

Dziedziczne podłoże czerniaka – wyniki badań własnych na tle piśmiennictwa

Genetic background of melanoma – results of own studies and the literature data

Tadeusz Dębniak^{1,2}, Romuald Maleszka¹, Jan Lubiński²

¹Katedra i Klinika Chorób Skórnych i Wenerycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Romuald Maleszka

²Zakład Genetyki i Patomorfologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jan Lubiński

Przeł Dermatol 2011, 98, 234–238

STRESZCZENIE

SŁOWA KLUCZOWE:
czerniak, gen supresorowy CDKN2A.

KEY WORDS:
malignant melanoma, CDKN2A.

Jednym z najbardziej agresywnych nowotworów złośliwych jest czerniak, którego częstość występowania gwałtownie się zwiększa w ostatnich latach. Rodzinne agregacje czerniaka stwierdza się w około 3–15% wszystkich zdiagnozowanych przypadków tego nowotworu. Głównym genem dużego ryzyka jest gen supresorowy CDKN2A. Ostatnio zaproponowano kryteria kwalifikujące do pełnego molekularnego badania genu CDKN2A – tzw. regułę trzech: 1) występowanie trzech lub więcej pierwotnych ognisk czerniaka u pacjenta, 2) rozpoznanie tego nowotworu u przynajmniej trzech krewnych I lub II stopnia, 3) występowanie czerniaka i raka trzustki u przynajmniej 3 krewnych po tej samej stronie rodziny. Częsta, powtarzalna zmiana A148T genu CDKN2A, uważana dotąd za niepatogenną, może predysponować do zachorowania na czerniaka, zwłaszcza w młodym wieku. Wyniki najnowszych badań wielośrodkowych dotyczących analiz sprzężeń genomu (GWAS) wykazały silny związek z czerniakiem trzech regionów chromosomowych: 16q24, 11q14-q21 i 9p21. Do zmian związanych z umiarkowanym ryzykiem czerniaka należą: – genotyp Lys751Gln_CC/Gly156Gly_CC genu XPD; R151C, V60L, R160C, R163Q genu MC1R; N991D genu BRCA2 oraz haplotyp rs731236_A + rs1544410_T genu VDR. Wdrożenie odpowiednich programów diagnostyczno-profilaktycznych oraz leczniczych może zmniejszyć zachorowalność i śmiertelność z powodu czerniaka. Testy genetyczne oraz analizy danych rodowodowo-klinicznych powinny być wykonywane u wszystkich osób z rozpoznaniem czerniakiem, także w przypadkach z ujemnym wywiadem rodzinnym.

ABSTRACT

Malignant melanoma (MM) represents one of the most aggressive neoplasms and its frequency is rapidly increasing. Familial aggregations of this malignancy are present in around 3-15% of all cases. CDKN2A is the major "high-risk" MM susceptibility gene. Recently new selection criteria for CDKN2A genetic assessment of patients – the so-called mnemonic "guideline of three" – have been proposed: 1) individuals with three or more primary melanomas, 2) three or more melanomas among first or second degree relatives, 3) presence of three or more cases of melanoma and/or pancreatic cancer on the same side of the family. In the Polish population a common CDKN2A variant (A148T) significant

ADRES DO KORESPONDENCJI:

dr hab. n. med.
Tadeusz Dębniak
Katedra i Klinika Chorób
Skórnych i Wenerycznych
Pomorski Uniwersytet
Medyczny
Al. Powstańców Wlkp. 72
70-111 Szczecin
e-mail:
debniak@sci.pam.szczecin.pl

tly increases melanoma risk regardless of the cancer family history. A recent multi-centre genome-wide association study identified three loci strongly associated with melanoma risk: 16q24, 11q14-q21, 9p21. The list of mutations/polymorphisms which are believed to be associated with moderate MM risk includes: Lys751Gln_CC/Gly156Gly_CC of the XPD gene; R151C, V60L, R160C, R163Q of the MC1R gene; N991D of the BRCA2 gene and haplotype rs731236_A + rs1544410_T of the VDR gene. Appropriate management may reduce morbidity and mortality. Genetic testing and clinical evaluation should be performed, and family history should be obtained in all patients affected with MM, including those with apparently sporadic tumours.

WPROWADZENIE

Jednym z trudniejszych problemów klinicznych dla dermatologów i onkologów jest monitorowanie i leczenie chorych na czerniaka (*melanoma malignum* – MM). Zachorowalność na ten nowotwór w dużym stopniu zależy od położenia geograficznego – dla rasy białej wynosi około 35 chorych na 100 000 osób w Australii [1], około 10 na 100 000 w Ameryce Północnej [2] oraz około 7–10 na 100 000 w Europie Zachodniej [3, 4]. W 2003 roku w Polsce odnotowano 2286 nowych zachorowań na czerniaka, o 30% więcej niż w 1999 roku, kiedy to rozpoznano 1606 przypadków [5]. Liczba zachorowań na ten nowotwór wśród ludzi rasy kaukaskiej drastycznie się zwiększyła w ostatnim półwieczu [6]. Najczęstszymi odmianami są: czerniak szerzący się powierzchniowo, czerniak guzkowy, czerniak wywodzący się ze złośliwej plamy soczewicowatej oraz postać akralna. Głównym środowiskowym czynnikiem ryzyka jest nadmierna ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe [7], zwłaszcza jeśli dochodzi do oparzeń słonecznych [8]. Czynniki genetyczne modulujące odpowiedź skóry na promieniowanie słoneczne (jasna karnacja, obecność znamion atypowych lub duża liczba zwykłych znamion barwnikowych) również mają duże znaczenie w patogenezie tego nowotworu [9]. Czerniak jest zaliczany do najbardziej agresywnych nowotworów złośliwych. Średni czas przeżycia pacjenta z przerzutami tego nowotworu wynosi około 6 miesięcy. Skuteczność leczenia zależy od jego wczesnego wykrycia, dlatego niezwykle istotna jest identyfikacja osób z podwyższonym ryzykiem zachorowania.

Zwiększona częstość występowania czerniaka u potomstwa osób chorych na ten nowotwór [10, 11] oraz rodzinne agregacje MM sugerują, że predyspozycja genetyczna odgrywa istotną rolę w jego powstawaniu.

OMÓWIENIE DOTYCHCZASOWYCH BADAŃ WŁASNYCH NA TLE PIŚMIENICTWA

Rodzinne występowanie czerniaka stwierdza się w około 3–15% wszystkich zdiagnozowanych przypadków tej choroby [12]. W ośrodku szczecińskim wśród 405 nieselekcjonowanych pacjentów rodzinna agregacja u krewnych I stopnia występowała w 12 przypadkach (3,6%) [13]. W części rodzin opisano współistnienie czerniaka oraz nowotworów złośliwych innych narządów, takich jak rak trzustki, rak piersi czy guzy ośrodkowego układu nerwowego [14–17]. Rodzinne agregacje czerniaka stanowią najprawdopodobniej heterogenną grupę przypadków o różnym typie dziedziczenia, w większości wielogenowym [18]. Nierzadko jednak dane rodowodowe części rodzin wskazują na dziedziczoną w sposób autosomalny i dominujący chorobę jednogenną o wysokiej penetracji.

Dotąd głównym genem dużego ryzyka jest gen supresorowy CDKN2A [OMIM ID*600160]. Uszkodzenia sekwencji CDKN2A – zarówno konstytucyjne, jak i somatyczne – prowadzą do rozwoju czerniaka oraz raka trzustki w przypadkach rodzinnej agregacji czerniaka i raka trzustki [19, 20]. Czerniak występuje istotnie częściej wśród nosicieli konstytucyjnych mutacji genu CDKN2A, a jego cechami charakterystycznymi są wieloogniskowość, występowanie w młodszym wieku oraz u wielu osób w rodzinie [20, 21]. Penetracja tego genu jest zmienna i zależy nie tylko od wieku, lecz także od położenia geograficznego [22]. W większości przypadków czerniaka mutacje germinalne genu CDKN2A nie są wykrywane, nawet w rodzinach z licznymi zachorowaniami. Dziedziczne uszkodzenia genu CDKN2A wykryto w 46% rodzinnych przypadków czerniaka we Francji, 18% w Stanach Zjednoczonych i 8% w Szwecji [23–25].

W ośrodku autorów niniejszej publikacji wśród 16 rodzin z silną rodzinną agregacją czerniaków oraz wśród 66 rodzin z silną rodzinną agregacją nowo-

tworów różnych narządów, w których występowały czerniaki i raki piersi, wykryto konstytucyjne zmiany genu CDKN2A jedynie w 6 rodzinach. Łącznie wykryto 2 różne zmiany w części kodującej genu CDKN2A – powtarzalny wariant A148T obecny w 5 rodzinach oraz R99G w 1 rodzinie [26].

Na podstawie przeglądu danych piśmiennictwa międzynarodowa grupa ekspertów z konsorcjum Genomel zaproponowała ostatnio kryteria kwalifikujące do pełnego molekularnego badania genu CDKN2A – tzw. regułę trzech: 1) występowanie 3 lub więcej pierwotnych ognisk czerniaka u pacjenta, 2) rozpoznanie tego nowotworu u przynajmniej 3 krewnych I lub II stopnia, 3) występowanie czerniaka i raka trzustki u przynajmniej 3 krewnych po tej samej stronie rodziny [27]. Spełnienie któregokolwiek z kryteriów upoważnia do rozpoczęcia badań. Młody wiek zachorowania nie jest wystarczający do przeprowadzenia badania genetycznego, co zgadza się z wynikami analiz przeprowadzonych w naszym ośrodku u 72 chorych na czerniaka rozpoznanego poniżej 40. roku życia – w grupie osób chorych nie znaleziono żadnej mutacji [28].

Przeprowadzone przez autorów kilka lat temu badania asocjacyjne częstych, powtarzalnych zmian genu CDKN2A wśród 471 nieselekcjonowanych chorych z rozpoznaniem czerniakiem oraz 1210 osób z grupy kontrolnej doprowadziły do uzyskania statystycznie istotnych danych wskazujących na zwiększenie ryzyka zachorowania na czerniaka jedynie dla wariantu A148T, związanego z niską penetracją [iloraz szans (ang. *odds ratio* – OR) = 2,5], nieznacznie większą w przypadkach zdiagnozowanych poniżej 50. roku życia (OR = 3,4). Sugeruje to, że zmiana A148T, uważana dotąd za niepatogenną, może predysponować do zachorowania na czerniaka [29]. Jako zmiana małego ryzyka nie wywołuje co prawda licznych zachorowań w rodzinie, jednak ryzyko to może się istotnie zwiększyć wskutek nakładania się negatywnych efektów spowodowanych akumulacją zmian występujących jednocześnie w kilku genach.

Niewielki odsetek przypadków wywołanych mutacjami genu CDKN2A oraz brak znaczenia klinicznego innych genów dużego ryzyka rozwoju czerniaka (mutacje genów ARF oraz CDK4 dotychczas znaleziono jedynie w kilku rodzinach na świecie) wskazują na konieczność identyfikacji nowych genów związanych z predyspozycją do tego nowotworu. Wyniki najnowszych badań wielośrodkowych dotyczących analiz sprzężeń genomu (GWAS) wykazały silny związek z czerniakiem trzech regionów chromosomowych: 16q24, 11q14-q21 i 9p21 [30]. Obecnie trwają dalsze badania nad identyfikacją potencjalnych genów-kandydatów znajdujących się w tych regionach.

Mutacje w genach dużego ryzyka wykrywa się na ogół rzadko. Znacznie częściej obserwuje się zachorowania na nowotwory bez rodzinnej agregacji typowej dla zespołów wywołanych uszkodzeniami genów dużego ryzyka. U podłoża molekularnego takich nowotworów leżą mutacje występujące w genach umiarkowanej – średniej lub niskiej predyspozycji. Współdziałanie takich mutacji w wielu genach oraz dodatkowo wpływ czynników środowiskowych może doprowadzić do dużego ryzyka zachorowania u pojedynczych osób w rodzinie.

Przeprowadzone w ośrodku badania własne dotyczące genu XPD sugerują umiarkowanie zwiększone ryzyko rozwoju czerniaka u nosicieli jednocześnie kilku częstych zmian. U 471 chorych z nieselekcjonowanymi czerniakami złośliwymi jednocześnie nosicielstwo dwóch częstych, powtarzalnych wariantów genu XPD – genotyp Lys751Gln_CC/Gly156Gly_CC – rozpoznano znamienne częściej niż w grupie kontrolnej chorych na czerniaka rozpoznanego powyżej 50. roku życia (OR = 1,7) [31].

Badania asocjacyjne dotyczące kolejnego genu – MC1R, przeprowadzono w grupie obejmującej 500 przypadków nieselekcjonowanych czerniaków. Znamienne częściej niż w grupie kontrolnej stwierdzono występowanie czterech powtarzalnych wariantów genu MC1R: R151C (15,4% czerniaków, OR = 2,9), V60L (18,2% czerniaków, OR = 1,8), R160C (19,3% czerniaków, OR = 1,8) oraz R163Q (7,8% czerniaków, OR = 2,1). U nosicieli powyższych wariantów czerniak istotnie częściej występował w okolicach skóry odsłoniętej na promieniowanie słoneczne. Nowotwór ten obserwowano również istotnie częściej u krewnych I stopnia nosicieli powyższych zmian. Stwierdzono znaczące obniżenie wieku zachorowania o prawie 6 lat u nosicieli dwóch lub więcej powtarzalnych wariantów genu MC1R [32].

Genotypowanie 630 chorych z nieselekcjonowanymi czerniakami oraz ponad 3700 osób z grup kontrolnych wskazało na związek powtarzalnej zmiany N991D genu BRCA2 z nieznacznie zwiększonym ryzykiem rozwoju tego nowotworu (OR = 1,8) [33]. Również według badaczy z *Breast Cancer Linkage Consortium* ryzyko wystąpienia czerniaka jest nieco ponad dwukrotnie zwiększone u nosicieli mutacji genu BRCA2 [34]. Wreszcie ostatnie badanie asocjacyjne dotyczące genu VDR wykonane w ośrodku autorów u 763 nieselekcjonowanych chorych wskazało na umiarkowanie zwiększone ryzyko rozwoju czerniaka (OR = 3,2) u nosicieli haplotypu rs731236_A + rs1544410_T tego genu [35].

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach zidentyfikowano wiele genów odpowiedzialnych za modyfikowanie ryzyka wystą-

pienia czerniaka. Obecnie w 72% przypadków kolejnych, nieselekcjonowanych czerniaków badanych w ośrodku autorów stwierdza się obecność co najmniej jednej z wyżej wymienionych zmian. Lista genów, których dziedzicznie przekazywane uszkodzenie wiąże się z dużym lub umiarkowanie zwiększonym ryzykiem zachorowania na ten nowotwór, obejmuje: CDKN2A, MC1R, XPD, BRCA2 i VDR. Do tej listy dołączane są wciąż nowe geny, których mutacje lub polimorfizmy mogą być traktowane jako wskaźniki ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej. Zmiany te można wykorzystać w diagnostyce do identyfikacji osób ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na czerniaka. Włączenie nowych zmian do diagnostyki oraz uzupełnienie programu badań okresowych o badania nosicieli mutacji związanych z predyspozycją do nowotworów ma ogromne znaczenie w profilaktyce nowotworowej i doborze optymalnego programu diagnostycznego, mającego na celu zmniejszenie liczby przypadków rozpoznawanych późno, w zaawansowanym stopniu klinicznym. W nieodległej przyszłości może mieć to również znaczenie w zwiększeniu skuteczności leczenia poprzez indywidualizację terapii.

Piśmiennictwo

1. Marret L.D., Nguyen H.L., Armstrong B.K.: Trends in the incidence of cutaneous malignant melanoma in New South Wales. 1983-1996. *Int J Cancer* 2001, 92, 457-462.
2. Jemal A., Devesa S.S., Hartge P., Tucker M.A.: Recent trends in cutaneous melanoma incidence among whites in the United States. *J Natl Cancer Inst* 2001, 93, 678-683.
3. Micheli A., Mugno E., Krogh V., Quinn M.J., Coleman M., Hakulinen T. i inni: Cancer prevalence in European registry areas. *Ann Oncol* 2002, 13, 840-845.
4. Armstrong B.K., Kricger A.: Cutaneous melanoma. *Cancer Survey* 1994, 19, 219-240.
5. Zatoński W., Tyczyński J.: Cancer in Poland in 2003. The Maria-Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center, Department of Epidemiology and Cancer Prevention, National Cancer Registry, Warsaw 2004.
6. Weinstock M.A.: Issues in the epidemiology of melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998, 12, 681-698.
7. English D.R.: Sunlight and cancer. Review. *Cancer Causes Control* 1997, 8, 271-283.
8. Whiteman D.C., Whiteman A.C., Green A.C.: Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma - a systematic review of epidemiological studies. *Cancer Causes Control* 2001, 12, 69-82.
9. Wachsmuth R.C., Harland M., Bishop J.A.: The atypical mole syndrome and predisposition to melanoma. *N Engl J Med* 1998, 339, 348-349.
10. Hemminki K., Li X., Plna K., Granström C., Vaittinen P.: The nation-wide Swedish family-cancer database - updated structure and familial rates. *Acta Oncol* 2001, 40, 772-7.
11. Goldgar D.E., Easton D.F., Cannon-Albright L.A., Skolnick M.H.: Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst* 1994, 86, 1600-1608.
12. Berwick M., Wiggins C.: The current epidemiology of cutaneous malignant melanoma. *Front Biosci* 2006, 11, 1244-1254.
13. Dębniak T.: Familial malignant melanoma - overview. *Hered Cancer Clin Pract* 2004, 2, 123-129.
14. Whelan A.J., Bartsch D., Goodfellow P.J.: Brief report: a familial syndrome of pancreatic cancer and melanoma with a mutation in the CDKN2 tumor-suppressor gene. *N Eng J Med* 1995, 33, 975-977.
15. Parker J.F., Florell S.R., Alexander A., DiSario J.A., Shami P.J., Leachman S.A.: Pancreatic carcinoma surveillance in patients with familial melanoma. *Arch Dermatol* 2003, 139, 1019-25.
16. Borg A., Sandberg T., Nilsson K., Johannsson O., Klincker M., Måsbäck A. i inni: High frequency of multiple melanomas and breast and pancreas carcinomas in CDKN2A mutation-positive melanoma families. *J Natl Cancer Inst* 2000, 92, 1260-1266.
17. Kaufman D.K., Kimmel D.W., Parisi J.E., Michels V.V.: A familial syndrome with cutaneous malignant melanoma and cerebral astrocytoma. *Neurology* 1993, 43, 1728-1731.
18. Tsao H.: Update on familial cancer syndromes and the skin. *J Am Acad Dermatol* 2000, 42, 939-971.
19. Hussussian C.J., Struwing J.P., Goldstein A.M., Higgins P.A., Ally D.S., Sheahan M.D. i inni: Germline p16 mutations in familial melanoma. *Nat Genet* 1994, 8, 15-21.
20. Kamb A., Shattuck-Eidens D., Eeles R., Liu Q., Gruis N.A., Ding W. i inni: Analysis of the p16 gene (CDKN2) as a candidate for the chromosome 9p melanoma susceptibility locus. *Nat Genet* 1994, 8, 22-26.
21. Grange F., Chompret A., Guilloud-Bataille M., Guillaume J.C., Margulis A., Prade M. i inni: Comparison between familial and nonfamilial melanoma in France. *Arch Dermatol* 1995, 131, 1154-1159.
22. Bishop D.T., Demenais F., Goldstein A.M., Bergman W., Bishop J.N., Bressac-de Paillerets B. i inni: Melanoma Genetics Consortium. Geographical variation in the penetrance of CDKN2A mutations for melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2002, 94, 894-903.
23. Soufir N., Avril M.F., Chompret A., Demenais F., Bombled J., Spatz A. i inni: Prevalence of p16 and CDK4 germline mutations in 48 melanoma-prone families in France. The French Familial Melanoma Study Group. *Hum Mol Genet* 1998, 7, 941.
24. FitzGerald M.G., Harkin D.P., Silva-Arrieta S., MacDonald D.J., Lucchina L.C., Unsal H. i inni: Prevalence of germ-line mutations in p16, p19ARF, and CDK4 in familial melanoma: analysis of a clinic-based population. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93, 8541-8545.
25. Platz A., Hansson J., Månsson-Brahme E., Lagerlof B., Linder S., Lundqvist E. i inni: Screening of germline mutations in the CDKN2A and CDKN2B genes in Swedish families with hereditary cutaneous melanoma. *J Natl Cancer Inst* 1997, 89, 697-702.
26. Dębniak T., Górski B., Scott R.J., Cybulski C., Medrek K., Zowocka E. i inni: Germline mutation and large deletion analysis of the CDKN2A and ARF genes in families with multiple melanoma or an aggregation of malignant melanoma and breast cancer. *Int J Cancer* 2004, 110, 558-562.
27. Leachman S.A., Carucci J., Kohlmann W., Banks K.C., Asgari M.M., Bergman W. i inni: Selection criteria for genetic assessment of patients with familial melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2009, 61, 1-14.
28. Dębniak T., van de Wetering T., Scott R., Nagay L., Cybulski C., Górski B. i inni: Low prevalence of CDKN2A/ARF mutations among early-onset cancers of breast, pancreas and malignant melanoma in Poland. *Eur J Cancer Prev* 2008, 17, 389-391.
29. Dębniak T., Scott R.J., Górski B., Cybulski C., van de Wetering T., Serrano-Fernandez P. i inni: The CDKN2A

- common variants and their association with melanoma risk: a population-based study. *Cancer Res* 2005, 65, 835-839.
30. **Bishop D.T., Demenais F., Iles M.M., Harland M., Taylor J.C., Corda E. i inni:** Genome-wide association study identifies three loci associated with melanoma risk. *Nat Genet* 2009, 49, 920-925.
 31. **Dębniak T., Scott R.J., Huzarski T., Byrski T., Masojć B., van de Wetering T. i inni:** XPD common variants and their association with melanoma and breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 2006, 98, 209-215.
 32. **Dębniak T., Scott R., Masojć B., Serrano-Fernández P., Huzarski T., Byrski T. i inni:** MC1R common variants, CDKN2A and their association with melanoma and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2006, 119, 2597-602.
 33. **Dębniak T., Scott R.J., Górski B., Cybulski C., van de Wetering T., Serrano-Fernandez P. i inni:** Common variants of DNA repair genes and malignant melanoma. *Eur J Cancer* 2008, 44, 110-114.
 34. **The Breast Cancer Linkage Consortium:** Cancer risk in BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91, 1310-1316.
 35. **Gapska P., Scott R.J., Serrano-Fernandez P., Mirecka A., Rassoud I., Górski B. i inni:** Vitamin D receptor variants and the malignant melanoma risk: a population-based study. *Cancer Epidemiol* 2009, 33, 103-107.

Otrzymano: 30 III 2011 r.

Zaakceptowano: 26 V 2011 r.