دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

ملانومای بدخیم: ژنتیک ملکولی، ژن درمانی و چشم اندازها

قسمت اول

دکتر محمدرضا نوری دلویی[1] ، مونا حسینی[2]

خلاصه

ملانومای بدخیم پوستی (CMM=Cutaneous Malignant Melanoma) یا سرطان ملانوسیت های پوست، از جمله مهمترین و شایع ترین سرطان هاست که در سالهای اخیر فراوانی آن به مواد چشمگیری افزایش یافته است. وقوع ملانوما با نژاد و رنگ پوست ارتباط نزدیکی دارد، به طوری که در سفیدپوستان که اغلب دچار آفتاب سوختگی می شوند، معمولی تر بوده و شانس آنها برای ابتلاء به این سرطان ۴۰ برابر سیاه پوستان تخمین زده شده است. به علاوه، قرار گرفتن در معرض پرتو فرا بنفش نورآفتاب، به ویژه در دوران کودکی نیز استعداد ابتلاء به ملانوما را تقویت می نماید. بر این اساس، استرالیا، اسکاندیناوی، کالیفرنیا و جزایر هاوایی شایعترین مناطق ملانوما محسوب می گردند و برعکس در آسیا و آفریقا شیوع آن کمتر است.

بیش از ۸ تا ۱۲٪ موارد ملانومای بدخیم در افرادی که زمینهٔ ارثی ابتلاء به آن را دارند رخ می دهد. همچنین این بیماری اغلب در ارتباط با سندرم ارثی معروف به سندرم خالهای غیرطبیعی (Atypical Naevus syndrom) یا به اختصار ANS به وقوع می پیوندد. تغییر در اندازه شکل، رنگ، قوام و برآمدگی یک خال، یا به وجود آمدن یک خال غیرطبیعی جدید، از علائم هشدار دهندهٔ این سندرم و سرطان آن به حساب می آید. بررسی های ژنتیکی به روشنی نشان دادهٔ است که عامل اصلی پیدایش ملانومای بدخیم، رخداد حذف یا جهش در دو ژن بازدارندهٔ تومور به نامهای اختصاری MTS_1 و Mts_2 است که روی بازوی کوتاه کروموزوم ۹ ($9P_{21}$) قرار دارند. این ژنها، پروتئین هایی به نامهای p16، p15 را رمزدهی می کنند که جزء مهار کننده پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین رده بندی می گردند و نقش آنها متوقف ساختن چرخه سلولی در نقطه یا ایستگاه بازرسی G1 و ممانعت از عبور آن به مرحلهٔ S می باشد. این امر فرصت کافی برای تکمیل تقسیم پیشین، رشد سلول یا تعمیر اشتباهات همانندسازی DNA را فراهم می آورد. تغییرات دیگر نیز روی کروموزوم های متعددی از جمله ۹،۶،۱ و ۱۱ مشاهده شده است که البته نقش دقیق آنها در پیدایش این سرطان هنوز مشخص نشده است.

با وجودی که ملانوما در مجموع سرطان خطرناکی به حساب نمی آید، هرسال موارد زیادی مرگ و میر ناشی از آن در اثر بی توجهی و تشخیص دیر هنگام گزارش می گردد. از این رو آموزش صحیح معاینه شخصی و اقدامات پیش گیرنده به افراد در معرض خطر اهمیت ویژه ای دارد. افزون بر اینها، با ابداع روش های دقیق تشخیص ژنتیکی می توان افراد مستعد را پیش از ظهور علائم بالینی شناسایی کرد. در حال حاضر معمولی ترین روش درمانی این سرطان جراحی است اما این روش تنها در انواع موضعی ملانوما مؤثر واقع می شود. با پیشرفت روش های جدید ژن درمانی مانند واکسن های حاوی سیتوکین ها یا پادگن های سطح سلولی، امکان درمان مؤثرتر این سرطان به ویژه در مراحل پیشرفتهٔ آن فراهم خواهد شد. در این مقاله، بر اساس شمار زیادی از منابع جدید و جاری، مهمترین دستاوردهای پژوهشگران به ویژه پیرامون ژنتیک مولکولی سرطان ملانوما و البته در حد اختصار مورد بحث و بررسی قرار گرفته است و بر زمینه های تشخیص ژنتیکی، ژن درمانی، موفقیت ها و چشم اندازهای آن تاکید شده است، امید است که مورد توجه و استفادهٔ دانش پژوهان و علاقمندان قرار گیرد.

کلید واژه: ملانومای بدخیم، چرخهٔ سلولی، ژنتیک ملکولی، تشخیص ژنتیکی، ژن درمانی

مقدمه:

ملانومای بدخیم پوستی (یا به اختصار CMM) از جمله مهمترین، شایع ترین و شناخته شده ترین سرطان هاست (۱). به طور نمونه تنها در آمریکا همه ساله در حدود ۳۲۰۰۰ مورد جدید و ۷۸۰۰ مورد مرگ و میر ناشی از CMM گزارش شده است(۲). به علاوه شیوع ملانوما با گذشت به زمان به نحو چشمگیری افزایش یافته است. به طور مثال خطر ابتلاء به ملانوما

۱- دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران

تا سن ۷۵ سالگی، در سال ۱۹۳۵، ۱ در ۱۵۰۰ گزارش شده است، در حالی که در سال ۱۹۹۱ به ۱ در ۱۰۵ افزایش یافته و پیش بینی می شود که تا سال ۲۰۰۰ این احتمال به ۱ در ۷۵ ارتقاء یابد (۳). افزون بر این، برابر برآوردهای به عمل آمده، دربین سفیدپوستان قفقازی نژاد (Caucasian) ملانومای بدخیم، از سال ۱۹۵۰ تاکنون حتی بر سرطان کولون (سومین سرطان شایع) پیشی گرفته است(۴). مرگ و میر ناشی از ملانوما نیز، اگرچه با آهنگی بسیار کندتر، در این محدوده زمانی افزایش یافته است(۳).

شیوع ملانوما، با فاصله جغرافیایی از خط استوا رابطه معکوس دارد. شایع ترین نواحی شامل استرالیا، اسکاندیناوی، ایالت کالیفرنیا واقع در آمریکای شمالی و جزایر هاوایی واقع در اقیانوس آرام می باشد (۴، ۵). بالاترین میزان شیوع آن (۳۰ در ۱۰۰۰۰۰) در استوایی ترین ایالت استرالیا و کوئینزلند گزارش شده است. در مقایسه، در انگلستان سالانه تنها ۳ مورد در ۱۰۰/۰۰۰ گزارش گردیده است (۴). در آسیا و آفریقا شیوع ملانوما پایین است. میزان شیوع ملانوما در سفیدپوستان از رنگین پوستان بیشتر است (۴).

شایان ذکر است آمارهای به دست آمده در خلال سالهای ۱۹۸۶ تا ۱۹۹۰ نشان دهندهٔ شیوع بیشتر این سرطان در مردان نسبت به زنان می باشد (۱).

پیگیری میزان وقوع ملانوما در یک گروه سنی ویژه در دهه های متوالی نمایانگر آن است که شانس ابتلاء به ملانوما با بالا رفتن سن، افزایش می یابد (۴). افزایش سریع شیوع ملانوما به ویژه در برخی از گروههای سنی، سبب غالب شدن نسبی این سرطان در بزرگسالان جوان (۲۵ تا ۲۹ ساله) گردیده است، به طوری که در حال حاضر شایع ترین سرطان این گروه سنی می باشد (۳، ۴).

عوامل خطرساز:

متغیرهای فراوانی به عنوان عوامل خطرساز (Risk factors)در پیدایش ملانومای بدخیم نقش دارند که به طور کلی در دو دسته عوامل محیطی (بیرونی) و عوامل ارثی و میزبانی (درونی) جای می گیرند. طبیعتاً، شرح جزئیات این متغیرها و مکانیسم یا مکانیسم های عمل آنها، به ویژه با توجه به اهمیت آن فرصت و مقاله ای مستقل را می طلبد که امید است در آینده به آن پرداخته شود. در این مقاله، ضمن اشاره به برخی از عوامل محیطی به دلیل ضرورت و عوامل ارثی و میزبانی اندکی بیشتر مورد توجه قرار می گیرد.

عوامل محیطی:

برخی از عوامل محیطی، فیزیکی هستند. به طور مثال پرتو فرا بنفش که نور آفتاب مهمترین منبع طبیعی آن است، اصلی ترین عامل محیطی مؤثر در مراحل آغاز (initiation) و پیشرفت (Promoation) ملانومای بدخیم پوستی به حساب می آید. قرار گرفتن پی در پی در معرض پرتو ایکس نیز با مکانیسم مشابه پرتو ماوراء بنفش، سبب پیدایش ملانوما می گردد (۶).

عوامل شیمیایی مانند آرسنیک، روغن های معدنی، دوده و داروهای شیمی درمانی نیز در پیدایش ملانوما نقش دارند (۳، ۶، ۷). به علاوه اگرچه شمار عوامل شیمیایی دخیل در ایجاد این سرطان فراوان است، اما هنوز نقش دقیق آنها در پیدایش ملانوما اثبات نشده است.

عوامل ارثی و میزبانی:

نژاد، بیماریهای زمینه ساز (مانند سندرم خالهای غیرطبیعی Xeroderma pigmentosom که به اختصار XP خوانده می شود، آلبینیسم، سابقه ابتلاء و ضعف ایمنی) از مهمترین عوامل میزبانی در پیدایش ملانومای بدخیم به حساب می آیند. شماری از دیگر عوامل - به طور نمونه عوامل هورمونی - نیز هستند که به نظر می رسد در پیدایش ملانوما نقش دارند. با وجود این، نتیجه گیری دقیق و نهایی مستلزم پژوهش های تکمیلی است.

از جهت نژادی، رنگ پوست که به عوامل ژنتیکی هر نژاد ویژه بستگی دارد، عامل مهمی در ایجاد ملانوما می باشد. چنانکه می دانیم و رنگدانه ملانین رنگ پوست را تعیین می کند و محافظ اصلی آن در برابر نورخورشید است. سفیدپوستان که در مقایسه با افراد دارای رنگ تیره، به طور معمول ملانین کمتری دارند، حتی پس از قرار گرفتن در معرض مقادیر بسیار کم نورخورشید، مستعد بروز آفتاب سوختگی شدید می باشند، رخدادی که به نوبهٔ خود زمینه ساز بروز سرطان ملانوماست (۸).

بومیان سیاه پوست آفریقایی که پوست غنی از ملانین دارند، تنها پس از قرار گرفتن در معرض نور شدید آفتاب آن هم به مدت طولانی، ممکن است آفتاب سوخته شوند. از این رو شیوع ملانوما در این نژاد بسیار پایین است (۴، ۶).

از دیدگاه بیماریهای زمینه ساز، به طور مثال بیش از ۱۶۰ سال است که ارتباط بین خال و ملانومای بدخیم پوستی شناخته شده است، اما کشف سندرم خال های غیرطبیعی (Atypical Naevus syndrom) به سال ۱۹۸۱ برمی گردد (۳). پژوهش ها نشان داده است که خال های غیرطبیعی (به اختصار ANS) مهمترین عامل خطرساز برای ابتلا به این سرطان است. نحوهٔ توارث ANS، را در گذشته بر اساس الگوی توارث غالب اتوزومی می دانستند، اما در سالهای اخیر این نظریه رد شده است. ژن مسئول این سندرم روی بازوی کوتاه کروموزوم ۹ و نزدیک جایگاه ژن اینترفرون آلفا واقع شده است (۱، ۹، ۱۰).

بیماری مرتبط دیگر XP است که بر اساس الگوی مغلوب اتوزومی به ارث می‌رسد و شیوع آن ۱ در ۷۰۰۰۰ تخمین زده شده است. این بیماری ناشی از نقص ژنتیکی در یکی از مراحل آنزیمی سیستم برش و تعمیر (Excision Repair system) است که کارایی تعمیر پریمدین های دوگانه را از دست می‌دهد. این دایمرها به ویژه توسط پرتو فرا بنفش نورخورشید یا در مواردی برخی مواد شیمیایی ایجاد می‌شوند. (۳, ۴, ۱۱). در واقع مهمترین مشخصه مبتلایان به XP حساسیت فوق العاده در برابر نورخورشید و در پی آن خطر بالای ابتلاء به ملانومای بدخیم، به ویژه سنین کودکی است(۴, ۱۲).

آلبینیسم، بیماری مغلوب اتوزومی دیگری است که اصلی ترین نشانه و ویژگی آن عدم تولید ملانین توسط ملانوسیت های پوست، پیاز مو و چشم می باشد. مبتلایان به این نقص نیز به دلیل فقدان رنگدانهٔ محافظ پوست، در برابر پرتو فرا بنفش نورخورشید بسیار آسیب پذیر بوده و مستعد بروز تومورهای بدخیم پوستی هستند (۱۳).

ملانومای بدخیم پوستی:

ملانومای بدخیم، سرطان سلول های مولد ملانین یا ملانوسیت هاست. این سلول ها در لایهٔ اپیدرم پوست، روی غشاء پایه قرار گرفته اند و وظیفهٔ آنها تولید رنگدانه ملانین می باشد. در داخل ملانوسیت، ملانین به وسیله دستگاه گلژی در دانه هایی به نام ملانوزوم بسته بندی شده و سپس توسط زائده های سیتوپلاسمی دندریتی آن به سلول های مجاور (کراتینوسیت ها و سلول های غشاء پایه) منتقل شده و در سطح پوست پخش می گردد. ملانوسیت ها علاوه بر پوست، به تعداد کمتر در قسمتهای دیگر بدن اعم از پرده های مغز (مننژ)، مری، سطوح مخاطی دهان ، دستگاه تناسلی و به ویژه در چشم وجود دارند. بنابراین، ملانوما در هر یک از این قسمتهای بدن می تواند اتفاق بیفتد. اما به دلیل کثرت رخداد آن در پوست، به طور معمول این نام را مترادف سرطان پوست در نظر می گیرند (۱۳, ۱۴). شایان ذکر است علاوه بر ملانوما، سرطان های مربوط به قسمتهای دیگر پوست نیز وجود دارد که از محدودهٔ این بحث خارج است.

مشخصات:

از نظر بالینی، مهمترین نشانهٔ ملانوما، تغییر در رنگ یک ضایعه یا خال است. برخلاف خالهای معمولی (خوش خیم)، ملانوم ها رنگارنگ هستند و اغلب به رنگهای سیاه، قهوه‌ای، قرمز، آبی پر رنگ، صورتی و خاکستری به چشم می خورند. گاهی در اطراف آنها هاله هایی به رنگ سفید یا صورتی کمرنگ نیز وجود دارد. کناره های آسیب های ملانومایی، مانند خالهای معمولی صاف و یکدست نیست، بلکه نامنظم و بریده بریده می باشد(۹). نشانه های هشدار دهندهٔ ملانوما، تغییر در خصوصیاتی است که با مجموعهٔ علائم اختصاری «ABCDE'S» نشان داده می شوند. «ABCDE'S» مخفف ۷ مورد زیرا است:

۱- Asymetry(عدم تفاون): نامتقارن شدن شکل یک خال.

۲- Border (حاشیه): نامنظم بودن حاشیه یک ضایعه رنگی.

۳- Color (رنگ): تنوع رنگ در خال یا ضایعه پوستی.

۴- Consistency(قوام): نرم یا سفت شدن خال.

۵- Diameter(قطر): افزایش قطر یا اندازهٔ خالی که از پیش وجود داشته تا بیش از ۵ میلی متر.

۶- Elevation (برآمدگی): ظهور یک ضایعه رنگی برآمده، در جایی که مثلاً سطح بوده است.

۷- Sensation(احساس): احساس خارش یا درد در خال یا قرمزی و خونریزی در پوست اطراف آن .

ملانومای ارثی:

بیش از ۸ تا ۱۲٪ موارد ملانومای بدخیم، در افرادی رخ می‌دهد که زمینهٔ خانوادگی یا ارثی ابتلاء به آن را دارند و اغلب در ارتباط با سندرم خال های غیرعادی (ANS) که مقدمه اصلی بروز این سرطان است، به وقوع می پیوندد. الگوی وراثتی انتقال CMM هنوز کاملاً مشخص نشده است، اگرچه شواهدی وجود دارند که آن را نیز مانند سندرم به وجود آورنده اش، یک صفت غالب اتوزومی معرفی می کنند. مکانیسم ژنتیکی پیدایش ملانومای بدخیم ارثی، نیز پیچیده و هتروژن (ناهمگن) به نظر می رسد (۱).

ژنتیک ملکولی:

در چند دههٔ اخیر، بررسی های ژنتیکی سرطان های انسانی به پیشرفت های چشمگیری دست یافته است (۱۵, ۱۶, ۱۷). بیشتر اطلاعات موجود، از بررسی سرطانهای بافت خونساز به دست آمده و تنها حدود ۲۰٪ مطالعات روی تومورهای بافت جامد که بیش از ۸۰٪ سرطانهای انسانی را تشکیل می دهند، متمرکز گردیده است. با وجود این، شناسایی ناهنجاریهای کروموزومی تومورهای بافت جامد (از جمله ملانوما) با سرعت حیرت آوری به پیش می رود. یکی از مهمترین ویژگیهای این ناهنجاریها به ویژه ملانوما، این است که تغییرات، اغلب یک ناحیه یا نوار کروموزومی - و نه یک ژن منحصر به فرد - را در بر می گیرد. بر این اساس چنانکه در جدول شماره ۱ نیز

کتابخانه پرستاری و مامائی دانشگاه علوم پزشکی تهران

نشان داده شده است، حذف یا جابجایی قطعات مختلف کروموزومی بیش از آنکه تعیین کنندهٔ یک تغییر خاص کروموزومی می باشد، ناحیه ای را که به طور مکرر دچار این تغییر می شود مشخص می کند.

شکل شماره ۱ مناطقی از کروموزوم های ۱، ۳، ۶، ۷، ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۹ را نشان می دهد که تغییرات آنها به دفعات در ملانوما مشاهده شده است. در این میان کروموزم های ۱، ۶و۹ به ویژه، در پیدایش این سرطان نقش بیشتری دارند (۱۸).

چنانکه اشاره شد، در اثر مطالعات وسیع پژوهشگران، تغییرات (عددی و ساختاری) در شماری از کروموزوم ها در ملانومای بدخیم مشاهده شده است که طبیعتاً ذکر جزئیات هر یک از حوصله یک مقاله خارج است. بنابراین تنها جزئیات مهمترین تغییرات در کروموزوم ۹ مورد بررسی قرار می گیرد. برای دیگر کروموزوم های درگیر، خوانندگان علاقمند را به مطالعهٔ منابع ۲، ۱۰، ۱۸، ۲۰، ۲۳، ۲۵، ۲۷، ۶۲، ۶۳ و ۶۴ دعوت می کنیم و در صورت ضرورت، مقاله دیگری را به این مهم اختصاص خواهیم داد.

کروموزوم شمارهٔ ۹:

در چند سال اخیر، کروموزوم ۹ کانون توجه پژوهشگران ژنتیک ملکولی ملانوما بوده است. سه گروه مستقل، نقش ناحیه ای واقع در وسط بازوی کوتاه کروموزوم ۹ را در ایجاد ملانومای بدخیم تأیید نموده اند: اولین گروه به رهبری Jane Fountain مشاهده کردند که در اکثر سلول های توموری ملانوما، ناحیه ای به طول ۲ تا ۳ مگاباز، بین دو نشانگر ژنتیکی به نامهای IFNA (ژن اینترفرون آلفا) و D953 روی کروموزوم $9P_{22}$-$9P_{12}$، دچار حذف های هموزیگوتی و هتروزیگوتی یا بازآرایی شده است. این پژوهشگران ناحیه ژنی مذکور را MLMیا ناحیه زمینه ساز ملانومای بدخیم نامگذاری کردند، چرا که دگرگونی آلل های آن خطر ابتلاء به ملانومای بدخیم را تا ۲۰ برابر افزایش می داد. حذف هموزیگوت و هتروزیگوت، به ترتیب به حذف هر دو آلل و یا تنها یک آلل از ژن یا ژنهای مورد نظر گفته می شود. در مورد دوم که به از دست دادن هتروزیگوتی یا Loss of Hetero- LOH (zygosity) نیز مشهود است، آلل دیگر نیز یا در اثر جهش ارثی که از پیش وجود داشته، یا جهش سوماتیکی که بعداً به وجود خواهد آمد، غیرفعال می گردد (۱۹، ۲۰).

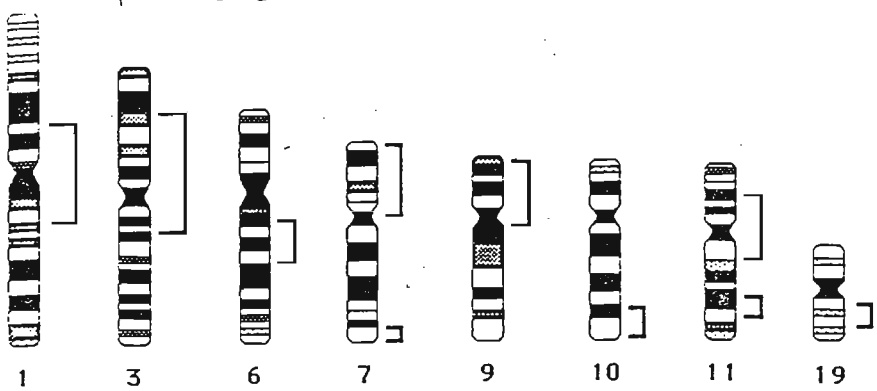
گروه دوم، در زن ۳۴ ساله ای که به ۸ ناحیهٔ جداگانه ملانومای پوستی مبتلا بود، سلولها یک نسخهٔ معیوب در کروموزوم ۹ یافتند. در سلول های جنسی این زن نیز جهش در این ناحیه و به ویژه جابجایی بین کروموزوم ۹ و ۵ مشهود بود. این گروه نیز با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی، جایگاه ژن معیوب را مشابه گروه قبلی اعلام کردند (۱۰).

معمای کروموزوم ۹ را سرانجام گروه Lisa connon Albright و Mark Skolnick در پاییز سال ۱۹۹۲ حل کردند (۲۱). این دو پژوهشگر، محل دقیق ژن زمینه ساز ملانوما را در ۱۱ بیمار سرطانی، روی کروموزوم $9P_{21}$ بین دو نشانگر ژنتیکی $D9^{S}126$ و IFNA-I تعیین نمودن (شکل شماره۲) (۲۱).

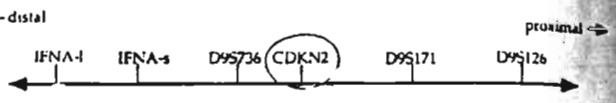
بررسی های گسترده تر نشان داد که ژن مذکور در ۸۶٪ از تومورهای ملانومایی دچار حذف هتروزیگوتی (L6H) یا هموزیگوتی شده است. LOH نشانه ای برای غیرفعال شدن یک ژن بازدارندهٔ تومور می باشد و به طور معمول نواحی کروموزومی را که این ژنها در برمی گیرند، شناسایی می کند. از این رو پژوهشگران، وجود حداقل یک ژن بازدارندهٔ تومور را در ناحیه $9P_{21}$ به نام (MTS_1=Major Tumor suppressor- 1) را تأیید نمودند. دلیل

جدول شماره۱- تغییرات کروموزومی مختلف

Region or band	Type of aberration
1p22-q11	Deletions, translocations
1q11-q12	Translocations, duplications
1q11-q12	t(1:6)(q11-12:q15-21)
6p11-q11	i(6p), translocations
6q11-q27	Deletions, translocations
6q15-q23	t(1:6)(q11-12:q15-21)
7q11	Translocation



شکل شماره۱- مناطقی از کروموزومها که تغییرات آنها به دفعات در ملانوما مشاهده شده است. علامتها نشاندهنده بیشترین شیوع تغییر می باشد



شکل شماره۲- نقشه ژنتیکی قسمتی از ناحیه 9p21

این نامگذاری این است که ناهنجاریهای این ژن تنها به ملانوما محدود نمی‌شود، بلکه در بسیاری از سرطان های دیگر مانند گلیوما (تومور نوروگلی های بافت عصبی)، لوسمی، آستروسیتوم (نوعی تومور دستگاه عصبی مرکزی) استئوسارکوم (نوعی تومور استخوانی)، مزوتلیوم (تومورسلولهای مزوتلیال صفاق)، سرطان های سر، گردن، ریه، مثانه، لوزالمعده، مری، تخمدان و کلیه نیز حذف های هتروزیگوتی و یا هموزیگوتی، جهش یا بازآرایی آن را می توان مشاهده نمود (۲۲). با این تفاوت که حذف یا جهش این ژن در جریان پیشرفت سرطانهای اخیر، یک رویداد ثانوی تلقی می‌شود، در حالی که در ملانوما، در اولین مراحل ایجاد سرطان، نقش اصلی و تعیین کننده دارد (۲۳). حذف و جهش در ژن MTS_1 در سرطان های کولون و نوروبلاستوما یافت نشده است که نشان می‌دهد این ژن در پیدایش این سرطانها دخالتی ندارد (۲۴,۲۲).

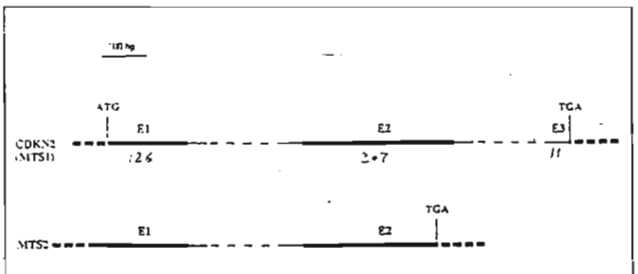
ژن MTS از سه اگزون و دواینترون تشکیل شده است (۱۰, ۱۹) (شکل شماره۳). این ژن که نامهای دیگر آن (Cyclin $CDKN_2$ (Cyclin ، Dependent kinase Inhibitor 2) و Dependent kinase Inhibitor 4) CDK_4 (inbitor of cyclin Dependent kinase 4A) Ink4A می باشد، یک پروتئین ۱۶ کیلو دالتونی به نام P_{16} را رمزدهی می کند که از جمله پروتئین های تنظیم کنندهٔ چرخهٔ سلولی است.

دلایل متعددی نشانگر آن است که حذف بازدارندهٔ تومور، اما با تعداد بسیار کم گزارش شده است. برای مثال در ژن P_{53} کمتر از ۵٪ تغییرات ژنی را به خود اختصاص می‌دهد. $CDKN_2$ (MTS_1) ولین مورد از ژنهای بازدارندهٔ تومور است که بطور مکرر دچار حذف در هر دو نسخه ژنی می شود. (۲۴). از سوی دیگر با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره‌ای (Microsatelite markers)، حذف های هتروزیگوتی (LOH) این ژن، در ۴۰٪ از تومورهای اولیه ملانوما مشاهده شده است (۲۵). این نتایج نشان می دهند که حذف اصلی ترین شیوه غیرفعال شدن ژن MTS_1 است (۲۶) . اشاره می شود که ریز ماهواره ها ردیف های بازی کوتاه تکراری DNA هستند که در سرتاسر ژنوم پراکنده شده‌اند. اولین بار تغییر در طول این ردیف های تکراری در سلول های توموری بیماران مبتلا به سرطان ارثی غیرپولیپی کولون (HNPCC) کشف گردید که تحت عنوان ناپایداریهای ریز ماهواره ای یا MSI (Microsatelite Instability) نامیده شد. امروزه از MSI برای تشخیص تغییرات یک ناحیهٔ ژنی به ویژه LOH در سرطانهای مختلف استفاده می شود (۲۷).

در کنار حذف های هموزیگوتی و هتروزیگوتی، جهش نیز سهمی از تغییرات ژنتیکی $CDKN_2$ را به خود اختصاص داده است. این جهش ها هم درسلول های هموزیگوتی (Homo-zygous Deletion) مکانیسم اصلی غیرفعال شدن ژن MTs1 در سلول های ملانومایی است (۲۴). حذفهای هموزیگوتی در دیگر ژنهای سوماتیکی و هم در سلول های جنسی بیماران ملانومایی یافت شده است که اغلب هم از نوع جهش های القایی پرتو فرا بنفش می باشند.

جذب پرتو فرا بنفش منجر به اتصال پریمیدین های مجاور روی زنجیرهٔ DNA و ایجاد جهش های متوالی CC به TT می گردد (۲۸, ۲۹). همچنین درصد بالایی از جهش نوع Transition (C:G به T:A) در نواحی دارای دوبار پریمیدین ایجاد می کند. تعداد کمتری جهش نوع Transversion (A:T به C:G) در این ناحیه ژنی یافت شده است. در جدول شماره ۲ جهش های $CDKN_2$ که تاکنون در سلول های ملانومایی گزارش شده ارائه شده است. نوکلئوتید ۲۳۲ واقع در اگزون ۲ این ژن، نقطه داغ (Hot spot) این جهش هاست، چرا که ۳۵٪ جهش ها در این باز گزارش شده است (۲۸).

بیشتر این جهش ها از نوع جانشینی تغییر قالب (Frame shift) یا بی معنی (Nonsense) هستند. این یافته ها نشان می دهد که اغلب جهش های P_{16} منجر به کوتاه شدن پروتئین و از دست رفتن کامل عملکرد آن می شود. تنها ۲۵٪ از جهش های INK_4 p_{16} به معنی (missense) هستند که سبب به وجود آمدن پروتئین P_{16} جهش یافته در سلول می شوند. وجود مقدار پروتئین جهش یافته P_{16} در سلول، برتری رشد انتخابی به آن می بخشد. در مقایسه، جهش های P_{53} به طور عمده از نوع بدمعنی هستند (۷۸٪) که موجب تولید پروتئین



شکل شماره ۳- تصویر شماتیک ساختار ژنی CDKN2 و MTS2 منسوب به آن

پرستاری و مامائی دانشگاه

کامل ولی جهش یافتهٔ P_{53} می گردند. این پروتئین سبب می شود که سلول به سرعت فعالیت ضد توموری خود را از دست داده و قابلیت سرطانی شدن و رشد بیش از حد به دست آورد (۳۰). از این پژوهشگران جهش های ژن MTS_1 را در ارتباط با مراحل پیشرفتهٔ ملانومای بدخیم و تولید متاستاز در نظر می گیرند. حال آنکه حذفهای این ژن را در اولین مراحل پیدایش آسیب های این سرطان، دخیل می دانند (۳۱).

اگرچه MTS1 در سلول های سوماتیکی و جنسی بسیاری از مبتلایان به ملانومای بدخیم ارثی یا خانواده ای مستعد آنها جهش می یابد، اخیراً یافته های متناقضی در این زمینه به دست آمده است. به طور نمونه در خانواده هایی، مشاهده شده است که علی رغم طبیعی بودن ژن P_{16}، استعداد قابل ملاحظه ای برای ابتلاء به ملانوما وجود دارد. از این رو، این فرضیه مطرح شد که ژن زمینه ساز دومی برای ملانوما در نقطهٔ دیگری از ناحیه $9P_{21}$ وجود دارد. در واقع با کشف تعدادی جهش مستعد کننده در این ناحیه، خارج از ردیف های بازی رمزدهندهٔ p_{16} که ظاهراً در پژوهش های پیشین از نظر دورمانده بود، این فرضیه تأیید شد (۳۲، ۳۳، ۳۴). ژن جدید (MTS_2 - Major Tumor suppressor-2) نام گرفت. شایان ذکر است MTS_2 ـ که دارای دو اگزون و یک اینترون است، از بسیاری جهات شبیه به MTS_1 می باشد:

۱- روی کروموزوم $9P_{21}$ و در مجاورت ناحیه ژنی MTS_1 قرار گرفته است.

۲- بخش وسیعی از ردیف بازی رمز دهنده آن شبیه به MTS_1 می باشد.

۳- پروتئین آن به نام P_{15}، نیز عملی مشابه P_{16} در تنظیم چرخهٔ سلولی بر عهده دارد (۳۳). این دو پروتئین با یکدیگر بیش از ۷۰٪ همساختی (Homology) نشان می دهند. (۳۲)

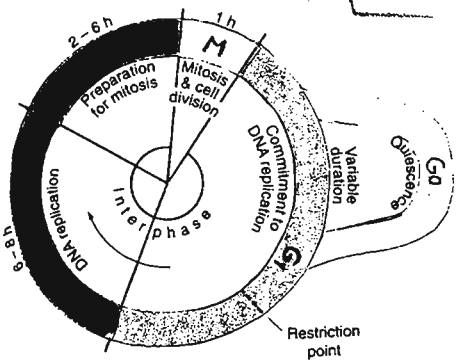
هر دو پروتئین P15، P16 جزو مهارکننده های پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین یا به اختصار CKi رده بندی می شوند. این مهارکننده ها، ملکول هایی هستند که نقاط یا ایستگاههای بازرسی (Ckeck points) مهمی را که در چرخهٔ سلولی وجود دارد کنترل می نمایند و به این ترتیب تولید مثل سلول را تنظیم می کنند (۳۵).

نظریه نقش حیاتی تنظیمی این ملکولها در چرخهٔ سلولی، پس از معرفی مختصر این چرخه، این نقش مورد بحث قرار می گیرد.

چرخه سلولی:

در موجودات بالغ، سرعت تقسیم سلولی، در بسیاری از بافت ها باید به گونه ای تنظیم شود، تا سلول های کافی برای تجدید این بافت ها ایجاد شود. به علاوه از تکثیر بی رویه سلولی نیز جلوگیری شود. سلول ها مراحل تنظیم تقسیم سلولی را به صورت دوره ای طی می کنند که اصطلاحاً چرخهٔ سلولی نامیده می شود و به چهار مرحله اصلی تقسیم شود (شکل شماره ۴):

مرحله G1: زمان وقفهٔ بین پایان تقسیم سلولی پیشین و آغاز همانندسازی DNA است که در خلال آن سلول برای سنتز DNA آماده می شود، با مرحله S: که در آن سنتز DNA انجام می گیرد؛ مرحله G2: دورهٔ وقفه ای که به دنبال همانندسازی DNA، پیش از شروع پروفاز میتوز وجود دارد و در آن سلول برای تقسیم آماده می شود. یادآوری می شود که هر سه این مراحل اجزاء مرحله اینترفاز محسوب می شوند؛ و سرانجام مرحلهٔ M: یا مرحله ای که سلول تقسیم می شود (۳۲، ۳۶).



شکل شماره ۴- چرخه سلولی در سلولهای یوکاریوتیک

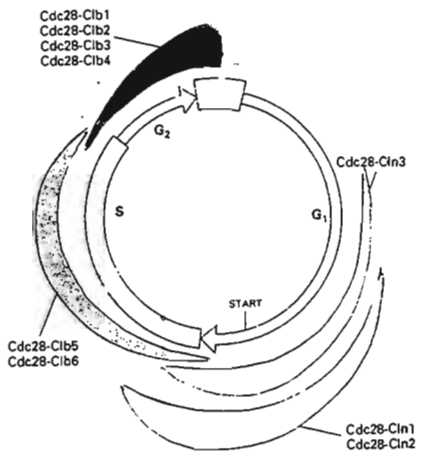
در پستانداران که چرخهٔ سلولی به خوبی مطالعه شده است، تفاوتهای مشاهده شده در سرعت تقسیم سلولی به طورعمده از مدت زمانیکه G_1 به طول می انجامد، ناشی می شود. این تفاوت زمانی در نتیجهٔ یک مرحله استراحت به نام G. به وجود می آید که خود در درون مرحلهٔ G_1 قرار گرفته است. در این مرحله، سلول هایی که از پیش در مرحله G قرار داشته اند، در اثر عوامل درونی و ژنتیکی مانند نوع سلولی (به طور نمونه سلول های دستگاه عصبی که در پی چندین تقسیم، از تقسیم باز می مانند) یا در شرایط محیطی (مانند فقدان عوامل رشد) (۳۷)، برای مدت زمان متغیری به حال سکون درمی آید (۳۶). اگرچه در خلال مرحلهٔ G. ، چنانچه عاملی موجب تحریک تقسیم سلولی گردد، سلول ها از نقطهٔ محدود گر (Restriction point) عبور کرده، وارد مرحلهٔ S می شوند و مراحل بعدی چرخهٔ سلولی را دنبال می کنند. نقطهٔ محدودگر در سلول های مخمر، چنانکه در شکل شماره ۵ مشاهده می گردد، نقطه شروع نامیده می شود. این نقطه، نقطه ای از چرخهٔ سلولی است که سلول ها با گذشتن از آن به طور برگشت ناپذیر متعهد به ورود به مرحله S و

جدول شماره۲- مقایسه جهش های مشاهده شده در SCC، ملانوما و مطالعات روی موتاژنهای UV

Mutation	A u.v. mutations	B SCC mutations	C melanoma mutations current study	D melanoma mutations published
C.G→T:A transition	60-70%	62%	75%	80%
CC→TT tandem mutation	5-15%	23%	25%	24%
C.G→A:T transversion	5-15%	31%	13%	16%

کامل کردن چرخهٔ سلولی می شوند. به عبارت دیگر، اگر تحریک تقسیم پیش از عبور نقطهٔ محدودگر قطع شود، سلول ها به مرحلهٔ S وارد نمی شوند، اما اگر پس از آن صورت گیرد، سلول ها ناچار هستند که وارد مرحلهٔ S شده و به دنبال آن تقسیم گردند. در اکثریت سلول های پستانداران مجموعهٔ این مراحل، ۲۴ ساعت به طول می انجامد (۳۷).

بیشتر اطلاعات جاری پیرامون چرخهٔ سلولی از رهگذر مطالعات وسیع ژنتیکی روی دو مخمر



شکل شماره ۵- تفاوت در فعالیت های cyclin-CDK در چرخه رشد S.cerevisiae

ـه نامهای ساکارومیس سرویزیه (Saccharomyces cervisae) و ساکارومیس پومبه (S.Pombe) و نیز کشت های سلولی پستانداران به دست آمده است. در این موجودات ژنهای ویژه ای در تنظیم چرخهٔ سلولی دخالت دارند و پروتئین های آنها نقش تقویت کننده یا مهارکنندهٔ پیشرفت این چرخه را بر عهده دارند. در این قسمت، ضمن بررسی عملکرد این پروتئین ها، رابطه بین غیرفعال شدن دو نمونه از آنها، با سرطان ملانوما مورد بحث قرار می گیرد.

سیکلین ها و پروتئین کینازهای وابسته به آنها:

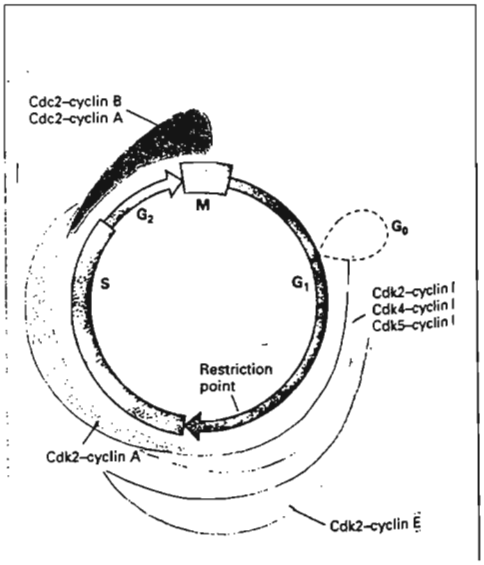
برای گذر از یک مرحله به مرحله دیگر در چرخهٔ سلولی، دو آغازگر کلیدی و اصلی که هر نوع پلی پپتید هستند، شناسایی شده است. این پلی پپتیدها، یعنی سیکلین ها و پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین (یا CDK's) ، زیر واحدهای یک هترودایمر را تشکیل می دهند. سیکلین ها، به این دلیل به این نام خوانده شده اند که تنها در زمانهای مشخصی از چرخه سلولی، نسخه برداری و ترجمه می شوند. تمام سیکلین ها ردیف های اسید آمینه ای شبیه به هم دارند که احتمالاً سبب شباهت ساختارهای سه بعدی آنها می شود. پروتئین کینازها، آنزیم هایی هستند که می توانند در پروتئین های خاصی، اسیدهای آمینه معینی را فسفریله کنند. این سوبسترهای پروتئینی (پروتئین های هدفی که فسفریله شده اند) برای پروتئین کینازهای مختلف متفاوت هستند. پدیدهٔ فسفریلاسیون، فعالیت سوبسترایی پروتئینی را تغییر می دهد. CDK توانایی فسفریله کردن سرین ها و ترئونین ها را روی پروتئین هدف داراست. در مخمرها تنها یک CDK وجود دارد که به وسیلهٔ ژن ویژه ای رمزدهی می شود. این ژن در S.Pombe , cdc28, S.Cervisiae نامیده می شود (شکل شماره ۵) cdc مخفف cell division cycle یا چرخهٔ تقسیم سلولی است.

در پستانداران، خانواده ای از CDK های مانند هم وجود دارد. در جدول شماره ۳، انواع آنها و سیکلین های مربوط به هر کدام نشان داده شده است. پروتئین هدف، از روی میانکنشی که با سیکلین ویژه خود می دهد، شناسایی می گردد. به بیان دیگر ابتدا سیکلین، پروتئین هدف را به دام می اندازد و سپس CDK می تواند آن را فسفریله کند. از آنجا که در مراحل مختلف چرخهٔ سلولی سیکلین های متفاوتی حضور دارد، مراحل مختلف چرخهٔ سلولی، از روی پروتئین های هدف متفاوتی که فسفریله می کنند، از هم متمایز می گردند (شکل شماره ۶).

جدول شماره ۳- کینازهای وابسته به cyclin و الگوهای اتصالی آنها

CDKs	Cyclins	CDK inhibitors
CDK1 (cdc2)	A, B, E	p21
CDK2	A, E, D types	p21, p27
CDK3	–	–
CDK4	D types	p15, p16, p21, p27
CDK5	D types	–
CDK6	D types	p15, p16, p21, p27

The strength of the interactions among the members in a given row varies widely, and the physiological significance of many of the complexes is unknown.



شکل شماره ۶- نمای متداول تفاوت در فعالیت های cyclin-CDK در چرخه سلولی پستانداران

REFERENCES:

1- Goldstein, A. M., Tucker, M.A. Familial melanoma and it's management,: Genetic predisposition to cancer, 1st ed., Oxford, Chapman & Hall, 1996, 333-343.

2- Skolnick, M.H., Cannon Albright, L.A., Kamb, A., Genetic predisposition to melanoma; *Eur.J. Cancer,* 1994; 30A(13): 1991-1995.

3- Williams, M.L., Pennella, R., Melanoma, melanocytic nevi and other melanoma risk factors in Children, *J Pediat.*,1994, 124(6): 833-842.

4- Weinstock, M.A., Clark, J.W., Calabresi, P., Melanoma, : Medical oncology; Basic principles & Clinical management of cancer, 2nd ed., NewYork, McGraw Hill, 1993, 545-558.

5- Lakhani, S.R., Dilly, S.A., Finlayson, C.J., Basic Pathology; London; Toppan Co (S) pte Ltd., 1993: 165.

6- Mc Donald, C.J., Malignant neoplasms of the Skin., Ini Medical oncology; Basic principles & clinical mangement of cancer; 2nd ed., NewYork, McGraw, Hill, 1993: 517-40.

7- Trichopoulos, D., Fredrick, P.L., Hunter, D.J., what causes cancer? *Sci-Ame.,* 1996, 275(3): 50-96.

8- Long, C.C., Marks, R., Increased risk of skin Cancer: Another celtic myth, *J.Am. Acad. Dermat.,* 1995, 33(4): 658-666.

9- Murphy, G.F., Mihm, M. C. The Skin, Robbins Pathologic basis of disease, philadelphia, W.B. Saunders Co., 1994: 1177-1181.

10- Cannon-Albright, L.A., Kamb, A., Skolinck, M., A review of inherited predisposition to melanoma, Semin. oncol., 1996, 23(6) 667-672.

11- Rasko, 1. Downes, C.S., Genes in medicine: Molecular biology and human genetic disorders, cambridge, chapman & Hall, 1995: 368-371.

12- Kraemer, K.H., The role of sunlight and DNA repair in melanoma and non-melanoma skin cancer, *Arch. Dermat.,* 1994, 130: 1018-1021.

13- Mackie, K.M., Clinical dermatology An Illustrated textbook, oxford, oxford university press, 1986, 181-183, 284-302.

14- Williams, P.L., Gray's Anatomy, London, Churchill Livingstone, 1989: 70-78.

۱۵- نوری دلوئی، محمدرضا؛ سرطان و ژنهای سرطانزا، مجلهٔ رشد آموزش زیست شناسی شماره ۲۳، بهار ۱۳۷۰، صفحات ۶-۱۳.

۱۶- نوری دلویی، محمدرضا، سرطان و ژنهای سرطانزا، مجله رشد آموزش زیست شناسی شماره ۲۴، تابستان ۱۳۷۰، صفحات ۱۰-۶.

۱۷- نوری دلویی، محمدرضا، ژنهای بازدارنده تومور، کلید معمای سرطان، مجله علوم پایه دانشگاه الزهرا (س)، سال سوم، شمارهٔ ۵، ۶، ۱۳۷۲، صفحات ۵۸-۵۰.

18- Trent, K.M., Cytogenetics of human malignant melanoma, *Can. Met. Rev.* 1991, 10: 103-113.

19- Gruis, N.A, ; A cell cycle regulator potentially involved in genetics of many tumor types, *Sci.*, 1994, 264: 436-440.

20- Travis, J., Closing in on melanoma sus eptibility gene (s), *Sci.*, 1992, 258: 1080-1081.

21- Marx, J., New tumor suppressor May rival P_{53}, *Sci*, 1994, 264: 344-45.

22- Zhow, X., The MTS_1 gene in frequently mutated in primary human esophageal tumors, *oncogene,* 1994, 9: 3737-3741.

23- Cannon- Albright, L.A., Assignment of a locus for familial melanoma MLM to chromosome $^9p_{13}$-p_{22}. Sci, 1992, 258: 1148-1151.

24- Neuhausen, S., CDKN2 (MTS_1) tumor suppressor gene mutations in human tumor cell lines, *Oncogenem* 1995, 10: 1061-1067.

25- Peris, K, Microsatellite instability and loss of heterozygosity in melanoma, j. *Invest. Dermat.*, 1995, 105: 625-628.

26- Kamb, A., Role of a cel cycle regulator in hereditary and sporadic cancer, cold spring harb. symp. Quant. Biol., 1994. LIX: 39-47.

27- Quinn, A.G., Microsatellite instability in human non-melanoma and melanoma skin cancer, *j. Invest. Dermat.,* 1995, 104: 309-312.

28- Pollock, P.M., Evidence for U.V. induction of $CDkN_2$ mutations in melanoma cell lines, *Oncogene*, 1995, 11: 663-668.

29- Wick, S.T., Biochemical and mutagenetic analysis of the melanoma tumor sppressor gene product p_{16}, Oncogene, 1995, 11: 2013-2019.

30- Okamato, A., p_{16} Ink_4 mutations and altered expression in human tumors and cell lines, cold spring harb. symp. Quant. Biol. 1994, LIX: 49-54.

31- Luca, M., Abnormalities in the $CDKN_2$ (p_{16}/MTS_1) gene in human melanoma cells: relevance to tumor growth and metastasis, Oncogene, 1995, ii: 1399-1402.

32- Kamb, A., Cycle cycel regulator and cancer, TIG, 1995, 11(4): 136-140.

33- Stone, S., Genomic structure, expression and mutational analysis of the P15(MTS_2) gene, oncogene, 1995, 11: 987-991.

34- Marx, J., Link to hereditary melanoma brightens mood for P_{16} gene, *Sci.*, 1994, 26S: 1364-1365.

35- Koh, J., Tumor derived P_{16} alletes encoding proteins defective in cell-cycle inhibition, Nature, 1995, 375(8): 506-510.

36- Griffiths, A.J.F., An. introduction to genetic analysis, NewYork, W.H. Freeman and company, 1996, 333: 725-729.

37- Lodish, H., Molecular cell biology, New-York, Scientific American Books, 1995, 1201-1242.

Abstract

Cutaneous Malignat Melanoma:Molecular Genetics, Gene Therapy and Its Perspective

M.R. Noori_ Daloii[1], M. Hosseini[2]

Melamoma is a malignancy which originates from melanocytes (th pigment - producing cells in skin). It is one of the most important and frequent cancers which in recent years, is incressing rapidly in occurrence. Enviromnental factors, particularly sun exposure, have been strongly inplicated in Melanoma risks. There is a close relationship between the race and the colour of the skin with the ossurrence of Melanoma (i.e. white - skinned people have 40 times more chance to Melanoma than the dark-skinned people).

In this regard, countries including Australia, Scandinavia, (U.S.A) California and Hawaiian islands are considered as the most prevalent regions of Melanoma, while in Asia and Africa, there is less prevalency of this disease.

More than 8 to 12% of malignant Melanoma cases occur in individuals who have more genetic predisposition to this disease.

Accumulated evidence points to a set of genetic change which underline the evolution from melanocytes to metastatic Melamoma. The most commonly observed abnormality in Melanoma is the loss of hetrozygosity (LOH) and homozygous deletion at 9P21. Studies also identified 9P21 as the site of tumorsuppressor genes involved in Melanoma susceptibility. For example, one of these genes encodes a negative growth regulato, P16, the expression of which causes cell cycle arrest. P16 is part of a growth control pathway that involves cycline- dependent kinases, cyclines, and the retinoblastoma gene product Rb. The identification of genes involved in melanoma raises the possibility of gene - based tests for cancer prediction predisposition and for the calssification of tumors. P16, as the primary genetic element, is an interesting case study in genetic testing. In this article, the most significant achievements of researchers, according to a large number of new, current resources, specially in the area of melecular genetics of Melanoma cancer, have been briefly discussed, emphasizing the genetical identifications, gene therapy as well as its perspectives and achievements.

Key words: Malignant Melanoma; Cell cycle; Molecular genetics; Genetic diagnosis; Gene therapy

1)Ph.D., Tehran University of Medical Sciences and Health Services
2) MSc, Modares University