

Etiopatogeneza czerniaka, podobnie jak innych nowotworów jest wypadkową działania czynników środowiskowych oraz predyspozycji genetycznych. Genetyka czerniaków jest przedmiotem intensywnych badań, prowadzonych od wielu lat przez różne ośrodki. Do tej pory udało się zidentyfikować kilka genów, których mutacje wiążą się z zachowaniem. Są to zmiany w genach supresorowych szlaku p16(CDKN2a)-CDK4-Rb i ARF-HDM-p53 oraz mutacje aktywujące przekazywanie sygnału zidentyfikowane w onkogenach RAS i BRAF. Niestety, opisane zmiany dotyczą tylko pewnej grupy chorych i nie stanowią uniwersalnego modelu transformacji nowotworowej. Od wielu lat trwają badania nad różnymi genami, które mogły być przydatne w diagnostyce czerniaków. W pracy przedstawiono przegląd wiedzy o genetyce czerniaka na podstawie prowadzonych od wielu lat badań własnych oraz najnowszych doniesień literaturowych.

**Słowa kluczowe:** czerniak, genetyka, CDKN2a.

## Podłoże genetyczne czerniaka – badania własne i przegląd piśmiennictwa

*Genetic basis of melanoma: own investigations and literature review*

Katarzyna Lamperska<sup>1</sup>, Anna Przybyła<sup>2</sup>, Aldona Kaczmarek<sup>1</sup>,  
Ewa Leporowska<sup>1</sup>, Andrzej Mackiewicz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Diagnostyki i Immunologii Nowotworów, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu; <sup>2</sup>Zakład Immunologii Nowotworów, Katedra Biotechnologii Medycznej, Akademia Medyczna w Poznaniu

### Wstęp

Etiopatologia czerniaka, podobnie jak innych nowotworów jest wypadkową działania czynników środowiskowych i predyspozycji genetycznej. Ta korelacja częściowo tłumaczy różny odsetek chorych z rodzinną historią czerniaka w różnych populacjach [1]. Z drugiej strony różny procent zachorowań można tłumaczyć narażeniem na różne czynniki środowiskowe bądź ich różne natężenie. Jednym z głównych czynników środowiskowych, mających wpływ na etiologię czerniaka jest ekspozycja na promieniowanie UV. Promieniowanie to wywiera mutageny wpływ na DNA, co skutkuje nagromadzeniem różnorodnych zmian genetycznych, promujących z jednej strony proliferację komórek, z drugiej hamując szlaki prowadzące do apoptozy, które aktywowane są w odpowiedzi na zniszczenie DNA. Czynniki sprzyjającymi są: jasna karnacja skóry, jasne włosy, tendencja do oparzeń słonecznych, piegi i znamiona pigmentowe [2]. Czynniki te są uwarunkowane genetycznie, a odpowiedź na ekspozycję UV jest procesem złożonym. Genetyka czerniaków jest przedmiotem intensywnych badań, prowadzonych od wielu lat przez różne ośrodki badawcze. W wyniku przeprowadzonych analiz udało się zidentyfikować kilka genów, których mutacje bądź inaktywacja są przyczyną powstania choroby. Z jednej strony – są to zmiany w genach supresorowych szlaku p16(CDKN2a) – CDK4-Rb [3] i ARF-HDM2-p53 [4], z drugiej – mutacje aktywujące kaskadę przekazywania sygnału pojawiające się w onkogenach Ras [5] i BRAF [6]. Należy jednak wziąć pod uwagę fakt, że pomimo wielu doniesień literaturowych o zidentyfikowaniu mutacji w wyżej wymienionych grupach genów, obejmują one tylko pewien procent przypadków i nie stanowią uniwersalnego modelu transformacji nowotworowej. Również czas i miejsce ich pojawiania się w tym procesie jest nadal przedmiotem dyskusji. CDKN2a jest jednym z pierwszych genów intensywnie analizowanych w poprzedniej dekadzie, ze względu na wysoki procent mutacji znajdujących w liniach komórkowych, w tym 90% linii czerniakowych [6]. Mutacje somatyczne znajdują się w różnym odsetku przypadków i dotyczą zarówno czerniaków sporadycznych [7], jak i dziedzicznych [8]. Mutacje te zostały opisane przez wielu autorów i zebrane w różnych elektronicznych bazach danych. CDKN2a może ulec dezaktywacji nie tylko poprzez mutacje punktowe. Często opisywane w literaturze przypadki dotyczą delekcji fragmentu genu [9] bądź *locus* [10], jak również niestabilności odcinków mikrosatelitarnych [11]. Jednym z mechanizmów wyciszenia ekspresji p16 jest metylacja wysp CpG w odcinku promotorowym [12]. Ten rodzaj metylacji jest odwracalny po zadziałaniu 5-dezoksyazacytydyną. Metylacja *de novo* w tym odcinku została stwierdzona aż w 20% przypadków w różnych typach nowotworów [13]. PRb może być również inaktywowane poprzez mutacje CDK4 R24C lub R24H,

Melanoma like other cancers is a genetic disease including involvement of environmental factors and genetic predisposition. The genetic base of melanoma is the subject of intensive investigations carried out by different scientific centers during the past few years. Till now some genes have been recognized belonging to suppressor genes pathway of p16(CDKN2a)-CDK4-Rb and ARF-HDM-p53 and pathway of signal transduction connecting with activated mutations in RAS and BRAF genes. Described in literature mutations determine only % of all melanomas and are not regarded as the general model of carcinogenesis. For a few years, new genes have been introduced to melanoma diagnostics. Here we report current knowledge about melanoma genetics based on our own experience and literature.

**Key words:** melanoma, genetics, CDKN2a.

które uniemożliwiają przyłączenie p16 do CDK4 powodując permanentną aktywność kinazową [14]. Mutacje w genie p53 są rzadkie, głównie są to tranzykcje C/T charakterystyczne dla działania promieniowania UV [15]. Ich występowanie wiąże się natomiast z gorszym rokowaniem choroby.

Mutacje w genie Ras powodują aktywowanie dwóch konserwatywnych szlaków przekazywania sygnału Raf-MAPK-Erk i P13K-Akt [16]. Częstość mutacji w rodzinie genów Ras została ustalona na ok. 10–20% przypadków [17]. Zmiany te najczęściej dotyczą pojedynczo nukleotydowej substytucji w jednym z trzech kodonów 12, 13 i 61 [18] oraz rzadziej w pozycjach 59 i 63 [19]. Mutacje w tych miejscach powodują aktywację ras niezależnie od czynnika stymulującego. Mutacje w genie NRAS częściej odnajdywane są w czerniakach z obszarów ciała eksponowanych na słońce, a szczególnie dotyczy to mutacji w kodonie 61 [20]. Pierwszą przesłanką do udziału szlaku P13K-Akt w progresji czerniaka było stwierdzenie utraty ekspresji PTEN w czerniakach [21]. PTEN jest białkową i lipidową fosfatazą i inhibitorem Akt poprzez P13K [22]. Utrata heterozygotyczności *locus* PTEN (10q) jest stwierdzana w 30–50% przypadków czerniaków, a w 10% znajdowane są mutacje w genie [23]. Innym niezwykle ważnym dla powstawania czerniaka genem jest BRAF. Gen zlokalizowano na chromosomie 7q34 i koduje on 94 kD serynowo-treoninową kinazę [24]. Somatyczne mutacje w tym genie zostały zidentyfikowane w 66% czerniaków oraz pojawiają się z niższą częstotliwością w innych nowotworach [25]. Wszystkie zidentyfikowane mutacje znajdują się wewnątrz domeny kinazowej. Mutacją pojawiającą się najczęściej jest V599E i stanowi ona 80% wszystkich znalezionych mutacji i aż 90% w czerniakach [26]. Taka sytuacja sugeruje swoisty środowiskowy czynnik. Czynnikiem tym jest najprawdopodobniej promieniowanie UV, pomimo że brak charakterystycznych dla działania tego czynnika mutacji C/T lub CC/TT, co może sugerować inny mechanizm powstawania mutacji indukowanych promieniowaniem UV [27]. Mutacje w genie BRAF wykryto w 82% znamion, wydaje się, że mutacyjna aktywacja szlaku Ras/Raf/MAPK w znamionach jest krytycznym momentem transformacji nowotworowej [28]. Nie stwierdzono współwystępowania mutacji w genach BRAF i KRAS, co sugeruje równy udział obydwu onkogenów w transformacji nowotworowej w fazie inicjacji choroby [29].

### Predyspozycje dziedziczne

Jednym z najbardziej znaczących czynników ryzyka jest rodzinna historia choroby. Czerniak jest związany z czterema zespołami dziedzicznymi: czerniakiem rodzinnym (CMM OMIM#155600), zespołem znamion dysplastycznych (FAMMM OMIM#155600), czerniakiem rodzinnym z rakiem trzustki FAMMM-PC (OMIM#606719) i czerniakiem z gwiaździakiem lub innymi nowotworami centralnego układu nerwowego (MA OMIM#155755). Przynajmniej 10% chorych na czerniaka podaje w wywiadzie zachorowanie w pierwszym lub drugim pokoleniu [30]. CMM charakteryzuje się występowaniem przynajmniej dwóch czerniaków w rodzinie. Innymi predysponującymi zespołami są FAMMM i FAMMM-PC. Ten pierwszy związany jest z rodzinnym występowaniem czerniaka w powiązaniu z obecnością wielu atypowych znamion, natomiast w zespole FAMMM-PC dodatkowo występuje rak trzustki. Zespół melanoma-astrocytoma został po raz pierwszy opisany przez Kaufman i wsp. [31] w rodzinie z CMM, w której oprócz czerniaka pojawiły się również nowotwory centralnego układu nerwowego. Nie stwierdzono jednak mutacji w genach CDKN2a, 2b i CDK4 [32], natomiast w jednej z rodzin wykryto delecję specyficznego dla p14ARF eksonu 1 beta [33].

Czerniak może również występować jako nowotwór towarzyszący innym zespołom dziedzicznym. W badanej przez nas grupie 285 chorych na czerniaka 59 pacjentów podawało występowanie nowotworu w rodzinie, co stanowi 20,7%. W tej grupie najczęściej, bo w 23,7% występował rak płuc. W 16,9% rodzin występował rak piersi i żołądka. Opisano już segregację raka piersi z czerniakiem dla populacji polskiej [34]. Jeden przypadek czerniaka w rodzinie stwier-

dzono w 13,5% grupy wykazującej nowotwory w rodzinie, co stanowi tylko 2,8% wszystkich badanych pacjentów. Obecność 2 czerniaków w rodzinie stwierdzono w 3,4% przypadków grupy obciążonej, co stanowi tylko 0,7% wszystkich badanych przypadków. Wydaje się, że czerniak w populacji polskiej występuje jako jeden z elementów spektrum nowotworowego w rodzinach. Stwierdziliśmy niski odsetek CMM i innych zespołów predysponujących do czerniaka w badanym przez nas materiale klinicznym. Mutacje w części kodującej genu CDKN2a występują niezwykle rzadko w populacji polskiej [35, 36]. W rodzinach podających w wywiadzie występowanie raka piersi wykonano również badanie genu BRCA1, jednak mutacji w badanych przez nas przypadkach też nie stwierdzono. Na związek czerniaka z rakiem piersi może wskazywać fakt, że na 8 chorych na czerniaka i inny dodatkowy nowotwór, aż w 5 przypadkach był to rak piersi. Korelacja pomiędzy rakiem piersi, a czerniakiem u tych samych pacjentów została już opisana [37]. W związku z tym, że u takich chorych, podobnie jak badanym przez nas materiale, nie stwierdza się mutacji w genach CDKN2a i BRCA1, uważa się, że nowotwory te mają inną etiologię genetyczną.

## Predyspozycje genetyczne

### Geny o wysokiej penetracji

#### 1. CDKN2a

Gen CDKN2a – ARF znajduje się na chromosomie 9p21, locus ten zawiera eksony 1 alfa, 1 beta, 2 i 3 kodując dwa różne białka p16 i p14 ARF [38]. Białko p16 jest inhibitorem cyklu komórkowego będąc składową mechanizmu zatrzymującego cykl w fazie G1-S, którego centralnym elementem jest białko pRb (OMIM#600160). Białko p16 zbudowane jest z czterech ankirynowych powtórzeń, z czego trzy kodowane są przez ekson 2 i są niezbędne do połączenia z CDK4 i CDK6. Białka te są aktywowane poprzez związanie z cykliną D i kompleks ten fosforyluje białko Rb. Fosforylacja Rb powoduje uwalnianie czynnika transkrypcyjnego E2F, który jest niezbędny do wejścia komórki w fazę S cyklu. P14 ARF należy również do supresorów cyklu komórkowego działając poprzez inhibicję mdm-2 na stabilizację poziomu białka p53. Na wzajemne powiązanie różnych szlaków w komórce wskazuje powiązanie szlaku p16 z MITF (*microphthalmia transcription factor*), czynnikiem transkrypcyjnym aktywującym geny zaangażowane w produkcję pigmentów (DCT, TYR i TRP1) [39] oraz przeżycie komórki (BCL2) [40]. Badając rolę MITF w regulacji cyklu komórkowego melanocytów ustalono, że białko pozbawione aktywności wiązania do DNA traci zdolność hamowania cyklu komórkowego [41]. MITF posiada dwa konsensusowe motywy M i E. W odcinku promotorowym genu CDKN2a znaleziono sekwencje M i E. Rolę tych sekwencji w aktywacji CDKN2a potwierdzono eksperymentalnie [42]. Aktywacja CDKN2a jest niezbędna dla efektywnego różnicowania melanocytów. MITF bierze również udział w utrzymaniu poziomu p16 w dojrzałych melanocytach. Te badania wskazują, że ekspresja p16 jest regulowana przez wiele czynników, również tych biorących udział w różnicowaniu się melanocytów, co również może tłumaczyć fakt szczególnego związku zmian w genie CDKN2a z patogenezą czerniaka.

Po przeanalizowaniu wielu historii rodzinnych nosicieli mutacji w genie CDKN2a okazało się, że mutacje te również predysponują do zachorowania na raka trzustki [43]. Sugerowane jest również zwiększone ryzyko zachorowania na raka piersi, stercza, jelita grubego i płuc [44]. Stwierdzono również, że mutacje w CDKN2a pojawiają się częściej u osób z MPM (*multiple primary melanoma*). Mutacje te pojawiają się częściej u pacjentów z MPM z rodzinną historią zachorowania na czerniaka oraz w przypadku więcej niż dwóch ognisk pierwotnego czerniaka [45, 46]. Stwierdzono również wyższą częstość występowania polimorfizmu 148 Ala/Thr u tych chorych, niż w kontrolnej populacji. Mutacje dziedziczne w CDKN2a pojawiają się średnio w 20% czerniaków rodzinnych, a zakres częstości wykrywanych zmian wynosi od 5 do 50% i zależy od badanej populacji [47]. Wśród charakterystycznych dla populacji mutacji tzw. założycielskich należy wymienić 19-nukleotydową delecję w eksonie 2 genu, prowadzącą do powstania chimerycznego białka zawierającego N-koniec białka p16 i C-region p14. Mutacja ta określana, jako *p16-Leiden* została zidentyfikowana w populacji holenderskiej [48]. Innymi mutacjami są: insR113 (szwedzka) [49], M531I (szkocka) [50], V126D (północnoamerykańska) [51] oraz G101W (liguryjska, zwana też celtycką, a odnaleziona w populacji włoskiej) [52]. Mutacje w genie CDKN2a pojawiają się częściej w rodzinach z wieloma, powyżej trzech przypadków, zachorowaniami na czerniaka w historii rodziny. Pomimo opisanych powyżej faktów mutacje w genie CDKN2a są raczej rzadkie, ale ich penetracja jest bardzo wysoka [53]. Liczba nosicieli mutacji chorujących na czerniaka zależy od miejsca zamieszkania, ma to bezpośredni związek z narażeniem na promieniowanie UV. Związek ten został potwierdzony częstym wykrywaniem mutacji w kodonie 61 genu NRAS u nosicieli mutacji CDKN2a [54]. W populacji polskiej nie stwierdzono dziedzicznej mutacji patogenicznej. Wydaje się, że mutacje w tym genie nie odgrywają żadnej roli w genetycznej predyspozycji do zachorowania na czerniaka w populacji polskiej [35, 36].

**Mutacje w odcinkach niekodujących.** Pomimo przypisywania istotnej roli zmianom w genie CDKN2a, w dziedzicznej predyspozycji zachorowania na czerniaka znaleziono stosunkowo niewiele mutacji w odcinkach kodujących tego genu. W związku z powyższym obserwuje się w ostatnich latach większe zainteresowanie odcinkami niekodującymi genu: 5'UTR, sekwencjami intronowymi, miejscami splicingu oraz 3'UTR. Poszukiwanie mutacji w tych odcinkach doprowadziło do zidentyfikowania kilku zmian. Przykładem jest mutacja założycielska – 34 G/T zidentyfikowana w 5' niekodującym odcinku, powodująca powstanie nowego kodonu AUG inicjującego translację. Mutacja ta została stwierdzona w Wielkiej Brytanii i segreguje się wraz z chorobą [55]. Badając 109 brytyjskich i 26 australijskich rodzin stwierdzono 2 warianty sekwencyjne intronów IVS1 +1104 C/A i IVS1-1104 C/G predysponujące do zachorowania na czerniaka [56]. Innym przykładem mutacji zidentyfikowanej w Wielkiej Brytanii jest transycja IVS2-105 A/G, powodująca powstanie błędnego miejsca donorowego w pozycji 105 od strony 5' eksonu 3 [57]. Innym przykładem są polimorfizmy w genie CDKN2a. Do najczęściej opisywanych należą: 148 Ala/Thr oraz 2 w odcinku 3'UTR 500 C/G i 540 C/T. Wariant 148 Ala/Thr pojawia się

z większą częstością u osób chorych, wykazano również jego asocjacje z rakiem piersi i czerniakiem [36]. Częściej występuje również u osób z MPM [47]. Pomimo to funkcjonalna analiza wariantu 148 Ala/Thr nie wykazała różnic w zdolności do inhibicji enzymatycznej aktywności CDK4 [58]. Jeszcze trudniej udowodnić mechanizm działania polimorfizmów w 3'UTR. Pomimo że zmiany te wykrywane są z większą częstością u osób chorych na czerniaka, nieznanym jest ich wpływ na powstawanie i przebieg choroby. Przyjmuje się, że zmiany w odcinku niekodującym od strony 3' mogą mieć wpływ na transport, stabilizację oraz translację p16 mRNA. Również w nielicznych artykułach opisywane są próby korelacji występowania wariantów w 3'UTR z przebiegiem klinicznym czerniaka [59]. W przeprowadzonych w naszym zakładzie analizach grupy chorych na czerniaka nie stwierdzono związku pomiędzy lokalizacją zmiany pierwotnej, wiekiem zachorowania oraz czasem przeżycia, a występowaniem zmian w 3'UTR. Związek tych zmian z klinicznym przebiegiem czerniaka pozostaje więc nadal przedmiotem dyskusji.

## 2. ARF

P14ARF jest alternatywnym wariantem CDKN2a *locus*. *Locus CDKN2a* jest unikatowy w ludzkim genomie, kodując 2 zupełnie różne białka. P16 i p14 posiadają różne pierwsze eksony, natomiast wykorzystują wspólnie ekson 2 i 3. Pomimo wysokiej homologii na poziomie nukleotydowym, obydwa białka posiadają zupełnie odmienną sekwencję aminokwasową, gdyż transkrypcja p14 ARF odbywa się z alternatywnej ramki odczytu.

Ze względu na wspólnie wykorzystywaną sekwencję eksonów 2 i 3 mutacje w tych miejscach mają wpływ na obydwa białka. Mutacje w specyficznym dla p14 eksonie 1 są natomiast rzadkie i niezależnie predysponują do zachorowania na czerniaka oraz na nowotwory układu nerwowego [33].

## 3. CDK4

Gen znajduje się na chromosomie 12q14, zawiera 8 eksonów i koduje cyklinozależną kinazę 4. Kompleks formowany z typem D cyklin umożliwia fosforylację białka Rb i jest hamowany przez p16 [60]. Pomimo wykrywania mutacji w tym genie w liniach komórkowych czerniaka jedyną zidentyfikowaną mutacją dziedziczną jest R24C [61]. Mutacja ta znajduje się w domenie wiążącej p16 uniemożliwiając przyłączenie białka, natomiast zachowana jest zdolność CDK4 do wiązania z cykliną D. Mutacja ta ma więc charakter dominujący, zmutowany CDK4 ma wszystkie cechy onkogenu. Ze względu na fakt, że tylko w przypadku 2 rodzin na świecie udokumentowano występowanie takiej zmiany, wydaje się, że CDK4 nie ma większego znaczenia dla genetycznego podłoża czerniaka.

## 4. NBS1

Gen NBS1 zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 8 (p21). Jego produkt białkowy nibryna wchodzi w skład systemu naprawczego dwuniciowych pęknięć DNA, tworząc kompleks z innymi białkami, takimi jak: Mre11, Rad50 i BRCA1. Sygnałem aktywującym nibrynę jest indukowana przez mutageny fosforylacja białka ATM. Ponadto NBS1 poprzez aktywację p53 bierze udział w regulacji cyklu komórkowego, jest również elementem kompleksu białkowego zaangażowanego w re-

kombinację chromosomów i utrzymanie homeostazy telomerów (OMIM \*602667). Mutacje w genie NBS1 zostały wykryte w trakcie badań prowadzonych nad zespołem Nijmegen (OMIM#251260). Zespół ten jest recesywnie dziedziczną chorobą dysmorficzną rozpoznawaną głównie w krajach Europy Centralnej i Wschodniej [62]. U chorych z zespołem NBS rozpoznano homozygotyczne uszkodzenie genu NBS1, a oprócz charakterystycznych dla tego zespołu objawów klinicznych również zwiększone ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe. Podwyższone ryzyko zachorowania na nowotwory dotyczy również zdrowych nosicieli mutacji genu NBS1. U przeważającej liczby chorych z zespołem Nijmegen zidentyfikowano delecję 5 par zasad (ACAAA) w eksonie 6 genu, mutacja ta jest charakterystyczna dla populacji słowiańskiej [62]. Częstość heterozygotycznego nosicielstwa tej zmiany w populacji polskiej wynosi 1/100–1/300. Badania przeprowadzone na pacjentach z Polski centralnej wskazały, że delecja słowiańska występuje z większą częstością u chorych na czerniaka (4/105) [63]. W przeanalizowanym przez nas materiale pochodzącym od 285 chorych na czerniaka stwierdzono tylko dwie takie mutacje. Mutacje te zidentyfikowano u osób niepodających występowania nowotworów w rodzinie, a częstość występowania zmiany określono na 1/142, co mieści się w zakresie częstości występowania tego allelu w populacji polskiej. Nosicielstwo zmutowanego allelu nie zwiększa ryzyka zachorowania na czerniaka, takie same wyniki zostały uzyskane w innych ośrodkach [64].

## Geny o niskiej penetracji

### 1. MC1R

Czynnikami związanymi z predyspozycją do czerniaka są: zwiększona liczba znamion, kolor włosów, kolor oczu i rodzaj skóry. Jednym z genów o niskiej penetracji jest receptor MCR1R (*melanocortin receptor 1*) [65]. Jego białkowy produkt wiąże się z hormonem stymulującym melanocyty (*alfa-melanocyte stimulating hormone*) oraz z adrenokortykotropiną (ACTH) regulując metabolizm melaniny. Dwa typy melaniny są obecne w ludzkiej skórze: czerwona pheomelanina i czarna eumelanina. Eumelanina ma działanie fotoprotekcyjne, natomiast pheomelanina poprzez generowanie wolnych rodników pod wpływem promieniowania UV przyczynia się do powstawania różnorodnych uszkodzeń skóry. MCR1R jest wysoce polimorficznym genem, do tej pory udało się ustalić ok. 65 wariantów sekwencyjnych [66]. Przykładowo warianty R151C, R160W lub D294H są odpowiedzialne za występowanie fenotypu określanego jako *red hair color* (RHC) [67], który charakteryzuje się rudymi włosami i jasną karnacją. Różnego typu polimorfizmy w genie MC1R nie tylko odpowiadają za fenotyp, ale stwierdzono również, że niektóre z wariantów są liczniej reprezentowane u chorych na czerniaka, niż w populacji kontrolnej [66]. Badania prowadzone na populacji australijskiej wykazały, że RHC z dodatkowym wariantem sekwencyjnym genu MC1R podwaja ryzyko zachorowania na czerniaka [67].

### 2. Inne geny

Szukając genetycznej predyspozycji do zachorowania na czerniaka analizowano również inne geny, związane ze szlakiem p16 i ras bądź też ze szlakiem metabolizmu melaniny. Przykładem są badania genu EGF (OMIM) ze względu na jego udział w proce-

się proliferacji komórek. W genie tym stwierdzono substytucję A/G w pozycji 328 [68]. Allel ten (G) pojawiał się częściej u osób chorych, niż z grup kontrolnych. Stwierdzono wyższe ryzyko w przypadku homozygotycznej wersji allelu G. Polimorfizm ten zlokalizowany jest poza miejscem kodującym, dlatego też mechanizm jego zaangażowania w patogenezę czerniaka nie jest jasny. Do innej grupy genów mogących mieć związek z etiologią czerniaka należą te, których produkty białkowe biorą udział w metabolizmie różnych substancji oraz detoksykacji. Przykładem jest glutationowa S-transferaza GSTM1 biorąca udział w detoksykacji, w tym potencjalnie kancerogennych substancji [69]. Prowadząc badania nad populacją anglo-celtycką stwierdzono w 52% przypadków występowanie fenotypu *nullzygoty*, co wg niektórych autorów istotnie wpływa na częstość pojawiania się czerniaka [70]. W innych badaniach nie stwierdzono takiej zależności [71]. Innym genem z tej grupy jest CypD6, którego różne warianty polimorficzne odpowiedzialne są za różny poziom metabolizmu toksyn. Brak jednoznacznych literaturowych danych o ich związku z częstością występowania czerniaka. Badano również zmiany w VDR [72], receptorze dla witaminy D. W badaniach tych stwierdzono niski poziom występowania allelu Fak I powodującego powstanie nowego kodonu startu translacji [73]. Wariant ten jest częściej obserwowany w czerniakach. Do jeszcze innej grupy należą geny zaangażowane w naprawę DNA. Do nich należy m.in. XRCC3, wykryta mutacja w eksonie 7 (pozycja 18067), według niektórych autorów predysponuje do zachorowania na czerniaka [74].

## Podsumowanie

W różnych ośrodkach nadal trwają prace nad poszukiwaniem genów zaangażowanych w transformację nowotworową czerniaka bądź też predysponujących do zachorowania na ten nowotwór. Badania z wykorzystaniem techniki mikro-macierzy być może pomogą zidentyfikować nowe geny. Innym kierunkiem jest poszukiwanie wzajemnych zależności i oddziaływań pomiędzy różnymi białkami, biorącymi udział w różnych procesach komórkowych. Rozszyfrowanie sieci takich zależności umożliwi określenie genotypu odpowiedzialnego za występowanie czerniaka, przyczyni się również do lepszego zrozumienia chorób nowotworowych, a w następstwie lepszego wykrywania i diagnostyki.

*Praca finansowana przez: PBZ-KBN-091/PO5/2003/01*

## Piśmiennictwo

- Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int J Cancer* 1997; 73: 198-203.
- Tucker MA, Halpern A, Holly EA, Hartge P, Elder DE, Sagebiel RW, Guerry D 4th, Clark WH Jr. Clinically recognized dysplastic nevi. A central risk factor for cutaneous melanoma. *JAMA* 1997; 277: 1439-44.
- Harland M, Sushila Mistry D, Bishop T, Newton Bishop JA. A deep intronic mutation in CDKN2A is associated with disease in subset of melanoma pedigrees. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 2679-86.
- Kamijo T, Weber JD, Zambetti G, Zindy F, Roussel MF, Sherr CJ. Functional and physical interactions of the ARF tumor suppressor with p53 and Mdm2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8292-97.
- Demunter A, Stas M, Degreef H, De Wolf-Peeters C, van den Oord JJ. Analysis of N- and K-ras mutations in the distinctive tumor progression phases of melanoma. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 1483-9.
- Gray-Schopfer VC, da Rocha Dias S, Marais R. The role of B-RAF in melanoma. *Cancer Metastasis Rev* 2005; 24: 165-83.
- Cachia AR, Indsto JO, McLaren KM, Mann GJ, Arends MJ. CDKN2A mutation and deletion status in thin and thick primary melanoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3511-5.
- Hussussian CJ, Struwing JP, Goldstein AM, et al. Germline p16 mutations in familial melanoma. *Nat Genet* 1994; 8: 15-21.
- Soto Martinez JL, Cabrera Morales CM, Serrano Ortega S, Lopez-Nevot MA. Mutations and homozygous deletion analyses of genes that control the G1/S transition of the cell cycle in skin melanoma p53, p21, p16 and p15. *Clin Transl Oncol* 2005; 7: 156-64.
- Mistry SH, Taylor C, Randerson-Moor JA, et al. Prevalence of 9p21 deletions in UK melanoma families. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 44: 292-300.
- Rubben A, Babilas P, Baron JM, Hofheinz A, Neis M, Sels F, Sporkert M. Analysis of tumor cell evolution in a melanoma: evidence of mutational and selective pressure for loss of p16ink4 and for microsatellite instability. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 14-20.
- van der Velden PA, Metzelaar-Blok JA, Bergman W, Monique H, Hurks H, Frants RR, Gruis NA, Jager MJ. Promoter hypermethylation: a common cause of reduced p16 (INK4a) expression in uveal melanoma. *Cancer Res* 2001; 61: 5303-6.
- Samowitz WS, Albertsen H, Herrick J, Levin TR, Sweeney C, Murtaugh MA, Wolff RK, Slattery ML. Evaluation of a large, population-based sample supports a CpG island methylator phenotype in colon cancer. *Gastroenterology* 2005; 129: 837-45.
- Della Torre G, Pasini B, Fasini B, et al. CDKN2A and CDK4 mutation analysis in Italian melanoma-prone families: functional characterization of a novel CDKN2A germ line mutation. *Br J Cancer* 2001; 85: 836-44.
- Albino AP, Vidal MJ, McNutt NS, Shea CR, Prieto VG, Nanus DM, Palmer JM, Hayward NK. Mutation and expression of the p53 gene in human malignant melanoma. *Melanoma Res* 1994; 4: 35-45.
- Bhatt KV, Spofford LS, Aram G, McMullen M, Pugmiglia K, Aplin AE. Adhesion control of cyclin D1 and p27Kip1 levels is deregulated in melanoma cells through BRAF-MEK-ERK signaling. *Oncogene* 2005; 24: 3459-71.
- Bloethner S, Chen B, Hemminki K, Muller-Berghaus J, Uguirel S, Schadendorf D, Kumar R. Effect of common B-RAF and N-RAS mutations on global gene expression in melanoma cell lines. *Carcinogenesis* 2005; 26: 1224-32.
- Goydos JS, Mann B, Kim HJ, Gabriel EM, Alsina J, Germino FJ, Shih W, Gorski DH. Detection of B-RAF and N-RAS mutations in human melanoma. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 362-70.
- Omholt K, Platz A, Kanter L, Ringborg K, Hansson J. N-RAS and B-RAF mutation arise early during melanoma pathogenesis and are preserved throughout tumor progression. *Clin Can Res* 2003; 9: 6483-8.
- Eskandarpour M, Hashemi J, Kanter L, Ringborg U, Platz A, Hansson J. Frequency of UV-inducible NRAS mutations in melanomas of patients with germline CDKN2A mutations. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 790-8.
- Stahl JM, Sharma A, Cheung M, et al. Deregulated Akt3 activity promotes development of malignant melanoma. *Cancer Res* 2004; 64: 7002-10.
- Wu H, Goel V, Haluska FG. PTEN signaling pathways in melanoma. *Oncogene* 2003; 22: 3113-22.
- Guldberg P, Thor Straten P, Birck A, Ahrenkiel V, Kirkin AF, Zeuthen J. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. *Cancer Res* 1997; 57: 3660-3.
- Brose MS, Volpe P, Feldman M, et al. BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res* 2002; 62: 6997-7000.
- Thomas NE. BRAF somatic mutations in malignant melanoma and melanocytic naevi. *Melanoma Res* 2006; 16: 97-103.
- Sharma A, Trivedi NR, Zimmerman MA, Tuveson DA, Smith CD, Robertson GP. Mutant V599E-Braf regulates growth and vascular development of malignant melanoma tumors. *Cancer Res* 2005; 65: 2412-21.
- Edwards RH, Ward MR, Wu H, et al. Absence of BRAF mutations in UV-protected mucosal melanomas. *J Med Genet* 2004; 41: 270-2.
- Kumar R, Angelini S, Snellman E, Hemminki K. BRAF mutations are common somatic events in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 342-8.
- Tsao H, Goel V, Wu H, Yang G, Haluska FG. Genetic interaction between NRAS and BRAF mutations and PTEN/MMAC1 inactivation in melanoma. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 337-41.
- Berwick M, Wiggins C. The current epidemiology of cutaneous malignant melanoma. *Front Sci* 2006; 11: 1244-54.

31. Kaufman DK, Kimmel DW, Parisi JE, Michels VV. A familial syndrome with cutaneous melanoma and cerebral astrocytoma. *Neurology* 1993; 43: 1728-31.
32. Tachibana I, Smith JS, Sato K, Hosek SM, Kimmel DW, Jenkins RB. Investigation of germline PTEN, p53, p16 (INK4A)/p14 (ARF), and CDK4 alterations in familial glioma. *Am J Med Genet* 2000; 92: 136-41.
33. Randerson-Moor JA, Harland M, Williams S, et al. A germline deletion of p14 (ARF) but not CDKN2A in a melanoma-neural system tumour syndrome family. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 55-62.
34. Dębniak T, Górski B, Husarski T, et al. A common variant of CDKN2A p16 predisposes to breast cancer. *J Med Genet* 2005; 42: 763-5.
35. Lamperska K, Karczewska A, Kwiatkowska E, Mackiewicz A. Analysis of mutations in p16 CDKN2A gene in sporadic and familial melanoma in the Polish population. *Acta Biochim Pol* 2002; 49: 369-76.
36. Dębniak T, Scott RJ, Husarski T, et al. CDKN2A common variants and their association with melanoma risk: a population based study. *Cancer Res* 2005; 65: 835-9.
37. Goggins W, Gao W, Tsao H. Association between familial breast cancer and cutaneous melanoma. *Int J Cancer* 2004; 111: 792-4.
38. Stott FJ, Bates S, James MC, et al. The alternative product from the human CDKN2A locus, p14 (ARF), participates in a regulatory feedback loop with p53 and MDM2. *EMBO J* 1998; 17: 5001-14.
39. Kobayashi T, Imokawa G, Bennett DC, Hearing VJ. Tyrosinase stabilization by Tyrp1. *J Biol Chem* 1998; 273: 31801-5.
40. McGill GG, Horstmann M, Widlund HR, et al. Bcl2 regulation by the melanocyte master regulator Mitf modulates lineage survival and melanoma cell viability. *Cell* 2002; 109: 707-18.
41. Shwahn DJ, Timoshenko NA, Shiebahara S, Medrano EE. Dynamic regulation of the human dopachrome tautomerase promoter by MITF, ER-alpha and chromatin remodelers during proliferation and senescence of human melanocytes. *Pigment Cell Res* 2005; 18: 203-13.
42. Loercher AE, Tank EMH, Dalston RB, Harbour JW. MITF links differentiation with cell cycle arrest in melanocytes by transcriptional activation of INK4A. *J Cell Biol* 2005; 168: 35-40.
43. Goldstein AM, Fraser MC, Struwing JP, et al. Increased risk of pancreatic cancer in melanoma-prone kindreds with p16INK4a mutations. *N Engl J Med* 1995; 333: 970-4.
44. Vasen HF, Gruis NA, Frants RR, et al. Risk of developing pancreatic cancer in families with atypical multiple melanoma associated with a specific 19 deletion of p16 (p16-Leiden). *Int J Cancer* 2000; 87: 809-11.
45. Hashemi J, Platz A, Ueno T, Stierner U, Ringborg U, Hansson J. CDKN2A germ-line mutations in individuals with multiple cutaneous melanomas. *Cancer Res* 2000; 60: 6864-7.
46. Puig S, Malvey J, Badenas C, et al. Role of CDKN2A locus in patients with multiple primary melanoma. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3043-51.
47. Goldstein AM, Struwing JP, Chidambaram A, et al. Genotype-phenotype relationships in US melanoma prone families with CDKN2A and CDK4 mutations. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1006-10.
48. van der Velden PA, Sandkuijl LA, Bergman W, et al. A locus linked to p16 modifies melanoma risk in Dutch familial multiple melanoma (FAMMM) syndrome families. *Genom Res* 1999; 9: 575-80.
49. Borg A, Johannsson U, Johannsson O, et al. Novel germline p16 mutation in familial malignant melanoma in southern Sweden. *Cancer Res* 1996; 56: 2497-500.
50. MacKie RM, Andrew N, Lanyon WG, Connor JM. CDKN2A germline p16 mutations in U.K. patients with familial melanoma and multiple primary melanomas. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 269-72.
51. Goldstein AM, Liu L, Shennan MG, et al. A common founder of V126D CDKN2A mutation in seven North America melanoma-prone families. *Br J Cancer* 2001; 85: 527-30.
52. Ciotti P, Struwing JP, Mantelli M, et al. A single genetic origin for the G101W CDKN2A mutation in 20 melanoma-prone families. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 311-9.
53. Goldstein AM, Struwing JP, Fraser MC, et al. Prospective risk of cancer in CDKN2A germline mutation carriers. *J Med Genet* 2004; 41: 421-4.
54. Bishop DT, Demenais F, Goldstein AM, et al. Geographical variation in the penetrance of CDKN2A mutations for melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 894-903.
55. Liu L, Dilworth D, Gao L, Monzon J, Summers A, Lassam N, Hogg D. Mutation of the CDKN2A 5' UTR creates an aberrant initiation codon and predisposes to melanoma. *Nat Genet* 1999; 21: 128-32.
56. Harland M, Taylor CF, Bass S, et al. Intronic sequence variants of the CDKN2A gene in melanoma pedigree. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 43: 128-36.
57. Loo JC, Liu L, Hao A, et al. Germline splicing mutations of CDKN2A predispose to melanoma. *Oncogene* 2003; 22: 6387-94.
58. Ranade K, Hussussian CJ, Sikorski RS, et al. Mutations associated with familial melanoma impair p16INK4a function. *Nat Genet* 1995; 11: 1173-8.
59. Kumar R, Lundh Rozell B, Louhelainen J, Hemminki K. Mutation in the CDKN2A (p16INK4a) gene in microdissected sporadic primary melanomas. *Int J Cancer* 1998; 75: 193-8.
60. Harbour JW, Luo RX, Dei Santi A, Postigo AA, Dean DC. Cdk phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb functions as cells move through G1. *Cell* 1999; 98: 859-69.
61. Molven A, Grimstvedt MB, Steine SJ, et al. A large Norwegian family with inherited malignant melanoma, multiple atypical nevi, and CDK4 mutation. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 44: 10-18.
62. Varon R, Vissinga C, Platzer M, et al. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen breakage syndrome. *Cell* 1998; 93: 467-76.
63. Steffen J, Varon R, Mosor M, et al. Increased cancer risk of heterozygotes with NBS1 germline mutations in Poland. *Int J Cancer* 2004; 111: 67-71.
64. Dębniak T, Górski B, Cybulski C, et al. Germline 657del5 mutation in the NBS1 gene in patients with malignant melanoma of the skin. *Melanoma Res* 2003; 4: 365-70.
65. Kennedy C, Huurne J, Berkhout M, et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma which is largely independent of skin type and hair color. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 294-300.
66. van der Velden PA, Sandkuijl LA, Bergman W, Pavel S, van Mourik L, Frants RR, Gruis NA. Melanocortin-1 receptor variant R151C modifies melanoma risk in Dutch families with melanoma. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 774-9.
67. Palmer JS, Duffy DL, Box NF, et al. Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? *Am J Human Genet* 2000; 66: 176-86.
68. Shahbazi M, Pravica V, Nasreen N, et al. Association between functional polymorphism in EGF gene and malignant melanoma. *Lancet* 2002; 359: 397-401.
69. Lafuente A, Molina R, Palon J, et al. Phenotype of glutathione S-transferase Mu (GSTM1) and susceptibility to malignant melanoma MMM group. Multidisciplinary Malignant Melanoma Group. *Br J Cancer* 1995; 72: 324-6.
70. Kanetsky PA, Holmes R, Walker A, Najarian D, Swoyer J, Guerry D, Halpern A, Rebbeck TR. Interaction of glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 509-13.
71. Hayward NK. Genetics of melanoma predisposition. *Oncogene* 2003; 22: 3053-62.
72. Osborne JE, Hutchinson PE. Vitamin D and systemic cancer: is this relevant to malignant melanoma? *Br J Dermatol* 2002; 147: 197-213.
73. Winsey SL, Haldar NA, Marsh HP, Bunce M, Marshall SE, Harris AL, Wojnarowska F, Welsh KI. A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 5612-16.

#### Adres do korespondencji

dr n. biol. **Katarzyna Lamperska**  
 Zakład Diagnostyki i Immunologii Nowotworów  
 Wielkopolskie Centrum Onkologii  
 ul. Garbary 15  
 61-866 Poznań  
 tel. +48 61 854 06 68  
 e-mail: kasialam@o2.pl