

УДК 615.5-006.81-071:575.113

П.А. Черненко^{1,2}, С.Б. Петерсон², Л.Н. Любченко¹**НАСЛЕДСТВЕННАЯ МЕЛАНОМА КОЖИ: КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА**¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва**Контактная информация:**

Любченко Людмила Николаевна д-р. мед. наук, заведующая лабораторией клинической онкогенетики НИИ клинической онкологии

адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24; тел. +7(495)324-26-85

e-mail: clingen@mail.ru

Статья поступила 16.04.2012, принята к печати 31.08.2012.

Резюме

Меланома кожи (МК) является этиологически гетерогенным заболеванием, его развитие связано с влиянием как средовых, так и генетических факторов. Большая часть случаев наследственной МК ассоциирована с мутациями в генах предрасположенности с различной пенетрантностью (*CDKN2A*, *CDK4*, *MC1R*, *XPA* и др.). В обзоре представлены современные клинико-генетические аспекты МК, касающиеся рисков развития заболевания, ДНК-диагностики генов, вовлеченных в канцерогенез МК, частотного спектра мутаций, имеющих популяционную зависимость, клинико-молекулярных корреляций и методов профилактики.

Ключевые слова: наследственная меланома кожи, спорадическая меланома кожи, гены *CDKN2A*, *CDK4*.P.A. Chernenko^{1,2}, S.B. Peterson², L.N. Lyubchenko¹**HEREDITARY CUTANEOUS MELANOMA: CLINICAL AND MOLECULAR DIAGNOSTICS**¹FSBI «N.N. Blokhin RCRC» of RAMS, Moscow²N.I. Pirogov Russian State Medical University, Moscow**Abstract**

Cutaneous malignant melanoma (CMM) is an etiologically heterogeneous disease, its development is caused by both environmental and genetic factors. Most cases of hereditary CMM is associated with mutations in high penetrance susceptibility genes (*CDKN2A*, *CDK4*), as well as mutations in low penetrance susceptibility genes (*MC1R*, *XPA*, etc.). The paper is devoted to the problem of hereditary CMM, to characterization of the major genes responsible for predisposition to this disease, as well as to understanding how genetic changes in aforementioned genes influence the melanoma risk and clinical features of CMM in a modern context.

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

Развитие злокачественных новообразований ассоциировано с рядом генетических перестроек. Накопление мутаций и эпигенетических нарушений влияет на работу генов, контролирующих ключевые признаки злокачественности (пролиферацию, инвазию, ангиогенез, подавление апоптоза, метастазирование и т.д.). К структурно-функциональным перестройкам и нарушениям эпигенетической регуляции экспрессии генов относятся активирующие мутации в онкогенах, инактивирующие мутации в генах-супрессорах опухолевого роста, а также гипер- и гипометилирование промоторов генов. Молекулярно-генетические исследования в области онкологии являются основой для разработки современных подходов к диагностике, лечению и профилактике злокачественных новообразований.

Меланома кожи (лат. *melanoma*, др.-греч. μέλας – «чёрный») – злокачественная опухоль, развивающаяся из меланоцитов – пигментных клеток, продуцирующих меланин. МК является крайне агрессивным заболеванием, характеризующимся склонностью к быстрому распространению процесса и парадоксальной устойчивостью к большинству применяемых методов лечения, в связи с чем, несомненно, является объектом для детального изучения с применением высокотехнологичных методов.

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 [2; 6].

Рост заболеваемости МК отмечен практически во всех регионах мира и за последние 40 лет составил примерно 5% в год [74]. В 2008 г. в США диагностировано 62 000 больных МК [4]. В России в 2007 г. зарегистрировано 7732 вновь выявленных случаев МК. Показатели заболеваемости составляют 3,6 случаев на 100 000 мужчин и 4,2 случая на 100 000 женщин. С 2002 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; 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 со-

ставляет 1,8 на 100 000 мужчин и 1,4 на 100 000 женщин. С 2002 по 2007 гг. был отмечен рост смертности мужского населения от МК, который достиг 20%. При этом МК заняла первое место по приросту смертности у женщин (16,7%) [1].

Примерно в 5–14 % случаев МК является наследственной [25]. В США мутации в одном из генов (*CDKN2A/p16*), ответственных за предрасположенность к развитию МК, являются причиной 1400–2800 новых случаев МК каждый год.

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. [77]. Первое описание меланомы встречается в трудах Гиппократов, 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» [14]. И только в 1804 году французский врач René Laennec, будучи еще студентом, выступил с докладом, посвященным данной проблеме, на медицинском факультете Парижского университета, а в 1805 году опубликовал труд «*Le melanose*», в котором дал детальную характеристику этого заболевания [44].

Врач общей практики W. Norris, изучавший МК, предположил, что она может иметь наследственную природу и в 1820 г. издал рукопись, посвященную описанию семьи с многочисленными атипичными невусами, а также характеристике семей с наличием метастатических поражений [57]. И, наконец, в 1838 году R. Carswell впервые использовал медицинский термин «меланома» по отношению к злокачественному пигментному поражению кожи [77]. 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). В последующем, в 1992 году, с развитием молекулярно-биологических технологий в семьях с FAMMM-синдромом были идентифицированы герминальные мутации в *CDKN2A* [32; 50].

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-облучением. 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 [8]. Если в семье пациента отсутствуют случаи заболевания данной патологией, речь идет о спорадической (90 % всех случаев) форме. В тех случаях, когда имеет место накопление случаев МК в семье, МК называют (семейной, генетически-

ассоциированной) *наследственной* (5–14 %). В этом случае заболевание обусловлено герминальными мутациями в генах предрасположенности с возможностью наследования структурных перестроек последующими поколениями в соответствии с классическими законами Менделя [29; 46]. 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 [69] или у троих членов семьи диагностирована (независимо от степени родства) МК [5; 75]. Семейное накопление МК также отмечается в 5–10 % случаев в географических регионах с высоким уровнем заболеваемости МК [75].

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

1. 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 [8];
2. наличие большого количества пигментных невусов на коже;
3. первично-множественные очаги поражения МК: частота первично-множественной МК составляет 30 % при наследственной по сравнению с 4 % при спорадической МК [8].

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 [42].

В течение последних десятилетий усилия ученых направлены на установление молекулярно-генетических перестроек, лежащих в основе развития МК. 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* (p16/INK4A/*CDKN2A*/Multi Tumor-Suppressor MTS1/cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) (9p21) (OMIM № 600160). Превалирующее значение в развитии наследственной формы МК принадлежит *CDKN2A*, мутации которого наблюдаются, по данным разных авторов, в 20–50 % случаев, особенно в семьях, в которых у троих и более лиц диагностирована МК [40; 60].

Ген *CDKN2A* принадлежит к семейству генов-супрессоров опухолевого роста и относится к группе «хранителей клеточного цикла». Он расположен на коротком плече 9-ой хромосомы и состоит из четырех экзонов: 1α, 1β, 2 и 3 [18].

Этот ген кодирует два разных белка P16Ink4A (экзоны 1α, 2 и 3) и P14ARF (экзоны 1β, 2 и 3), посредством которых влияет на два сигнальные пути, отвечающих за регуляцию клеточного цикла: *p53* (TP53, OMIM № 191170) и *RBI* (OMIM № 614041) (рис. 1-2) [27].

Герминальные мутации в одном из двух аллелей *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*, как и заболеваемость МК, варьирует в различных географических регионах – отмечаются более низкие показатели в Европе по сравнению с Северной Америкой. В противовес этому А.М. Goldstein et al. провели сравнительный анализ результатов многочисленных исследований в разных странах мира с оценкой количества семей и пациентов с МК – носителей мутации *CDKN2A* [19]. В общей сложности было оценено 385 семей, в каждой из которых было выявлено ≥ 3 больных МК (всего 1720 пациентов). Мутации *CDKN2A* были обнаружены у представителей 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. В то же время наиболее высокая частота мутаций наблюдалась в Европе (57 %), регионе с относительно 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 [9] международно-го 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.

CDKN2A/P16/INK4A/MTS1 играет важную роль в процессе канцерогенеза. У мышей с отсутствием экспрессии *CDKN2A/P16* в раннем возрасте часто развиваются фибросаркомы и лимфомы, а также повышена чувствительность к канцерогенам [67].

Белок p16 – ингибитор циклин-зависимых киназ – является участником сигнального пути Rb/cyclinD/cdk4/p16INK4a [15]. Связываясь с киназами cdk4/6, p16 нарушает их взаимодействие с циклином D [65]. Ингибирование функций циклин-зависимых киназ приводит к гипофосфорилированию белка pRB, что снижает экспрессию E2F-зависимых генов. В результате блокируется переход клетки из фазы G₁ в фазу S [41; 49; 67], 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-ассоциированной МК, представляют собой миссенс-мутации, а также часто встречаются делеции и мутации со сдвигом рамки считывания (рис. 3 а–б).

Спектр злокачественных новообразований, наблюдающихся в семьях с мутациями в *CDKN2A/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-клеточного и В-клеточного лейкозов. Имеются данные, что у носителей мутаций в гене *CDKN2A/P16* риск развития рака поджелудочной железы повышен в 13–22 раз [61].

Частота мутаций *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).

Примерно у 9–15 % пациентов с первично-множественной МК обнаруживают герминальные мутации, хотя их семейный анамнез не отягощен [22] (табл. 2). Эти данные позволяют предположить, что семейный анамнез МК не является достоверным маркером наличия мутации гена *CDKN2A*. По данным J Hashemi et al. количество первично-множественных МК у носителей герминальных мутаций *CDKN2A* была значительно выше, чем у пациентов с данным геном «дикого» типа [31]. Авторами был сделан вывод, что мутационный скрининг на наличие герминальных мутаций *CDKN2A* у пациентов с первично-множественной МК должен быть включен в алгоритм клинико-генетической диагностики. Наряду с этим имеется необходимость внедрения профилактических программ, направленные на снижение риска развития МК у членов семей пациентов с множественной МК.

В этой же работе [31] было проведено исследование ДНК 80 пациентов из Швеции с первично-множественной МК при помощи SSCP-анализа в сочетании с секвенированием на наличие герминальных мутаций всей кодирующей части *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 экзоне гена, которая была зарегистрирована ранее в семьях пациентов с МК из Стокгольма и южной части Швеции. Для этой мутации показана сегрегация с накоплением МК в семьях и функциональная значимость. У одного больного была обнаружена ранее не описанная мутация ins28T в 1 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 кодоны 2 экзона *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 *CDKN2A* образцов крови.

Таблица 1

Вероятность наличия мутации *CDKN2A/P16* [34; 39; 53]

Фактор риска	Вероятность наличия мутации <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 меланома	> 50%

Таблица 2

Частота мутаций *CDKN2A/P16* у пациентов с первично-множественной МК [32]

Исследование	n пациентов	В т.ч.	
		с мутациями (%)	с мутациями, имеющих семейную историю МК
<i>Monzon et al. (1998)</i>	33	5 (15%)	3
<i>MacKie et al. (1998)</i>	17	2 (12%)	0
<i>Hashemi et al. (2000)</i>	80	8 (10%)	7
<i>Auroy et al. (2001)</i>	100	9 (9%)	0

Таблица 3

Герминальные нарушения *CDKN2A/P16* у лиц с первично-множественной меланомой кожи [31]

Локализация		Структурные изменения	Клиническое значение	n пац.	n пациентов с семейной историей меланомы
Промотор	Некодирующий регион	214C/T – замена	Неизвестно	1	0
Экзон 1	Кодон 28	Ins28T – вставка	Да (?)	1	0
Экзон 2	Кодон 62–69	del62–69 – делеция	Да	1	1
	Кодон 113	113insR – вставка	Да	6*	6
	Кодон 148	A148T – замена (полиморфный вариант)	Нет	7*	1

*У одного пациента были выявлены мутация 113insR и полиморфный вариант A148T.

Таблица 4

Происхождение некоторых ключевых герминальных мутаций в *CDKN2A/P16* [32]

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

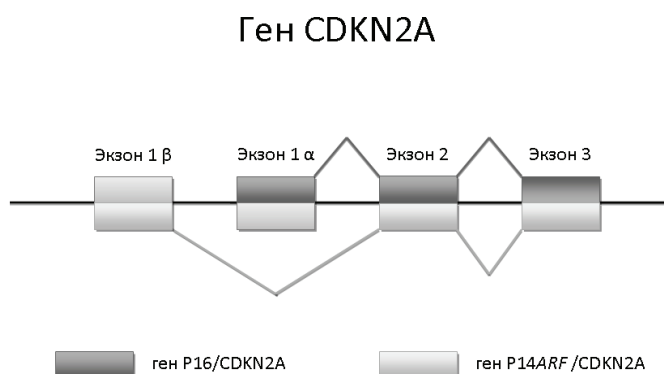
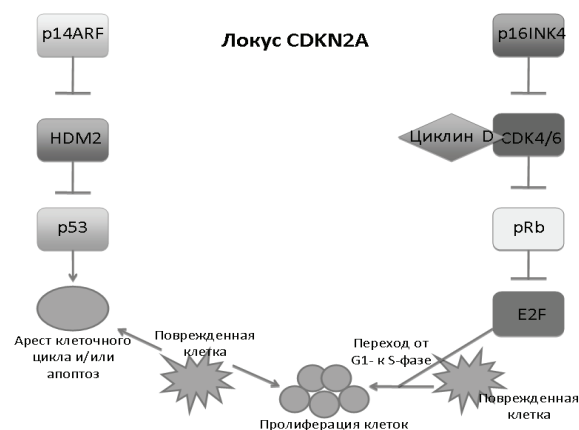
*Удаление 19 пар оснований во 2 экзоне, приводящее к образованию химерного белка, состоящего из 1N'-концевой области p16 и C-концевой области p14ARF;

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

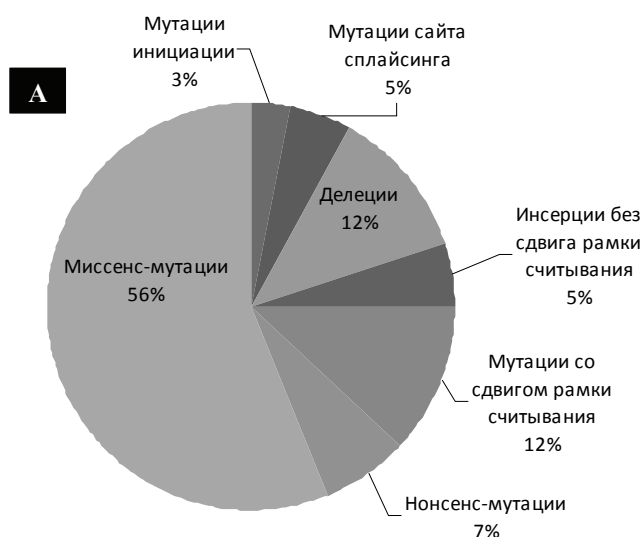
Таблица 5

Сходный спектр соматических и герминальных мутаций *CDKN2A/P16* [54]

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%

Рис. 1. Локус и транскрипты *CDKN2A*.Рис. 2. Схема регуляции гена *CDKN2A*.

Типы герминальных мутаций *CDKN2A*



Спектр герминальных мутаций *CDKN2A (p16)*

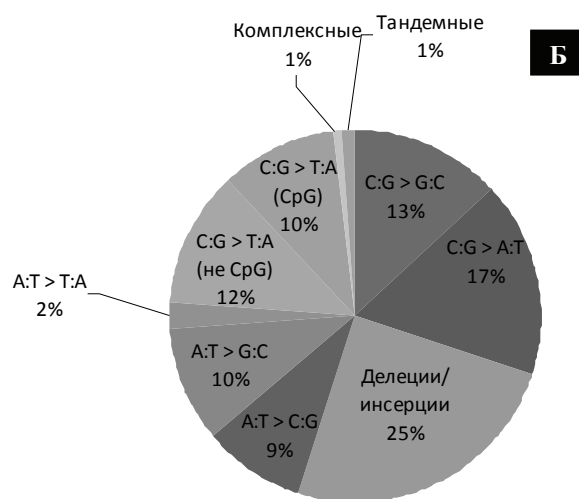
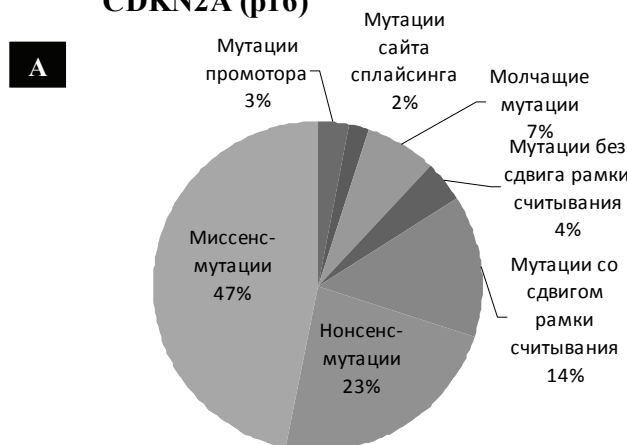


Рис. 3. График...

А: типы герминальных мутаций *CDKN2A/P16* [по данным 21; 54].Б: спектр герминальных мутаций *CDKN2A/P16* [по данным 21; 54].

Типы соматических мутаций *CDKN2A (p16)*



Спектр соматических мутаций *CDKN2A (p16)*

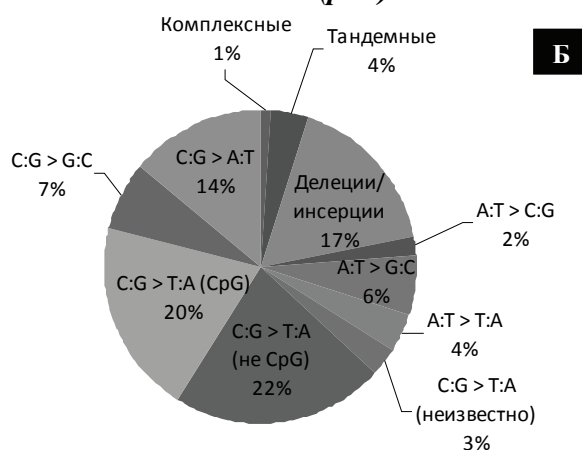


Рис. 4. График...

А: типы соматических мутаций *CDKN2A/P16* [по данным 54].Б: спектр соматических мутаций *CDKN2A/P16* [по данным 54].

Кроме того, имеются сведения, что герминальные мутации, затрагивающие 5'-конец *CDKN2A*, могут иметь клиническое значение и ассоциированы с предрасположенностью носителей к МК [30; 48].

N. Hayward суммировал данные основных исследований, касающиеся происхождения наиболее часто встречающихся мутаций в *CDKN2A*. Отмечены популяционные различия выявленных мутаций в зависимости от национальной принадлежности [32].

Стоит отметить, что мутации в *CDKN2A* обнаруживают также и при спорадической МК, однако их частота невелика – всего 1–2 % [70]. Большая часть соматических мутаций гена [23; 33] представлена миссенс- и нонсенс-вариантами, а также мутациями со сдвигом рамки считывания (рис. 4 а–б). Гомозиготные делеции этого гена обнаруживаются в 19 % случаев опухолей, в то время как точковые мутации составляют не более 3 % [56].

За время изучения этого гена были определены основные точковые мутации *CDKN2A/p16* при МК: Ile41Thr, Arg50Ter, Asn63Ser, Arg79Pro, Gly93Trp, Val118Asp, Ala140Th, а также мутация альтернативного сайта сплайсинга IVS2+1, считающиеся на сегодняшний день *hot point*¹ [66].

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 *CDKN2A/p16* ответственны за 20–40 % случаев наследственной МК [28; 71], герминальные мутации *CDKN2A/p14ARF* (*ARF* – alternate reading frame – альтернативная рамка считывания) обнаруживают в среднем в 25 % наследственных форм МК [72].

CDKN2A/p14ARF кодирует регулятор клеточного цикла, предотвращающий деградацию p53, что ведет к увеличению его концентрации и далее – к активации этого белка. Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК. Таким образом осуществляется регуляция запуска и прекращения клеточного роста (рис. 3).

Основными соматическими мутациями, повреждающими *p14ARF* являются делеции. Гомозиготные делеции этого гена обнаруживаются в 19 % случаев опухолей, в то время как точковые мутации составляют не более 3 %.

Так как *CDKN2A/p16* и *CDKN2A/p14ARF* кодируются одной последовательностью ДНК, оба гена очень часто инактивируются вследствие одного и того же повреждения.

В целом, мутации и метилирование гена *CDKN2A* часто наблюдаются не только в наследственных и спорадических меланом, 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. [3].

Исследование группы В.Е.Г. Rothberg было посвящено выявлению корреляции прогностических маркеров с общей выживаемостью больных МК [63]. Анализ основан на определении уровней экспрессии белков, вовлеченных в патогенез МК. Установлено, что повышение экспрессии p16/CDKN2A значительно улучшает прогноз при МК (возможно, это связано с ингибированием абберантной клеточной пролиферации меланоцитов, индуцируемой данным белком [59]). Более того, повышение экспрессии p16/CDKN2A об-

ладает протективным эффектом в отношении снижения смертности пациентов от МК [64]. Эти данные согласуются с ранее проведенным исследованием O. Straume et al., в котором снижение экспрессии p16/CDKN2A было ассоциировано с увеличением пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki-67) и являлось независимым фактором прогноза снижения выживаемости больных МК [73]. Наряду с этим было продемонстрировано, что аллельные потери в области *p16/CDKN2A* и последующее снижение экспрессии белка ведут к прогрессированию МК [59]. 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 [24]. На основании проведенной работы по оценке прогностической значимости генетических нарушений локуса *CDKN2* Casula M. et al. пришли к выводу, что тестирование *p16/CDKN2A* может применяться в качестве маркера, предсказывающего одновременно предрасположенность к развитию МК и прогноз данного заболевания [12].

Ген *CDK4/ CYCLIN-DEPENDENT KINASE 4* (12q13) (OMIM № 123829). Ген *CDK4* (циклин-зависимая киназа 4) расположен на длинном плече 12 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 [8; 20; 32].

Ген *CMM1* (1p36) (OMIM № 155600). Ген *CMM1*, расположенный на коротком плече 1 хромосомы, был первым идентифицированным потенциальным геном, отвечающим за предрасположенность к МК [7], однако позже были получены данные, согласно которым его значение оказалось незначительным [8; 11; 26].

Низкопенетрантные гены

Ген *MC1R/MELANOCORTIN 1 RECEPTOR* (16q24) (OMIM № 155555). *MC1R* расположен на длинном плече 16 хромосомы. Варианты последовательности этого гена выявляются гораздо чаще среди больных МК, чем у здоровых лиц [32]. Наличие одной структурно-функциональной перестройки гена *MC1R* увеличивает риск развития МК в 2,2–3,9 раза; двух – в 4,1–4,8 раза [32; 78]. Наиболее частыми мутантными вариантами являются V60L, R151C, R163Q, D84E и R160W [8].

Вклад *MC1R* в риск развития МК связан, главным образом, с рыжим цветом волос. Так, при исследовании образцов меланом, полученных от больных в Великобритании и Ирландии, 53 % лиц с рыжими волосами несли один вариантный аллель *MC1R* и 29% – два вариантных аллеля [58; 78]. 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 *MC1R*, 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 [10].

Ген *XP* (Пигментная ксеродерма, *XERODERMA PIGMENTOSUM*, *COMPLEMENTATION GROUP A*; *XPA*) (9q22.33) (OMIM № 278700) ассоциирован с редким аутосомно-рецессивным хронически прогрессирующим заболеванием кожи – пигментной ксеродер-

¹ горячими точками (англ.)

мой (ПК). У пациентов с этим заболеванием нарушена способность репарировать повреждения хромосомной ДНК, индуцированные УФ-радиацией, что приводит к повышенной фоточувствительности и последующему поражению кожных покровов. То же самое происходит при развитии атипичных новообразований кожи, в том числе при МК. К.Н. Kraemer et al. сообщили, что злокачественные образования кожи встречаются у 70 % больных пигментной ксеродермой [43]. МК наблюдается у 22 % пациентов с ПК, при этом риск ее развития в возрасте до 20 лет повышен в 1000 раз. Lynch H.T. et al. предположили, что больных ПК можно отнести к группе с высоким риском развития МК [51].

Ген *BRAF* (V-RAF MURINE SARCOMA VIRAL ONCOGENE HOMOLOG B1) (7q34) (OMIM № 164757), кодирующий серин-треониновую протеинкиназу, был идентифицирован в 1992 году [16]. *BRAF* является протоонкогеном и посредством MAP-киназного пути участвует в регуляции процессов пролиферации и дифференцировки клеток.

Соматические мутации в *BRAF* наблюдаются в 40–88 % [36] случаев МК и в 74–82 % случаев меланоцитарных невусов. В подавляющем большинстве случаев речь идет о мутации V600E в 15 экзоне, приводящей к конститутивной активации гена *BRAF*. Тем не менее, были получены данные о том, что *BRAF* может быть отнесен к генам, ассоциированным с низким риском развития МК [8]. В работе K. Laud et al. была исследована вся кодирующая область *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* [45]. Были идентифицированы 13 вариантов строения гена, 4 из которых – «молчащие» мутации в кодирующих регионах и 9 – нуклеотидные замены в интронах. Таким образом, установлено, что герминальные варианты *BRAF* являются полиморфизмами, а сам ген не влияет на риск развития МК. В последующем M. Casula et al. исследовали геномную ДНК 569 больных с МК из Италии на наличие герминальных и соматических мутаций в гене *BRAF* [13]. Три герминальных варианта – M116R, V599E и G608H – в 3 и 15 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 остается неясным, могут ли определенные полиморфные варианты гена *RAF* быть связаны с повышенным риском МК?

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* [37; 52], в других подобных исследованиях корреляций обнаружено не было [13; 36].

Также опубликованы данные о связи герминальных мутаций *BRAF* с наследственным кардиофацио-кожным синдромом, при котором у пациентов имеются множественные врожденные аномалии развития, умственная отсталость, низкорослость, задержка психомоторного развития, врожденные пороки сердца, аномалии кожи, глаз, ЖКТ и ЦНС, что подтверждает многофункциональность данного гена [62; 76].

В литературе также имеются данные о влиянии мутаций *BRCA2*, прежде всего, ответственного за наследственные формы рака молочной железы и яичников [71], и полиморфизмов генов рецептора эпидермального фактора роста [32; 68], изоферментов глутатион-S-трансферазы [32; 38] и рецептора витамина D (*VDR*) [35] на увеличение риска развития МК [17]. Однако эти данные противоречивы и требуют дальнейшего изучения.

Заключение

Достижения в области молекулярной генетики вносят вклад в изучение этиологии, механизмов наследования, рисков развития и ассоциации генетический перестроек 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. 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. – С. 13–58.
2. Демидов Л.В., Харкевич Г.Ю. Адьювантное лечение больных меланомой кожи // Практическая онкология. Отечественная школа онкологов. – 2001. – № 4(8). – С. 42–49.
3. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. В кн: Канцерогенез. / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – С. 125–56.
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. 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;17 – P. 1510–1519.
6. 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. – 2nd ed. – Philadelphia: J.B. Lippincott, 1992. – P. 165.
7. 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. – 320(21). – P. 1367–72.
8. Berking C., Bosserhoff A.K. Malignant Melanoma. – Hereditary tumors / Allgayer H., Rehder H., Fulda S. – WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KgaA, 2009 – P. 411–20.
9. Bishop D.T., Demenais F., Goldstein A.M. et al. Melanoma Genetics Consortium. Geographical variation in

- the penetrance of CDKN2A mutations for melanoma // J Natl Cancer Inst. – 2002. – 94(12). – P. 894–903.
10. 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. – 69(4). – P. 765–73.
 11. 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. – 46(5). – P. 912–8.
 12. Casula M., Budroni M., Cossu A. et al. The susceptibility CDKN2 locus may have a role on prognosis of melanoma patients // Ann Oncol. – 2010. – 21(6). – P. 1379–80.
 13. 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. – 22(2). – P. 286–92.
 14. Chin L., Merlino G., DePinho R.A. Malignant melanoma: modern black plague and genetic black box // Genes Dev. – 1998. – 12(22). – P. 3467–81.
 15. Dyson N., Baiman A. Oncogenes and cell proliferation // Current opinion in genetics and development. – 1999. – 9. – P. 11–4.
 16. Eychene A., Barnier J.V., Apiou F. et al. Chromosomal assignment of two human B-raf(Rml) proto-oncogene loci: B-raf-1 encoding the p94Braf/Rml and B-raf-2, a processed pseudogene // Oncogene. – 1992. – 7. – P. 1657–60.
 17. Fargnoli M.C., Argenziano G., Zalaudek I. et al. High- and low-penetrance cutaneous melanoma susceptibility genes // Expert Rev Anticancer Ther. – 2006. – 6(5). – P. 657–70.
 18. Genetics Home Reference <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/CDKN2A>.
 19. 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. – 44. – P. 99–106.
 20. Goldstein A.M., Chidambaram A., Halpern A. et al. Rarity of CDK4 germline mutations in familial melanoma // Melanoma research. – 2002. – 12. – P. 51–5.
 21. Goldstein A.M. Familial melanoma, pancreatic cancer and germline CDKN2A mutations // Hum Mutat. – 2004. – 23(6). – P. 630.
 22. Goldstein A.M., Tucker M.A. Genetic epidemiology of cutaneous melanoma: A global perspective // Archives of Dermatology. – 137(11). – P. 1493–6.
 23. 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. – 55. – P. 4531.
 24. 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. – 11. – P. 2991–7.
 25. Grange F., Chompret A., Guillaud-Bataille M. et al. Comparison between familial and non-familial melanoma in France // Arch Dermatol. – 1995. – 131. – P. 1154–9.
 26. 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. – 5(1). – P. 61–4.
 27. Haluska F.G., Tsao H., Wu H. et al. Genetic Alterations in Signaling Pathways in Melanoma // Clin Cancer Res. – 2006. – 12(7 Pt 2). – P. 2301–7.
 28. Hansen C.B., Wadga L.M., Lowstuter K. et al. Clinical germline genetic testing for melanoma // Lancet Oncol. – 2004. – 5. – P. 314–9.
 29. Hansson J. Familial cutaneous melanoma // Adv Exp Med Biol. – 2010. – 685. – P. 134–45.
 30. Harland M., Holland E.A., Ghiorzo P. et al. Mutation screening of the CDKN2A promoter in melanoma families // Genes Chromosomes Cancer. – 2000. – 28. – P. 45–57.
 31. Hashemi J., Platz A., Ueno T. et al. CDKN2A germ-line mutations in individuals with multiple cutaneous melanomas // Cancer Res. – 2000. – 60(24). – P. 6864–7.
 32. Hayward N.K. Genetics of melanoma predisposition // Oncogene. – 2003. – 22(20). – P. 3053–62.
 33. 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. – 55. – P. 4525.
 34. High W., Robinson W. Genetic mutations involved in melanoma: a summary of our current understanding // Adv Dermatol. – 2007. – 23. – P. 61–79.
 35. 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. – 6(2). – P. 498–504.
 36. 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. – 52(9). – P. 1675–8.
 37. James M.R., Roth R.B., Shi M.M. et al. BRAF polymorphisms and risk of melanocytic neoplasia // J Invest Dermatol. – 2005. – 125. – P. 1252–8.
 38. 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. – 10(5). – P. 509–13.
 39. Kefford R., Mann G. Is there a role for genetic testing in patients with melanoma // Curr Opin Oncol. – 2003. – 15. – P. 157–61.
 40. 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. – 17. – P. 3245–51.
 41. Koh J., Enders G.H., Cynlacht B.D. et al. Tumor-derived p16 alleles encoding protein defective in cell-cycle inhibition // Nature. – 1995. – 375. – P. 506.
 42. Kopf A.W., Hellman L.J., Rogers G.S. et al. Familial malignant melanoma // JAMA. – 1986. – 256. – P. 1915–9.
 43. 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. – 130(8). – P. 1018–21.

44. *Laennec R.T.H.* Sur les melanoses // Bulletin de Faculte de Medecine Paris. – 1806. – P. 1–24.
45. *Laud K., Kannengiesser C., Avril M.F. et al.* French Hereditary Melanoma Study Group. BRAF as a melanoma susceptibility candidate gene? // Cancer Res. – 2003. – 63(12). – P. 3061–5.
46. *Leachman S.A., Carucci J., Kohlmann W. et al.* Selection criteria for genetic assessment of patients with familial melanoma // J Am Acad Dermatol. – 2009. – 61(4). – 677. – e1–14.
47. *Lin J., Hocker T.L., Singh M. et al.* Genetics of melanoma predisposition // The British Journal of Dermatology. – 2008. – 159(2). – P. 286–91.
48. *Liu L., Dihworth D., Gao L. et al.* Mutation of the CDKN2A 59 UTR creates an aberrant initiation codon and predisposes to melanoma // Nat. Genet. 1999. – 21. – P. 128–32.
49. *Lukas J., Parry D., Aagaard L. et al.* Retino-blastoma-protein-dependent cell-cycle inhibition by the tumor suppressor p16 // Nature. – 1995. – 375. – P. 503.
50. *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. – 94(1). – P. 84–96.
51. *Lynch H.T., Fusaro R.M., Johnson J.A.* Xeroderma pigmentosum. Complementation group C and malignant melanoma // Arch Dermatol. – 1984. – 120(2). – P. 175–9.
52. *Meyer P., Sergi C., Garbe C.* Polymorphisms of the BRAF gene predispose males to malignant melanoma // J Carcinogen. – 2003. – 2. – P. 7.
53. *Monzon J., Liu L., Brill H. et al.* CDKN2A mutations in multiple primary melanomas // N Engl J Med. – 1998. – 338. – P. 879–87.
54. *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. – 24(4). – P. 296–304.
55. [No authors listed]. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. The Breast Cancer Linkage Consortium // J Natl Cancer Inst. – 1999. – 91 – P. 1310–6.
56. *Norman E Sharpless, Lynda Chin.* The INK4a/ARF locus and melanoma // Oncogene. – 2003. – 22. – P. 3092–8.
57. *Norris W.* A case of fungoid disease // Edinb. Med. Surg. J. – 1820. – 16 – P. 562–5.
58. *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. – 66(1). – P. 176–86.
59. *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. – 11. – P. 1052–68.
60. *Puig S., Malvehy J., Badenas C. et al.* Role of the CDKN2A Locus in patients with multiple primary melanomas // J Clin Oncol. – 2005. – 23 – P. 3043–51.
61. *Rieder H., Bartsch D.K.* Familial pancreatic cancer // Fam Cancer. – 2004. – 3. – P. 69–74.
62. *Rodriguez-Viciana P., Tetsu O., Tidyman W. et al.* Germline mutations in genes within the MAPK pathway cause Cardio-facio-cutaneous syndrome // Science. – 2006. – 311. – P. 1287–90.
63. *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. – 27. – P. 5772–80.
64. *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. – 101. – P. 452–74.
65. *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. – 395(6699). – P. 237–43.
66. *Rutter J.L., Goldstein A.M., Dávila 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. – 22(28). – P. 4444–8.
67. *Serrano M., Lee H., Chin L. et al.* Role of the INK4a locus in tumor suppression and cell mortality // Cell. – 1996. – 85. – P. 27.
68. *Shahbazi M., Pravica V., Nasreen N.* Association between functional polymorphism in EGF gene and malignant melanoma // Lancet. – 2002. – 359(9304). – P. 397–401.
69. *Snoo de F.A., Gruis N.A.* Familial melanoma // Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. – April 2005. – URL: <http://atlasgeneticsoncology.org/Kpomes/FamilialMelanomaID10088.html>.
70. *Somoano B., Niendorf K.B., Tsao H.* Hereditary cancer syndromes of the skin // Clin Dermatol. – 2005. – 23 – P. 85–106.
71. *Soufir N., Basset-Seguin N.* The INK4a-ARF locus: role in the genetic predisposition to familial melanoma and in skin carcinogenesis // Bull Cancer. – 2001. – 88(11). – P. 1061–7.
72. *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. – 90. – P. 503–9.
73. *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. – 6(5). – P. 1845–53.
74. *Thompson J.F., Scolyer R.A., Kefford R.F.* Cutaneous melanoma // Lancet. – 2005. – 365(9460). – P. 687–701.
75. *Tucker M.A., Goldstein A.M.* Melanoma etiology: where are we? // Oncogene. – 2003. – 22. – P. 3042–52.
76. *Urošević 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 U S A. – 2011. – 108(12). – P. 5015–20.
77. *Urteaga O., Pack G.T.* On the antiquity of melanoma // Cancer. – 1966. – 19(5). – P. 607–10.
78. *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. – 11(3). – P. 328–30.