteriori mutazioni o delezioni possono poi selezionare dei subcloni dotati di invasività [21]. Boynton *et al.* [22] hanno riportato delezioni nel *locus* del gene *Rb* in più del 50% (14/26) dei carcinomi squamosi e nel 36% (5/14) degli adenocarcinomi esofagei. Analogamente, anomalie nel gene *Rb* in carcinomi esofagei che presentano una concomitante mutazione del *p53* sono state descritte in un recente studio in cui viene ipotizzata una stretta cooperazione tra i due geni nell'eziopatogenesi del cancro esofageo [23]. Inoltre, recentemente, nel 62% (56/91) dei tumori esofagei è stata evidenziata una delezione nella sede del gene *BRCA1*, implicato nelle forme ereditarie e sporadiche del cancro mammario ed ovarico [24]. Eventi assai frequentemente associati al cancro esofageo sono altresì risultate le anomalie (mutazioni, delezioni), spesso simultanee, dei geni *APC* e *MCC*, entrambi localizzati sul cromosoma *5q* [25]. Evento precoce della carcinogenesi esofagea sembra esser l'aumentata espressione dell'oncogene *c-erbB2*, descritta nel 60% dei casi di esofago di Barrett e nel 73% dei cancri esofagei; con minor frequenza si è osservata una aumentata espressione di altri oncogeni (*c-ras*, *c-src*, *c-jun* e *c-fos*) sia nell'esofago di Barrett che nel cancro esofageo [16].

Tumori dello stomaco

Interazioni ambiente-genoma nella patogenesi

Sebbene diversi studi di tipo epidemiologico e sperimentale abbiano portato alla formulazione di varie ipotesi sull'eziologia del cancro gastrico, tale patologia resta per molti versi enigmatica. Il modello di carcinogenesi gastrica più accreditato [26, 27] si fonda sull'azione da parte di determinati fattori (*Helicobacter pylori*, consumo di alimenti ricchi in nitrocomposti, elevato consumo di sale) nell'indurre la formazione di gastrite cronica e quindi atrofia gastrica. Il conseguente aumento del pH e della proliferazione batterica nella cavità gastrica facilita la conversione di nitrati in nitriti, e quindi la formazione di nitrosamine, potenti agenti carcinogeni. Le diverse fasi di tale processo, con le mutazioni più frequentemente riscontrate, sono illustrate in Fig. 1.

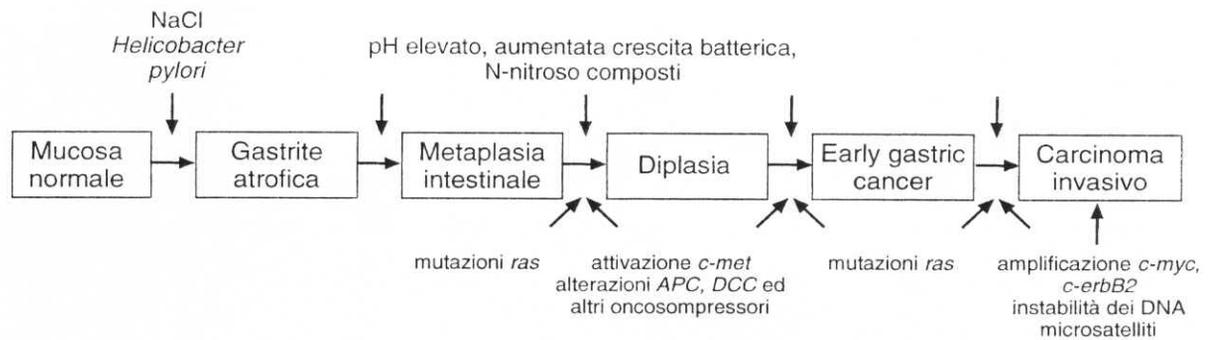


Fig. 1. - Modello di interazione genetica tra fattori genetici ed ambientali nella cancerogenesi gastrica.

Fattori genetici nelle precancerosi dello stomaco

Geni di suscettibilità al carcinoma gastrico non sono ancora stati identificati, ed il ruolo nella cancerogenesi di fattori ambientali come la dieta e l'infezione da *Helicobacter pylori* è tuttora in studio [28]. Studi epidemiologici hanno comunque evidenziato come la presenza di gastrite cronica sia associata ad un aumentato rischio di trasformazione maligna; a tale processo può conseguire un'alterazione nella cinetica cellulare (espansione del compartimento proliferativo e ritardo delle cellule ad andare incontro a differenziazione) [29], un'aumentata formazione di composti carcinogeni indotta dalla crescita batterica (favorita dell'ipo/acloridria) ed un aumentato assorbimento di tali composti da parte della mucosa trasformata. Studi di follow-up hanno indicato come il rischio di cancro gastrico in pazienti con gastrite atrofica severa associata ad anemia perniciosa aumenti di 3-4 volte rispetto alla popolazione generale della stessa età [30, 31]. La gastrite cronica ed il cancro gastrico mostrano altresì aggregazioni su base familiare: i familiari di 1° grado di pazienti con carcinoma hanno un'aumentata tendenza a sviluppare una gastrite cronica atrofica, specialmente del corpo dello stomaco; in 301 familiari di pazienti con cancro gastrico si è inoltre evidenziata la presenza significativamente maggiore rispetto ai 358 controlli di metaplasia intestinale (26% vs 18%), displasia (5.0% vs 2.2%) e lesioni polipoidi (6.0% vs 2.0%) [32].

Nella poliposi familiare del colon, il riscontro di polipi adenomatosi gastrici è considerata un evento raro. In una larga serie del St. Mark's Hospital di Londra [33], la maggior parte di pazienti con poliposi familiare presentava polipi iperplastici, mentre soltanto nel 6% di essi si evidenziava un istotipo adenomatoso. E' stata inoltre descritta una forma di poliposi gastrica familiare [34, 35] per la quale è stato suggerito un modello di trasmissione di tipo mendeliano; questa è caratterizzata dalla presenza di cancro gastrico e di polipi multipli, per lo più iperplastici, sia del corpo che dell'antro.

Familiarità ed ereditarietà nel cancro dello stomaco

A partire dalle prime osservazioni di Macklin [36], vari studi hanno evidenziato la maggior prevalenza di neoplasie gastriche in familiari di pazienti con cancro dello stomaco, specialmente nel tipo istologico "diffuso" secondo la classificazione di Laurén [37]. In uno studio caso-controllo in una provincia della Finlandia si è stimato un rischio relativo nei familiari di pazienti affetti da cancro gastrico di 1.5; stratificando per istotipo, il rischio relativo nei familiari di probandi con carcinoma "diffuso" era di 7.0 [38]. In un registro di popolazione [39], nel 10-15% dei casi registrati era presente una storia familiare positiva per neoplasie gastriche: la proporzione era più elevata per i pazienti con istotipo "diffuso". In un recente studio caso-controllo condotto in Italia [40], la presenza di almeno un familiare affetto da cancro gastrico era significativamente associata con lo sviluppo di tale neoplasia, con un rischio relativo di 2.6 e un rischio attribuibile nella popolazione dell'8%.

Il cancro gastrico è frequente nelle famiglie affette da sindrome di Lynch: nella iniziale descrizione di Warthin [41], lo stomaco era addirittura sede di neoplasia in misura maggiore del colon-retto. Sono stati altresì occasionalmente riportati casi di trasmissione ereditaria del cancro dello stomaco non in associazione con altri cancri: un recente "report" descrive un nucleo familiare di 4 persone (i due genitori ed i due figli), tutte affette da cancro gastrico [42]; in una ulteriore osservazione si segnala l'insorgenza simultanea di cancro gastrico in due gemelli monozigoti [43].

Alterazioni biomolecolari nel cancro gastrico

Una gran varietà di oncogeni e di geni oncosoppressori sono stati implicati nell'eziopatogenesi del carcinoma gastrico, anche se in nessun caso si è giunti ad un chiarimento definitivo dei meccanismi biomolecolari o alla dimostrazione di una sequenza carcinogenetica per una migliore conoscenza clinico-patologica di tale neoplasia:

markers morfologici e biochimici potrebbero esser d'aiuto nel discriminare tra flogosi e neoplasia nei prelievi biotici e citologici, nel mostrare il livello di invasione nelle biopsie di difficile interpretazione, nel definire sottogruppi con differente storia naturale e risposta ai vari trattamenti ed infine nell'identificare gruppi ad alto rischio di degenerazione maligna, per protocolli di sorveglianza e follow-up.

Due recenti studi hanno riportato frequenti rotture e riarrangiamenti a livello del braccio corto del cromosoma 3 [44, 45], che è sede di delezioni anche nel cancro polmonare. Traslocazioni e delezioni sono state altresì descritte sul braccio corto del cromosoma 11 [45]. In un recente studio sono state segnalate delezioni di uno degli alleli di tale cromosoma solo nei casi ben differenziati e non nei tumori indifferenziati. In una serie di cancri di istotipo "intestinale" sono state inoltre descritte perdite alleliche sul braccio lungo del cromosoma 18 nella sede del gene *DCC* (deleted in colon cancer) nel 62% dei cancri studiati, senza che il dato correlasse con il grado d'invasione tumorale [46].

Un'aumentata espressione dell'oncogene *ras* è stata riscontrata sia nelle forme precoci che avanzate di cancro gastrico. Essa è stata riportata anche nella displasia, nella metaplasia intestinale e nella mucosa rigenerante adiacente ad ulcera peptica [47]. E' stata inoltre descritta una amplificazione del gene *c-myc* in diversi studi, in una proporzione variabile dal 5 al 23% di carcinomi gastrici ed una amplificazione dell'oncogene *c-erbB-2* nel 5-20% dei tumori gastrici, in particolar modo in quelli metastatici [48]. L'oncogene *c-met*, che codifica una tirosin-chinasi con caratteristiche strutturali e funzionali di un recettore per i fattori di crescita, sembra anch'esso amplificato ed "overespresso" nelle linee cellulari di carcinoma gastrico umano [49]; il preciso ruolo di tale oncogene resta ancora oscuro. La frequenza di alterazioni geniche a carico del *p53* è stimata intorno al 50-60% dei cancri gastrici: la frequenza crescente di tali mutazioni nella sequenza displasia - "early gastric cancer"-carcinoma infiltrante suggerisce che le alterazioni nel *p53* avvengano preferenzialmente negli stadi avanzati della malattia neoplastica [50]. Alterazioni nei DNA microsatellite sono state dimostrate nel 22% dei tumori gastrici esaminati in un recente studio [51]: è possibile postulare, in analogia con il cancro del colon, che una instabilità genomica diffusa sia alla base del processo di carcinogenesi, su cui vengono a sovrapporsi alterazioni di oncogeni e di geni oncosoppressori.

Tumori del colon-retto

La sequenza adenoma-carcinoma: fattori genetici ed ambientali

Le ipotesi sulla natura progressiva ("multistep") del cancro coloretale si fondano sull'osservazione che la maggior parte delle neoplasie hanno origine da precursori

benigni, gli adenomi, che progrediscono gradualmente in dimensioni, displasia ed acquisizione della morfologia villosa, fino al carcinoma invasivo. Tale interpretazione, inizialmente proposta da Morson come sequenza adenoma-carcinoma [52], è stata confermata negli ultimi anni da studi di biologia molecolare [53]: singole cellule staminali vanno incontro ad alterazioni multiple che coinvolgono oncogeni e geni oncosoppressori ("tumor suppressor genes"), con l'acquisizione di un vantaggio nella crescita che determina la formazione della neoplasia e la sua progressione verso forme via via più avanzate. Gli oncogeni più frequentemente alterati nel cancro coloretale sono il *c-K-ras* (mutazioni puntiformi nel 39-72% nei carcinomi e nel 42% degli adenomi) ed il *c-myc* (aumentata espressione dell'mRNA nel 60-70% dei carcinomi). Nel caso dei geni oncosoppressori implicati nella tumorigenesi coloretale si osserva invece l'inattivazione di entrambi gli alleli, generalmente per delezione cromosomica, per mutazione puntiforme o per entrambi i meccanismi. Uno dei geni oncosoppressori più precocemente alterato nella carcinogenesi coloretale è l'*APC*, localizzato sul braccio lungo del cromosoma 5, di cui si osserva perdita allelica nel 20-50% dei carcinomi coloretali sporadici ed in circa il 30% degli adenomi. Delezioni e mutazioni puntiformi a carico di un secondo gene oncosoppressore, denominato *MCC* (mutated in colon cancer), anch'esso localizzato sul braccio lungo del cromosoma 5, sono state osservate nel 55% dei cancri coloretali. Sono state altresì individuate delezioni del *DCC*, localizzato sul cromosoma 18, nel 73% dei cancri e nell'11% degli adenomi coloretali [53]. In un recente studio, la presenza di tali alterazioni geniche in pazienti con cancro del colon-retto in stadio II risulta associata ad una prognosi più infausta: la presenza di delezioni nel locus del *DCC* è superiore ai fattori convenzionali (staging, invasione dei vasi extramurali, grading) nel predire la sopravvivenza a 5 anni [54]. Delezioni del gene *p53*, infine, sono state riscontrate nel 75% dei carcinomi coloretali, mentre assai più raro il fenomeno appare negli adenomi [53]. Comparando le frequenze di alterazioni geniche negli adenomi e nei carcinomi, si può ritenere che le mutazioni nel *K-ras* e la perdita allelica a carico del gene *APC* siano eventi precoci. La perdita di materiale genetico nei loci del *DCC* e del *p53* rappresenta invece un evento tardivo, implicato principalmente nella progressione di adenomi di grandi dimensioni o di carcinomi localizzati verso forme infiltranti. Le principali tappe nella carcinogenesi coloretale sono schematizzate in Fig. 2. Tuttavia, sebbene esista un ordine preferenziale di eventi biomolecolari nella sequenza adenoma-carcinoma, esso non viene sempre rispettato; di tali eventi è infatti l'accumulo, più che la sequenza, il principale determinante nella progressione neoplastica [55].

Non sono attualmente noti dei carcinogeni responsabili del cancro coloretale. I risultati di numerosi studi, volti a verificare l'impatto della dieta nella eziopatogenesi

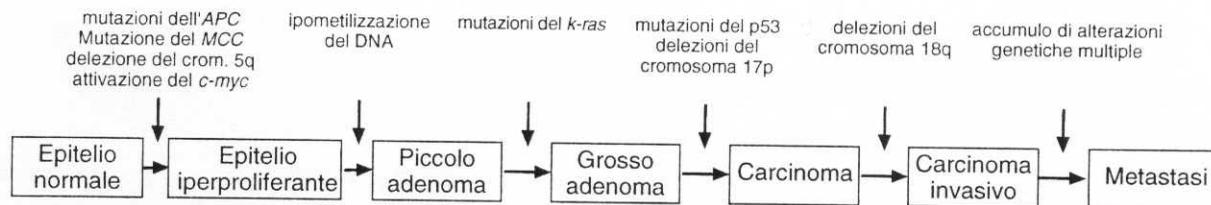


Fig. 2. - Modello genetico di cancerogenesi coloretale.

del cancro coloretale, sono stati spesso discordanti e non è emerso un ruolo di tipo causale per alcuno dei fattori studiati.

Tuttavia, alcuni fenotipi metabolici sono stati associati con un aumentato rischio di cancro coloretale. Soggetti con fenotipo "acetilatore rapido", dovuto ad un polimorfismo del gene *NAT2* [56], che codifica per un enzima implicato nell'acetilazione di arilamine, possono avere un aumentato rischio di cancro del colon a causa di una più rapida conversione di carcinogeni in mutageni. La prevalenza e la distribuzione dei polimorfismi nel gene *NAT2* variano nelle diverse etnie (il 50% dei soggetti di razza caucasica è "acetilatore lento") [57]. Se confermate, le relazioni tra fenotipo "acetilatore veloce" e cancro potrebbero portare a misure di salute pubblica intese a ridurre l'esposizione ad amine eterocicliche.

Familiarità neoplastica nel cancro coloretale: modello multifattoriale

A parte sindromi ben definite, come l'hereditary non-polyposis colorectal cancer e la poliposi familiare del colon, che rappresentano una frazione relativamente modesta di tutti i tumori del colon, la tendenza all'aggregazione familiare è stata ampiamente documentata anche nelle forme apparentemente sporadiche: numerosi studi, prevalentemente di tipo caso-controllo evidenziano un aumento del rischio nei familiari di 1° grado rispetto ai controlli con stime di rischio che vanno da 1.8 ad 8 nelle diverse casistiche [58-62]. In un recente studio prospettico su una coorte di 32 085 uomini e 87 031 donne, soggetti con un familiare di 1° grado affetto da cancro coloretale presentavano un rischio relativo (RR) di 1.72 (IC, intervallo di confidenza, 1.34-2.19), rischio che aumentava a 2.75 (IC 1.34-5.63) in coloro che avevano due o più familiari affetti. Inoltre, il rischio relativo di cancro coloretale associato con familiarità positiva per tale neoplasia risultava più elevato nei soggetti più giovani (RR nei soggetti con età inferiore ai 45 anni = 5.37, IC 1.98-14.6), con una graduale riduzione del rischio con l'aumentare dell'età [63].

In uno studio condotto nello Utah mediante analisi della segregazione, il modello genetico che più verosimilmente spiegava la suscettibilità alla formazione di adenomi e di cancro coloretale è risultato quello mendeliano di tipo autosomico dominante, con penetranza

ridotta. La frequenza dell'ipotetico gene di suscettibilità nella popolazione studiata era del 19%, con una probabilità di espressione fenotipica del 63% entro gli 80 anni di età [64]. In uno studio successivo Ponz de Leon *et al.* [65] sono giunti a conclusioni simili sulla base dei dati di un registro di popolazione, ipotizzando l'effetto di un gene di suscettibilità al cancro coloretale trasmesso con pattern mendeliano, con penetranza ridotta.

Tumori coloretali ereditari

Il cancro coloretale ereditario non associato a poliposi (HNPCC, hereditary non-polyposis colorectal cancer) è una malattia ereditaria a trasmissione autosomica dominante, caratterizzata da una precoce insorgenza di cancro coloretale (età media intorno ai 40-50 anni), dalla localizzazione preferenziale delle neoplasie nel colon prossimale (in circa il 70% dei casi) e dalla frequente insorgenza di tumori multipli, sia sincroni che metacroni [66, 67]. Un sottogruppo di famiglie presenta altresì un'aumentata incidenza di neoplasie extracoloniche, specie dell'endometrio, dello stomaco, del rene e vie urinarie (sindrome di Lynch II) [68, 69]. La prima osservazione risale al 1913, quando Warthin [41] descrisse alcune famiglie con insorgenza precoce di carcinomi (coloretale e gastrico) frequentemente multipli, in diverse generazioni. Tale segnalazione è stata poi ripresa, approfondita e divulgata da Lynch e collaboratori negli ultimi 20 anni. Nonostante gli enormi progressi nella caratterizzazione biomolecolare della malattia, l'approccio clinico continua ad essere di primaria importanza nella diagnosi, anche se non privo di difficoltà, soprattutto per l'assenza di una espressione fenotipica caratteristica (come ad esempio avviene nella poliposi familiare del colon) o di un biomarcatore utilizzabile su larga scala. Ulteriori difficoltà risiedono nelle piccole dimensioni di molte delle attuali famiglie (per cui può essere difficile valutare la segregazione della malattia) o nella problematicità dell'esclusione di un'aggregazione di un cancro ad elevata incidenza, come quello coloretale, all'interno di determinate famiglie, per il solo ruolo del caso o per una comune esposizione a fattori ambientali sconosciuti, simulando quindi un tratto genetico. La frequenza dell'HNPCC è stimata tra l'1 ed il 5% di tutti i casi di cancro coloretale [70-73]: anche se i criteri utilizzati per il riconoscimento della presenza della condizione appa-

iono simili in tutti gli studi, la presenza di sottili differenze nel disegno (ad es. l'uso di dati di mortalità o di morbosità, il grado di verifica delle diagnosi anamnestiche) può aver dato luogo a sovra o sottostima. Per ovviare, almeno in parte a tali disparità, l'International Collaborative Group on HNPCC ha stabilito dei criteri minimi necessari per la diagnosi di sindrome di Lynch (Tab. 1) [74]. Essi non rappresentano una nuova definizione della sindrome, bensì un tentativo per stabilire una base di uniformità da utilizzare per studi collaborativi [75]. Tali criteri, ad esempio, non prendono in considerazione i tumori endometriali e gastrici, che in una cospicua percentuale delle famiglie fanno parte integrante dello spettro della sindrome, e richiedono almeno 3 familiari affetti da cancro coloretale, a prescindere dalle dimensioni della famiglia: può verificarsi quindi che famiglie che segregano il gene dell'HNPCC, non rientrino nella definizione esclusivamente per il ridotto numero dei loro membri [76].

Genetica molecolare

L'identificazione dei geni coinvolti nell'HNPCC è esemplare di come le nostre conoscenze in ambito biomolecolare siano in rapido sviluppo e di come esse concorrano alla spiegazione dei meccanismi di carcinogenesi: dopo aver saggiato circa 350 markers localizzati in diverse porzioni del genoma, nell'intento di identificare una sequenza genomica che co-segregasse con il fenotipo neoplastico, lo sforzo congiunto dei laboratori dell'Università di Helsinki e della Johns Hopkins University di Baltimora ha localizzato, mediante analisi di linkage, un gene di suscettibilità al cancro coloretale sul cromosoma 2, in due grandi famiglie affette da HNPCC [77]. Nei mesi successivi è stata identificata la sequenza di tale gene [78, 79], denominato *hMSH2* e quella di altri 3 geni, *hMLH1* (cromosoma 3) [80, 81], *PMS1* (cromosoma 2) e *PMS2* (cromosoma 7) [82], le cui mutazioni segregano con il fenotipo neoplastico in famiglie affette da HNPCC. Risulta evidente quindi che sebbene la maggior parte delle famiglie appaiano fenotipicamente simili, più di un *locus* cromosomico sia coinvolto nell'eziopatogenesi di tale neoplasia. Analogamente a quanto avviene in alcuni microorganismi (ad es. nei lieviti), la presenza di una mutazione a carico di

uno dei geni implicati nella riparazione del DNA porta ad una perdita della "fedeltà" nei processi di replicazione del DNA, che può coinvolgere *loci* genici "critici", implicati nelle varie fasi del processo carcinogenetico o può alterare i sistemi di controllo della trascrizione. La presenza di mutazioni in uno dei suddetti geni si manifesta a livello del fenotipo tumorale come anomalia nella mobilità elettroforetica del DNA, svelabile tramite lo studio della instabilità dei DNA microsattelliti (brevi sequenze ripetute di-, tri- o tetranucleotidiche) [83]. Instabilità genomica è stata registrata anche in neoplasie apparentemente sporadiche, ma che avevano caratteristiche simili ai tumori dell'HNPCC (localizzazione prossimale, età precoce d'insorgenza) [84]: si è ipotizzato che anche in tali casi il cancro possa esser causato da una mutazione in uno dei geni implicati nel "DNA repair".

Poliposi del grosso intestino

La poliposi familiare del colon (FAP) è una malattia ereditaria trasmessa con pattern autosomico dominante, caratterizzata dalla presenza di centinaia di polipi adenomatosi del grosso intestino (mediamente intorno a 1000), generalmente distribuiti lungo l'intero colon, con la più alta densità nelle porzioni distali. I dati sulla storia naturale della malattia (derivati dai registri delle poliposi) indicano che i polipi insorgono generalmente tra la seconda e la terza decade di età; oltre il 90% dei casi si manifesta clinicamente entro i 50 anni [85]. I polipi sono adenomi tubulari o tubulovillosi, con probabilità di degenerazione neoplastica virtualmente del 100% (l'età media di insorgenza di cancro coloretale è intorno ai 35-40 anni). La distribuzione del cancro coloretale nella FAP è simile a quella del cancro sporadico, con il 70% delle lesioni localizzate nel colon distale e nel retto [85]. In circa il 20% dei pazienti l'anamnesi familiare è negativa: tale osservazione suggerisce la possibilità di mutazioni spontanee (non ereditate) del gene responsabile della malattia [86].

Dopo la iniziale descrizione di Gardner [87], sono state identificate in tutte le casistiche di pazienti con FAP lesioni in altri organi e tessuti. I tumori *desmoidi* sono neoplasie localmente invasive costituite da tessuto fibroso, che generalmente insorgono sulla parete muscolare an-

Tabella 1. Criteri minimi per la diagnosi di HNPCC (criteri di Amsterdam)

In un nucleo familiare devono esservi tre o più familiari affetti da cancro coloretale verificato istologicamente, di cui uno sia parente di primo grado degli altri due; deve esser esclusa la poliposi familiare.

Almeno due generazioni consecutive affette da cancro coloretale.

Almeno un caso di cancro coloretale nella famiglia diagnosticato prima dei 50 anni di età.

Tutti i criteri vanno soddisfatti per la diagnosi di HNPCC.

teriore dell'addome: nelle varie casistiche di pazienti con FAP esse sono riportate con frequenza tra il 3.5 ed il 32% [85, 88-90], con un rischio assoluto nei pazienti con FAP di sviluppare desmoidi di 2.56/1000 persone anno [88]. Fattori di rischio associati con lo sviluppo di desmoidi in pazienti con FAP sono: precedenti interventi laparotomici, pregresse gravidanze, l'uso di contraccettivi orali e la familiarità per lo sviluppo di tumori desmoidi [89, 91]. Assai frequente è anche il riscontro di pazienti con poliposi dello stomaco e dell'intestino tenue. *Polipi gastrici* sono stati descritti nel 51% (52/102) della casistica di pazienti con FAP sottoposti a gastroscopia presso il St. Mark's Hospital di Londra [33]. Nella maggior parte dei casi si tratta di polipi non neoplastici delle ghiandole del fondo o del corpo dello stomaco, con rare evidenze di foci adenomatosi o carcinomatosi. *Adenomi duodenali* sono riportati nella stessa casistica nell'86.2% (88/102) dei pazienti con FAP [33]. E' documentato un chiaro rischio di trasformazione neoplastica degli adenomi, particolarmente nella II porzione duodenale (zona periampollare): l'adenocarcinoma duodenale rappresenta la seconda causa di cancro nella poliposi familiare, con un rischio aumentato di circa 100 volte rispetto alla popolazione generale.

Il reperto di *cisti epidermoidi ed osteomi* (specialmente della mandibola) in pazienti con FAP è frequentissimo [92]. Altra manifestazione assai frequente, tanto da esser proposta per la diagnosi precoce di FAP, è la presenza di *macchie congenite dell'epitelio pigmentato della retina (CHPRE)*, riscontrate nel 70-89% dei pazienti con FAP e nel 40-59% dei familiari a rischio per tale patologia; tali lesioni sono estremamente rare nella popolazione generale [93].

Esistono diverse segnalazioni di carcinoma tiroideo, specialmente del tipo papillifero, nella poliposi familiare; altre neoplasie associate sono l'epatoblastoma, il carcinoma del pancreas e delle vie biliari [94].

Importanza della diagnosi precoce e "follow-up"

Le recenti acquisizioni sulla storia naturale della poliposi familiare ed i miglioramenti nelle strategie diagnostiche e terapeutiche hanno determinato un aumento della sopravvivenza nei pazienti che si sottopongono a regolare screening endoscopico (generalmente a partire dall'età puberale). Per la sorveglianza della displasia associata agli adenomi, e quindi la scelta del momento in cui eseguire l'intervento chirurgico, in tali pazienti la probabilità di diagnosticare il processo in fase avanzata è soltanto del 10%, contro il 60-70% dei pazienti non inseriti in programmi di screening [92]. Il tipo di intervento chirurgico indicato nella poliposi familiare è radicale: ileo-ano anastomosi con "ileal pouch" o ileo-retto anastomosi con successive endoscopie di controllo.

L'ereditarietà della poliposi familiare è nota da più di un secolo, ma l'identificazione del gene responsabile è recente. Nel 1986, Herrera *et al.* descrissero una delezione di parte del braccio lungo del cromosoma 5 in un soggetto con sindrome di Gardner [95]. Successivamente due gruppi indipendenti di ricercatori hanno confermato tale localizzazione del gene, denominato APC, mediante analisi di linkage [96, 97]; studi ulteriori hanno portato all'identificazione della sequenza dell'APC, gene oncosoppressore, la cui parte codificante è costituita da 15 esoni che codificano per un polipeptide di 2843 aminoacidi, ed al riscontro di mutazioni in pazienti affetti da poliposi familiare [98, 99]. Nei soggetti a rischio, appartenenti a famiglie di grandi dimensioni affette da poliposi familiare, è oggi possibile giungere alla identificazione dei portatori della mutazione genica mediante analisi di linkage, con una accuratezza superiore al 98% [100]. Nei casi in cui tale analisi non è applicabile per l'indisponibilità del materiale genetico di altri familiari del paziente affetto (in circa il 20% dei casi si tratta di mutazioni spontanee, ovvero insorte in soggetti senza alcuna familiarità), è stato recentemente messo a punto un nuovo test, il protein truncation test, basato sulla sintesi *in vitro* (mediante trascrizione/traslazione) della proteina codificata dal gene APC; essa risulta infatti troncata nei pazienti affetti da FAP, ed è quindi evidenziabile come banda anomala in elettroforesi [101]. La sensibilità del test è del 90% circa nei portatori della mutazione. Studi preliminari mostrano che in alcuni casi a differenti mutazioni nel gene corrispondono differenti espressioni del fenotipo o una maggiore o minore severità della malattia [102].

Forme più rare di poliposi e forme intermedie

La *hereditary flat adenoma syndrome (HFAS)*, variante della poliposi familiare, inizialmente descritta da Lynch *et al.* [103], è caratterizzata dalla presenza di lievi elevazioni della mucosa, a superficie rossastra, multiple (generalmente in numero inferiore a 100), con caratteristiche istologiche di adenomi tubulari, prevalentemente a carico del colon prossimale. Il pattern di trasmissione è autosomico dominante. E' stata descritta in diversi pazienti la presenza di neoplasie extracoloniche (adenomi ed adenocarcinomi duodenali, polipi iperplastici ed adenomatosi dello stomaco). Nei pazienti affetti da HFAS sono state descritte mutazioni del gene APC.

In alcune famiglie è stata descritta una forma di *poliposi familiare del colon "attenuata"* [104], caratterizzata da un numero totale di polipi tra 5 e 20, raramente nell'ordine delle centinaia. Un reperto endoscopico comune è rappresentato dalla presenza di polipi delle ghiandole del fondo dello stomaco. Tali pazienti hanno un aumentato rischio di cancro del colon, ma l'età media

di insorgenza della neoplasia è più avanzata rispetto alla poliposi familiare, intorno ai 55 anni. Studi di linkage e "gene sequencing" hanno evidenziato che il gene responsabile di tale patologia è l'*APC* [105, 106].

La *sindrome di Turcot* [107], riportata per la prima volta nel 1959, è caratterizzata dalla presenza di poliposi familiare del colon associata con tumori del sistema nervoso centrale (medulloblastomi e glioblastomi), che sono la principale causa di morte. Gli adenomi nella sindrome di Turcot sono tendenzialmente più grandi che nella FAP ed il loro numero è spesso inferiore a 100. Il tipo di trasmissione ipotizzato è quello autosomico dominante, e tale sindrome va considerata una ulteriore variante fenotipica della poliposi familiare [108].

La *sindrome di Muir-Torre* [109, 110] è caratterizzata dall'associazione di adenomi e cancro coloretale in età precoce, con l'insorgenza di tumori cutanei (adenomi, cistoadenocarcinomi sebacei); viene considerata una variante dell'HNPCC. Trasmessa in modo autosomico dominante, si è recentemente osservata una associazione con il gene *hMSH2*, implicato nella sindrome di Lynch [111].

La *poliposi giovanile del colon* è una forma rara di poliposi. Nella sua descrizione originale [112] non veniva riconosciuta la tendenza alla cancerizzazione; studi più recenti indicano invece un'aumentata incidenza di cancro coloretale [113]. I polipi, solitamente di numero inferiore rispetto a quello della poliposi familiare, sono generalmente amartomatosi, ricoperti da epitelio ghiandolare normale, anche se è possibile il riscontro di foci adenomatosi che spiegano la loro tendenza verso la malignità [114]. L'età alla diagnosi di cancro oscilla tra i 15 e i 60 anni. Il pattern di trasmissione suggerito, sebbene non concordemente, è di tipo autosomico dominante. Studi biomolecolari delle linee germinali di tali pazienti hanno escluso il coinvolgimento del gene *APC*.

La *sindrome di Peutz-Jeghers* [115] è caratterizzata dalla presenza di poliposi gastrointestinale (più frequentemente a carico dell'intestino tenue) e di pigmentazioni muco-cutanee (depositi di melanina), principalmente intorno al naso, labbra, mucosa buccale, mani e piedi. I polipi sono principalmente di istotipo amartomatoso, ma isole di tessuto adenomatoso non sono rare. Il rischio di cancerizzazione è del 50%, con un'età media di insorgenza intorno ai 50 anni. La localizzazione delle neoplasie è sia intestinale che extraintestinale: gli organi più frequentemente coinvolti sono la mammella, il pancreas, il fegato e la colecisti. Il pattern di trasmissione della sindrome di Peutz-Jeghers è di tipo autosomico dominante, con penetranza variabile [86].

La *malattia di Cowden* è una patologia rara, con trasmissione autosomica dominante, caratterizzata da tumori amartomatosi multipli. Caratteristiche distintive sono altresì rappresentate da papule lichenoidi e verrucose facciali (trichilemmomi), cheratosi, e papillomi orali [116]. In aggiunta, si osserva un'aumentata tendenza allo

sviluppo di carcinoma mammario e tiroideo (50 e 15%). È stata descritta la presenza di poliposi in ogni distretto dell'apparato gastrointestinale, senza che peraltro si sia osservato un aumentato rischio di cancro in nessuna di tali sottosedì [117].

Tumori del pancreas

Il carcinoma pancreatico è una malattia la cui eziologia resta per larga parte oscura, anche se progressi considerevoli sono stati fatti nella conoscenza della patogenesi, nella diagnosi e staging, e nell'efficacia terapeutica e palliativa della chirurgia [118].

Familiarità nelle neoplasie pancreatiche

I fattori eziologici meglio studiati sono esogeni: fumo di sigaretta, dieta prevalentemente carnea e ricca in grassi e consumo di caffè [118]. Soltanto raramente è stata segnalata un'aggregazione familiare, anche se recentemente il cancro pancreatico è stato descritto come parte integrante dello spettro neoplastico della sindrome di Lynch II.

In due differenti segnalazioni degli anni '70 [119, 120] viene descritta l'insorgenza di cancro pancreatico in 4 fratelli, anche se in nessuno dei due reports sono stati segnalati casi in età precoce. In uno studio caso-controllo, Falk *et al.* [121] hanno valutato la storia familiare fra i fattori di rischio per cancro pancreatico su 363 casi, comparati con 1234 controlli: i risultati mostravano un aumentato rischio sia in soggetti con storia familiare positiva per neoplasia, che specifica per cancro del pancreas (OR 1.86 e 5.82 rispettivamente).

Una trasmissione verticale di cancro pancreatico è stata suggerita da un recente report su tre generazioni consecutive [122]: le neoplasie nella seconda e terza generazione mostravano un'età d'insorgenza (42 e 29 anni) insolitamente precoce, oltre che una tendenza ad anticipare l'età d'insorgenza di generazione in generazione, caratteristiche peculiari delle forme neoplastiche ereditarie.

Lynch *et al.* [123] hanno descritto gli aspetti clinici e patologici di 18 pedigree nucleari con la presenza di almeno 2 familiari affetti da cancro pancreatico: non si è riscontrata nessuna differenza rispetto ai cancri "sporadici" per quanto riguarda sesso, età, tipo istologico e sopravvivenza; non si è altresì identificato alcun pattern di associazione con cancri extrapancreatici.

Principali alterazioni biomolecolari

Mutazioni nel proto-oncogene *K-ras* nel codone 12 sono state riscontrate in più del 90% dei casi e vengono considerate un evento precoce nella carcinogenesi [124]. In un recente studio specifiche mutazioni di *K-ras* in

aspirati di succo duodenale sono risultate utili per differenziare la pancreatite (in cui tali mutazioni sono assenti) dal carcinoma pancreatico [125]. Il gene *p53* appare anch'esso frequentemente mutato (in almeno il 50-70% dei cancri), con mutazioni presenti in numerosi codoni [126]. Al contrario di quanto dimostrato per il *ras*, nel *p53* le mutazioni sembrano esser più frequenti nelle lesioni metastatiche, suggerendo che la mutazione intervenga nella cancerogenesi come evento tardivo. Il gene *MTS1*, localizzato sul cromosoma 9 è mutato in più del 50% dei tumori: ciò suggerisce un ruolo determinante di anomalie nella regolazione delle chinasi ciclico-dipendenti [127].

In una ricognizione del genoma alla ricerca di delezioni alleliche nei geni oncosoppressori, si è osservata perdita di eterozigosi sul braccio corto del cromosoma 17, sede del *p53*, sul braccio lungo del cromosoma 18 (sede del *DCC*), e sul braccio lungo del cromosoma 5 (*APC* ed *MCC*), avvalorando anche per il cancro pancreatico un modello di carcinogenesi "multistep" [128].

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 15 aprile 1996.

BIBLIOGRAFIA

- WEISBURGER, J.H. & WYNDER, E.L. 1996. Etiology of colorectal cancer with emphasis on mechanisms of action and prevention. In: *Important advances in oncology*. V.T. De Vita, S. Hellman & S.A. Rosemberg (Eds). Lippincott, Philadelphia. pp. 197-200.
- PONZ DE LEON, M., SASSATELLI, R., SCALMATI, R., DI GREGORIO, C., FONTE, R., ZANGHIERI, G., RONCUCCI, L., SANT, M. & MICHELI, A. 1993. Descriptive epidemiology of colorectal cancer in Italy: the 6-year experience of a specialized registry. *Eur. J. Cancer* **29A**: 367-371.
- PARKIN, D.M., LAARA, E. & MUIR, C.S. 1988. Estimates of the worldwide frequency of 16 major cancers in 1980. *Int. J. Cancer* **41**: 184-197.
- HIRAYAMA, T. 1989. *Genetic epidemiology of cancer*. H.T. Lynch & T. Hirayama (Eds). CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 69-101.
- FEARON, E.R. & VOGELSTEIN, B. 1990. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**: 759-767.
- LIPKIN, M. 1988. Biomarkers of increased susceptibility to gastrointestinal cancer. *Cancer Res.* **48**: 235-245.
- MUNOZ, N., CRESPI, M. & GRASSI, A. 1989. Precursor lesions of oesophageal cancer in young people in high-risk populations in Iran and China. *Lancet* **I**: 876-879.
- WAHRENDORF, J., CHANG-CLAUDE, J., SONG LIANG, Q., GUAN REY, Y., MUNOZ, N., CRESPI, M., RAEDSCH, R. & THURNHAM, D. 1989. Precursor lesions of oesophageal cancer in young people in a high-risk population in China. *Lancet* **II**: 1239-1241.
- WAND, H.H., ANTONIOLI, D.A. & GOLDMAN, H. 1986. Comparative feature of esophageal and gastric adenocarcinomas. *Hum. Pathol.* **17**: 482-487.
- CHANG-CLAUDE, J.C., WAHRENDORF, J., SONG LIANG, Q., GUAN REY, Y., MUNOZ, N., CRESPI, M., RAEDSCH, R., TURNHAM, D.J. & CORREA, P. 1990. An epidemiological study of precursor lesions of esophageal cancer among young persons in a high-risk population in Huixian, China. *Cancer Res.* **50**: 2268-2274.
- PONZDELEON, M. 1994. Genetic factors, precancerous lesions and cancer of the esophagus. In: *Familial and hereditary tumors*. M. Ponz de Leon (Ed.). Springer-Verlag, Berlin. pp. 162-178.
- WU, M., HU, N. & WANG, X. 1989. Genetic factors in the etiology of esophageal cancer and the strategy for its prevention in high-incidence areas in northern China. In: *Genetic epidemiology of cancer*. H.T. Lynch & T. Hirayama (Eds). CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 191-192.
- WU, M., HU, N. & WANG, X. 1989. Genetic factors in the etiology of esophageal cancer and the strategy for its prevention in high-incidence areas in northern China. In: *Genetic epidemiology of cancer*. H.T. Lynch & T. Hirayama (Eds). CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 192-193.
- GHADIRIAN, P. 1985. Family history of esophageal cancer. *Cancer* **56**: 2112-2116.
- LEE CARTER, C., HOU, N. & WU, M. 1992. Segregation analysis of esophageal cancer in 221 high-risk chinese families. *J. Natl Cancer Inst.* **84**: 771-776.
- JANKOWSKI, J., COGHILL, G., HOPWOOD, D. & WORMSLEY, K.G. 1992. Oncogenes and onco-suppressor gene in adenocarcinoma of the esophagus. *Gut* **33**: 1033-1038.
- HARRIS, C.C. & HOLLSTEIN, M. 1993. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N. Engl. J. Med.* **329**: 1318-1327.
- WANG, L.-D., HONG, J.-Y., QIU, S.-L., GAO, H. & YANG, C.S. 1993. Accumulation of p53 protein in human esophageal precancerous lesions: a possible early biomarker for carcinogenesis. *Cancer Res.* **53**: 1783-1787.
- GAO, H., WANG, L.-D., ZHOU, Q. & HONG, J.Y., HUANG, T.Y. & YANG, C.S. 1994. p53 tumor suppressor gene mutation in early esophageal precursor lesions and carcinoma among high-risk populations in Henan, China. *Cancer Res.* **54**: 4342-4346.
- HOLLSTEIN, M.C., PERI, L., MANDARD, A.M., WELSH, J.A., MONTESANO, R., METCALF, R.A., BAK, M. & HARRIS, C.C. 1991. Genetic analysis of human esophageal tumors from two high incidence areas: frequent p53 base substitution and absence of ras mutations. *Cancer Res.* **51**: 4102-4106.
- BENNET, W.P., HOLLSTEIN, M.C., METCALF, R.A., WELSH, J.A., SI-MINZHU, H., KUSTERS, I., RESAU, J.H., TRUMP, B.F., LANE, D.P. & HARRIS, C.C. 1992. p53 mutation and protein accumulation during multistage human esophageal carcinogenesis. *Cancer Res.* **52**: 6092-6097.
- BOYNTON, R.F., HUANG, Y. & BLOUNT, P.L. 1993. Frequent loss of heterozygosity at the Rb locus in human esophageal cancer. *Cancer Res.* **53**: 1783-1787.
- HUANG, Y., MELTZER, S.J. & YIN, J. 1993. Altered messenger RNA and unique mutational profiles of p53 and Rb in human esophageal carcinomas. *Cancer Res.* **53**: 1889-1894.
- MORI, T., AOKI, T. & MATSUBARA, T. 1994. Frequent loss of heterozygosity in the region including BRCA1 on chromosome

- 17q in squamous cell carcinomas of the esophagus. *Cancer Res.* **54**: 1638-1640.
25. MAESAWA, C., TAMURA, G. & SUZUKI, Y. 1994. Aberrations of tumor-suppressor genes (p53, apc, mcc ad Rb) in esophageal squamous-cell carcinoma. *Int. J. Cancer* **57**: 21-25.
 26. CORREA, P., HAENSZEL, W. & CUELLO, C. 1975. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* **II**: 58-60.
 27. CORREA, P. 1992. Human gastric carcinogenesis. *Cancer* **52**: 6735-6740.
 28. RAMON, J.M., SERRA, L., CERDÒ, C. & ROMY, J. 1993. Dietary factors and gastric cancer risk. *Cancer* **71**: 1731-1735.
 29. LIPKIN, M. 1988. Biomarkers of increased susceptibility to gastrointestinal cancer. *Cancer Res.* **48**: 235-245.
 30. HSING, A.W., HANSSON, L.E., MCLAUGHLIN, J.K., NYREN, O., BLOT, W.J., EKBOM, A. & FRAUMENI, J.F. 1993. Pernicious anemia and subsequent cancer. *Cancer* **71**: 745-750.
 31. BRINTON, L.A., GRIDLEY, G. & HRUBEC, Z. 1989. Cancer risk following pernicious anemia. *Br. J. Cancer* **59**: 810-813.
 32. VARIS, K. 1985. Gastric cancer: familial aspects. In: *Familial cancer*. 1st Int. Res Conf., Basel. Karger, Basel. pp. 55-59.
 33. SPIEGELMAN, A.D., WILLIAMS, G.B., TALBOT, J.C., DOMIZIO, P. & PHYLLIPS, R.K.S. 1989. Upper gastrointestinal cancer in patients with familial polyposis. *Lancet* **II**: 783-785.
 34. SANTOS, J.G. & MAGALHAES, J. 1980. Familial gastric polyposis: a new entity. *J. Genet. Hum.* **28**: 293-297.
 35. SERUCA, R., CARNEIRO, F. & CASTEDO, S. 1991. Familial gastric polyposis revisited. *Cancer Genet. Cytogenet.* **53**: 97-100.
 36. MACKLIN, M.T. 1960. Inheritance of cancer of the stomach and large intestine in man. *J. Natl Cancer Inst.* **24**: 551-571.
 37. LAURÈN, P. 1965. The two histologic main types of gastric carcinomas: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma: an attempt at a histoclinical classification. *Acta Microbiol. Immunol. Scand.* **63**: 31-49.
 38. LEHTOLA, J. 1978. Family study of gastric carcinoma with special reference to histological types. *Scand. J. Gastroenterol.* **13** (Suppl 50): 11-54.
 39. ZANGHIERI, G., DIGREGORIO, C., SACCHETTI, C., FONTE, R., SASSATELLI, R., CAMIZZO, G., CARRIERO, A. & PONZ DE LEON, M. 1990. Familial occurrence of gastric cancer in the 2-year experience of a population-based registry. *Cancer* **66**: 2047-2051.
 40. LA VECCHIA, C., NEGRI, E. & FRANCESCHI, S. 1992. Family history and the risk of stomach and colorectal cancer. *Cancer* **70**: 50-55.
 41. WARTHIN, A.S. 1913. Heredity with reference to carcinoma. *Arch. Intern. Med.* **12**: 546-555.
 42. TRIANTAFILLIDIS, J.K., KOSMIDIS, P. & KOTTARIDIS, S. 1993. Familial stomach cancer. *Am. J. Gastroenterol.* **88**: 1789-1790.
 43. MATSUKURA, N., ONDA, M., TOKUNAGA, A., YOSHIYUKI, T., SHIMIZU, Y., NISHI, K., FURUKAWA, K., YOSHIYASU, M., KIYAMA, T., TANAKA, N. & YAMASHITA, K. 1988. Simultaneous gastric cancer in monozygotic twins. *Cancer* **62**: 2430-2435.
 44. OCHI, H., DOUGLASS, H.O. & SANDBERG, A.A. 1986. Cytogenetic studies in primary gastric cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.* **22**: 295-307.
 45. RODRIGUEZ, E., RAO, P.H., LADANYI, M., ALTORKI, N., ALBINO, A.P., KELSEN, D.P., JHANWAR, S.C. & CHAGANTI, R.S.K. 1990. 11p13-15 is a specific region of chromosome rearrangements in gastric and esophageal adenocarcinomas. *Cancer Res.* **50**: 6410-6416.
 46. UCHINO, S., TSUDA, H. & NOGUCHI, M. 1992. Frequent loss of heterozygosity at the DCC locus in gastric cancer. *Cancer Res.* **52**: 3099-3102.
 47. CZERNIAK, B., HERZ, F. & GORCZYCA, W. 1989. Expression of ras oncogene p21 protein in early gastric carcinoma and adjacent gastric epithelia. *Cancer* **64**: 1467-1473.
 48. RANZANI, G.N., PELLEGGATA, N.S., PREVIDERE, C., SARAGONI, A., VIO, A., MALTONI, M. & AMADORI, D. 1990. Heterogeneous proto-oncogene amplification correlates with tumor progression and presence of metastases in gastric cancer patients. *Cancer Res.* **50**: 7811-7814.
 49. GIORDANO, S., PONZETTO, C., DIRIENZO, M.F., COOPER, C.S. & CAMOGLIO, P.M. 1989. Tyrosine kinase receptor indistinguishable from the c-met protein. *Nature* **339**: 155-156.
 50. BRITO, M.J., WILLIAMS, G.T. & THOMPSON, H. 1994. Expression of p53 in early (T1) gastric carcinoma and precancerous adjacent mucosa. *Gut* **35**: 1697-1700.
 51. MIRONOV, N.M., AGUELON, A.-M., POTAPOVA, G.I., OMORI, Y., GORBUNOV, O.V., KIMENKOV, A.A. & YAMASAKI, H. 1994. Alterations of (CA)_n repeats and tumor suppressor genes in human gastric cancer. *Cancer Res.* **54**: 41-44.
 52. MORSON, B.C. & DOWSON, I.M. 1979. *Gastrointestinal pathology*. 2nd ed. Blackwell Scientific, Oxford.
 53. VOGELSTEIN, B., FEARON, E.R. & HAMILTON, S.R. 1988. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N. Engl. J. Med.* **319**: 525-532.
 54. JEN, J., HOGUEN, K. & PIANTADOSI, S. 1994. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **331**: 213-221.
 55. FEARON, E.R. & VOGELSTEIN, B. 1990. A genetic model of colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**: 759-767.
 56. VATSIS, K.P., MARTELL, K.J. & WEBER, W.W. 1991. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **88**: 6333-6337.
 57. BLUM, M., DEMIERRE, A. & GRANT, D.M. 1991. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **88**: 5237-5241.
 58. WOOLF, C.M. 1958. A genetic study of carcinoma of the large bowel. *Am. J. Hum. Genet.* **10**: 42-47.
 59. MACKLIN, M.T. 1960. Inheritance of cancer of the stomach and large intestine in man. *J. Natl Cancer Inst.* **24**: 551-571.
 60. LOVETT, E. 1976. Family studies in cancer of the colon and rectum. *Br. J. Surg.* **63**: 13-18.

61. PONZ DE LEON, M., ANTONIOLI, A., ASCARI, A., ZANGHIERI, G. & SACCHETTI, C. 1987. Incidence and familial occurrence of colorectal cancer and polyps in a Health Care district of Northern Italy. *Cancer* **60**: 2848-2859.
62. ST. JOHN, D.J.B., McDERMOTT, F.T. & HOPPER, F.T. 1993. Cancer risk in relatives of patients with common colorectal cancer. *Ann. Intern. Med.* **118**: 785-790.
63. FUCHS, C.S., GIOVANNUCCI, E.L. & COLDITZ, G.A. 1994. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **331**: 1669-1674.
64. CANNON-ALBRIGHT, L.A., SKOLNICK, M.H., BISHOP, T., LEE, R.G. & RANDALL, W.B. 1989. Common inheritance of susceptibility to colonic adenomatous polyps and associated colorectal cancers. *N. Engl. J. Med.* **319**: 533-537.
65. PONZ DE LEON, M., SCAPOLI, C., ZANGHIERI, G., SASSATELLI, R., SACCHETTI, C. & BARRAI, I. 1992. Genetic transmission of colorectal cancer: exploratory data analysis from a population based registry. *J. Med. Genet.* **29**: 531-538.
66. LYNCH, H.T., SMYRK, T.C. & WATSON, P. 1993. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review. *Gastroenterology* **104**: 1535-1549.
67. MARRA, G. & BOLAND, C.R. 1995. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes, and historical perspectives. *J. Natl Cancer Inst.* **87**: 1114-1125.
68. LYNCH, H.T., WATSON, P. & KRIEGLER, M. 1988. Differential diagnosis of hereditary non-polyposis colorectal cancer (Lynch syndrome I and Lynch syndrome II). *Dis. Colon Rectum* **31**: 372-377.
69. WATSON, P. & LYNCH, H.T. 1993. Extracolonic cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer* **71**: 677-685.
70. KEE, F. & COLLINS, B.J. 1991. How prevalent is cancer family syndrome? *Gut* **32**: 509-512.
71. MECKLIN, J.-P. 1987. Frequency of hereditary colorectal carcinoma. *Gastroenterology* **93**: 1021-1025.
72. PONZ DE LEON, M., SASSATELLI, R., BENATTI, P. & RONCUCCI, L. 1993. Identification of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in the general population. The 6-year experience of a population-based registry. *Cancer* **71**: 3493-3501.
73. VASEN, H.F.A., FRIEDA, C.A. & JAGER, D.H. 1989. Screening for hereditary non-polyposis colorectal cancer: a study of 22 kindreds in the Netherlands. *Am. J. Med.* **86**: 278-281.
74. VASEN, H.F.A., MECKLIN, J.-P. & MEERA KHAN, P. 1991. The International Collaborative Group on hereditary non-polyposis colorectal cancer (ICG-HNPCC). *Dis. Colon Rectum* **34**: 424-425.
75. VASEN, H.F.A., MECKLIN, J.-P., MEERA KHAN, P. & LYNCH, H.T. 1991. Hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Lancet* **338**: 877.
76. PERCESEPE, A., ANTI, M., RONCUCCI, L., ARMILAO, F., MARRA, G., PELIOR, M., COCO, C., GASBERRINI, G. & PONZ DE LEON, M. 1995. The effect of family size on estimates of the frequency of hereditary non polyposis colorectal cancer. *Br. J. Cancer* **72**(5): 1320-1323.
77. PELTOMAKI, P., AALTONEN, L.A. & SISTONEN, P. 1993. Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. *Science* **260**: 810-812.
78. FISHEL, R., LESCOE, M.K. & RAO, M.R.S. 1993. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* **75**: 1027-1038.
79. LEACH, F.S., NICOLAIDES, N.C. & PAPADOPOULOS, N. 1993. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* **75**: 1215-1225.
80. BRONNER, C.E., BAKER, S.M. & MORRISON, P.T. 1994. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* **368**: 258-261.
81. PAPADOPOULOS, N., NICOLAIDES, N.C. & WEI, Y.-F. 1994. Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* **263**: 1625-1629.
82. NICOLAIDES, N.C., PAPADOPOULOS, N., LIU, B., WEI, Y.F., CARTER, K.C., RUBEN, S.M., ROSEN, C.A., HASELTINE, W.A., FLEISHMANN, R.D., FRASER, C.M., ADAMS, M.D., VENTER, J.C., DUNLOP, M.G., HAMILTON, S.R., PETERSEN, G.M., DE LA CHAPELLE, A., VOLGELSTEIN, B. & KINZLER, K.W. 1994. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* **371**: 75-80.
83. AALTONEN, L.A., PELTOMAKI, P., LEACH, F.S., SISTONEN, P., PYLKKANEN, L., MECKLIN, J.P., JARVINEN, H., POWELL, S.M., JEN, J., HAMILTON, S.R., PETERSEN, G.M., KINZLER, K.W., VOGELSTEIN, B. & DE LA CHAPELLE, A. 1993. Clues to the pathogenesis of familial colon cancer. *Science* **260**: 812-816.
84. THIBODEAU, S.N., BREN, G. & SCHAID, D. 1993. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* **260**: 816-819.
85. BUSSEY, H.J.R. 1975. *Familial polyposis coli*. Baltimore, John Hopkins University Press.
86. HAGGITT, R.C. & REID, B.J. 1986. Hereditary gastrointestinal polyposis syndromes. *Am. J. Surg. Pathol.* **10**: 871-887.
87. GARDNER, E.J. 1951. A genetic and clinical study of intestinal polyposis, a predisposing factor to carcinoma of the colon and rectum. *Am. J. Hum. Genet.* **3**: 167-176.
88. GURBUZ, A.K., GIARDIELLO, F.M., PETERSEN, G.M., KRISH, A.J., OFFERHAUS, G.J.A., BOOKER, S.V., KERR, M.C. & HAMILTON, S.R. 1994. Desmoid tumours in familial adenomatous polyposis. *Gut* **35**: 377-381.
89. JONES, E.L., JAGELMAN, D.G., FAZIO, V.W. *et al.* 1986. Desmoid tumors in familial polyposis coli. *Ann. Surg.* **204**: 94-97.
90. RICHARDS, R.C., ROGERS, S.W. & GARDNER, E.J. 1981. Spontaneous mesenteric fibrosis in Gardner's syndrome. *Cancer* **47**: 597-601.
91. KARAKOUSIS, C.P., BERJIAN, R.A. & LOPEZ, R. 1978. Mesenteric fibromatosis in Gardner's syndrome. *Arch. Surg.* **113**: 998-1000.
92. BULOW, S. 1989. Familial adenomatous polyposis. *Ann. Med.* **21**: 299-307.

93. TRABOULSI, E.I., MAUMENEE, I.H. & KRUSH, A.J. 1990. Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium predicts colorectal polyposis in Gardner's syndrome. *Arch. Ophthalmol.* **108**: 525-526.
94. GIARDIELLO, F.M., OFFERHAUS, G.J.A. & LEE, D.H. 1994. Increased risk of thyroid and pancreatic carcinoma in familial adenomatous polyposis. *Gut* **34**: 1394-1396.
95. HERRERA, L., KAKATI, S. & GIBAS, L. 1986. Gardner syndrome in a man with an interstitial deletion of 5q. *Am. J. Med. Genet.* **25**: 473-476.
96. LEPPERT, M., DOBBS, M. & SCAMBLER, P. 1987. The gene for familial polyposis coli maps to the long arm of chromosome 5. *Science* **238**: 1411-1413.
97. BODMER, W.F., BAILEY, C.J., BODMER, J. *et al.* 1987. Localization of the gene for FAP on chromosome 5. *Nature* **328**: 614-619.
98. KINZLER, K.W., NILBERT, M.C., SU, L.K., VOGELSTEIN, B., BRYAN, T.M., LEVY, D.B., SMITH, K.J., PREISINGER, A.L., HEDGE, P., MCKECHNIE, D., FINNIEAR, R., MARKHAM, A., GROFFEN, J., BOGUSKI, M.S., ALTSHUI, S.F., HORII, A., ANDO, H., MIYOSHI, Y., MIKI, Y., NISHISHO, I. & NAKAMURA, Y. 1991. Identification of FAP locus from chromosome 5q21. *Science* **253**: 661-665.
99. GRODEN, J., THLIVERIS, A. & SAMOWITZ, W. 1991. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis gene. *Cell* **66**: 589-600.
100. BURT, R.W. & GRODEN, J. 1993. The genetic and molecular diagnosis of adenomatous polyposis coli. *Gastroenterology* **104**: 1211-1214.
101. POWELL, S.M., PETERSEN, G.M. & KRUSH, A.J. 1993. Molecular diagnosis of familial adenomatous polyposis. *N. Engl. J. Med.* **329**: 1982-1987.
102. NUGENT, K.P., PHILLIPS, R.K.S., HODGSON, S.V., COTTRELL, S., SMITH-RAVIN, J., PAK, L. & BODMER, W.F. 1994. Phenotypic expression in familial adenomatous polyposis: partial prediction by mutation analysis. *Gut* **35**: 1622-1623.
103. LYNCH, H.T., SMYRK, T.C. & LANSPA, S.J. 1988. Flat adenomas in a colon cancer-prone kindred. *J. Natl Cancer Inst.* **80**: 278-282.
104. LEPPERT, M., BURT, R. & HUGHES, J.P. 1990. Genetic analysis of an inherited predisposition to colon cancer in a family with a variable number of adenomatous polyps. *N. Engl. J. Med.* **322**: 904-908.
105. SPIRIO, L., OTTERUD, B. & STAUFFER, D. 1992. Linkage of variant or attenuated form of adenomatous polyposis coli to the APC locus. *Am. J. Hum. Genet.* **51**: 92-100.
106. SPIRIO, L., OLSCHWANG, S., GRODEN, J., ROBERTSON, M., SAMOWITZ, W., JOSLYN, G., GELBERT, L., THILIVARIS, A., CARLSON, M., OTTERUD, B., LYNCH, H., WATSON, P., PYNCH, P., LAURENT-PUIGH, P., BURT, R., HUGHES, J.P., THOMAS, G., LEPPERT, M. & WHITE, R. 1993. Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell* **75**: 951-957.
107. TURCOT, J., DESPRES, J.-P. & ST. PIERRE, F. 1959. Malignant tumors of the central nervous system associated with familial polyposis of the colon: report of two cases. *Dis. Colon Rectum* **2**: 467-468.
108. LEWIS, J.H., GINSBERG, A.L. & TOOMEY, K.E. 1983. Turcot's syndrome. Evidence for autosomal dominant inheritance. *Cancer* **51**: 524-528.
109. TORRE, D. 1968. Multiple sebaceous tumors. *Arch. Dermatol.* **98**: 549-551.
110. MUIR, E.G., BELLY, A.J.Y. & BARLOW, K.A. 1967. Multiple primary carcinomata of the colon, duodenum and larynx associated with kerato-acanthomata of the face. *Br. J. Surg.* **54**: 191-195.
111. HALL, N.R., MURDAY, V.A. & CHAPMAN, P. 1994. Genetic linkage in Muir-Torre syndrome to the same chromosomal site as cancer family syndrome. *Eur. J. Cancer* **30A**: 180-182.
112. MCCOLL, I., BUSSEY, H.J.R. & VEALE, A.M.O. 1964. Juvenile polyposis coli. *Proc. Royal Soc. Med.* **57**: 896-897.
113. SUBRAMONY, C., SCOTT-CONNER, C.E.H., SKELTON, D. & HALL, T.J. 1994. Familial juvenile polyposis. Study of a kindred: evolution of polyps and relationship to gastrointestinal carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* **102**: 91-97.
114. SASSATELLI, R., BERTONI, G., SERRA, L., BEDOGNI, G. & PONZ DE LEON, M. 1993. Generalized juvenile polyposis with mixed pattern and gastric cancer. *Gastroenterology* **104**: 910-915.
115. JEGHERS, H., MCKUSICK, V.A. & KATZ, K.H. 1949. Generalized intestinal polyposis and melanin spots of oral mucosa, lips and digits: a syndrome of diagnostic significance. *N. Engl. J. Med.* **241**: 993-1005.
116. STARINK, T.M., VANDER VEEN, J.P.W. & AWERT, F. 1986. The Cowden syndrome: a clinical and genetic study in 21 patients. *Clin. Genet.* **29**: 222-233.
117. MARRA, G., ARMELAO, F. & VECCHIO, F.M. 1994. Cowden's disease: report of a case with extensive gastrointestinal polyposis and review of the literature. *J. Clin. Gastroenterol.* **18**: 42-47.
118. WARSHAW, A.L. & FERNANDEZ-DELCASTILLO, C. 1992. Pancreatic carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **326**: 455-465.
119. MACDERMOTT, R.P. & KRAMER, P. 1973. Adenocarcinoma of the pancreas in four siblings. *Gastroenterology* **65**: 137-139.
120. FRIEDMAN, J.M. & FIALKOW, P.J. 1976. Familial carcinoma of the pancreas. *Clin. Gen.* **9**: 463-469.
121. FALK, R.T., WILLIAMS PICKLE, L. & FONTHAM, E.T. 1988. Life-style risk factors for pancreatic cancer in Louisiana: a case-control study. *Am. J. Epidemiol.* **128**: 324-336.
122. EHRENTHAL, D., HAEGER, L. & GRIFFIN, T. 1987. Familial pancreatic adenocarcinoma in three generations. *Cancer* **59**: 1661-1664.
123. LYNCH, H.T., FITZSIMMONS, M.L. & SMYRK, T.C. 1990. Familial pancreatic cancer: clinicopathologic study of 18 nuclear families. *Am. J. Gastroenterol.* **85**: 54-60.

124. ALMOGUERA, C., SHIBATA, D. & FORRESTER, K. 1988. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-k-ras genes. *Cell* **53**: 549-554.
125. KONDO, H., SUGANO, K. & FUKAYAMA, N. 1994. Detection of point mutation in the k-ras oncogene at codon 12 in pure pancreatic juice for diagnosis of pancreatic carcinoma. *Cancer* **73**: 1589-1594.
126. PELLEGGATA, N.S., SESSA, F., RENAULT, B., BONATO, M., LEONE, B.E., SOLCIA, E. & RANZANI, G.N. 1994. K-ras and p53 gene mutations in pancreatic cancer: ductal and nonductal tumors progress through different genetic lesions. *Cancer Res.* **54**: 1556-1560.
127. CALDAS, C., HAHN, S.A. & DA COSTA, L.T. 1994. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1 gene) in pancreatic adenocarcinoma. *Nature Genet.* **8**: 27-32.
128. SEYMOUR, A.B., HRUBAN, R.H. & REDSTON, M. 1994. Allelotype of pancreatic carcinoma. *Cancer Res.* **54**: 2761-2764.