

КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

П.А. Черненко^{1,2}, С.Б. Петерсон², Л.Н. Любченко¹

¹ НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

² ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития России, г. Москва

Ключевые слова: наследственная меланома кожи, спорадическая меланома кожи, гены *CDKN2A*, *CDK4*

Меланома кожи (МК) является этиологически гетерогенным заболеванием, его развитие связано с воздействием как средовых, так и генетических факторов. Примерно 5–10% случаев МК наблюдаются в семьях, имеющих генетическую предрасположенность к данному заболеванию. Герминальные мутации гена *CDKN2A* обнаруживают в 20–50% таких семей. Данный обзор посвящен анализу изменений генов с высокой (*CDKN2A*, *CDK4*) и низкой (*MC1R*, *XPA* и др.) пенетрантностью, ассоциированных с риском развития МК, а также ранней диагностике и прогнозу течения заболевания.

Меланома кожи – одно из наиболее агрессивных злокачественных новообразований с вариабельным и зачастую непредсказуемым клиническим течением, склонностью к быстрому распространению процесса и устойчивостью к большинству применяемых методов лечения. По данным ВОЗ, заболеваемость МК неуклонно и прогрессивно растет во всем мире и занимает лидирующие позиции по увеличению числа новых случаев по сравнению с опухолями других локализаций. С этиологической точки зрения МК является гетерогенным заболеванием. К основным факторам риска развития МК относят длительную интенсивную инсоляцию, фенотипические характеристики (цвет кожи и волос), количество, тип и локализацию меланоцитарных невусов, а также личный или семейный анамнез МК. Понимание механизмов, приводящих к развитию и прогрессированию МК, позволит разработать методики молекулярно-генетической диагностики и новые средства таргетной терапии.

Заболеваемость меланомой кожи

По данным разных авторов, в структуре онкологической заболеваемости МК составляет 1–3% и не превышает 10% среди всех злокачественных новообразований кожи. При этом на долю МК приходится до 80% летальных исходов от злокачественных новообразований кожи [1, 2].

Рост заболеваемости МК отмечен практически во всех регионах мира и за последние 40 лет составил примерно 5% в год [3]. В 2008 г. в США диагностировано 62 000 больных с МК [4]. В России в 2007 г. зарегистрировано 7732 вновь выявленных случаев МК. Показатели заболеваемости составляют 3,6 случая на 100 тысяч мужчин и 4,2 случая на 100 тысяч женщин. С 2002-го по 2007 г. прирост абсолютного числа заболевших составил 17%. В большинстве регионов России у женщин МК встречалась чаще, чем у мужчин. Максимальные стандартизованные показатели заболеваемости МК в 2007 г. зарегистрированы в Камчатской области – 6,3 на 100 000 мужчин и 7,6 на 100 000 женщин, в Карелии – 5,2 и 6,7 на 100 000, в Санкт-Петербурге – 4,6 и 6,7 на 100 000; минимальные – у лиц обоего пола в Хакасии, Дагестане, Кабардино-Балкарии, Чувашии, Калмыкии, а также у мужчин в Якутии: 0,9–2,1 на 100 000.

В структуре онкологической заболеваемости нашей страны смертность от данной патологии составляет 1,8 на 100 тысяч мужчин и 1,4 на 100 тысяч женщин. С 2002-го по 2007 г. был отмечен рост смертности мужского населения от МК, который достиг 20%. При этом МК заняла первое место по приросту смертности у женщин (16,7%) [5].

Учитывая эти данные, МК может рассматриваться как социально значимое заболевание и требует комплексного подхода к изучению этиологии и патогенеза, методов ранней диагностики и своевременного лечения с учетом индивидуального генотипа, а также разработки и внедрения в практику профилактических мероприятий.

Адрес для корреспонденции

Любченко Л.Н.

E-mail: clingen@mail.ru

История изучения меланомы кожи

Доказательства существования МК в древности подтверждают палеопатологи, которые обнаружили диффузное поражение костей и округлые меланоцитарные массы в коже перуанских мумий IV столетия н.э. [6]. Первое описание меланомы встречается в трудах Гиппократ, назвавшего ее «смертельной черной болезнью» (V век н.э.). Никакой убедительной информации в течение последующих почти полутора тысяч лет в литературе не встречается вплоть до XVII–XVIII веков, когда европейские исследователи описали это заболевание как «смертельную черную опухоль с метастазами и черной жидкостью в теле» [7]. И только в 1804 г. французский врач Ren Laennec, будучи еще студентом, выступил с докладом, посвященным данной проблеме, на медицинском факультете Парижского университета, а в 1805 году опубликовал труд «La melanose», в котором дал детальную характеристику этого заболевания [8].

Врач общей практики William Norris, изучавший МК, предположил, что она может иметь наследственную природу, и в 1820 году издал рукопись, посвященную описанию семьи с многочисленными атипичными невусами, а также характеристике семей с наличием метастатических поражений [9]. И наконец, в 1838 г. Robert Carswell впервые использовал медицинский термин «меланома» по отношению к злокачественному пигментному поражению кожи [6]. Развитие молекулярной генетики в течение последних 20 лет подтвердило теорию W. Norris о существовании генетически детерминированной меланомы, а описанный доктором клинический случай теперь рассматривается в рамках синдрома множественных диспластических невусов, ассоциированного с меланомой (FAMMM-синдром, Familial Atypical Multiple Mole Melanoma syndrome). В последующем в 1992 г. с развитием молекулярно-биологических технологий в семьях с FAMMM-синдромом были идентифицированы герминальные мутации в гене *CDKN2A* [10, 11].

Наследственная предрасположенность к меланоме кожи

МК является этиологически гетерогенным заболеванием, его развитие связано с воздействием как средовых, так и генетических факторов. Среди всех факторов риска развития МК определяющее значение имеет взаимосвязь между генетически детерминированным кожным фенотипом и УФ-радиацией. Однако расположение многих очагов меланомы на участках кожи, не подвергающихся регулярной солнечной экспозиции, свидетельствует о том, что эта связь не является специфической.

Выделяют спорадическую и наследственную формы МК. Если в семье пациента отсутствуют случаи заболевания данной патологией, речь идет

о спорадической форме (90%). В тех случаях, когда имеет место накопление случаев МК в семье, МК называют наследственной (семейной, генетически-ассоциированной) (5–14%) [12]. В этом случае заболевание обусловлено герминальными мутациями в генах предрасположенности с возможностью наследования структурных перестроек последующими поколениями в соответствии с классическими законами Менделя [13, 14]. Было установлено, что наличие семейной истории МК увеличивает риск развития опухоли у здоровых членов семьи.

По данным литературы, частота МК у близких родственников больных данной патологией составляет от 8 до 14%. Речь о семейной истории МК идет в том случае, если поражены два и более родственника первой степени родства [15] или у трех членов семьи диагностирована МК (независимо от степени родства) [16, 17]. Семейное накопление МК также отмечается в 5–10% случаев в географических регионах с высоким уровнем заболеваемости МК [16].

На основании проведенных многочисленных исследований были установлены основные клинические критерии семейной МК:

- ранний возраст возникновения заболевания: медиана возраста манифестации составляет 36 лет у мужчин и 29 лет у женщин при наследственной форме по сравнению с 57 годами у мужчин и 59 годами у женщин при спорадической форме. В 10% случаев семейная МК диагностируется в возрасте 20 лет, тогда как спорадические случаи МК выявляются в этом возрасте лишь в 2% случаев [12];

- наличие большого количества пигментных невусов на коже;

- первично-множественные очаги поражения МК: частота первично-множественной МК составляет 30% при наследственной по сравнению с 4% при спорадической МК [12].

По клиническим, фенотипическим и гистологическим параметрам семейная МК не отличается от спорадической, тогда как ранний возраст манифестации и множественный характер поражения встречаются чаще именно при наследственной форме [18].

В течение последних десятилетий с использованием сегрегационного анализа и сравнительной геномной гибридизации были картированы гены, вовлеченные в наследственный и спорадический канцерогенез МК, такие как *CDKN2A*, *CDK4*, *MC1R*, *BRAF*, *NRAS*, *c-KIT*, *PTEN* и др.

Гены, ответственные за развитие семейной формы МК, разделяют на 2 большие группы: гены с высокой пенетрантностью и гены с низкой пенетрантностью.

Высокопенетрантные гены

Ген *CDKN2A* (9p21) (*p16/INK4A/CDKN2A/Multi Tumor-Suppressor MTS1/cyclin-dependent kinase*)

inhibitor 2A) (OMIM № 600160). Превалирующее значение в развитии наследственной формы МК принадлежит гену *CDKN2A*, мутации которого наблюдаются, по данным разных авторов, в 20–50% случаев, особенно в семьях, в которых у трех и более лиц диагностирована МК [19, 20].

Ген *CDKN2A* принадлежит к семейству генов-супрессоров опухолевого роста и относится к группе «хранителей клеточного цикла». Он расположен на коротком плече 9-й хромосомы и состоит из четырех экзонов: 1 α , 1 β , 2 и 3 (рис. 1).

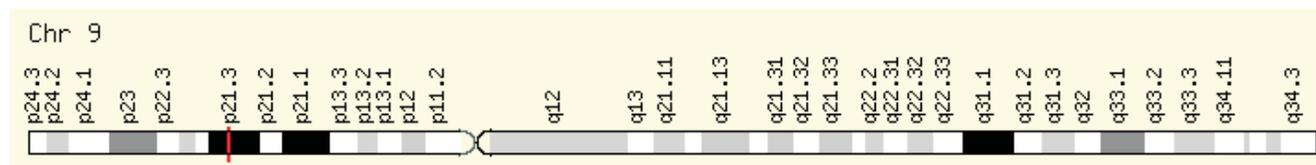


Рис. 1. Схематическое изображение расположения гена *CDKN2A* на 9-й хромосоме [21]

Этот ген является уникальным среди других генов человека, так как кодирует два разных белка P16Ink4A (экзоны 1 α , 2 и 3) и P14ARF (экзоны 1 β , 2 и 3), посредством которых влияет на два сигнальных пути, отвечающих за регуляцию клеточного цикла: p53 (TP53, OMIM № 191170) и RB1 (OMIM № 614041) (рис. 2, 3) [22].

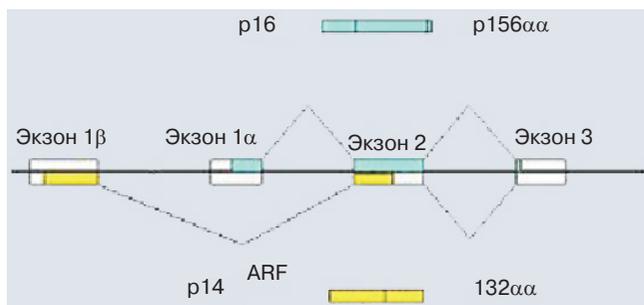


Рис. 2. Локус и транскрипты гена *CDKN2A* [15]

Герминальные мутации в одном из двух аллелей гена *CDKN2A* ассоциированы с наследственной предрасположенностью к развитию МК. Часть из этих мутаций инактивирует только *CDKN2A/p16*, не нарушая функцию *CDKN2A/p14ARF*.

Частота мутаций гена *CDKN2A*, так же как и заболеваемость МК, варьирует в различных географических регионах – отмечаются более низкие показатели в Европе по сравнению с Северной Америкой. В противовес этому Goldstein А.М. с соавторами провели сравнительный анализ результатов многочисленных исследований в различных странах мира с оценкой количества семей и пациентов с МК – носителей мутации гена *CDKN2A* [24]. В общей сложности было оценено 385 семей, в каждой из которых было выявлено ≥ 3 больных МК (всего 1720 пациентов). Мутации гена *CDKN2A*

были обнаружены в 39% семей (n=150). Частота мутаций варьировала от 20% (32/162) в Австралии до 45% (29/65) в Северной Америке и 57% (89/157) в Европе. Примечательно, что низкая частота мутаций гена *CDKN2A* – 20% – наблюдалась в Австралии, регионе с наиболее высокими показателями заболеваемости – 38,5 на 100 000 мужчин, 29,5 на 100 000 женщин, что в свою очередь подтверждает теорию об определяющей роли УФ-радиации. Тогда как наиболее высокая частота мутаций наблюдалась в Европе (57%), регионе с самыми низкими показателями

заболеваемости (7,3/100 000 среди мужчин; 10/100 000 среди женщин). Результаты, по мнению авторов, связаны с различным сочетанием индивидуальных, генетических, семейных и внешнесредовых факторов риска.

По данным проведенного международного исследования семей,отягощенных МК, носители мутаций *CDKN2A/p16* имели значительно повышенный риск развития МК, равный 58% в Великобритании, 76% в США и 91% в Австралии. И хотя жители Англии и Австралии схожи генетически, уровни УФ-экспозиции в этих регионах совершенно разные, что может обуславливать различную пенетрантность мутаций *CDKN2A/p16* в английских и австралийских семьях.

Ген *CDKN2A/p16/INK4A/MTS1* играет важную роль в процессе канцерогенеза. У мышей с отсутствием экспрессии гена *CDKN2A/p16* в раннем возрасте часто развиваются фибросаркомы и лимфомы, а также повышена чувствительность к канцерогенам [25].

Белок p16 – ингибитор циклинзависимых киназ – является участником сигнального пути Rb/cyclinD/cdk4/p16INK4a [26]. Связываясь с киназами cdk4/6, p16 нарушает их взаимодействие с циклином D [27]. Ингибирование функций циклинзависимых киназ приводит к гипофосфорилированию белка pRB, что снижает экспрессию E2F-зависимых генов. В результате блокируется переход клетки из фазы G1 в фазу S [25, 28, 29], осуществляя контроль клеточного деления и пролиферации (рис. 3).

МК, ассоциированная с мутациями в гене *CDKN2A/p16*, имеет аутосомно-доминантный тип наследования. Вероятность передачи в соответствии с законами Менделя мутаций гена *CDKN2A/p16* детям составляет 50%.

Более половины герминальных мутаций *CDKN2A/p16*, ответственных за развитие генетически-ассоци-

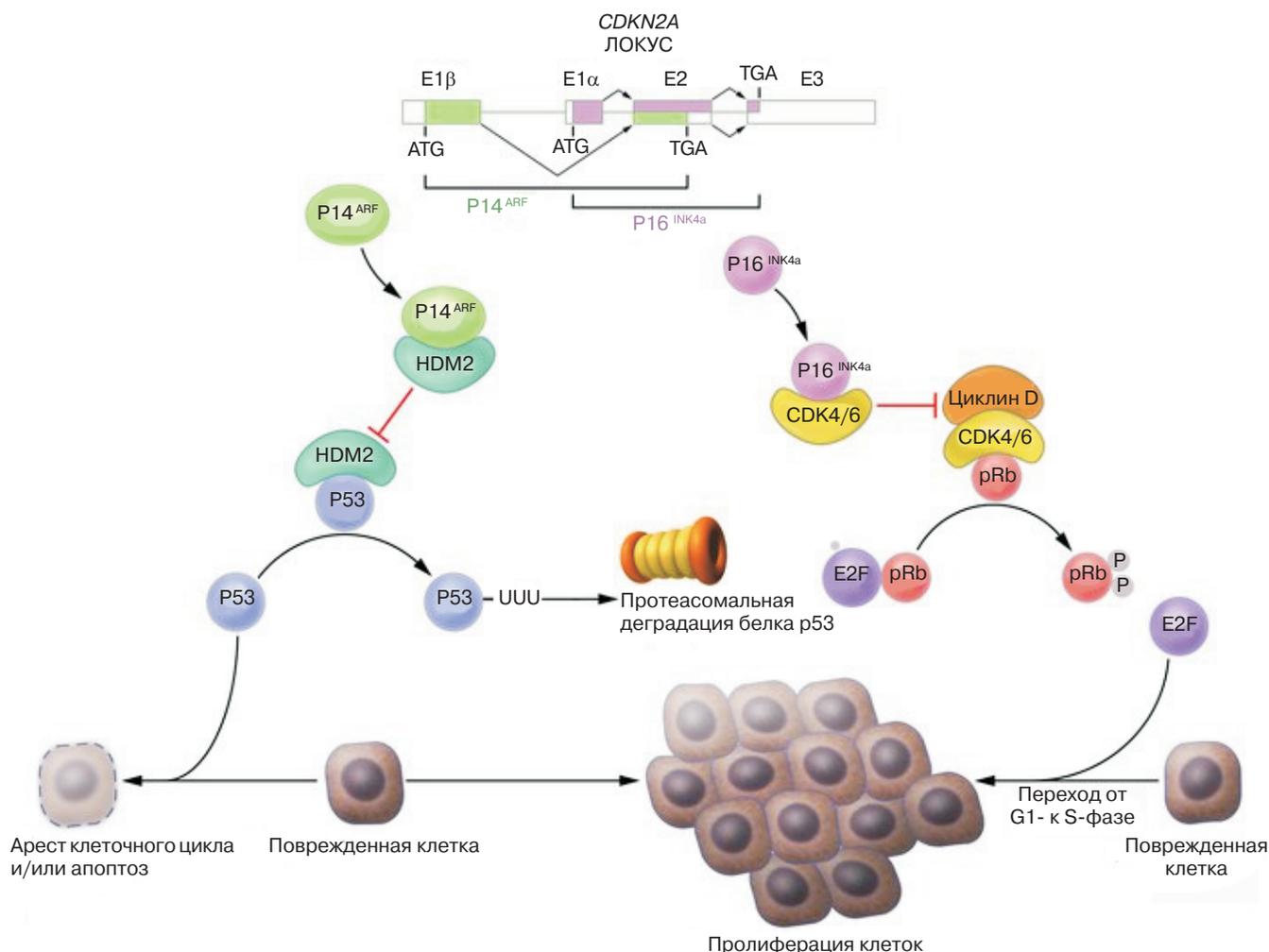


Рис. 3. Схема регуляции гена *CDKN2A* [23]

ированной МК, представляют собой миссенс-мутации, а также часто встречаются делеции и мутации со сдвигом рамки считывания (рис. 4).

Спектр злокачественных новообразований, наблюдающийся в семьях с мутациями в гене *CDKN2A/p16*,

p16, включает как спорадическую, так и семейную формы МК, рак поджелудочной железы, увеальную меланому, астроцитому и, по некоторым данным, рак молочной железы. Отмечено также участие этого гена в развитии глиомы, рака легких, Т-кле-

Типы герминальных мутаций *CDKN2A*



Спектр герминальных мутаций *CDKN2A (p16)*

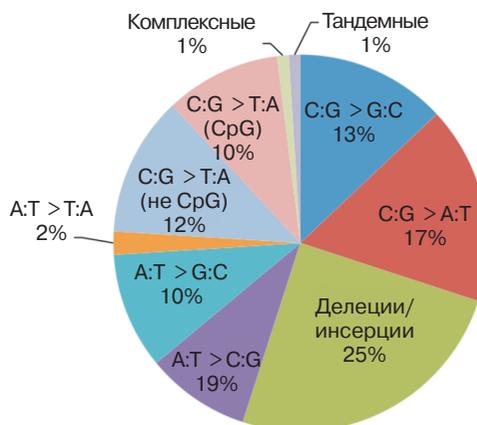


Рис. 4. Типы и спектр герминальных мутаций *CDKN2A/p16* [30, 31]

точного и В-клеточного лейкозов. Имеются данные, что у носителей мутаций в гене *CDKN2A/p16* риск развития рака поджелудочной железы повышен в 13–22 раза [32].

Частота мутаций гена *CDKN2A/p16* возрастает с увеличением количества членов семьи, больных МК. При наличии в одной семье двух родственников с МК частота обнаружения мутаций составляет около 5%, тогда как в семьях, в которых у шести и более членов диагностирована МК, частота превышает 50% (табл. 1).

Таблица 1. Вероятность наличия мутации гена *CDKN2A/P16* [34–36]

Фактор риска	Вероятность наличия мутации гена <i>CDKN2A/P16</i>
Лица, имеющие первично-множественную меланому	15%
Лица, у которых два родственника первой степени родства поражены меланомой	5%
Семьи, в которых у шести и более членов диагностирована меланомы	> 50%

Примерно у 9–15% пациентов с первично-множественной МК обнаруживают герминальные мутации, хотя их семейный анамнез не отягощен [33] (табл. 2). Эти данные позволяют предположить, что семейный анамнез МК не является достоверным маркером наличия мутации гена *CDKN2A*. По данным Hashemi J. с соавторами, количество первично-множественных МК у носителей герминальных мутаций гена *CDKN2A* было значительно выше, чем у пациентов с диким типом данного гена [37]. Авторами был сделан вывод, что мутационный скрининг на наличие герминальных мутаций гена *CDKN2A* у пациентов с первично-множественной МК должен быть включен в алгоритм клиничко-генетической диагностики. Наряду с этим имеется необходимость внедрения профилактических программ, направленных на снижение риска развития МК у членов семей пациентов с множественной МК.

В этой же работе было проведено исследование ДНК 80 пациентов из Швеции с первично-множественной МК при помощи SSCP-анализа в сочетании с секвенированием на наличие герми-

нальных мутаций всей кодирующей части гена *CDKN2A* (табл. 3). У девяти (11%) пациентов были обнаружены герминальные мутации. Для части из них было показано клиническое значение. В 66,7% (у 6 из 9 пациентов) выявлена мутация 113insR во 2-м экзоне гена, которая была зарегистрирована ранее в семьях пациентов с МК из Стокгольма и южной части Швеции. Для этой мутации показаны сегрегация с накоплением МК в семьях и функциональная значимость. У одного больного была обнаружена ранее не описанная мутация ins28T в 1-м экзоне, которая приводит к сдвигу рамки считывания и стоп-сигналу в кодоне 43, в результате образуется нефункциональный белковый продукт с измененной последовательностью. Также в одном случае была выявлена ранее не описанная делеция 24 пар оснований, затрагивающая 62–69-й кодоны 2-го экзона гена *CDKN2A*. В результате проведения анализа *in vitro* было продемонстрировано, что данная делеция является функционально значимой. И наконец, у одного пациента была обнаружена единичная нуклеотидная замена 214C/T в некодирующей части 5'-конца. На настоящий момент данные о ее функциональном значении отсутствуют. Тем не менее авторы считают, что эта замена не является полиморфизмом, поскольку не была зарегистрирована ни в одном из ~300 исследованных на наличие структурных перестроек гена *CDKN2A* образцов крови. Кроме того, имеются сведения, что герминальные мутации, затрагивающие 5'-конец гена *CDKN2A*, могут иметь клиническое значение и ассоциированы с предрасположенностью носителей к МК [38, 39].

N. Hayward суммировал данные основных исследований, касающиеся происхождения наиболее часто встречающихся мутаций в гене *CDKN2A*. Отмечены популяционные различия выявленных мутаций в зависимости от национальной принадлежности (табл. 4) [10].

Стоит отметить, что мутации в гене *CDKN2A* обнаруживают также и при спорадической МК, однако их частота невелика – всего 1–2% [40]. Большая часть соматических мутаций гена представлена миссенс- и нонсенс-вариантами, а также мутациями со сдвигом рамки считывания [41, 42] (рис. 5). Гомозиготные делеции этого гена обнаруживаются в 19% случаев опухолей, в то время как точечные мутации составляют не более 3% [43]. За время

Таблица 2. Частота мутаций *CDKN2A/p16* у пациентов с первично-множественной МК [10]

Исследование	Общее количество пациентов	Количество пациентов с мутациями (%)	Количество пациентов с семейной историей меланомы
Monzon et al. (1998)	33	5 (15%)	3
MacKie et al. (1998)	17	2 (12%)	0
Hashemi et al. (2000)	80	8 (10%)	7
Auroy et al. (2001)	100	9 (9%)	0

Таблица 3. Герминальные нарушения *CDKN2A/p16* у лиц с первично-множественной меланомой кожи [37]

Локализация		Структурные изменения	Клиническое значение	Количество пациентов	Количество пациентов с семейной историей меланомы
Промотор	Некодирующий регион	214С/Т – замена	Неизвестно	1	0
Экзон 1	Кодон 28	ins28Т – вставка	Да (?)	1	0
Экзон 2	Кодон 62–69	del62–69 – делеция	Да	1	1
	Кодон 113	113insR – вставка	Да	6 а	6
	Кодон 148	A148Т – замена (полиморфный вариант)	Нет	7а	1

^а У одного пациента были выявлены мутация 113insR и полиморфный вариант A148Т.

Таблица 4. Происхождение некоторых ключевых герминальных мутаций в гене *CDKN2A/p16* [10]

Исследование	Мутация	Основная популяция	Происхождение
Gruis et al. (1995)	'p16-Leiden' ^а	Нидерланды	Голландцы
Borg et al. (1996)	insR113	Юг Швеции	Шведы
MacKie et al. (1998)	M53I	Шотландия	Шотландцы
Liu et al. (1999)	G-34T ^б	Канада	Британцы
Ciotti et al. (2000)	G101W	Лигурия (Италия)	«Кельты»
Goldstein et al. (2001)	V126D	Северная Америка	Немцы/Англичане

^а Удаление 19 пар оснований во 2-м экзоне, приводящее к образованию химерного белка, состоящего из 1N-концевой области p16 и C-концевой области p14ARF.

^б Замещение гуанина на тимидин 34 нуклеотидами выше стартового кодона p16, что приводит к образованию нового сайта инициации с созданием балка с другой рамкой считывания.

изучения этого гена были определены основные точечные мутации гена *CDKN2A/P16* при МК: Ile41Thr, Arg50Ter, Asn63Ser, Arg79Pro, Gly93Trp, Val118Asp, Ala140Th, а также мутация альтернативного сайта сплайсинга IVS2+1, считающиеся на сегодняшний день «горячими точками», – hot point [44].

Суммируя работы, касающиеся частотного спектра мутаций, показано, что между соматическими и герминальными мутациями гена *CDKN2A/p16* существует гомология (табл. 5).

В то время как мутации в гене *CDKN2A/p16* ответственны за 20–40% случаев наследственной МК [45, 46], герминальные мутации *CDKN2A/p14ARF* (ARF – alternate reading frame – альтернативная рамка считывания) обнаруживают в среднем в 25% наследственных форм МК [47].

Ген *CDKN2A/p14ARF* кодирует регулятор клеточного цикла, предотвращающий деградацию белка p53, что ведет к увеличению его концентрации и далее к активации этого белка. Результатом акти-

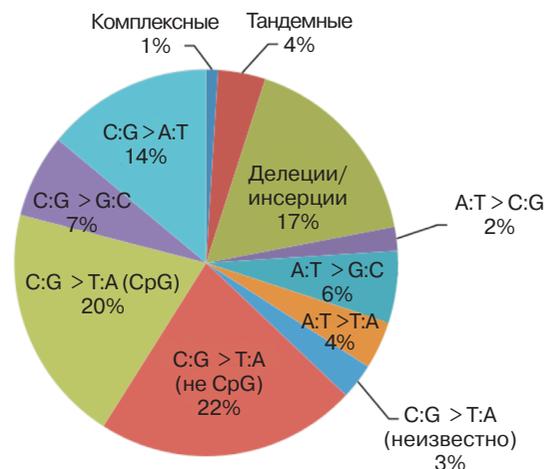
Типы соматических мутаций *CDKN2A (p16)*Спектр соматических мутаций *CDKN2A (p16)*Рис. 5. Типы и спектр соматических мутаций *CDKN2A/p16* [30]

Таблица 5. Гомология между соматическими и герминальными мутациями гена *CDKN2A/p16* [30]

Мутации <i>CDKN2A</i>	Соматические	Герминальные
C:G > G:C	7%	13%
C:G > A:T	14%	17%
C:G > T:A (CpG)	20%	10%
C:G > T:A (non CpG)	22%	12%
A:T > T:A	4%	2%
A:T > G:C	6%	10%
A:T > C:G	2%	9%
del/ins	17%	25%
тандемные	4%	1%
комплексные	1%	1%

вазии p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК. Таким образом осуществляется регуляция инициации и прекращения клеточного роста (см. рис. 3).

В целом мутации и метилирование гена *CDKN2A* часто наблюдаются не только в наследственных и спорадических меланомах, но и в большой группе других ненаследственных новообразований: раке поджелудочной железы, пищевода, желчных путей, мочевого пузыря, Т- и В-клеточных острых лимфолейкозах, мезотелиомах, анапластических астроцитомах, глиобластомах и др. [48].

Исследование Rothberg В.Е.С. с соавторами было посвящено выявлению корреляции прогностических маркеров с общей выживаемостью больных МК [49]. Анализ был основан на определении уровней экспрессии белков, вовлеченных в патогенез МК. Было установлено, что повышение экспрессии белка p16/CDKN2A значительно улучшает прогноз при МК (возможно, это связано с ингибированием aberrантной клеточной пролиферации меланоцитов, индуцируемой данным белком [50]). Более того, повышение экспрессии белка p16/CDKN2A обладает протективным эффектом в отношении снижения смертности пациентов от МК [51]. Эти данные согласуются с ранее проведенным исследованием Straume О. с соавторами, в котором снижение экспрессии белка p16/CDKN2A было ассоциировано с увеличением пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki-67) и являлось независимым фактором прогноза снижения выживаемости больных МК [52]. Наряду с этим было продемонстрировано, что аллельные потери в области гена p16/CDKN2A и последующее снижение экспрессии белка ведут к прогрессированию МК [50]. В частности, гомозиготные делеции локуса *INK4* (*CDKN2*), кодирующего как p16(*INK4a*), так и p14(*ARF*), являются наиболее частыми генетическими перестройками при МК и коррелируют со снижением общей выживаемости при различных типах опухолей, включая МК [53]. На основании проведенной работы по оценке прогностической значимости генетических нарушений локуса *CDKN2* Casula М. с соавторами пришли к

выводу, что тестирование гена p16/CDKN2A может применяться в качестве маркера, предсказывающего одновременно предрасположенность к развитию МК и прогноз данного заболевания [54].

Ген *CDK4/CYCLIN-DEPENDENT KINASE 4* (12q13) (ОМIM № 123829). Ген *CDK4* (циклинзависимая киназа 4) расположен на длинном плече 12-й хромосомы и является онкогеном. На сегодняшний день герминальные мутации этого гена (*Arg24Cys* и *Arg24His*) описаны лишь в нескольких семьях больных МК, встречаются редко и актуальны, по-видимому, лишь для небольшой подгруппы наследственной МК [55].

Ген *CMM1* (1p36) (ОМIM № 155600). Ген *CMM1*, расположенный на коротком плече 1-й хромосомы, был первым идентифицированным потенциальным геном, отвечающим за предрасположенность к МК [56], однако позже были получены данные, согласно которым его значение оказалось незначительным [57, 58].

Низкопенетрантные гены

Ген *MCR1/MELANOCORTIN 1 RECEPTOR* (16q24) (ОМIM № 155555). Ген *MCR1* расположен на длинном плече 16-й хромосомы. Варианты последовательности этого гена выявляются гораздо чаще среди больных МК, чем у здоровых лиц [10]. Наличие одной структурно-функциональной перестройки гена *MCR1* увеличивает риск развития МК в 2,2–3,9 раза; двух – в 4,1–4,8 раза [10, 59]. Наиболее частыми мутантными вариантами являются V60L, R151C, R163Q, D84E и R160W [12].

Вклад гена *MCR1* в риск развития МК связан главным образом с рыжим цветом волос. Так, при исследовании образцов меланомы, полученных от больных в Великобритании и Ирландии, 53% лиц с рыжими волосами несли один вариантный аллель *MCR1* и 29% – два вариантных аллеля [59, 60]. Причем только у рыжеволосых людей были обнаружены одновременно два варианта. Частота подобных изменений у блондинов, брюнетов и лиц с черными волосами не превышала 33%. Кроме того, наличие вариантов последовательности *MCR1*, выступающего в роли модификатора риска, приводит к увеличению пенетрантности мутаций гена *CDKN2A* с 50 до 84% и снижению среднего возраста начала заболевания до 20 лет [61].

Ген *XP* (Пигментная ксеродерма, XERODERMA PIGMENTOSUM, COMPLEMENTATION GROUP A; XPA) (9q22.33) (ОМIM № 278700) ассоциирован с редким аутосомно-рецессивным хронически прогрессирующим заболеванием кожи – пигментной ксеродермой (ПК). У пациентов с этим заболеванием нарушена способность репарировать повреждения хромосомной ДНК, индуцированные УФ-радиацией, что приводит к повышенной чувствительности и последующему поражению кож-

ных покровов. То же самое происходит при развитии атипичных новообразований кожи, в том числе при МК. Краemer К.Н. с соавторами сообщили, что злокачественные образования кожи встречаются у 70% больных пигментной ксеродермой [62]. МК наблюдается у 22% пациентов с ПК, при этом риск ее развития в возрасте до 20 лет повышен в 1000 раз. Lynch Н.Т. с соавторами предположили, что больных ПК можно отнести к группе с высоким риском развития МК [63].

Ген *BRAF* (**V-RAF MURINE SARCOMA VIRAL ONCOGENE HOMOLOG B1**) (**7q34**) (**OMIM № 164757**), кодирующий серин-треониновую протеинкиназу, был идентифицирован в 1992 г. [64]. *BRAF* является протоонкогеном и посредством MAP-киназного пути участвует в регуляции процессов пролиферации и дифференцировки клеток.

Соматические мутации в гене *BRAF* наблюдаются в 40–88% [65] случаев МК и в 74–82% случаев меланоцитарных невусов. В подавляющем большинстве случаев речь идет о мутации V600E в 15-м экзоне, приводящей к конститутивной активации гена *BRAF*. Тем не менее были получены данные о том, что ген *BRAF* может быть отнесен к генам, ассоциированным с низким риском развития МК [12]. В работе Laud К. с соавторами была исследована вся кодирующая область гена *BRAF* на наличие герминальных мутаций у 80 пациентов с первично-множественной МК и семей, отягощенных МК, у которых отсутствовали герминальные мутации в основных генах, ответственных за наследственную предрасположенность к МК, *CDKN2A/p16INK4A/p14ARF* и *CDK4* [66]. Были идентифицированы 13 вариантов строения гена, 4 из которых – молчащие мутации в кодирующих регионах и 9 – нуклеотидные замены в интронах. Таким образом, было установлено, что герминальные варианты гена *BRAF* являются полиморфизмами, а сам ген не влияет на риск развития МК. В последующем Casula М. с соавторами исследовали геномную ДНК 569 больных с МК из Италии на наличие герминальных и соматических мутаций в гене *BRAF* [67]. Три герминальных варианта – M116R, V599E и G608H – в 3- и 15-м экзонах гена *BRAF* были обнаружены у 4 пациентов (0,7%). Ученые пришли к выводу, что вклад этого гена в предрасположенность к развитию МК минимален, подчеркивая его доминирующее влияние на развитие спорадической МК.

И все же могут ли определенные полиморфные варианты гена *BRAF* быть связаны с повышенным риском МК, остается неясным. В то время как в одних исследованиях был продемонстрирован значительный риск развития МК для носителей некоторых интронных вариантов или герминальных однонуклеотидных полиморфизмов в гене *BRAF* [68, 69], в других подобных исследованиях корреляций обнаружено не было [65, 67]. Также опубликова-

ны данные о связи герминальных мутаций гена *BRAF* с наследственным кардио-фацио-кожным синдромом, при котором у пациентов имеются множественные врожденные аномалии развития, умственная отсталость, низкорослость, задержка психомоторного развития, врожденные пороки сердца, аномалии кожи, глаз, желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы, что подтверждает многофункциональность данного гена [70, 71].

В литературе также имеются данные о влиянии мутаций гена *BRCA2*, прежде всего ответственного за наследственные формы рака молочной железы и яичников [72], и полиморфизмов генов рецептора эпидермального фактора роста (*EGFR*) [10, 73], изоферментов глутатион-S-трансферазы (*GST*) [10, 74] и рецептора витамина D (*VDR*) [75] на увеличение риска развития МК [76], однако эти данные противоречивы и требуют дальнейшего изучения.

Заключение

Достижения в области молекулярной генетики определили этиологию, механизмы наследования, риски развития и ассоциацию с клиническим течением наследственной МК. Ген *CDKN2A* ответственен за 20–50% случаев наследственной МК, вклад других изученных генов не превышает нескольких процентов, и они скорее всего играют модифицирующую роль в патогенетическом комплексе. Остальные ключевые гены, отвечающие за развитие семейной МК, еще только предстоит идентифицировать. Таким образом, обзор представленных данных обосновывает необходимость дальнейшего изучения наследственной формы МК для своевременной диагностики и последующего динамического наблюдения пациентов группы риска в условиях онкодиспансера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демидов Л.В., Харкевич Г.Ю. Адьювантное лечение больных меланомой кожи. Практическая онкология. Отечественная школа онкологов. СПб., 2001, № 4 (8).
2. Balch C.M., Soong S.J., Shaw H.M. et al. An analysis of prognostic factors in 8.500 patients with cutaneous melanoma. Cutaneous Melanoma. Balch C.M., Houghton A.N., Milton G.W. et al., 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott. 1992, 165 p.
3. Thompson J.F., Scolyer R.A., Kefford R.F. Cutaneous melanoma. Lancet. 2005, v. 365 (9460), p. 687-701.
4. American Cancer Society (2008). Cancer Facts and Figures 2008. Atlanta, GA: American Cancer Society. Retrieved August 10, 2008. URL: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/nho/documents/document/2008caffinalsecuredpdf.pdf>.
5. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2008 г. Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина. 2010, т. 21, № 2.
6. Urteaga O., Pack G.T. On the antiquity of melanoma. Cancer. 1966, No. v. 19 (5), p. 607-610.
7. Chin L., Merlino G., DePinho R.A. Malignant melanoma: modern black plague and genetic black box. Genes Dev. 1998, No. 12 (22). p. 3467-3481.

8. Laennec R.T.H. Sur les melanoses. Bulletin de Faculte de Medecine. Paris. 1806, p. 1-24.
9. Norris W. A case of fungoid disease. Edinb. Med. Surg. J. 1820, No. 16, p. 562-565.
10. Hayward N.K. Genetics of melanoma predisposition. *Oncogene*. 2003, No. 19, v. 22 (20), p. 3053-3062.
11. Lynch H.T., Brand R.E., Hogg D. et al. Phenotypic variation in eight extended *CDKN2A* germline mutation familial atypical multiple mole melanoma-pancreatic carcinoma-prone families: the familial atypical mole melanoma-pancreatic carcinoma syndrome. *Cancer*. 2002, v. 94 (1), p. 84-96.
12. Berking C., Bosserhoff A.K. Malignant Melanoma. Hereditary tumors. Allgayer H., Rehder H., Fulda S. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. 2009, p. 411-420.
13. Leachman S.A., Carucci J., Kohlmann W. et al. Selection criteria for genetic assessment of patients with familial melanoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2009, v. 61 (4), p. 677.e1-14.
14. Hansson J. Familial cutaneous melanoma. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010, v. 685, p. 134-145.
15. Snoo de FA, Gruis NA. Familial melanoma. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. April 2005. URL: <http://atlasgeneticsoncology.org//Kprones/FamilialMelanomID10088.html>.
16. Tucker M.A., Goldstein A.M. Melanoma etiology: where are we? *Oncogene*. 2003, v. 22, p. 3042-3052.
17. Aspinwall L., Leaf S., Dola E. et al. *CDKN2A/p16* genetic test reporting improves early detection intentions and practices in high-risk melanoma families. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008, v. 17, p. 1510-1519.
18. Kopf A.W., Hellman L.J., Rogers G.S. et al. Familial malignant melanoma. *JAMA*. 1986, v. 256, p. 1915-1919.
19. Puig S., Malvehy J., Badenas C. et al. Role of the *CDKN2A* Locus in patients with multiple primary melanomas. *J. Clin. Oncol.* 2005, v. 23, p. 3043-3051.
20. Kefford R.F., Newton Bishop J.A., Bergman W. et al. Counseling and DNA testing for individuals perceived to be genetically predisposed to melanoma: a consensus statement of the Melanoma Genetics Consortium. *J. Clin. Oncol.* 1999, v. 17, p. 3245-3251.
21. GeneCards <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CDKN2A&search=p53>.
22. Haluska F.G., Tsao H., Wu H. et al. Genetic Alterations in Signaling Pathways in Melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2006, No. 12 (7 Pt. 2), p. 2301-2307.
23. Lin J., Hocker T.L., Singh M. et al. Genetics of melanoma predisposition. *The British Journal of Dermatology*. 2008, v. 159 (2), p. 286-291.
24. Goldstein A.M., Chan M., Harland M. et al. Features associated with germline *CDKN2A* mutations: a GenoMEL study of melanoma-prone families from three continents. *J. Med. Genet.* 2007, v. 44, p. 99-106.
25. Serrano M., Lee H., Chin L. et al. Role of the INK4a locus in tumor suppression and cell mortality. *Cell*. 1996, v. 85, p. 27.
26. Dyson N., Baiman A. Oncogenes and cell proliferation. *Current opinion in genetics and development*. 1999, v. 9, p. 11-14.
27. Russo A.A., Tong L., Lee J.O. et al. Structural basis for inhibition of the cyclin-dependent kinase Cdk6 by the tumour suppressor p16INK4a. *Nature*. 1998, v. 395, p. 237-243.
28. Koh J., Enders G.H., Cynlact B.D. et al. Tumor-derived p16 alleles encoding protein defective in cell-cycle inhibition. *Nature*. 1995, v. 375, p. 506.
29. Lukas J., Parry D., Aagaard L. et al. Retino-blastoma-protein-dependent cell-cycle inhibition by the tumor suppressor p16. *Nature*. 1995, v. 375, p. 503.
30. Murphy J.A., Barrantes-Reynolds R., Kocherlakota R. et al. The *CDKN2A* Database: Integrating Allelic Variants With Evolution, Structure, Function, and Disease Association. *Hum. Mutat.* 2004, v. 24 (4), p. 296-304.
31. Goldstein A.M. Familial melanoma, pancreatic cancer and germline *CDKN2A* mutations. *Hum. Mutat.* 2004, v. 23 (6), p. 630.
32. Rieder H., Bartsch D.K. Familial pancreatic cancer. *Fam. Cancer*. 2004, v. 3, p. 69-74.
33. Goldstein A.M., Tucker M.A. Genetic epidemiology of cutaneous melanoma: A global perspective. *Archives of Dermatology*. v. 137 (11), p. 1493-1496.
34. Monzon J., Liu L., Brill H. et al. *CDKN2A* mutations in multiple primary melanomas. *N. Engl. J. Med.* 1998, v. 338, p. 879-887.
35. Kefford R., Mann G. Is there a role for genetic testing in patients with melanoma. *Curr. Opin. Oncol.* 2003, v. 15, p. 157-161.
36. High W., Robinson W. Genetic mutations involved in melanoma: a summary of our current understanding. *Adv. Dermatol.* 2007, v. 23, p. 61-79.
37. Hashemi J., Platz A., Ueno T. et al. *CDKN2A* germ-line mutations in individuals with multiple cutaneous melanomas. *Cancer Res.* 2000, v. 60 (24), p. 6864-6867.
38. Liu L., Dilworth D., Gao L. et al. Mutation of the *CDKN2A* 5' UTR creates an aberrant initiation codon and predisposes to melanoma. *Nat. Genet.*, 1999, v. 21, p. 128-132.
39. Harland M., Holland E.A., Ghiorzo P. et al. Mutation screening of the *CDKN2A* promoter in melanoma families. *Genes Chromosomes Cancer*. 2000, v. 28, p. 45-57.
40. Somoano B., Niendorf K.B., Tsao H. Hereditary cancer syndromes of the skin. *Clin. Dermatol.* 2005, v. 23, p. 85-106.
41. Herman J.G., Merlo A., Mao L. et al. Inactivation of the *CDKN2A/p16/MTS1* gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers. *Cancer research*. 1995, v. 55, p. 4525.
42. Gonzalez-Zulueta M., Bender C.M., Yang A.S. et al. Methylation of the 5' CpG island of the p16/CDKN2 tumor suppressor gene in normal and transformed human tissues correlates with gene silencing. *Cancer research*. 1995, v. 55, p. 4531.
43. Norman E. Sharpless1, Lynda Chin. The INK4a/ARF locus and melanoma. *Oncogene*. 2003, v. 22, p. 3092-3098.
44. Rutter J.L., Goldstein A.M., Davila M.R. et al. *CDKN2A* point mutations D153spl (c.457G>T) and IVS2+1G>T result in aberrant splice products affecting both p16INK4a and p14ARF. *Oncogene*. 2003, v. 22 (28), p. 4444-4448.
45. Hansen C.B., Wadge L.M., Lowstuter K. et al. Clinical germline genetic testing for melanoma. *Lancet Oncol.* 2004, v. 5, p. 314-319.
46. Soufir N., Basset-Seguin N. The INK4a-ARF locus: role in the genetic predisposition to familial melanoma and in skin carcinogenesis. *Bull. Cancer*. 2001, v. 88 (11), p. 1061-1067.
47. Soufir N., Lacapere J.J., Bertrand G. et al. Germline mutations of the INK4a-ARF gene in patients with suspected genetic predisposition to melanoma. *British Journal of Cancer*. 2004, v. 90, p. 503-509.
48. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. В кн: Канцерогенез. Под ред. Д.Г. Заридзе. М., «Медицина». 2004, с. 125-156.
49. Rothberg B.E.G., Berger A.J., Molinaro A.M. et al. Melanoma prognostic model using tissue microarrays and genetic algorithms. *J. Clin. Oncol.* 2009, v. 27, p. 5772-5780.
50. Palmieri G., Casula M., Sini M.C. et al. Issues affecting molecular staging in the management of patients with melanoma. *J. Cell. Mol. Med.* 2007, v. 11, p. 1052-1068.
51. Rothberg B.E.G., Bracken M.B., Rimm D.L. Tissue biomarkers for prognosis in cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* 2009, v. 101, p. 452-474.
52. Straume O., Sviland L., Akslen L.A. Loss of nuclear p16 protein expression correlates with increased tumor cell proliferation (Ki-67) and poor prognosis in patients with vertical growth phase melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2000, v. 6 (5), p. 1845-53.

53. Grafstrom E., Egyhazi S., Ringborg U. et al. Biallelic deletions in INK4 in cutaneous melanoma are common and associated with decreased survival. *Clin. Cancer Res.* 2005, v. 11, p. 2991-2997.
54. Casula M., Budroni M., Cossu A. et al. The susceptibility *CDKN2* locus may have a role on prognosis of melanoma patients. *Ann. Oncol.* 2010, v. 21 (6), p. 1379-1380.
55. Goldstein A.M., Chidambaram A., Halpern A. et al. Rarity of *CDK4* germline mutations in familial melanoma. *Melanoma research*, v. 12, p. 51-55.
56. Bale S.J., Dracopoli N.C., Tucker M.A. et al. Mapping the for hereditary cutaneous malignant melanoma-dysplastic nevus to chromosome 1p. *N. Engl. J. Med.* 1989, p. 320 (21), v. 1367-1372. Erratum in: *N. Engl. J. Med.* 1991, v. 324 (13), p. 925.
57. Van Haeringen A., Bergman W., Nelen M.R. et al. Exclusion of the dysplastic nevus syndrome (DNS) locus from the short arm of chromosome 1 by linkage studies in Dutch families. *Genomics.* 1989, v. 5 (1), p. 61-64.
58. Cannon-Albright L.A., Goldgar D.E., Wright E.C. et al. Evidence against the reported linkage of the cutaneous melanoma-dysplastic nevus syndrome locus to chromosome 1p36. *Am. J. Hum. Genet.* 1990, v. 46 (5), p. 912-918.
59. Valverde P., Healy E., Jackson I. et al. Variants of the melanocyte-stimulating hormone receptor gene are associated with red hair and fair skin in humans. *Nat. Genet.* 1995, v. 11 (3), p. 328-330.
60. Palmer J.S., Duffy D.L., Box N.F. et al. Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? *Am. J. Hum. Genet.* 2000, v. 66 (1), p. 176-186.
61. Box N.F., Duffy D.L., Chen W. et al. *MC1R* genotype modifies risk of melanoma in families segregating *CDKN2A* mutations. *Am. J. Hum. Genet.* 2001, v. 69 (4), p. 765-773.
62. Kraemer K.H., Lee M.M., Andrews A.D. et al. The role of sunlight and DNA repair in melanoma and nonmelanoma skin cancer. The xeroderma pigmentosum paradigm. *Arch. Dermatol.* 1994, v. 130 (8), p. 1018-1021.
63. Lynch H.T., Fusaro R.M., Johnson J.A. Xeroderma pigmentosum. Complementation group C and malignant melanoma. *Arch. Dermatol.* 1984, v. 120 (2), p. 175-179.
64. Eychene A., Barnier J.V., Apiou F. et al. Chromosomal assignment of two human *B-raf* (*Rmil*) proto-oncogene loci: *B-raf-1* encoding the p94Braf/*Rmil* and *B-raf-2*, a processed pseudogene. *Oncogene.* 1992, v. 7, p. 1657-1660.
65. James M.R., Dumeni T., Stark M.S. et al. Rapid screening of 4000 individuals for germ-line variations in the *BRAF* gene. *Clin. Chem.* 2006, v. 52 (9), p. 1675-1678.
66. Laud K., Kannengiesser C., Avril M.F. et al. *BRAF* as a melanoma susceptibility candidate gene? French Hereditary Melanoma Study Group. *Cancer Res.* 2003, v. 63 (12), p. 3061-3065.
67. Casula M., Colombino M., Satta M.P. et al. Italian Melanoma Intergroup Study. *BRAF* gene is somatically mutated but does not make a major contribution to malignant melanoma susceptibility: the Italian Melanoma Intergroup Study. *J. Clin. Oncol.* 2004, v. 22 (2), p. 286-292. Erratum in: *J. Clin. Oncol.* 2005, v. 23 (4), p. 936.
68. Meyer P., Sergi C., Garbe C. Polymorphisms of the *BRAF* gene predispose males to malignant melanoma. *J. Carcinogen.* 2003, v. 2, p. 7.
69. James M.R., Roth R.B., Shi M.M. et al. *BRAF* polymorphisms and risk of melanocytic neoplasia. *J. Invest Dermatol.* 2005, v. 125, p. 1252-1258.
70. Rodriguez-Viciana P., Tetsu O., Tidyman We et al. Germ-line mutations in genes within the MAPK pathway cause Cardio-facio-cutaneous syndrome. *Science.* 2006, v. 311, p. 1287-1290.
71. Urosevic J., Sauzeau V., Soto-Montenegro M.L. et al. Constitutive activation of B-Raf in the mouse germ line provides a model for human cardio-facio-cutaneous syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011, v. 108 (12), p. 5015-5020.
72. The Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer risks in *BRC1* mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst.* 1999, v. 91, p. 1310-1316.
73. Shahbazi M., Pravica V., Nasreen N. Association between functional polymorphism in *EGF* gene and malignant melanoma. *Lancet.* 2002, v. 359 (9304), p. 397-401.
74. Kanetsky P.A., Holmes R., Walker A. et al. Interaction of glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and malignant melanoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001, v. 10 (5), p. 509-513.
75. Hutchinson P.E., Osborne J.E., Lear J.T. et al. Vitamin D receptor polymorphisms are associated with altered prognosis in patients with malignant melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2000, v. 6 (2), p. 498-504.
76. Fargnoli M.C., Argenziano G., Zalaudek I. et al. High- and low-penetrance cutaneous melanoma susceptibility genes. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2006, v. 6 (5), p. 657-6670.

Статья поступила 17.03.2012 г., принята к печати 20.04.2012 г.
Рекомендована к публикации А.А. Феденко

MOLECULAR AND CLINICAL ASPECTS OF GENETIC PREDISPOSITION TO CUTANEOUS MALIGNANT MELANOMA

Chernenko P.A.^{1,2}, Peterson S.B.², Lyubchenko L.N.¹

¹ N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

² N.I. Pirogov Russian State Medical University, Moscow, Russian Federation

Key words: hereditary cutaneous malignant melanoma, sporadic cutaneous malignant melanoma, genes *CDKN2A*, *CDK4*

Cutaneous malignant melanoma is a form of cancer for which both environmental influence and hereditary predisposition are major causative factors. Approximately 5% to 10% of cases of cutaneous melanoma occur in families that have a hereditary predisposition for this disease. Genetic studies have recently identified a subset of genes that are associated with risk for melanoma. Germline mutations in the *CDKN2A* gene have been identified in 20% to 50% of such melanoma families. This is an overview of our current understanding of modifications in high (*CDKN2A*, *CDK4*) and in low genes (*MC1R*, *XPA*, etc.) penetrance susceptibility, that have been associated with melanoma risk and how these genes can enrich clinical management and early detection of malignant melanoma.