

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕЛАНОМЫ. ЧАСТЬ 1. ГЕНЫ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ И ОСНОВНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, АКТИВИРОВАННЫЕ В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ

Л.Ф. Гуляева

д.б.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза, НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАН (г. Новосибирск)

Н.Н. Мазуренко

д.б.н., профессор, руководитель лаборатории онкогеномики НИИ канцерогенеза, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

Н.Е. Кушлинский

д.м.н., профессор, член-корр. РАН, руководитель лаборатории клинической биохимии, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

Меланома – наиболее опасное злокачественное заболевание кожи с высоким риском рецидивирования и метастазирования. Молекулярно-биологические исследования, выполненные в последнее десятилетие, кардинально изменили наши представления о механизмах канцерогенеза меланоцитов. Рассмотрены наследственные факторы предрасположенности к меланоме (редкие аллели генов *CDKN2A* и *CDK4*, мутации *MITF* и *BAP1*, полиморфизм *MC1R*), а также соматические генетические нарушения, вовлеченные в развитие меланомы. Это мутации генов, вызывающих гиперактивацию RAS-MAPK (BRAF, NRAS, MEK, NF1) и PI3K-(PTEN, AKT) сигнальных путей и тирозинкиназных рецепторов KIT, ERBB4, которые активируют передачу сигнала в клетке. Показана роль cAMP и NF-κB в меланомагенезе.

Ключевые слова: меланома, генетические нарушения, RAS-MAPK- и PI3K-сигнальные пути, cAMP, NF-κB, канцерогенез.

Меланома – наиболее опасное злокачественное заболевание кожи с высоким риском рецидивирования и метастазирования. Меланома составляет менее 10% среди злокачественных новообразований кожи, однако ответственна за 80% смертей в этой группе заболеваний. Опухоль отличается чрезвычайной клинико-морфологической гетерогенностью и спектром молекулярно-генетических нарушений. Меланома может быть излечена хирургическим путем в 1-й и 2-й стадиях местнораспространенного процесса и при этом показатели 5-летней выживаемости составляют 90–100% [1]. Однако прогноз ухудшается при поражении более глубоких слоев кожи, что связано с инвазией и метастазированием. Показатель общей 5-летней выживаемости пациентов при метастатической меланоме – только 15%. Ежегодный прирост заболеваемости меланомой в течение последних 40 лет составил около 5% и по прогнозу ВОЗ заболеваемость меланомой в мире в течение 10 лет вырастет на 25%. Например, в Америке каждый час от меланомы умирает один человек (<http://www.skincancer.org/skincancer-facts>).

Меланома возникает в результате трансформации меланоцитов, специализированных пиг-

мент-продуцирующих клеток, находящихся в базальном слое эпидермиса или увеальной оболочке глаза. Ультрафиолетовое (УФ) облучение является главным внешним фактором развития меланомы, при этом существенно увеличивается риск образования меланомы у людей со светлой кожей. Как правило, меланоциты синтезируют пигменты меланина и переносят их в окружающие кератиноциты. В результате кожа пигментируется, что защищает ее от повреждений, вызванных солнечной ультрафиолетовой радиацией [1].

В 30% случаев отмечено развитие меланомы из пигментных поражений, называемых доброкачественными невусами, которые затем трансформируются в диспластические невусы. Дальнейшее развитие приводит к меланоме *in situ*, которая растет латерально (поверхностно-распространяющаяся меланома) и, в основном, ограничена эпидермисом. Этот этап называется радиальной фазой роста меланомы (radial growth phase – RGP); RGP-меланому можно эффективно лечить хирургическим иссечением с низким уровнем риска рецидива или метастазов. Однако без лечения поверхностная меланома прогрессирует с инвазией дермы клетками меланомы и приобретением метаста-

тического потенциала – вертикальная фаза роста (vertical growth phase – VGP). Поверхностная меланома кожи составляет более 80% случаев, в 15% меланома развивается подкожно и возникает из эпидермальных меланоцитов в виде опухолевого узла в результате вертикального роста клеток в дерму (узловая меланома).

На основании анатомической локализации и степени воздействия солнечных лучей классифицируют следующие подтипы меланомы: 1) поверхностно-распространяющаяся меланома на участках кожи, не подверженной хроническому солнечному воздействию (non chronic sun-induced damage – Non-CSD); 2) меланома на участках кожи, подвергающейся постоянному солнечному воздействию (chronic sun-induced damage – CSD); 3) узловая меланома; 4) акральная меланома кожи стопы, ладоней или ногтевого ложа. Хотя фактором риска меланомы является инсоляция, меланома кожи чаще возникает на закрытых участках тела. Отдельно выделяют меланому слизистых оболочек различной локализации [1–4].

Заболееваемость меланомой зависит от расы пациента: представители белой расы (европеиды) чаще болеют поверхностно-распространяющейся меланомой кожи, тогда как у представителей азиатской или африканской рас преимущественно выявляют меланому слизистых оболочек или акральную. В частности, в китайской популяции преобладает меланома слизистых оболочек (33,3%) и акральная меланома (38,4%) [5].

Меланома весьма устойчива к традиционной химиотерапии и поиск новых, более эффективных способов лечения остается острой проблемой современной онкологии. Наибольшие перспективы имеет сочетанное применение иммунотерапии и таргетной терапии, в связи с этим большие надежды возлагают на изучение молекулярно-генетических механизмов развития меланомы с целью выявления мишеней для поиска новых лекарственных препаратов, в том числе и целенаправленного действия, так называемой таргетной терапии [2, 3, 6, 7].

ГЕНЫ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ

Исторически наследственные мутации высокого риска развития того или иного вида злокачественных новообразований, в частности в онкогенах или генах-супрессорах опухоли, были открыты на основе анализа родословной, когда применимы Менделевские принципы наследования при-

знака. В последние 5 лет с помощью полногеномного анализа (genome-wide association studies – GWAS) идентифицируют однонуклеотидные замены (SNPs), связанные с риском развития опухоли, в том числе меланомы. Недавние исследования показали, что многие болезни вызваны комбинацией различных аллелей, которые классифицируют в зависимости от степени их пенетрантности.

Меланомы являются наследственными примерно в 10% наблюдений [8]. Основные факторы риска включают семейную историю, большое число невусов, долгое пребывание под солнцем. В семейных формах меланомы идентифицированы редкие аллели генов *CDKN2A* и *CDK4*, важных регуляторов клеточного цикла. Ингибитор циклин-зависимой киназы 2A (*CDKN2A*) идентифицирован около 20 лет назад как первый высоко пенетрантный ген предрасположенности к развитию меланомы. Позднее был найден другой ген – циклинзависимой киназы 4 *CDK4*. Мутации в этих генах существенно повышают риск развития меланомы [9]. Ген *CDKN2A* локализован в локусе 9p21 и кодирует супрессоры опухолевого роста $p16^{INK4a}$ и $p14^{ARF}$, которые транскрибируются с разных экзонов и транслируются в разных рамках считывания [10]. Для гена *CDKN2A* это чаще всего мутация, соответствующая замене G101W в белке $p16^{INK4a}$ [11]. Потеря функции $p16^{INK4a}$ вызывает усиление киназной активности *CDK4* и *CDK6*, которые фосфорилируют белок RB, связанный с транскрипционным фактором E2F1. Последний высвобождается из комплекса и запускает транскрипцию генов S-фазы клеточного цикла, обеспечивая, таким образом, дальнейшее продвижение клеточного деления. Важность белка $p16^{INK4a}$ в развитии меланомы доказана также повышенной частотой выявления соматических мутаций (до 50%) и эпигенетическими нарушениями экспрессии гена в образцах опухоли (выключение метилированием в 9% наблюдений) [12]. Комплексный анализ картины генетических и эпигенетических изменений локусов супрессоров опухолевого роста $p16^{INK4a}$ и $p14^{ARF}$ в меланоме показал, что $p14^{ARF}$ также часто инактивирован [13]. Мутации $p14^{ARF}$ приводят к недостатку p53, который контролирует целостность и репарацию ДНК [14].

Дальнейшее развитие исследований в этом направлении выявило новые гены предрасположенности к меланоме: ген *BAP1* (Breast cancer associated protein 1), гены хемокинов *CXC*, ген субъединицы обратной транскриптазы *TERT*, ген *POT1* (Protection of telomeres 1), гены *ACD* и *TERF2IP*

[15, 16]. Последние четыре гена играют важную роль в поддержании теломерных участков хромосом. Кроме мутаций в генах *CDKN2A* и *CDK4*, для наследственных вариантов меланомы характерны полиморфизмы в генах, участвующих (*MC1R*,

ASIP, *MATP*) и не участвующих (*MTAP*, *TERT*, *CASP8*) в пигментации кожи [1, 13]. Эти гены сами по себе не вносят вклад в риск развития меланомы, но могут действовать, как модификаторы генов высокого риска (рис. 1).

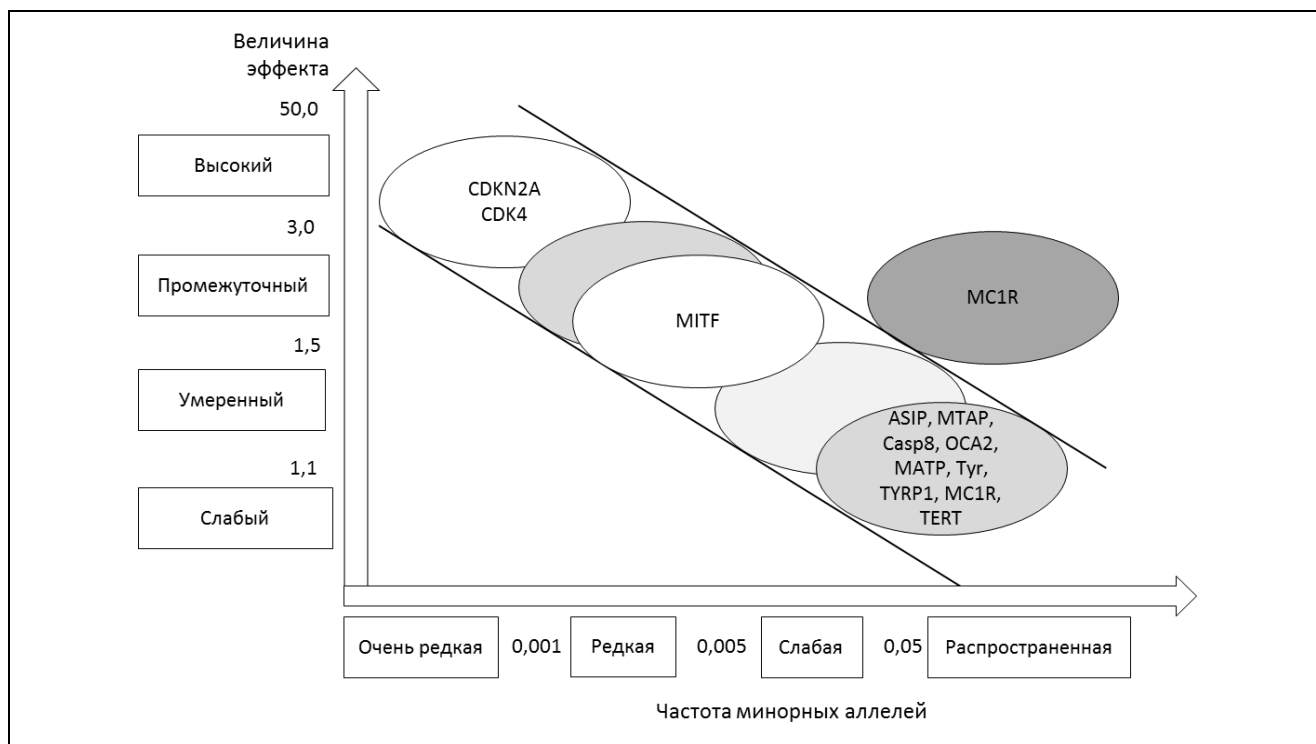


Рис. 1. Гены предрасположенности к развитию меланомы [1]

Дальнейшие эпидемиологические исследования подтвердили, что некоторые гены могут быть кандидатами повышенного риска развития меланомы, в частности, ген рецептора меланокортина 1 (*MC1R*) – ключевой регулятор пигментации кожи и дифференцировки меланоцитов. Белок *MC1R* относится к трансмембранным G-белковым рецепторам, которые экспрессируются на поверхности эпидермальных меланоцитов. *MC1R* активирует аденилатциклазу и сАМР-РКА-CREB каскад через меланоцит-стимулирующий гормон альфа (α -MSH) и адренотропный гормон [17], а также важен в определении фенотипа пигментации, чувствительности к солнечным лучам и восприимчивости кожи к загару. Определенные полиморфные аллельные варианты *MC1R*, ответственные за рыжие волосы, светлую кожу и низкую чувствительность к загару, связывают с чувствительностью к УФ-радиации и раку кожи [18]. В комбинации с мутациями в высокопенетрантном гене *CDKN2A* эти низкопенетрантные гены могут вносить свой вклад в риск развития меланомы [19].

Среди других генов, критичных для гомеостаза меланоцитов и развития меланомы, важен транскрипционный фактор *MITF* (microphthalmia-associated transcription factor), принадлежащий к суперсемейству транскрипционных факторов TFE, которые подобно белкам Мус, Мах, Mad содержат мотив bHLHZip. Этот фактор сейчас рассматривают как «мастер-ген» гомеостаза меланоцитов [20]. Потеря функции *MITF* в результате мутаций связана с наследственными нарушениями в развитии нервного гребня, синдромов Ваарденбурга и Тиеца, характеризующимися потерей меланоцитов и дефектами пигментации [21]. У взрослых людей *MITF* вовлечен в поддержание меланоцитарных стволовых клеток и контроль дифференцировки меланоцитов. Фактор *MITF* обеспечивает антиоксидантную защиту и усиливает антиапоптотические свойства меланоцитов [22]. Оказалось, что этот белок вовлечен в патогенез меланомы. Показано, что ген *MITF* амплифицирован у 10–20% больных меланомой, что связано также с показателями 5-летней выживаемости [23]. Более того,

MITF запускает трансформацию иммортализованных меланоцитов совместно с мутантным V600E BRAF. Генами-мишенями для MITF являются гены выживания и апоптоза (*BCL2*, *HIF1A*, *BCL2A1*), миграции (*DIAPH1*, *MET*) и пролиферации (*CDK2*, *TBX2*, *CDKN1B*). В некоторых наблюдениях семейная меланома связана с миссенс-мутацией p.E318K в гене *MITF*, при которой усилено связывание MITF с промотором *HIF1-a* [16]. Эта мутация встречается в европейских популяциях довольно редко: ее частота колеблется между 0,003% у французов и 0,085% у англичан. Интересно, что эта же мутация характерна для рака почки. У больных раком почки в качестве 2-й неоплазии часто выявляют меланому и наоборот, что подтверждает роль транскрипционного фактора MITF в развитии данных патологий [13].

В 2011 г. описан наследственный синдром развития мезотелиомы, связанный с мутацией в гене-супрессоре *BAP1* (BRCA1-associated protein 1) [24]. Белок BAP1 участвует в процессах убиквитин-зависимого протеолиза в составе белковых комплексов, что делает его важным регулятором многих клеточных процессов, включая ремодулирование хроматина, прогрессию клеточного цикла, репарацию ДНК и дифференцировку. Дальнейшие исследования показали, что носители мутации в этом гене имеют высокий риск развития других онкологических заболеваний, в том числе увеальной меланомы, меланомы кожи, светлоклеточного рака почки, аденокарциномы легких [25, 26]. Мутации *BAP1* обнаружены и в спорадических меланоцитарных новообразованиях, сходных по гистологии с семейными опухолями [27]. В семьях таких больных наблюдаются также рак яичников, молочной и поджелудочной желез, что может быть проявлением наследственного *BAP1* синдрома. Для окончательного вывода о роли гена *BAP1* в развитии меланомы необходимы дальнейшие клинические, эпидемиологические и молекулярно-биологические исследования.

Показана также ассоциация генетического полиморфизма SNP309 ингибитора p53 MDM2, а также ряда других генов апоптоза с риском развития меланомы [28, 29].

Таким образом, в исследованиях генетики меланомы наметился определенный прогресс. Выявлено более десятка генов предрасположенности к меланоме с разной степенью пенетрантности. Безусловно, для использования результатов генетических исследований в клинической практике необходимы дальнейшие популяционные исследования, хотя международный консорциум по гене-

тике меланомы рекомендует проводить анализ мутаций в локусе *CDKN2A* (*p16^{INK4a}*) у пациентов с семейной историей меланомы [30].

ОСНОВНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, ВОВЛЕЧЕННЫЕ В РАЗВИТИЕ МЕЛАНОМЫ

Ключевым сигнальным каскадом, вовлеченным в патогенез развития меланомы, является митоген-активированный протеинкиназный путь (MAPK), который также служит основой для использования таргетной терапии.

RAS-MAPK-путь. Классический MAPK-каскад состоит из белков семейств RAS, и собственно митоген-активированных протеинкиназ RAF, MEK и ERK, передающих пролиферативный сигнал с клеточной поверхности через цитоплазму в ядро (рис. 2).

В нормальной клетке этот сигнал стимулируется митогенами, гормонами или нейротрансмиттерами, связывающимися с тирозин-киназными рецепторами, которые димеризуются и активируют ГТФазу RAS; в результате в клетке увеличивается уровень активной формы RAS-GTP. В основе этого процесса лежит фосфорилирование домена SH2 адапторного белка GRB2, что приводит к присоединению SOS к GDP-RAS и конверсии последнего в активную форму GTP-RAS [31].

GTP-RAS запускает активацию MAPK-каскада серин/треонин киназ RAF, MEK1/2, ERK1/2. Последние регулируют экспрессию генов, вовлеченных в клеточную пролиферацию, дифференцировку и выживание путем фосфорилирования транскрипционных факторов, таких как ETS, ELK-1, MYC, или опосредованно влияют на такие молекулы, как p90-RSK. MAPK-путь также влияет на посттрансляционное фосфорилирование апоптотических сигнальных молекул BAD, BIM, MCL-1, каспаза 9 и BCL-2, таким образом, регулируя апоптоз.

Многочисленные исследования последних лет убедительно показали, что в развитие меланомы вовлечен MAPK-путь с проведением сигнала либо напрямую через рецепторы, либо вместе с другими путями, такими как PI3K-сигнальный путь [32, 33]. Гиперактивация сигнального пути RAS-MAPK наблюдается в 90% случаев меланомы кожи. Более половины всех меланом кожи имеет активирующие мутации в *BRAF* и 15–20% – в *NRAS*, а мутации рецептора ERBB4 найдены в 19% всех меланом. Итогом является активация RAS-MAPK и PI3K-mTOR сигнальных путей, приводящая к усилению пролиферации.

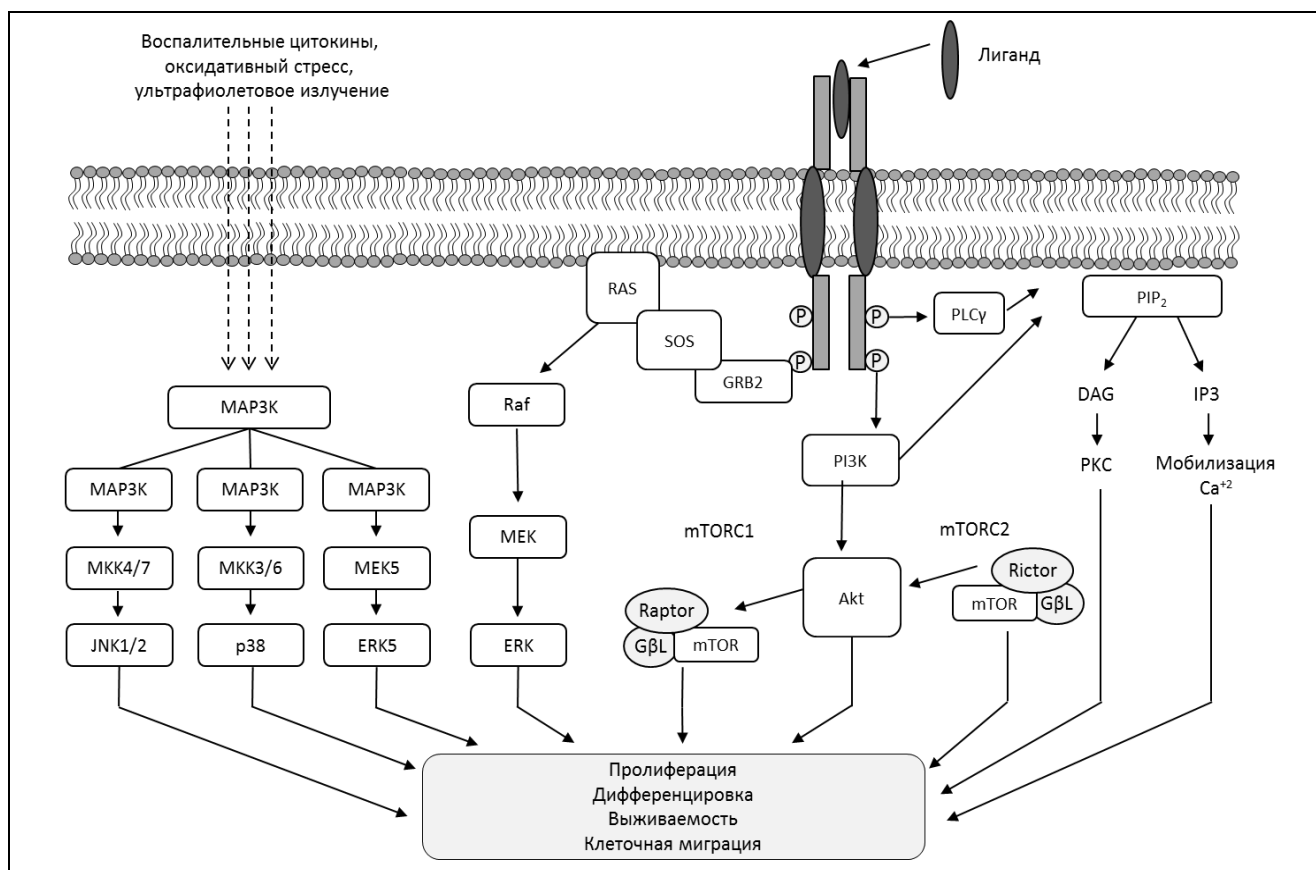


Рис. 2. MAPK- и PI3K-пути передачи сигнала в клетке [31]

Наиболее часто после *BRAF* и *NRAS* соматические мутации в меланоме кожи выявлены в гене *NF1* (15% пациентов), кодирующем нейрофибромин, который негативно регулирует RAS-сигналинг. Установлено, что 40–50% меланом с отсутствием мутации в «горячих точках» *BRAF* (p.V600 и K601) и *NRAS* (p.G12, G13 и Q61) содержат функционально инактивирующие мутации *NF1*, причем мутации *NF1* и *BRAF* (но не *NRAS*) взаимно исключены [34, 35]. В связи с этим предложено рассматривать четыре генетические подгруппы меланомы кожи [34]: с MAPK драйверными мутациями *BRAF*, *NRAS*, *NF1* (меланомы, не имеющие *BRAF* и *NRAS* мутаций в «горячих точках») и *Triple WT* меланомы (с трижды диким типом). Пациенты *NF1*-подтипа старше по возрасту, содержат большее число генетических нарушений и часто имеют дополнительные мутации в генах, связанных с *RAS* (*RASA1*, *RASA2*, *PTPN11*, *SOS1*) [35]. Показано, что в 50% десмопластической меланомы, редкой формы меланомы с саркоматозной гистологией, возникающей на участках кожи с хронической инсоляцией, обнаружены мутации *NF1* и отсутствуют

мутации *BRAF*, *NRAS* в «горячих точках», что указывает на роль *NF1* в меланомогенезе.

Генетические подтипы меланомы характеризуются молекулярными и клиническими особенностями. Только 30% *Triple WT* меланомы имеют УФ-индуцированный спектр мутаций, характерный для 90% меланом других трех типов. В *Triple WT* меланоме отмечено много амплификаций, в частности на хр. 4q12, содержащей *KIT*, *PDGFR* и *VEGFR2*, в локусах *TERT*, *CDK4* и *CCND1*, а также много сложных генетических нарушений и потенциально слитных генов. В частности, в *Triple WT* меланоме больше *KIT* мутаций [34].

PI3K-путь. Важнейшим генетическим событием в меланоме является активация сигнального пути PI3K-АКТ-mTOR, причем уровень активации серин/треонин киназы АКТ3 повышается с увеличением стадийности меланомы. Активация АКТ3 отмечена в 60% случаев sporadic меланомы, причем чаще за счет амплификации гена *АКТ3* и редко за счет мутации *АКТ3* или *PI3K*.

В 40–60% меланомы кожи инактивирована фосфатаза PТEN, которая функционирует как опухолевый супрессор. PТEN дефосфорилирует PIP-3

продукты и таким образом негативно регулирует PI3K-AKT сигнальный путь [36]. Экспрессия PTEN почти всегда наблюдается в цитоплазме доброкачественных и диспластических невусов, но отсутствует в большинстве случаев меланомы. Утрата экспрессии PTEN происходит в результате мутации, потери гетерозиготности или утраты хромосомы либо в результате эпигенетических нарушений транскрипции за счет метилирования или микро-РНК регуляции. Утрата PTEN не характерна для меланомы с мутацией NRAS, тогда как повышенная экспрессия AKT3 за счет амплификации и мутантный BRAF кооперируют в развитии меланомы.

Выявленные генетические нарушения в основных молекулах данных сигнальных путей послужили основой для разработки лекарственных препаратов, направленных на ингибирование сигнальных каскадов.

сАМР-сигнальный путь. В меланоцитах помимо MAPK-пути важную роль играет сАМР-

сигнальный каскад [37, 38]. Показано, что сАМР стимулируется через взаимодействие α -MSH с MC1R. Последний имеет семь трансмембранных доменов, с помощью которых связывается с гетеротримерными G-белками.

Активация лигандами приводит к накоплению уровня сАМР в меланоцитах, что сопровождается активацией протеинкиназы-A, которая фосфорилирует CREB; последний стимулирует транскрипционный фактор MITF, отвечающий за дифференцировку меланоцитов (рис. 3). MITF регулирует экспрессию генов, связанных с синтезом меланина и функцией меланосом: *TYR*, *TYRP1*, *DCT*, *RAB27A* и *GPR143*.

Уровень сАМР регулируется фосфодиэстеразами (PDE), 8 из 11 семейств PDE способны гидролизовать сАМР. В свою очередь, активность фосфодиэстераз регулируется определенными киназами, что позволяет PDE играть ключевую роль во взаимодействии сАМР-пути с другими внутриклеточными путями.

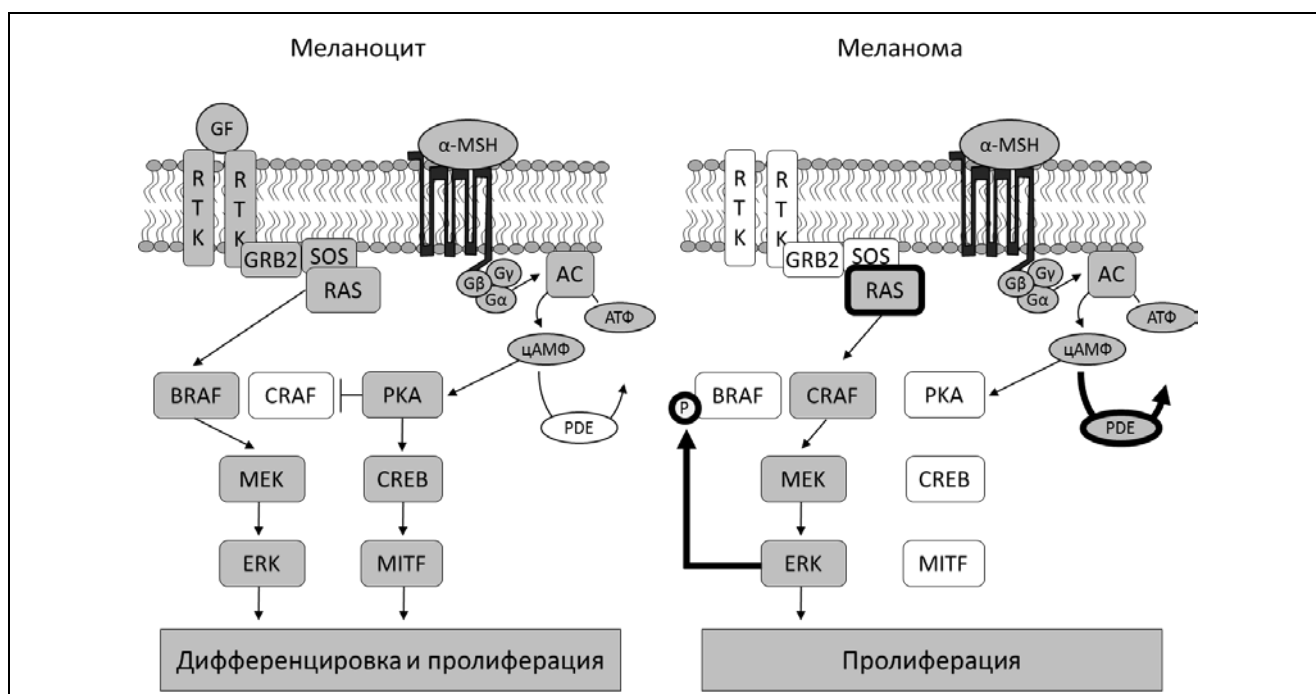


Рис. 3. MAPK- и сАМР-сигнальные пути в нормальных меланоцитах и меланоме [37]

В физиологических условиях MAPK-путь активируется через тирозинкиназные рецепторы (RTK); мутации в BRAF и NRAS, приводящие к активации этого пути, характерны для меланомы. Так как оба пути (сАМР и MAPK) активируются одновременно, они являются хорошей моделью для изучения их взаимодействий. Конститутивная

активация сАМР-пути в меланоцитах приводит к фосфорилированию и инактивации CRAF с помощью PKA. Тогда активация RTK стимулирует в меланоцитах MAPK-путь через BRAF. Важность последнего подтверждается тем фактом, что более 50% меланом содержат BRAF с онкогенной мутацией, тогда как другие члены этого семейства ни-

когда не мутируют при развитии меланомы. В последнее время получены новые подтверждения роли CRAF в активации MAPK-пути в меланоме. Примерно 15% меланом имеют мутацию в этом онкогене, причем в этом случае опухоль обладает высокой скоростью митоза, а выживаемость пациентов ниже, чем в случае дикого или мутантного BRAF [39]. Эти факты делают CRAF привлекательной мишенью для лечения меланомы.

В некоторых исследованиях показано, что мутантный BRAF с низкой киназной активностью (не с мутацией V600E) может активировать MAPK-путь через активацию CRAF. Хотя наиболее частым молекулярным событием для меланомы являются нарушения в MAPK-пути, мутации RAS запускают активацию изоформ RAF, и тогда CRAF активирует MAPK-путь (см. рис. 3). Неспособность BRAF активировать MAPK-путь в RAS-мутированной меланоме объясняется перманентной негативной обратной связью, предотвращающей его взаимодействие с RAS. Белок BRAF фосфорилирован ERK в положении S151 около RAS-связывающего домена, что ингибирует образование комплекса RAS/BRAF, причем это фосфорилирование не снимается фосфатазами, что является особенностью трансформированных меланоцитов. В меланоцитах, трансформированных онкогенным RAS, а также в клеточных линиях меланомы с мутантным RAS меланоцитные гормоны, такие как α -MSH, не могут долго активировать cAMP-путь. Такое снижение активности можно преодолеть, когда ингибирована активность PDE, особенно семейства PDE4. Показано, что ингибирование экспрессии генов или ферментативной активности PDE4 снижает способность онкогенного RAS трансформировать меланоциты.

Важным следствием этих процессов является вывод о том, что ингибирование cAMP-пути необходимо для пролиферации клеток с мутантным RAS. Более того, реактивация cAMP-пути с использованием ингибитора PDE4 ролипрама в комбинации с низкими дозами форсколина (активатора аденилат-циклазы) вызывала заметное снижение пролиферации клеточных линий меланомы, но не меланоцитов, что связывают с индукцией апоптоза [40]. Это означает, что ферменты PDE4 семейства могут быть потенциальными терапевтическими мишенями для лечения меланомы с мутантным белком RAS. Это важно, поскольку такие меланомы не чувствительны ни к ингибиторам BRAF, ни к ингибиторам MEK.

МЕЛАНОМА И NF- κ B

Транскрипционный фактор NF- κ B – важный молекулярный маркер метастазирующей меланомы, экспрессия которого в трансформированных меланоцитах существенно повышается, что приводит к нарушению транскрипции регулируемых им генов-мишеней [41, 42]. Семейство NF- κ B представлено белками Rel A (p65), Rel B, C-Rel, NF- κ B1 (p50) и NF- κ B2 (p52), содержащими в N-терминальном конце Rel гомологичный домен (RHD), который необходим для димеризации и связывания с ДНК. В неактивном состоянии белки p65, Rel B и C-Rel связаны с цитоплазматическим ингибитором I κ B (inhibitor protein of NF- κ B), тогда как белки p100 (предшественник p52) и p105 (предшественник p50) содержат свои собственные ингибиторные домены (рис. 4).

Ингибиторные белки I κ B регулируются киназным комплексом IKK и соответственно деградацией с помощью 26S протеасомы. Белок p65 фосфорилируется большим количеством киназ во время фосфорилирования и деградации I κ B, и эти события усиливают транслокацию p65 в ядро. В результате стимуляции белки p100 и p105 расщепляются в активные формы p52 и p50 соответственно. Эти посттрансляционные модификации генерируют активный комплекс NF- κ B (в основном, это p65/p50 гетеродимеры) во многих типах клеток.

В меланоме большое число хемокинов, регулируемых этим ядерным белком, конститутивно экспрессируется на достаточно высоком уровне: (CXCL8 или IL-8), CXCL1 (melanoma growth stimulatory activity – MGSA), CCL5 и CCL2 (monocyte chemotactic protein-1 – MCP1). Эти NF- κ B-регулируемые хемокины в активированном состоянии усиливают прогрессию меланомы ауто- и паракринно. Кроме этого, гиперэкспрессия IL-8 вызывает рост метастазов, она также связана с прогрессированием поверхностно-распространяющейся (RGP) меланомы в узловую (VGP). Показано, что антитела к IL-8 ингибировали рост сосудов опухоли, а у пациентов, получавших химиотерапию, выявлено существенное снижение этого хемокина в сыворотке крови. В настоящее время транскрипционный фактор NF- κ B рассматривают также как важный фактор опухолевой прогрессии [42].

Таким образом, для NF- κ B характерен плеiotропный эффект: выполняя в клетке несколько важных функций, этот белок вовлечен в патогенез развития многих опухолей, включая меланому. Среди функций NF- κ B следует отметить его про-

воспалительный ответ на инфекции, анти-апоптотическую функцию, а также промоцию клеточного роста через усиление активности циклина D1 [43]. Все это делает его привлекательной мишенью для таргетной терапии. Так как этот белок регулируется фосфорилированием и ингибиторным белком IκB, использование протеосомного ингиби-

тора может представлять эффективный подход для лечения меланомы, в которой NF-κB конститутивно активен. Такой ингибитор бортезомиб (Bortezomib или Velcade) показал ингибирующий эффект на рост клеток меланомы *in vitro* и *in vivo* на мышах [44]. Начаты также клинические испытания этого препарата на пациентах с меланомой [45].

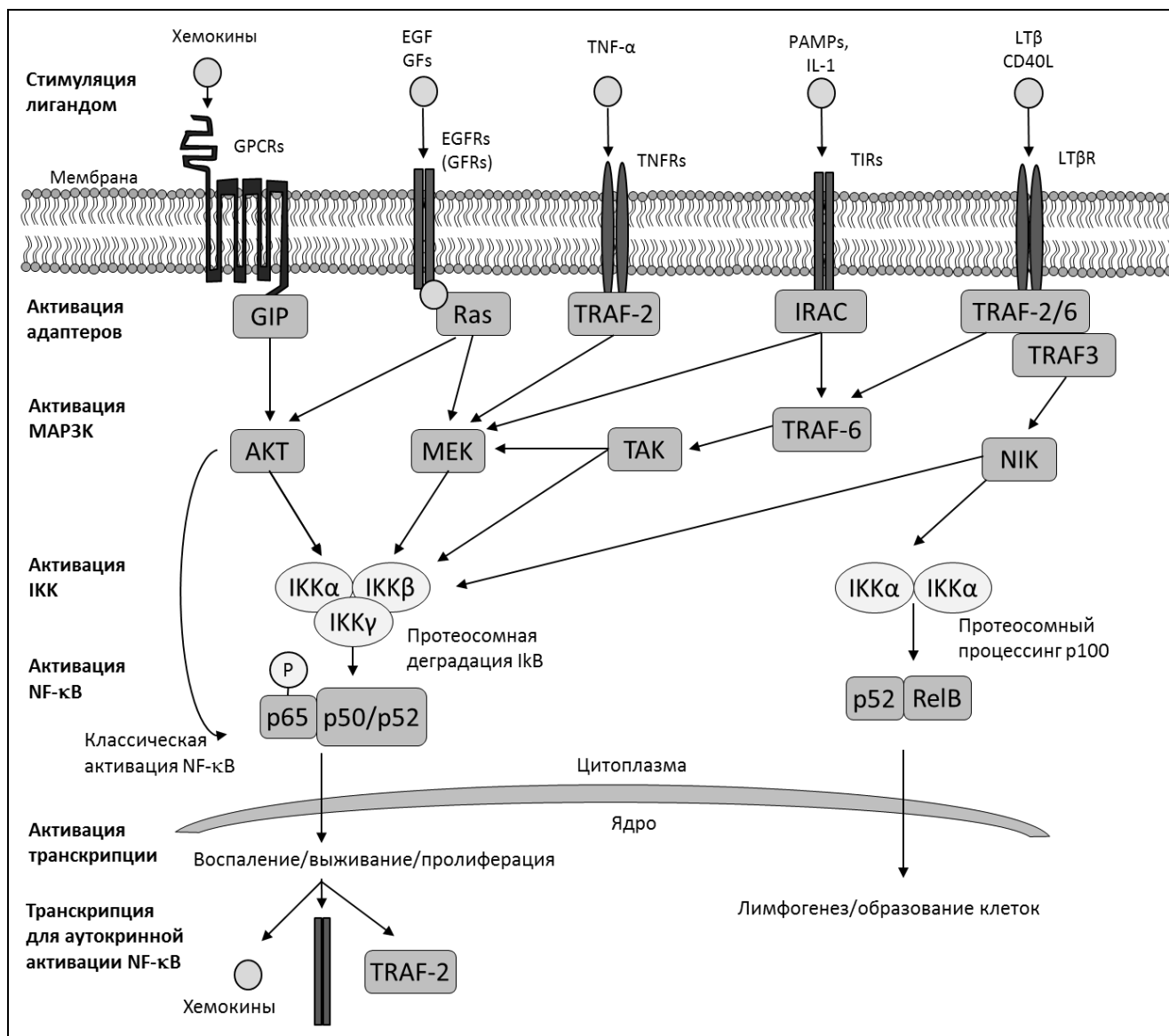


Рис. 4. Модель аутокринной системы регуляции NF-κB в меланоме [42]

Однако существует мнение, что систематическое подавление NF-κB может иметь катастрофические последствия: вызвать обратный эффект и токсичность. Описан вариант активации NF-κB, когда клетки меланомы после лечения приобретают сценесцентный секреторный фенотип, по последним данным провоспалительный и прометастатический

фенотип характеризуется продукцией CCL2. При этом активированы NF-κB и PARP-1, что может быть причиной терапевтической неудачи [46].

Установлено, что устойчивость меланомы к ингибиторам BRAF V600E сопровождается высоким уровнем сигналинга NF-κB и рецепторной тирозинкиназы AXL и низким уровнем MITF [47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение молекулярно-генетических особенностей меланомы позволило определить основные сигнальные пути и мишени для терапевтического воздействия.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Bertolotto C. Melanoma: From Melanocyte to Genetic Alterations and Clinical Options // Scientifica (Cairo). 2013. Article ID 635203.
- Мазуренко Н.Н. Генетические особенности и маркеры меланомы кожи. Успехи молекулярной онкологии. 2014. Т. 1. № 2. С. 27–36 (Mazurenko N.N. Geneticheskie osobennosti i markery melanomy kozhi. Uspehi molekularnoj onkologii. 2014. T. 1. № 2. S. 26–35 [In Russ.]).
- Зенит-Журавлева Е.Г., Лушникова А.А., Понкратова Д.А., Цыганова И.В., Михайлова И.Н., Черемушкин Е.А., Выхрова А.С., Трещалина Е.М., Демидов Л.В., Мазуренко Н.Н. Некоторые генетические особенности метастатической меланомы кожи человека // Молекулярная медицина. 2014. № 4. С. 57–64. (Zenit-Zhuravleva E.G., Lushnikova A.A., Ponkratova D.A., Tsyganova I.V., Mikhailova I.N., Chere-mushkin E.A., Vikhrova A.S., Treschalina E.M., Demidov L.V., Mazurenko N.N. Several genetic features of human metastatic cutaneous melanoma). Molecular medicine. 2014. №4. P. 57–64 [In Russ.]).
- Curtin J.A., Busam K., Pinkel D., Bastian B.C. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma // J. Clin. Oncol. 2006. V. 24. № 26. P. 4340–4346.
- Kong Y., Si L., Zhu Y., Xu X., Corless C.L., Flaherty K.T., Li L., Li H., Sheng X., Cui C., Chi Z., Li S., Han M., Mao L., Lu A., Guo J. Large-scale analysis of KIT aberrations in Chinese patients with melanoma // Clin. Cancer Res. 2011. V. 17. № 7. P. 1684–1691.
- Имянитов Е.Н. Меланома: от исследований молекулярного патогенеза к революции в лечении // Архив патологии. 2013. № 5. С. 63–71 (Imjanitov E.N. Melanoma: ot issledovaniy molekulyarnogo patogeneza k revolyucii v lechenii // Arhiv patologii. 2013. № 5. S. 63–71 [In Russ.]).
- Vennepureddy A., Thumallapally N., Motilal Nehru V., Atallah J.P., Terjanian T. Novel Drugs and Combination Therapies for the Treatment of Metastatic Melanoma // J. Clin. Med. Res. 2016. V. 8. № 2. P. 63–75.
- Read J., Wadt K.A., Hayward N.K. Melanoma genetics // J. Med. Genet. 2016. V. 53. № 1. P. 1–14.
- Aoude L.G., Gartside M., Johansson P., Palmer J.M., Symons J., Martin N.G., Montgomery G.W., Hayward N.K. Prevalence of Germline BAP1, CDKN2A, and CDK4 Mutations in an Australian Population-Based Sample of Cutaneous Melanoma Cases // Twin. Res. Hum. Genet. 2015a. V. 18. № 2. P. 126–133.
- Aoude L.G., Wadt K.A., Pritchard A.L., Hayward N.K. Genetics of familial melanoma: 20 years after CDKN2A // Pigment Cell Melanoma Res. 2015b. V. 28. № 2. P. 148–160.
- Puig-Butille J.A., Escámez M.J., Garcia-Garcia F., Tell-Marti G., Fabra A., Martínez-Santamaría L., Badenas C., Aguilera P., Pevida M., Dopazo J., del Río M., Puig S. Capturing the biological impact of CDKN2A and MC1R genes as an early predisposing event in melanoma and non melanoma skin cancer // Oncotarget. 2014. V. 5. № 6. P. 1439–1451.
- Young R.J., Waldeck K., Martin C., Foo J.H., Cameron D.P., Kirby L., Do H., Mitchell C., Cullinane C., Liu W., Fox S.B., Dutton-Regester K., Hayward N.K., Jene N., Dobrovic A., Pearson R.B., Christensen J.G., Randolph S., McArthur G.A., Sheppard K.E. Loss of CDKN2A expression is a frequent event in primary invasive melanoma and correlates with sensitivity to the CDK4/6 inhibitor PD0332991 in melanoma cell lines // Pigment Cell Melanoma Res. 2014. V. 27. № 4. P. 590–600.
- Paillerets B.B., Lesueur F., Bertolotto C. A germline oncogenic MITF mutation and tumor susceptibility // Eur. J. Cell Biol. 2014. V. 93. № 1–2. P. 71–75.
- Sekulic A., Haluska P. Jr., Miller A.J., Genebriera De Lamo J., Ejadi S., Pulido J.S., Salomao D.R., Thorland E.C., Vile R.G., Swanson D.L., Pockaj B.A., Laman S.D., Pittelkow M.R., Markovic S.N. Melanoma Study Group of Mayo Clinic Cancer Center. Malignant melanoma in the 21st century: the emerging molecular landscape // Mayo Clin. Proc. 2008. V. 83. № 7. P. 825–846.
- Potrony M., Badenas C., Aguilera P., Puig-Butille J.A., Carrera C., Malveyh J., Puig S. Update in genetic susceptibility in melanoma // Ann. Transl. Med. 2015. V. 3. № 15. P. 210. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.08.11.
- Potrony M., Puig-Butille J.A., Aguilera P., Badenas C., Tell-Marti G., Carrera C., Javier Del Pozo L., Conejo-Mir J., Malveyh J., Puig S. Prevalence of MITF p.E318K in Patients With Melanoma Independent of the Presence of CDKN2A Causative Mutations // JAMA Dermatol. 2016. V. 152. № 4. P. 405–412.
- Kennedy C., ter Huurne J., Berkhout M., Gruis N., Bastiaens M., Bergman W., Willemze R., Bavinck J.N. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma which is largely independent of skin type and hair color // J. Invest. Dermatol. 2001. V. 117. № 2. P. 294–300.
- Sturm R.A., Duffy D.L., Box N.F., Chen W., Smit D.J., Brown D.L., Stow J.L., Leonard J.H., Martin N.G. The role of melanocortin-1 receptor polymorphism in skin cancer risk phenotypes // Pigment Cell Res. 2003. V. 16. № 3. P. 266–272.
- Fargnoli M.C., Gandini S., Peris K., Maisonneuve P., Raimondi S. MC1R variants increase melanoma risk in families with CDKN2A mutations: a meta-analysis // Eur. J. Cancer. 2010. V. 46. № 8. P. 1413–1420.
- Poggenberg V., Ogmundsdóttir M.H., Bergsteinsdóttir K., Schep-sky A., Phung B., Deinekó V., Milewski M., Steingrims-son E., Wilmanns M. Restricted leucine zipper dimerization and specificity of DNA recognition of the melanocyte master regulator MITF // Genes Dev. 2012. V. 26. № 23. P. 2647–2658.
- Grill C., Bergsteinsdóttir K., Ogmundsdóttir M.H., Poggen-berg V., Schep-sky A., Wilmanns M., Pingault V., Steingrims-son E. MITF mutations associated with pigment deficiency syn-dromes and melanoma have different effects on protein function // Hum. Mol. Genet. 2013. V. 22. № 21. P. 4357–4367.
- Vachtenheim J., Drdová B. A dominant negative mutant of microphthalmia transcription factor (MITF) lacking two transactivation domains suppresses transcription mediated by wild type MITF and a hyperactive MITF derivative // Pigment Cell Res. 2004. V. 17. № 1. P. 43–50.
- Wellbrock C., Arozarena I. Microphthalmia-associated tran-scription factor in melanoma development and MAP-kinase pathway targeted therapy // Pigment Cell Melanoma Res. 2015. V. 28. № 4. P. 390–406.
- Testa J.R., Cheung M., Pei J., Below J.E., Tan Y., Sementino E., Cox N.J., Dogan A.U., Pass H.I., Trusa S., Hesdorffer M., Nasu M., Powers A., Rivera Z., Comertpay S., Tanji M., Gaudino G., Yang H., Carbone M. Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma // Nat. Genet. 2011. V. 43. № 10. P. 1022–1025.
- Carbone M., Ferris L.K., Baumann F., Napolitano A., Lum C.A., Flores E.G., Gaudino G., Powers A., Bryant-Greenwood P., Krausz T., Hyjek E., Tate R., Friedberg J., Weigel T., Pass H.I., Yang H. BAP1 cancer syndrome: malignant mesothelioma, uveal and cutaneous melanoma, and MBAITs // J. Transl. Med. 2012. № 10. P. 179. doi: 10.1186/1479-5876-10-179.
- Battaglia A. The Importance of Multidisciplinary Approach in Early Detection of BAP1 Tumor Predisposition Syndrome: Clinical Management and Risk Assessment // Clin. Med. Insights Oncol. 2014. № 8. P. 37–47.
- Wiesner T., Murali R., Fried I., Cerroni L., Busam K., Kutz-ner H., Bastian B.C. A distinct subset of atypical Spitz tumors is characterized by BRAF mutation and loss of BAP1 expression // Am. J. Surg. Pathol. 2012. V. 36. № 6. P. 818–830.

28. Oliveira C., Lourenço G.J., Rinck-Junior J.A., Cintra M.L., Moraes A.M., Lima C.S. Association between genetic polymorphisms in apoptosis-related genes and risk of cutaneous melanoma in women and men // *J. Dermatol. Sci.* 2014. V. 74. № 2. P. 135–141.
29. Thunell L.K., Bivik C., Wäster P., Fredrikson M., Stjernström A., Synnerstad I., Rosdahl I., Enerbäck C. MDM2 SNP309 promoter polymorphism confers risk for hereditary melanoma // *Melanoma Res.* 2014. V. 24. № 3. P. 190–197.
30. Marzuka-Alcalá A., Gabree M.J., Tsao H. Melanoma susceptibility genes and risk assessment // *Methods Mol. Biol.* 2014. V. 1102. P. 381–393. doi: 10.1007/978-1-62703-727-3_20.
31. Regad T. Targeting RTK Signaling Pathways in Cancer // *Cancers (Basel)*. 2015. V. 7. № 3. P. 1758–1784.
32. Inamdar G.S., Madhunapantula S.V., Robertson G.P. Targeting the MAPK pathway in melanoma: Why some approaches succeed and other fail // *Biochem. Pharmacol.* 2010. V. 80. № 5. P. 624–637.
33. Kunz M. Oncogenes in melanoma: An update // *Eur. J. Cell Biol.* 2014. V. 93. № 1-2. P. 1–10.
34. Cancer Genome Atlas Network. Genomic classification of cutaneous melanoma // *Cell*. 2015. V. 161. № 7. P. 1681–1696.
35. Krauthammer M., Kong Y., Bacchiocchi A., Evans P., Ponnampalnam N., Wu C., McCusker J.P., Ma S., Cheng E., Straub R., Serin M., Bosenberg M., Ariyan S., Narayan D., Szol M., Kluger H.M., Mane S., Schlessinger J., Lifton R.P., Halaban R. Exome sequencing identifies recurrent mutations in NF1 and RASopathy genes in sun-exposed melanomas // *Nat. Genet.* 2015. V. 47. № 9. P. 996–1002.
36. Griewank K.G., Scolyer R.A., Thompson J.F., Flaherty K.T., Schadendorf D., Murali R. Genetic alterations and personalized medicine in melanoma: progress and future prospects // *J. Natl. Cancer Inst.* 2014. V. 106. № 2. djt435.
37. Dumaz N. Mechanism of RAF isoform switching induced by oncogenic RAS in melanoma // *Small GTPases*. 2011. V. 2. № 5. P. 289–292.
38. Rodríguez C.I., Setaluri V. Cyclic AMP (cAMP) signaling in melanocytes and melanoma // *Arch. Biochem. Biophys.* 2014. V. 563. P. 22–27. doi: 10.1016/j.abb.2014.07.003.
39. Kelleher F.C., McArthur G.A. Targeting NRAS in melanoma // *Cancer J.* 2012. V. 18. № 2. P. 132–136.
40. Narita M., Murata T., Shimizu K., Nakagawa T., Sugiyama T., Inui M., Hiramoto K., Tagawa T. A role for cyclic nucleotide phosphodiesterase 4 in regulation of the growth of human malignant melanoma cells // *Oncol. Rep.* 2007. V. 17. № 5. P. 1133–1139.
41. Dhawan P., Singh A.B., Ellis D.L., Richmond A. Constitutive activation of Akt/protein kinase B in melanoma leads to up-regulation of nuclear factor- κ B and tumor progression // *Cancer Res.* 2002. V. 62. № 24. P. 7335–7342.
42. Ueda Y., Richmond A. NF- κ B activation in melanoma // *Pigment Cell Res.* 2006. V. 19. № 2. P. 112–124.
43. Madonna G., Ullman C.D., Gentilcore G., Palmieri G., Ascierto P.A. NF- κ B as potential target in the treatment of melanoma // *J. Transl. Med.* 2012. V. 10. P. 53. doi: 10.1186/1479-5876-10-53.
44. Amiri K.I., Horton L.W., LaFleur B.J., Sosman J.A., Richmond A. Augmenting chemosensitivity of malignant melanoma tumors via proteasome inhibition: implication for bortezomib (VELCADE, PS-341) as a therapeutic agent for malignant melanoma // *Cancer Res.* 2004. V. 64. № 14. P. 4912–4918.
45. Su Y., Amiri K.I., Horton L.W., Yu Y., Ayers G.D., Koehler E., Kelley M.C., Puzanov I., Richmond A., Sosman J.A. A phase I trial of bortezomib with temozolomide in patients with advanced melanoma: toxicities, antitumor effects, and modulation of therapeutic targets // *Clin. Cancer Res.* 2010. V. 16. № 1. P. 348–357.
46. Ohanna M., Giuliano S., Bonet C., Imbert V., Hofman V., Zangari J., Bille K., Robert C., Bressac-de Paillerets B., Hofman P., Rocchi S., Peyron J.F., Lacour J.P., Ballotti R., Bertolotto C. Senescent cells develop a PARP-1 and nuclear factor- κ B-associated secretome (PNAS) // *Genes Dev.* 2011. V. 25. № 12. P. 1245–1261.
47. Konieczkowski D.J., Johannessen C.M., Abudayyeh O., Kim J.W., Cooper Z.A., Piris A., Frederick D.T., Barzily-Rokni M., Straussman R., Haq R., Fisher D.E., Mesirov J.P., Kahn W.C., Flaherty K.T., Wargo J.A., Tamayo P., Garraway L.A. A melanoma cell state distinction influences sensitivity to MAPK pathway inhibitors // *Cancer Discov.* 2014. V. 4. № 7. P. 816–827.

Поступила 20 сентября 2016 г.

MOLECULAR GENETIC ASPECTS OF MELANOMA PART 1. HEREDITARY SUSCEPTIBILITY GENES AND MAIN SIGNALING PATHWAYS ACTIVATED IN MELANOMA CELLS

© Authors, 2017

L.F. Gulyaeva

Ph.D. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Mechanisms of Carcinogenesis, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics SB RAS (Novosibirsk)

N.N. Mazurenko

Ph.D. (Biol.), Professor, Head of the Oncogenomics Laboratory of Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow)

N.E. Kushlinskii

Ph.D. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow)

Melanoma – the most dangerous malignant skin disease with a high risk of recurrence and metastasis. Molecular biological studies carried out in the last decade have dramatically changed our understanding of the mechanisms of carcinogenesis melanocytes. This review examines how hereditary factors predisposing to melanoma (rare alleles of genes CDKN2A and CDK4, MITF and BAP1 mutation) and somatic genetic abnormalities involved in the carcinogenesis of melanoma. This mutation in the genes that cause hyperactivation of RAS-MAPK (BRAF, NRAS, MEK, NF1) and PI3K- (PTEN, AKT) signaling pathways and gene tyrosine KIT, ERBB4 kinase receptors that activate signal transduction in the cell. We also consider the role of cAMP and NF- κ B in melanomagenesis.

Key words: melanoma, genetic disorders, RAS-MAPK- and PI3K-signaling pathways, cAMP, NF- κ B carcinogenesis.