

A pajzsmirigy cancerogenesisében szereplő oncogének, antioncogének és egyéb tumormarkerek diagnosztikai és prognosztikai jelentősége

Szántó Zsuzsanna, Kun Imre Zoltán

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Endokrinológiai Klinika

Importanța diagnostică și prognostică a oncogenelor, antioncogenelor și markerilor tumorali participanți în cancerogeneza tiroidiană

Cercetările realizate după accidentul de la Cernobîl au clarificat trăsăturile carcinomului tiroidian indus de radiații ionizante, și au determinat spectrul onco-/antioncogenic caracteristic, prin care putem diferenția carcinomul indus de radiații de formele sporadice. Genele participante în patogeneza cancerului tiroidian (RET/PTC, RAS, BRAF, MET, TRK) au un rol determinant și în carcinogeneza papilară. Multe studii au vizat analiza de Ki-67, p53, PCNA și alți markeri imunohistochimici în țesutul malign tiroidian, însă valoarea prognostică a acestora încă nu este pe deplin elucidată. Mai nou, obiectivul multor cercetări constituie determinarea rolului diagnostic și prognostic al markerilor imunohistochimici în puncția-biopsie tiroidiană cu ac fin. Lucrarea are scopul de a prezenta spectrul de onco-/antioncogene și markerii tumorali participanți în carcinogeneza tiroidiană, trecând în revistă valoarea diagnostică și prognostică a acestora în oglinda datelor actuale de specialitate.

Cuvinte cheie: carcinom papilar tiroidian, carcinom folicular tiroidian, oncogene, antioncogene

Diagnostical and prognostical value of some oncogenes, antioncogenes and other tumormarkers participating in thyroid cancerogenesis

Studies performed after the Chernobyl nuclear accident clarified the common features of radiation-induced thyroid cancer, and the oncogene-/antioncogene-spectrum was determined, which can differentiate radiation-induced thyroid cancer from sporadic forms. Genes like RET/PTC, RAS, BRAF, MET and TRK participants in thyroid cancer pathogenesis also have a demonstrated role in papillary carcinogenesis. Many studies analysed different immunohistochemical tumormarkers (Ki-67, p53, PCNA etc.) in malignant thyroid tissue, but their prognostical value has not yet been determined exactly. Investigations of new tumormarkers are in course. Recently, researches are focussed to determine the diagnostical and prognostical value of immunohistochemical tumormarkers in fine needle-aspiration biopsy. This paper has the aim to present the oncogene, antioncogene and tumormarker spectrum involved in thyroid carcinogenesis, and to summarize their diagnostical and prognostical value based on new research data.

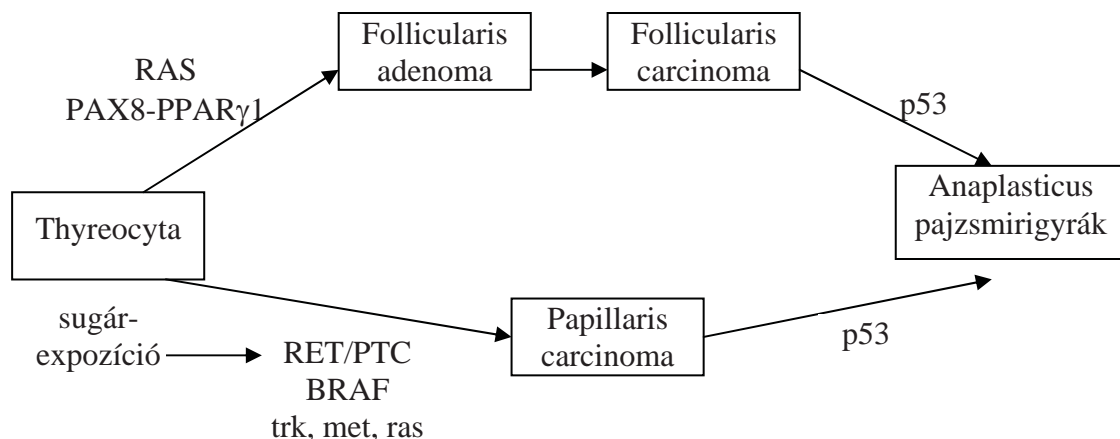
Keywords: papillary thyroid carcinoma, follicular thyroid carcinoma, oncogenes, antioncogenes.

Orvostudományi Értesítő, 2008, 81 (1): 9-12

www.orvtudert.ro

Számos oncogén, antioncogén és tumormarker részvételét leírták a pajzsmirigy-cancerogenesisben, és több hipotézis született a tumorigenesis folyamatának magyarázatára. Az elméleti, molekuláris-genetikai tanulmányokra alapozva, de azokon túlmenően, jelenleg egyre nagyobb teret hódít az említett paraméterek klinikai, gyakorlati jelentőségének meghatározása.

A „multistep carcinogenesis” hipotézis alapján a magasan differenciált benignus sejtek fokozatosan átalakulnak rákos sejtekké a genomális anomáliák, léziók halmozódása kapcsán. A thyreocytaiban fokozatosan felhalmozódó specifikus germinális és/vagy somaticus genetikai zavar felelős a különböző pajzsmirigy daganatokban észlelt szövettani fenotípusok kialakulásáért. A genetikai anomáliák azonosítása hasznos lehet a rákos elfajulást mutató sejtklonok korai kiszűrésére.



1. ábra. Többlépéses carcinogenesis a pajzsmirigyrák kialakulásában [14]

I. Papillaris pajzsmirigyrákban (PTC) jelentkező genetikai elváltozások

A három legfontosabb oncogén-zavart tárgyaljuk: a RET/PTC-átrendeződéseket, a BRAF-mutációkat és a RAS-mutációk két előzővel kapcsolatos vonatkozásait.

1. Az ionizáló sugárzás DNS-roncsolásokat vált ki, következképp a **RET/PTC-átrendeződések** magas prevalenciával jelentkeznek a csernobili sugárzás-indukálta gyermekkori pajzsmirigyrákokban, külső nyaki radiotherapia után, de olyan gyermekek pajzsmirigyrákjában is, akiknél nem bizonyított a korábbi sugárexpositio.

A 10q11.2 chromosomán elhelyezkedő *RET-protooncogen* egy thyrosin-kinase aktivitású transmembranalis receptort kódol. A RET-gének nem expresszálódnak normális follicularis sejtekben, azonban abberánsan jelentkeznek papillaris pajzsmirigyrákban, a chromosomal átrendeződés következtében. A RET/PTC-átrendeződések pathológiás RET thyrosin-kinase-receptorokat hoznak létre [2,10].

A leggyakoribb RET/PTC-génátrendeződések a *RET/PTC1*, a *RET/PTC3* és a *RET/PTC2*.

A *RET/PTC1* a 10. chromosoma hosszú karján létrejövő intrachromosomal inversio eredménye. A *RET*- és a *H4/D10S170-gének* távolabb helyezkednek el a 10 chromosomán, de az interfázis idején térközelbe kerülnek, és ha ionizáló sugárzás kiváltotta DNS-törések keletkeznek, akkor a két gén kicserélődik egymással [7].

A *RET/PTC3* szintén egy intrachromosomal átrendeződés eredménye, a RFG/ELE1- és a RET-gének fúziójából jön létre. A sugárzás töréseket okoz mindkét gén szintjén, és a töréspontokban a genetikai anyag kölcsönös kicserélődésével létrejön az intrachromosomal inversio, elősegítve a RET/PTC3-átrendeződést. A Csernobil-okozta gyermekkori pajzsmirigyrákokban a RET és RFG /ELE1-gének színjén jöttek létre törések, kiváltva a RET/PTC3-átrendeződést [7].

A *RET/PTC2* a 10 és a 17 chromosomák genetikai anyagának translocatiója révén kialakuló átrendeződés: a RET-gén TK-domain-je kicserélődik a PKAR1A szabályozó alegység egy részével. A RET/PTC2 és a többi kilenc újabb kimutatott RET/PTC-típus mind interchromosomal translocatio eredménye. A ritka RET/PTC-átrendeződések zömét irradiáció-indukálta papillaris pajzsmirigyrákban mutatták ki, kivéve az *ELKS-RET* és a *HOOK3-RET* fúzióját, amelyek egyéb etiológiájú (nem sugárzás-okozta) papillaris carcinomában jelentkeztek [7].

A RET/PTC-átrendeződések diagnosztikai és prognosztikai jelentősége

A RET/PTC genetikai defektusok bizonyítottan a *papillaris carcinogenesis fontos tényezői*, incidenciájuk és típusuk függ az életkortól, a korábbi ionizáló sugárexpozíciótól és a jódbeviteltől [2,17].

A *RET/PTC1*-átrendeződés elsősorban *sporadikus papillaris* pajzsmirigyrákokban lép fel, gyermek- és felnőttkorban egyaránt, ezek *lefolyása jobb indulatú*, mint az egyéb átrendeződések okozta carcinomáké. Az irradiáció-indukálta pajzsmirigyrákkal ellentétben, a felnőtt- és gyermekkori

sporadikus papillaris pajzsmirigyrák ritkán jelentkezik rossz prognossissal járó szövettani típusok formájában.

A csernobili atomkatasztrófa után jelentkező papillaris pajzsmirigycarcinoma *klasszikus formáiban* is ugyanezt a genetikai zavart észlelték, és a *prognosis is jobb* volt, a többi szövettani formához és egyéb RET/PTC-átrendeződést hordozó esetekhez képest. A RET/PTC1-t az *irradiáció után később* kialakuló, kevésbé agresszív pajzsmirigyrákokban mutatták ki [6,11].

A *Csernobil-okozta gyermekkori papillaris pajzsmirigy-rákok* fele *tömött jellegű növekedést* (solid pattern growth, *solid variáns*) mutatott, amelyben fibroticus stromával körülvett invazívan növekvő rosszindulatú epithelialis sejtzónák jelentkeztek. A solid variánsú daganat elsősorban *RET/PTC3-átrendeződéssel* társult és rossz prognosztikai jelt képvisel [7]. A RET/PTC3 gyakrabban a *Csernobil után közvetlen* kialakuló *agresszív tumorokban* alakult ki [6,11].

A pajzsmirigy carcinogenesis „multistep” lefolyásának fontos mozzanata, hogy papillaris *microcarcinomában* magas prevalenciával jelentkezett a *RET/PTC-expressio*, tehát ezek a zavarok a *pajzsmirigy carcinogenesis korai fázisában* már részben vesznek.

Fontos tény a papillaris pajzsmirigyrák prognossisának megítélésében, hogy a *RET/PTC-pozitív* daganatok *nem alakulnak át anaplasticus, differenciálatlan* pajzsmirigyrákká [3,11].

2. BRAF-mutációk. Diagnosztikai és prognosztikai vonatkozások

A BRAF egy protein-kináz, mely fontos szerepet tölt be a sejtproliferációban, differenciálódásban és a programozott sejtthalásban. A BRAF-gének aktiváló mutációit kezdetben coloncarcinomában és malignus melanómában mutatták ki, de újabb leírták papillaris pajzsmirigyrákban is 36-69%-os gyakorisággal, diagnosztikai és prognosztikai jelentőséget tulajdonítva neki [8,9,15].

A *BRAF-mutációk* elsősorban a *papillaris pajzsmirigy-rák klasszikus és follicularis formáival* társulnak, de esetenként *oncocytaer rákban* is fellelhető [9,15]. Gyakran jelentkeznek a papillaris pajzsmirigycarcinoma *tall-cell variánsában* is, amely kifejezetten rossz prognosztikus rák. Ugyanakkor nem mutatták ki más pajzsmirigydaganatformában [11]. A *BRAF-mutációkat hordozó papillaris pajzsmirigycarcinomák* jóval *agresszívebb* tulajdonságokkal bírnak, és inkább *átalakulhatnak differenciálatlan, anaplasticus pajzsmirigycarcinomává* [7]. A BRAF szintjén kialakult módosulások a *papillaris carcinogenesis korai fázisában* már jelentkeznek, erre utal az a tény is, hogy már papillaris *microcarcinomában* is kimutatták [7].

A *BRAF*- és az *AKAP9-gének* intrachromosomal átrendeződését fedezték fel az utóbbi időben a csernobili katasztrófa után kialakuló *papillaris pajzsmirigyrákban* [1]. Újabb a *BRAF^{V599E} (BRAF^{V600E}) somaticus mutációját* írták le papillaris pajzsmirigyrákban, melyben a valin glutamára cserélődik ki az 599. kodonban, és így fokozódik a kinázaktivitás [7]. A *BRAF T1796A-mutációja* nem függ össze a sugárexpozícióval [8,9], ezzel összhangban, nagyon ritkán találták a Csernobil után kialakuló gyermekkori

pajzsmirigyrákokban.

3. A **RAS-oncogének** mutációi esetenként jelentkezhetnek a *papillaris pajzsmirigyrák follicularis formájában*, de elsősorban a follicularis carcinomára jellemzők, így nagyobb részben ott tárgyaljuk.

Egyetlen oncogén-mutáció nem elégséges a rosszindulatú elváltozás kiváltására. Papillaris pajzsmirigyrákban a RET/PTC, RAS vagy BRAF genetikai defektusok aktiválják a signal-transzmissziót a MEK-ERK cascade-on át, a daganat iniciációját váltva ki.

Papillaris pajzsmirigyrákban a RET/PTC, BRAF vagy RAS-zavarok más-más signal-rendszeren hatva, különböző biológiai tulajdonságú és klinikai lefolyású szövettani formákban nyilvánulnak meg [8]. Jelenleg bizonyított, hogy

- a papillaris pajzsmirigyrák klasszikus, papillaris típusában a RET/PTC1-átrendeződés lép fel,
- a solid variánsra a RET/PTC3-átrendeződés jellemző,
- a follicularis architektúrájú papillaris pajzsmirigyrákban a RAS-mutációk jelentkeznek,
- a tall-cell típusban BRAF-mutációk vannak jelen [2,3,5].

4. Genetikai zavarok halmozódása papillaris pajzsmirigyrákban és ezek prognosztikai értéke

Kezdetben úgy tartották, hogy a három, különböző biológiai hatással bíró és klinikai megnyilvánulással társuló RET/PTC, BRAF, illetve RAS genetikai zavar egymás jelenlétét kizárva alakulnak ki, azaz a pajzsmirigyrákos szövetben egyszerre csak egyik oncogén anomáliája van jelen. Ezzel szemben újabban bizonyították, hogy papillaris pajzsmirigyrákban a RET/PTC-transzlocációk mellett TRK- és BRAF-mutációk is jelen lehetnek [7,15].

Újabb kutatások pontosították ezt az állítást, kimutatva, hogy *multifocalis papillaris pajzsmirigyrákban gócként más-más RET/PTC-átrendeződés* léphet fel. Következésképp, ezek a *tumoralis góckok individuálisan, egymástól függetlenül* alakulnak ki, a genetikai vagy a környezeti susceptibilitás függvényében [4,13]. A papillaris pajzsmirigyrák gyakran multifocalis jellegű [13]. A csernobili atomkatasztrófa után jelentkező *pajzsmirigyrákok* nagyrésze *multifocalis* volt, és gyakran *rossz kimenetelűnek* bizonyultak, amely részben magyarázatot nyer az említett újabb kutatási eredmények fényében.

A *prognosis sokkal rosszabb* lehet a szokottnál *bilateralis multifocalis tumor* esetén, sőt még *multicentricus microcarcinomákban* is. *Recurrentis regionális nyirokcsomómetastasisok* gyakrabban fordulnak elő multicentricus microcarcinomákban, mint 1 cm-es solitaer daganatokban. Ilyen esetekben a nyirokcsomó-metastasisok jelenléte növeli a távoli áttétek rizikóját. A multicentricus microcarcinoma gyakran az agresszívebb lefolyású familiaris, nem-medullaris pajzsmirigycarcinomára jellemző [4].

II. Follicularis pajzsmirigyrákban (FTC) jelentkező genetikai elváltozások

1. A **RAS-pontmutációk** következtében a létrehozott patológias fehérje nagyobb affinitással kötődik GTP-hez vagy

inaktiválja annak GTP-ase funkcióját, s így a *Ras-protein* állandóan aktivált állapotba kerül. A Ras-protein aktiválja a MAP-kinázokat (mitogen-activated protein) és beindul a MAPK-ERK-Raf-MEK-cascade. A *RAS aktiválódása a pajzsmirigy cancerogenesis kezdeti stádiumában* már létrejön. A Ras-indukálta sejtproliferációt *genomiális instabilitás* követi, majd *apoptosis*.

Mindhárom *RAS-oncogén* (H-RAS, N-RAS, K-RAS) *mutációja* fellelhető follicularis neopláziában, elsősorban *follicularis pajzsmirigycarcinomában* és a *papillaris rák follicularis típusában*, de gyakran kimutatták az agresszív phenotipusú *differenciálatlan, anaplasticus pajzsmirigyrákokban* is.

2. PAX8-PPAR γ 1-átrendeződések

Az utóbbi időben kimutatták a PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) nukleáris receptor szerepét a pajzsmirigyrák kialakulásában. A *PAX8-PPAR γ 1-átrendeződések* főleg a follicularis pajzsmirigycarcinomára jellemzőek, és nagyobb százalékban találunk *allél-vesztést, aneuploidiát és chromosomális instabilitást*.

A PAX8 pajzsmirigy transcriptiósfaktor és a PPAR γ 1 A-F DNS-binding domain-ek fúziójából a t(2;3)(q13;25) transzlocatio jön létre. A *PAX8-PPAR γ 1 mRNS* és *fehérje* specifikusan a follicularis pajzsmirigycarcinomában jelentkezik [4]. A vad PPAR γ 1-overexpressiója pajzsmirigyrákos sejtvonalakban gátolja a sejtnövekedést, és ezt a hatást a PPAR γ 1 agonisták fokozzák.

3. Loss of heterozygosity (LOH) a 3. és 7. chromosomán

Follicularis pajzsmirigyrákban leírt leggyakoribb cytogenetici abnormalitások a 3p chromosomán levő *deléciók, részleges deléciók és deléció-átrendeződések*. A **3p chromosomán** létrejött **LOH** a *follicularis pajzsmirigyrákra* korlátozódik, ezt a genetikai defectust nem észlelték papillaris pajzsmirigyrákban és follicularis adenomában sem [12].

A **7q21 chromosoma-locuson elvesztett heterozigóta jelleg (LOH – loss of heterozygosity)** nem jellemző normális és hyperplasiás pajzsmirigy szövetre, ritkán mutatható ki papillaris és oncocytos pajzsmirigyrákban (8% és 10%), de már gyakoribb follicularis formában (45%), míg anaplasticus carcinomában minden esetben kimutatták. Ezek alapján a 7q21 chromosoma-locus meghatározhatja a *pajzsmirigy tumorok progressziójának stádiumát, mértékét*. A *7q21 locus genetikai anyagának elvesztése kizárólag két carcinoma-típusra* jellemző: a *follicularis* és az *anaplasticus* pajzsmirigyrákra. Ez a közös jelleg annak tulajdonítható, hogy mindkét ráktípus sötét magvú eosinophil citoplazmájú sejtekből épül fel.

A legmagasabb LOH-arány a *7q21,2* régióban következett be, azon a helyen, ahol a *fragilis FRA7E* situst térképezték fel. Az itt jelentkező heterozigocitás megszünte (deléció révén) a *follicularis pajzsmirigyrák* kialakulásának *korai fázisára* utal, és a pajzsmirigy daganat *gyors növekedésével* társul.

Irodalom

1. Ciampi R., Knauf J.A., Kerler R. et al. - *Oncogenic AKAP9-BRAF fusion is a novel mechanism of MAPK pathway activation in thyroid cancer*, J Clin Invest, 2005, 115(1):1069-1081.
2. Fagin J.A. - *Challenging dogma in thyroid cancer molecular genetics. Role of RET/PTC and BRAF in tumor initiation*, J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89: 4264-4266.
3. Fagin J.A. - *Molecular genetics of tumors of thyroid follicular cells*, In: Braverman L.E., Utiger R.D. (szerk): Werner & Ingar's The Thyroid. A fundamental and clinical text. Ninth edition, Lippincott Williams & Wilkins Kiadó, Philadelphia, 2005, 906-927.
4. Mazzaferri E.L., Kloos R.T. - *Carcinoma of follicular epithelium: radioiodine and other treatments and outcomes*, In: Braverman L.E., Utiger R.D. (szerk): Werner & Ingar's The Thyroid. A fundamental and clinical text. Ninth edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2005, 934-966.
5. Melillo R.M., Castellone M.D., Guarino V. et al. - *The RET/PTC-RAS-BRAF linear signaling cas-ca-de mediates the motile and mitogenic phenotype of thyroid cancer cells*, J Clin Invest, 2005, 115:1069-1081.
6. Nakashima M., Takamura N., Namba H. et al. - *RET oncogene amplification in thyroid cancer: correlation with radiation-associated, high-grade malignancy, and genomic instability*, International Congress Series, Vol 1299. Febr 2007, 251-255.
7. Nikiforova M.N., Nikiforov Y.E. - *Molecular Genetics of Thyroid Cancer: Implications for Diagnosis, Treatment and Prognosis*, Expert Rev Mol Diagn, 2008, 8(1):83-95.
8. Powell N., Jeremiah S., Morishita M. et al. - *Frequency of BRAF T1796A mutation in papillary thyroid carcinoma relates to age of patient at diagnosis and not to radiation exposure*, J Pathol, 2005, 5:558-564.
9. Rowe L.E., Bentz B.G., Bentz J.S. - *V600E mutation detection in cytologically indeterminate thyroid nodules*, Cytojournal, 2006, 3:10-22.
10. Santoro M., Melillo R.M., Carlomagno F. et al. - *Molecular mechanisms of RET activation in human cancer*, Ann NY Acad Sci, 2002, 963:116-121.
11. Schlumberger M., Lacroix L., Russo D. et al. - *Defects in iodine metabolism in thyroid cancer and implications for the follow-up and treatment of patients*, Nat Clin Pract Endocrinol Metab, 2007, 3:260-269.
12. Schlumberger M.J., Filetti S., Hay J.D. - *Nontoxic diffuse and nodular goiter and thyroid neoplasia*, In: Kronenberg H.M., Melmed S., Polonsky S.K., Larsen P.R. (szerk): Williams Textbook of Endocrinology 11 Edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2008, 411-442.
13. Shattuck T.M., Westra W.H., Landenson P.W. et al. - *Independent clonal origins of distinct tumor foci in multifocal thyroid carcinoma*, N Engl J Med, 2005, 352:2406-2412.
14. Takano T., Amiro N. - *Fetal Cell Carcinogenesis: a new hypothesis for better understanding of thyroid carcinoma*, Thyroid, 2005, 15(5):432-438.
15. Xing M. - *BRAF mutation in thyroid cancer*, Endocr Relat Cancer, 2005, 12:245-262.
16. Vasko V., Ferrand M., Di Cristofaro J. et al. - *Specific pattern of RAS oncogene mutations in follicular thyroid tumors*, J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88:2745-2752.
17. Zosin I., Anghel A., Cornianu M. et al. - *Diagnosticul bolii nodulare tirodiene (BNT) - valoarea markerilor tumorali*, Rev Rom Endocrinol Metab, 2007, 6(2):1-12.