

Zarodne in somatske mutacije kožnega melanoma

Genes implemented in cutaneous melanoma development

Barbara Perić

Povzetek

Vsaka celica telesa ima svoj lasten genski zapis. Kakšen je ta zapis in kako se prevede v beljakovine je odvisno od zarodnih sprememb genov in od vplivov okolja. Genski zapis je osnova za nastanek, razumevanje in dandanes tudi zdravljenje raka. V zadnjih dveh desetletjih so bili melanociti in kožni melanom, ki nastane iz njih predmet številnih molekularnogenetskih raziskav. Tako vemo, da med osebami z družinsko obremenitvijo za kožni melanom najpogosteje odkrijemo patogeno različico *CDKN2A* gena ob kateri je zvišano tako tveganje za kožni melanom kot za rak trebušne slinavke. Ko govorimo o somatskih mutacijah, je gotovo najbolj znana *BRAF*^{V600E} mutacija, ki predstavlja enega prvih dogodkov v patogenezi kožnih melanomov nastalih na intermitentno soncu izpostavljeni koži.

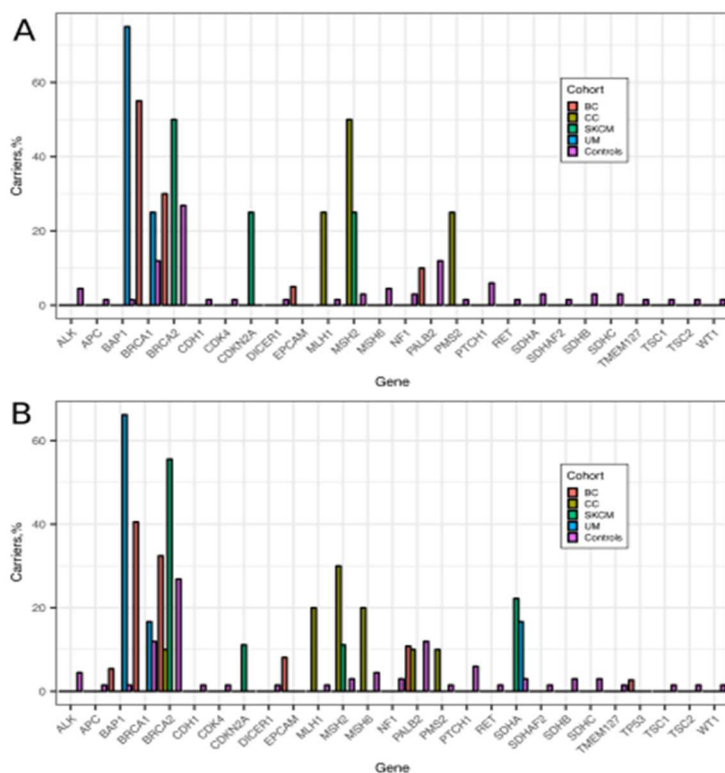
Ključne besede: melanom, *CDKN2A*, *BRAF*

Uvod

Genska predispozicija, dejavniki iz okolja in staranje vodijo v nastanek raka. Izraz genska predispozicija običajno pomeni prisotnost zarodne patogene različice gena, ki je dokazano povezana z nastankom določene vrste raka. Takih genov poznamo več kot 100. Mehanizem nastanka, kjer zarodna patogene različica gena skupaj s somatskimi mutacijami, ki nastajajo zaradi vplivov okolja, vodi v nastanek rakavih celic je raziskan tudi pri kožnem melanomu (KM). Predstavili bomo najpomembnejše zarodne patogene različice in klinično pomembne somatske mutacije ter program genskega svetovanja in testiranja, ki poteka v Ambulanti za onkološko genetsko svetovanje Onkološkega inštituta Ljubljana.

Zarodne mutacije

Knudsonova »second hit« hipoteza predvideva, da zarodna patogene različica gena s kopičenjem mutacij pod vplivom okolja vodi v nastanek raka. Zarodne patogene različice gena so v splošni populaciji redke, pogosteje pa jih odkrijemo pri posameznikih z rakom in obremenilno družinsko anamnezo (Slika 1).



Supplementary Figure 3. Carriers distribution across genes with at least 1 PTV. **(A)** Selected cases and controls; **(B)** Selected+unselected cases and controls.

BC – breast cancer, CC – colon cancer, SKCM – skin cutaneous melanoma, UM – uveal melanoma

Slika 1: Pogostost patogenih različic med onkološkimi bolniki in splošno populacijo

Znane zarodne patogene različice genov, ki zvečajo tveganje za (KM) in nekatere druge rake so naveden v Tabeli 1.

Gen	Drugi raki
<i>ACD</i>	/
<i>BAP1</i>	Melanom uvee, mezoteljom, ledvični rak, holangiokarcinom, BAP inaktiviran melanom
<i>CDK4</i>	/
<i>CDKN2A</i>	Trebušna slinavka, tumorji ČŽS
<i>MITF</i>	Ledvični rak
<i>POT1</i>	Gliom
<i>TERF2IP</i>	/
<i>TERT</i>	/

Tabela 1: Geni ter drugi raki, ki se pojavljajo v družinah z visokim tveganje za KM

V družinah s KM najpogosteje odkrijemo mutacijo *CDKN2A*. Ta je prisotna pri 10% družin z dvema obolelima članoma ter pri 30-40% družin s 3 ali več člani s KM. Prisotnost patogenih različic tega gena je v splošni populaciji bolnikov s KM je nizka, giba se med 0.2 in 2% primerov. Ne zbolijo pa vsi nosilci patogene različice, penetranca le teh je odvisna od geografske lege populacije in je v Evropi višja kot v Avstraliji. Poleg visokopenetrantnega gena *CDKN2A* pa večje tveganje za pojav KM pripisujemo tudi nizkopenetrantnim genom kot je *MC1R* z zapisom za melanokortinski receptor.

Ob sumu na genetsko predispozicijo bolnika z novoodkritim KM napotimo na genetsko svetovanje in testiranje v Ambulanto za onkološko genetsko svetovanje Onkološkega inštituta Ljubljana. Posvet opravimo, če so izpolnjeni naslednji kriteriji:

- KM 2 sorodnika v prvem kolenu
- 2 s KM v družini, če je eden od bolnikov zbolel z več primarnimi KM ali ima sindrom atipičnih nevusov
- družina s ≥ 3 sorodniki z KM

Ob informiranem pristanku bolnika krvni vzorec za določitev patogenih različic genov odvzamemo ob nekoliko strožjih pogojih:

- posameznik z ≥ 3 KM
- 3 s KM v I. ali II. kolenu sorodstva
- 2 s KM in bolnik z rakom trebušne slinavke v I. ali II. kolenu sorodstva
- s KM in 2 bolnika z rakom trebušne slinavke v I. ali II. kolenu sorodstva
- melanom žilnice (uvea)
- BAP 1-inaktiviran nevus

Če je prisotnost patogene različice *CDKN2A* potrjena, posamezniku predlagamo program zgodnjega odkrivanja raka trebušne slinavke in zgodnjega odkrivanja KM v skladu z mednarodnimi priporočili.

Somatske mutacije

Somatske mutacije odražajo raznolikost malignih tumorjev. Če ima večina tumorjev v povprečju 4 nonsilent somatske mutacije na Mb genoma, je pogostost teh pri KM in ploščatoceličnem raku kože znatno višja > 100 mutacij/MB. Somatske mutacije KM potrjujejo vzročno povezavo z izpostavljenostjo UV žarkom. Pod vplivom žarkov nastajajo namreč karakteristične poškodbe genoma, t.i. C→T podpis. V preteklosti se je na podlagi epidemioloških raziskav, ki so pri bolnikih s KM beležile tudi vzorec izpostavljenosti UV, izoblikovala teorija o različnih tipih KM. Teorijo so potrjevala tudi patohistološka opazovanja. Govorili smo o povrhnje rastočem KM kot posledica kronične izpostavljenosti UV, na drugem koncu spektra pa je bil nodularni KM na UV žarkom redko izpostavljenih mestih z visoko intermitentno količino UV. V zadnjem desetletju je na podlagi teh opazovanj nastala teorija o KM kot skupku bolezni, tako po patohistoloških in kot po bioloških lastnostih.

Znanje je dozorelo v obliki 4. izdaje WHO klasifikacije tumorjev kože, ki je melanocitne tumorje razdelila v 9 skupin glede na izpostavljenost UV žarkom, vodilne somatske mutacije in zaporedje nadaljnjih dogodkov, ki vodijo v nastanek KM. Slika 2 prikazuje delitev melanoma glede na izpostavljenost UV žarkom in spekter somatskih mutacij.

Table 2.06 Classification of melanomas and precursor lesions on the basis of epidemiological, clinical, pathological, and genomic attributes

Pathway	Low UV radiation exposure /CSD				High UV radiation exposure /CSD	
	I				II	III
Endpoint of pathway	Low-CSD melanoma /SSM				High-CSD melanoma /LMM	Desmoplastic melanoma
Benign neoplasms (naevi)	Naevus				? IMP	? IMP
Intermediate / low-grade dysplasias and melanocytomas	Low-grade dysplasia	BIN	DPN		? IAMP/dysplasia	? IAMP/dysplasia
Intermediate / high-grade dysplasias and melanocytomas	High-grade dysplasia /MIS	BAP1-inactivated melanocytoma / MELTUMP	Deep penetrating melanocytoma / MELTUMP	PEM /MELTUMP	Lentigo maligna (MIS)	MIS
Malignant neoplasms	Low-CSD melanoma /SSM (VGP)	Melanoma in BIN (rare)	Melanoma in DPN (rare)	Melanoma in PEM (rare)	LMM (VGP)	Desmoplastic melanoma
Common mutations ^{a,b}	BRAF p.V600E or NRAS	BRAF or NRAS + BAP1	BRAF, MAP2K1, or NRAS + CTNNB1 or APC	BRAF + PRKAR1A or PRKCA	NRAS, BRAF (non-p.V600E); KIT, or NF1	NF1; ERBB2; MAP2K1; MAP3K1; BRAF; EGFR; MET
	TERT, CDKN2A; TP53, PTEN				TERT, CDKN2A; TP53, PTEN, RAC1	TERT; NFKBIE; NRAS; PIK3CA; PTPN11

BIN, BAP1-inactivated naevus; **BN** blue naevus; **CBN**, cellular blue naevus; **CN**, congenital naevus; **CSD**, cumulative sun damage; **DPN**, deep penetrating naevus; **IAMP**, intraepidermal atypical melanocytic proliferation; **IAMPUS**, intraepidermal atypical melanocytic proliferation of uncertain significance; **IMP**, intraepidermal melanocytic proliferation without atypia; **LMM**, lentigo maligna melanoma, low/high-CSD melanoma, melanoma in skin with a low/high degree of cumulative sun damage; **MELTUMP**, melanocytic tumour of uncertain malignant potential; **MIS**, melanoma in situ; **PEM**, pigmented epithelioid melanocytoma; **SSM**, superficial spreading melanoma; **STUMP**, spitzoid tumour of uncertain malignant potential; **UV**, ultraviolet; **VGP**, vertical growth phase (tumorigenic and/or mitogenic melanoma).

Slika 2: WHO klasifikacija melanocitnih tumorjev (prve 3 skupine)

WHO v grobem razdeli melanocitne tumorje na tiste z visoko kronično izpostavljenostjo (cumulative sun damage, CSD) in tiste z nizko CSD. Za patogenezo tumorjev z nizko CSD, ki pogosto vzniknejo iz nevusov, je pomembna *BRAF*^{V600E} mutacija kot eden prvih dogodkov v kaskadi, ki vodi v nastanek KM. Kot kontrast temu tumorji z visoko CSD pogosteje nastanejo *de novo* in imajo pester spekter z MAPK signalno potjo povezanih mutacij. Novejše raziskave somatskih mutacij melanocitov teorijo potrjujejo in kažejo, da se melanociti določeno področje kože naselijo po modelu klonske ekspanzije – melanociti določenega območja imajo identične somatske mutacije. Spekter somatskih mutacij melanocitov nastalih zaradi izpostavljenosti

UV je pester, če naštejemo samo patogene so to *BRAF*, *CBL*, *MAP2K1*, *NFI*, *RASA2*, *NRAS*, *CDKN2A*, *PPP6C*, *ARID2*, *PTEN*.

Prepoznavanje somatskih mutacij KM pa ima tudi širši kliničen pomen. Znano je, da je somatska *BRAF* mutacija prisotna pri približno 60% KM v času napredovale bolezni. Prisotnost mutacije omogoča bolnikom zdravljenje z *BRAF*/MEK zaviralci ali t.i. tarčno zdravljenje. Samo število somatskih mutacij je prav tako pomemben dejavnik uspešnosti zdravljenja. Tumorji z visokim bremenom mutacij (> 17mut/MB) tvorijo namreč številne antigene, to pa omogoča učinkovito zdravljenje z imunoterapijo.

Sodobno onkološko zdravljenje narekuje individualen pristop s poudarkom na bolnikovih lastnostih, zmogljivosti, pričakovanjih in željah. Začetek načrtovanja tovrstnega zdravljenja omogoča ustrezna patohistološka opredelitev KM skupaj z določitvijo molekularno genetskih lastnosti celic. Le zdravljenje, ki upošteva vse te dejavnike omogoča uspešno izboljšanje preživetja ob visoki kvaliteti življenja.

Literatura

1. Artomov M, Joseph V, Tiao G, et al. Case-control analysis identifies shared properties of rare germline variation in cancer predisposing genes. *Eur J Hum Genet.* 2019;27(5):824-828.
2. Genetics of familial melanoma: 20 years after *CDKN2A* Lauren G. Aoude, Karin A. W. Wadt, Antonia L. Pritchard and Nicholas K. Hayward
3. Elder DE, Massi D, Scolyer RA, Willemze R. WHO Classification of Skin Tumours. 4th edn. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2018
4. Tang J, Fewings E, Chang D, et al. The genomic landscapes of individual melanocytes from human skin [published correction appears in *Nature*. 2021