



# VIE MOLECOLARI DELLA CARCINOGENESI COLORETTALE

GIOVANNI BATTISTA ROSSI

ISTITUTO DEI TUMORI DI NAPOLI G. PASCALE



La sequenza adenoma-  
carcinoma così come  
l'abbiamo conosciuta  
resta valida?



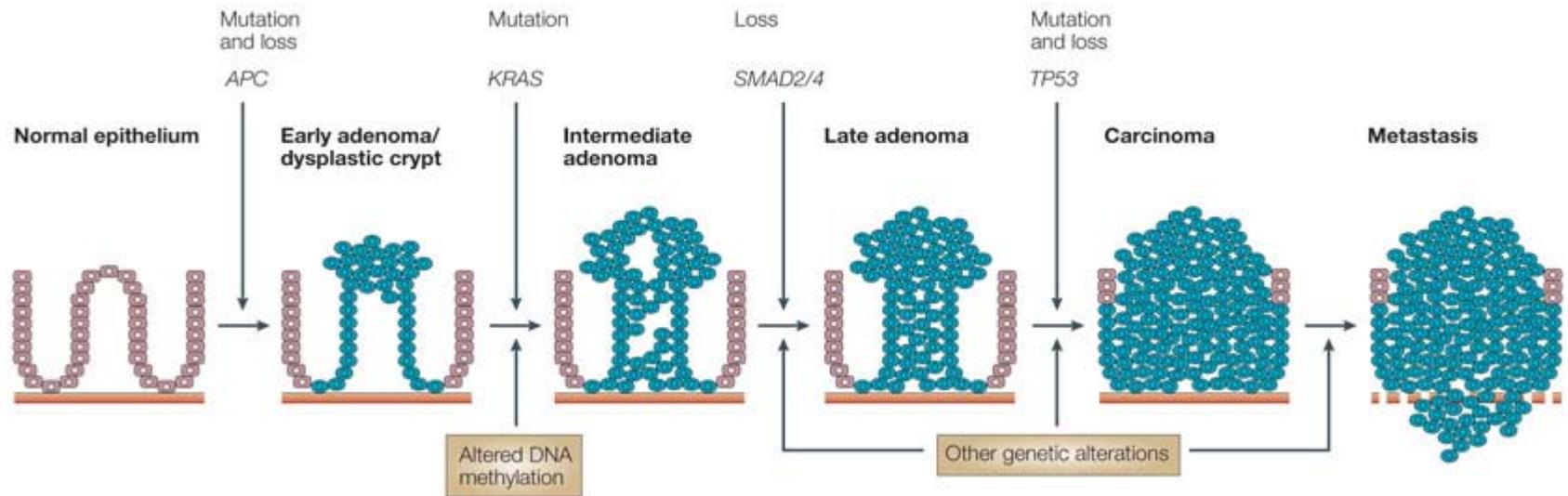
La sequenza adenoma-  
carcinoma come  
l'abbiamo conosciuta  
resta valida?

SÌ, LA CONOSCIAMO MEGLIO MA È IN  
GIOCO IN OLTRE L'80% DEI CASI

# SEQUENZA ADENOMA CARCINOMA CLASSICA

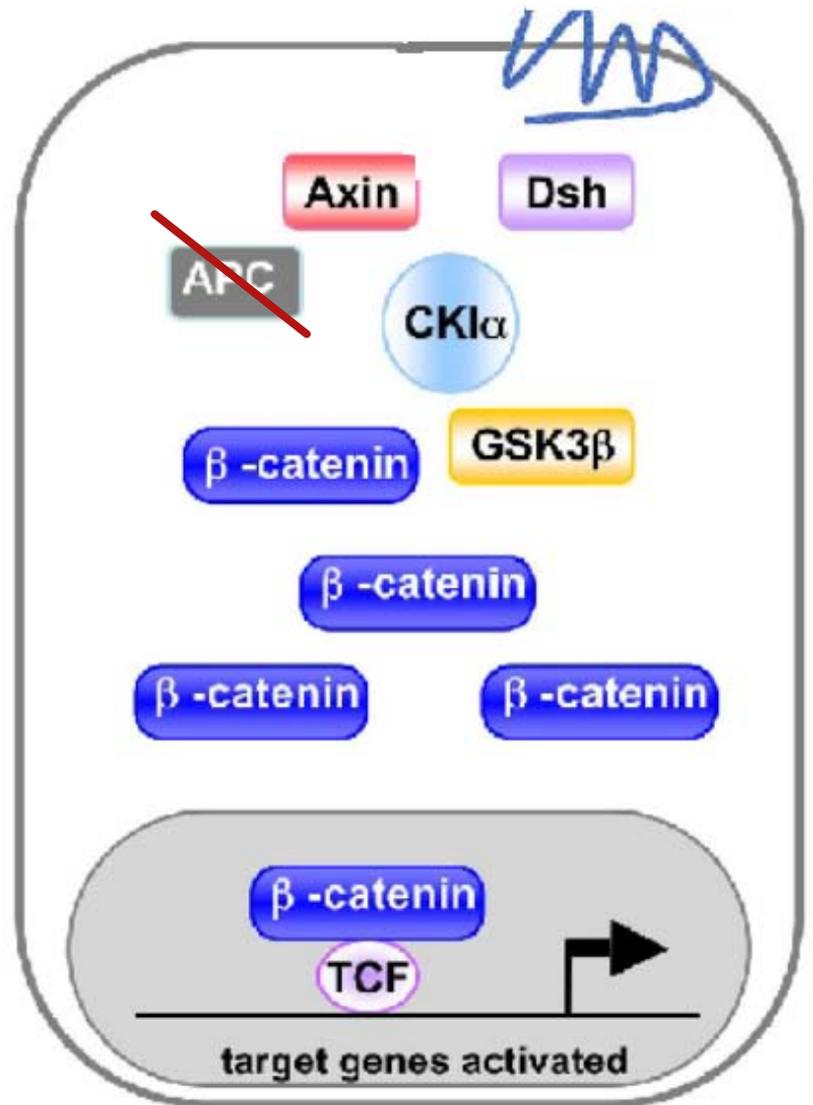
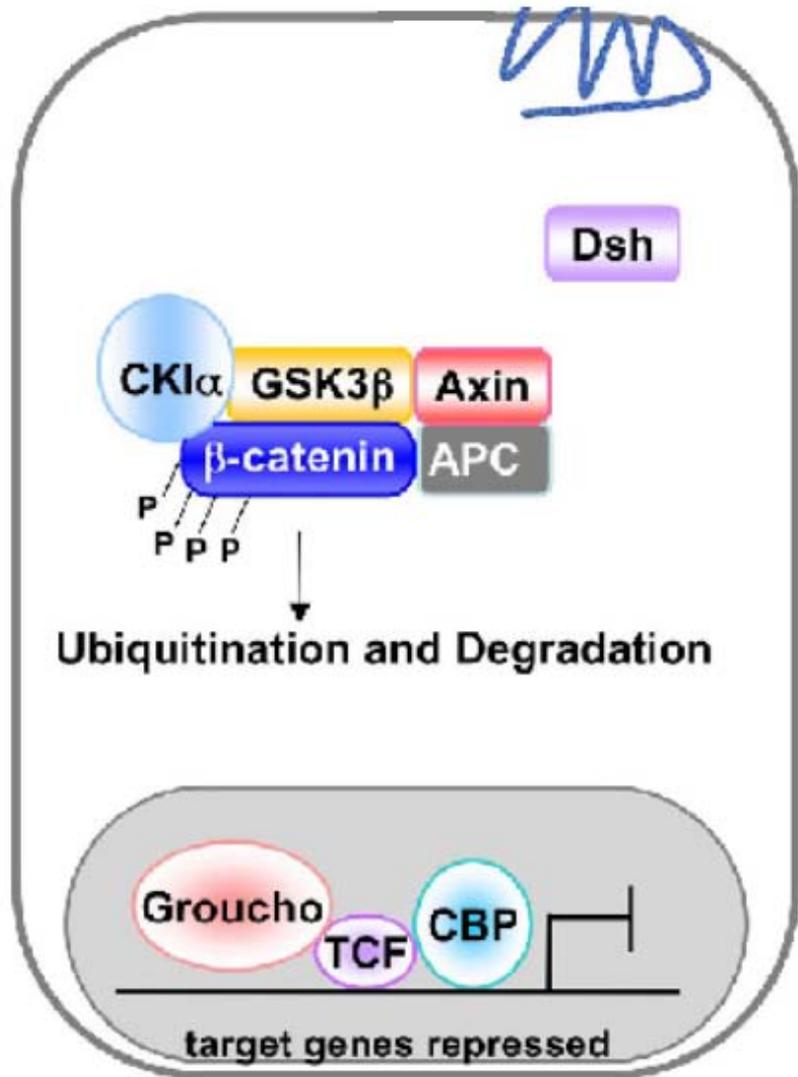
- ▶ Nel 1990 Fearon e Vogelstein studiando le mutazioni presenti negli adenomi in diverso stadio e nei carcinomi del colon-retto proposero un modello molecolare sottinteso alla sequenza morfologica adenoma carcinoma
- ▶ In questo modello alcune mutazioni geniche rendevano attivi alcuni oncogeni ed eliminavano la funzione di alcuni oncosoppressori

# SEQUENZA CLASSICA ADENOMA-CARCINOMA



# RUOLO DEL GENE APC

- ▶ Tra le mutazioni più costanti compariva quella di APC, il gene implicato nella poliposi familiare, presente in tutte le fasi della sequenza ed anche in piccoli adenomi, il che ne suggeriva un ruolo precoce.



# ALTRE MUTAZIONI DELLA SEQUENZA

- ▶ Caratteristica e la frequenza elevata delle mutazioni di K-ras in corso di progressione
- ▶ Esse innescano l'attività costitutiva di una serie di chinasi responsabili di mitogenesi
- ▶ Altra alterazione comune era una delezione in 18q, coinvolgente un gene chiamato DCC, risultato poco importante ma anche i vicini geni SMAD2 e 4 implicati nella regolazione di TGF- $\beta$

# ALTRE MUTAZIONI DELLA SEQUENZA

- ▶ P53 è inattivato per mutazione in fase tardiva, nel passaggio a malignità.
- ▶ In condizioni normali rallenta il ciclo cellulare consentendo il riparo del DNA; se il danno è eccessivo innesca l'apoptosi

# PATHWAY CIN (INSTABILITA' CROMOSOMICA)

- ▶ Caratteristica dei tumori della sequenza «classica» è l'instabilità cromosomica: aneuploidia, delezioni in 5,17,18 (APC ha un ruolo anche nell'ordinato funzionamento dei tubuli in fase mitotica)
- ▶ L'85% dei tumori del colon-retto segue questa via

# PATHWAY CIN

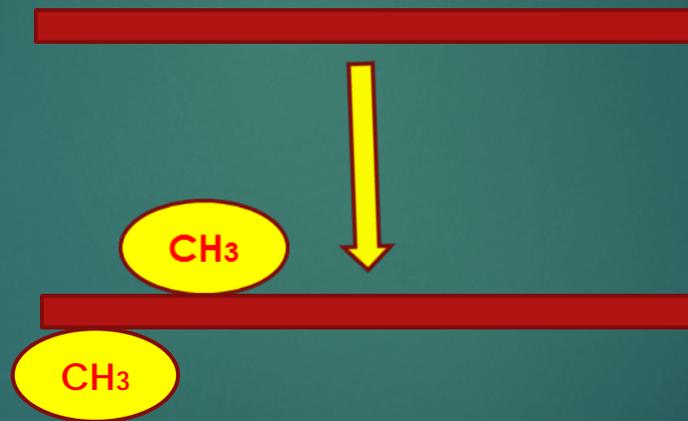
## (INSTABILITA' CROMOSOMICA)

- ▶ La sequenza delle mutazioni non è ordinata come nello schema che abbiamo visto e non tutti i tumori mostrano tutte le mutazioni
- ▶ Oggi sappiamo anche che un ruolo pari a quello delle mutazioni è giocato dal silenziamento attraverso metilazione

Mutazione



Metilazione





Quali sono le vie  
alternative alla sequenza  
classica?

# PATHWAY MSI (INSTABILITA' DEI MICROSATELLITI)

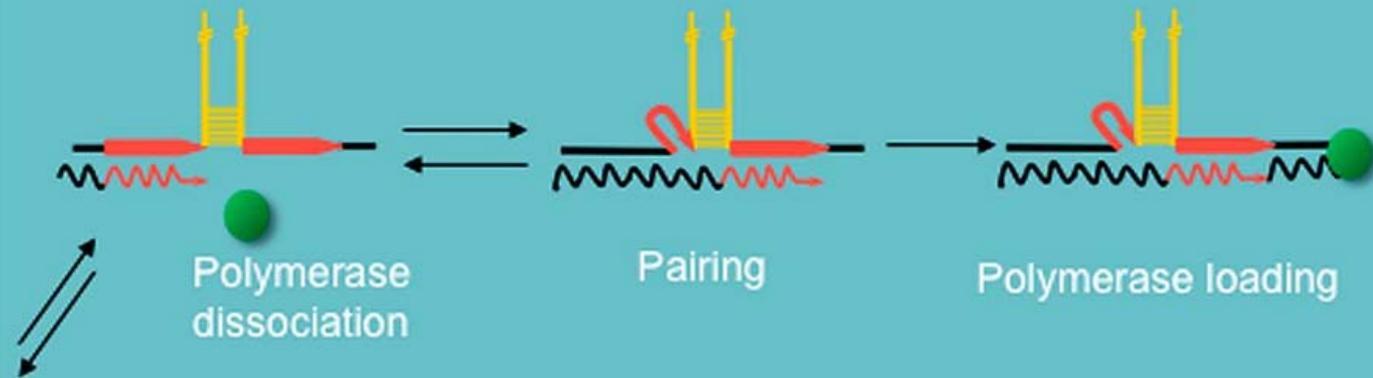
- ▶ Essi sono sequenze ripetitive, es.:

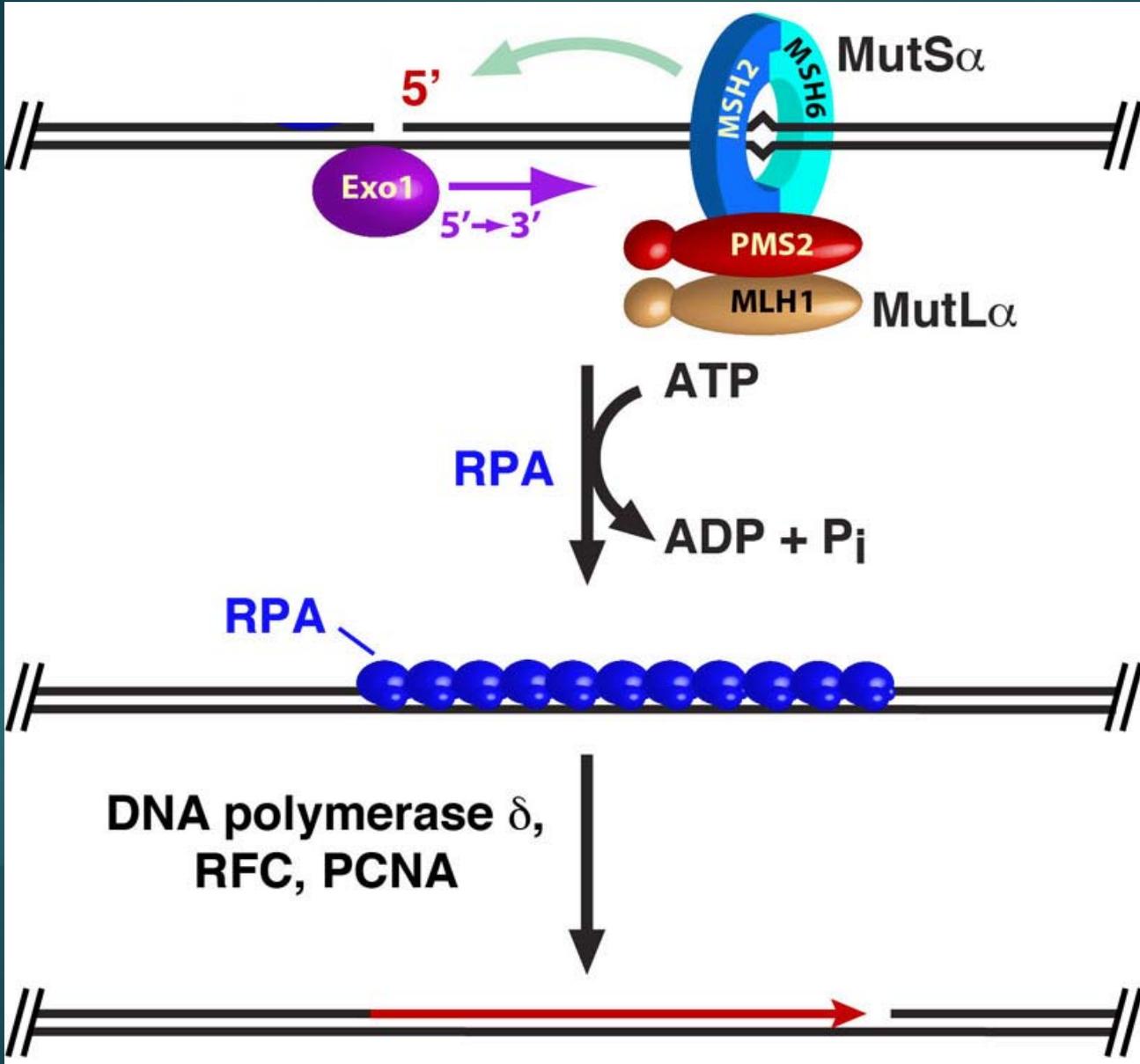
TACTTACTTACTTACT oppure ACACACACACACAC

Sono presenti in centinaia di migliaia nel genoma e sono più soggette a errore nel corso della replicazione del DNA

# SLIPPAGE DELLA DNA POLIMERASI

Slippage error: deletion of DNA repeats





Modrich,  
semplificato

# PATHWAY MSI

## (INSTABILITA' DEI MICROSATELLITI)

- ▶ La mancanza di una delle proteine di questo tipo di riparo per mutazione del relativo gene provoca una predisposizione a tumori nota come sindrome di Lynch (carcinoma ereditario del colon non su poliposi)
- ▶ Lo studio di questa sindrome aprì la strada alla conoscenza di una diversa cancerogenesi coloretale basata sulla instabilità dei microsateLLiti (MSI)

# PATHWAY MSI (INSTABILITA' DEI MICROSATELLITI)

- ▶ Sequenze ripetitive sono presenti infatti anche all'interno di oncogeni come APC, BAX, TGF- $\beta$ II ecc.

.....CAATGTGGTACTACTACTACTCCATGTGG.....

- ▶ Un difetto del MMR porta a un enorme accumulo di mutazioni somatiche in questi geni, mutazioni che si traducono nella genesi del cancro

# CARCINOMI SPORADICI MSI

- ▶ Molti CRC MSI sono sporadici e non legata alla sindrome di Lynch
- ▶ In questi casi si è riscontrata metilazione del promoter di uno dei geni della syndrome, MLH1, con silenziamento dell'espressione di questo gene

▶ Worthley 2010

# CARCINOMI SPORADICI MSI

- ▶ La metilazione è connessa a un fenomeno più ampio che andremo a considerare più avanti.
- ▶ Sporadici o ereditari che siano questi tumori condividono aspetti di biologia comuni: per es. caratteristiche istologiche, sensibilità ai farmaci.

▶ Worthley 2010

# RIASSUMENDO

- ▶ La perdita della funzione di un gene è in gioco nella forma ereditaria dei tumori MSI
- ▶ Il silenziamento epigenetico del promotore di hMLH1 per metilazione (Samowitz 1999) il meccanismo che prevale nei tumori con MSI sporadici

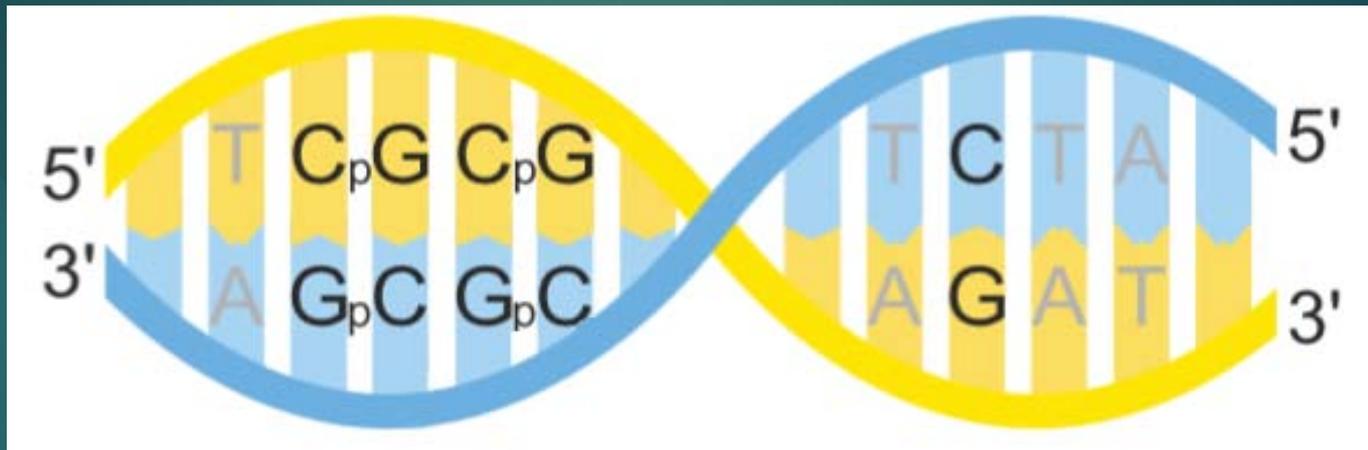
# LA METILAZIONE DEL DNA

- ▶ Negli anni '90 emerse sempre più evidente il ruolo del silenziamento dei geni nella genesi del cancro, accanto a quello delle mutazioni

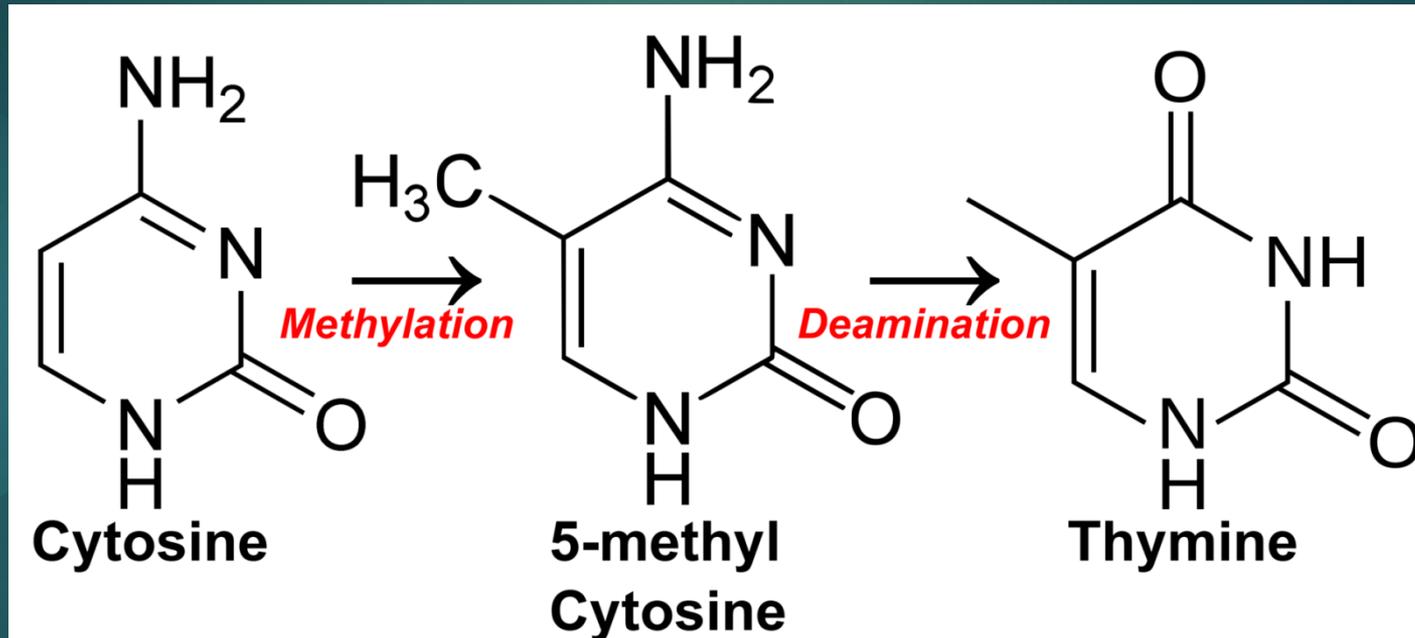
# LA METILAZIONE DEL DNA

- ▶ La metilazione *fisiologica* del DNA è un processo che riguarda nei mammiferi la citosina (10%) e ha molte funzioni, quali il silenziamento di uno dei cromosomi X nella donna o l'imprinting genico
- ▶ Oggetto preferenziale di metilazione le isole CpG: Citosina-P=fosforo-Guanina, presenti in modo significativo nei promotori di alcuni geni

# ISOLE CpG



# METILAZIONE DELLA CITOSINA



# PATHWAY CIMP (CPG ISLAND METHYLATOR PHENOTYPE)

- ▶ Le isole CpG: Citosina-P=fosforo-Guanina, sono presenti in modo significativo nei promotori di alcuni geni
- ▶ L'ipermetilazione (*aberrante*) di queste isole causa il silenziamento dei relativi geni

# TUMORI COLORETTALI E METILAZIONE

- ▶ Il 15% dei CRC sporadici segue la strada molecolare dell'ipermetilazione delle isole CpG (Weisemberger 2006)
- ▶ La metilazione è efficace nella genesi del tumore quando agisce a livello dei promotori di alcuni geni oncosoppressori



# TUMORI COLORETTALI E METILAZIONE

- ▶ In una certa quota di tumori (Shen 2007) la metilazione è più limitata (CIMP-L o CIMP2)
- ▶ Questo fenomeno riguarda soprattutto la sequenza classica e i tumori CIMP2 sembrano collegati soprattutto (Jass 2007) ad adenomi tubulovillosi.

# TUMORI COLORETTALI E METILAZIONE

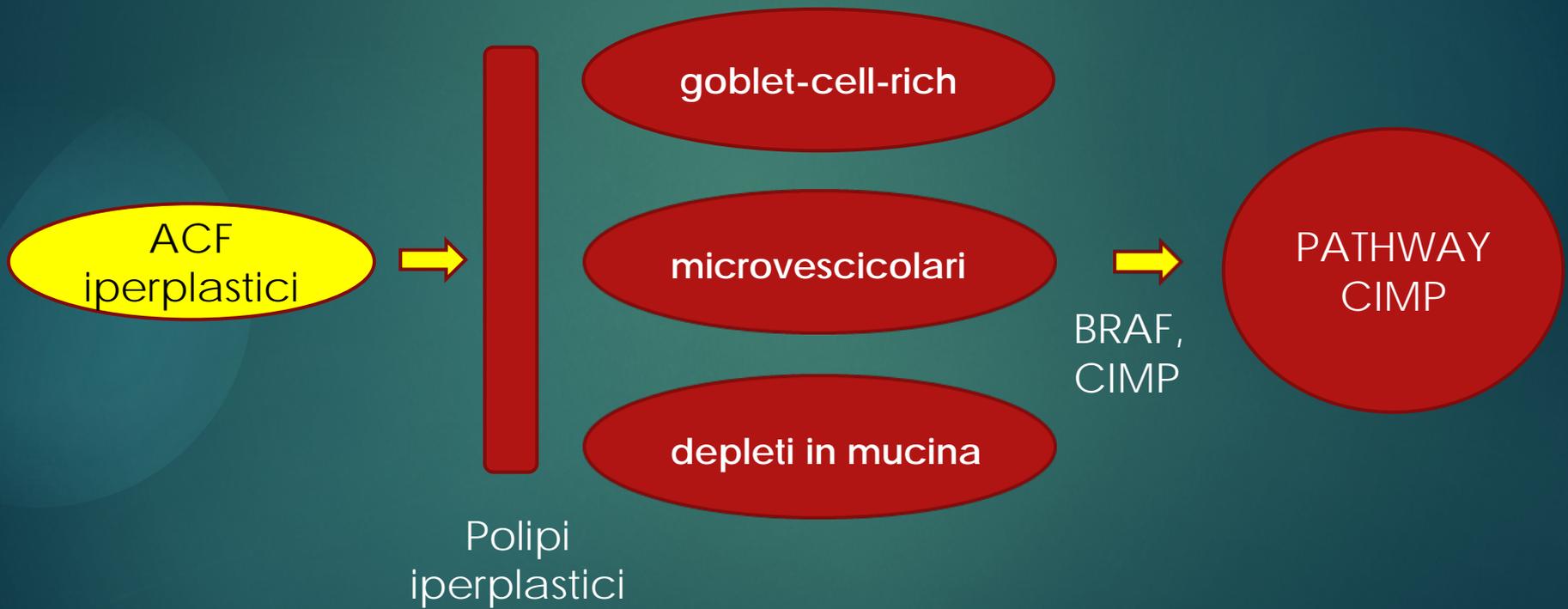
- ▶ I tumori invece dove la metilazione è più rilevante (CIMP1) hanno caratteristiche diverse da quelli classici e presentano abbastanza costantemente una mutazione di BRAF anzichè K-ras
- ▶ BRAF codifica una proteina implicata nella crescita cellulare.
- ▶ **E' stata dimostrata una forte associazione tra il pathway CIMP1 e le lesioni serrate**

# ADENOMI CLASSICI E SERRATI

- ▶ Sia i carcinomi della sequenza classica che quelli della sindrome di Lynch originano da un adenoma classico
- ▶ Una quota dei tumori sporadici derivainvece dalle lesioni serrate

Jass 2002, Grady 2008)

# ADENOMI SERRATI



PATHWAY  
CIMP  
BRAF

Adenoma  
serrato sessile



Adenoma misto

Adenoma serrato  
tradizionale

# ADENOMI SERRATI

- ▶ Il principale precursore (German 2006) dei tumori con fenotipo CIMP sembra essere l'adenoma serrato sessile

# CIMP1+MSI

- ▶ In una minoranza di tumori CIMP1 è metilato il promoter di MLH1
- ▶ Essi corrispondono ai tumori con MSI non ereditari di cui abbiamo già parlato
- ▶ Condividono coi tumori della sindrome di Lynch una migliore prognosi mentre gli altri tumori CIMP1 hanno prognosi e istologia peggiore.

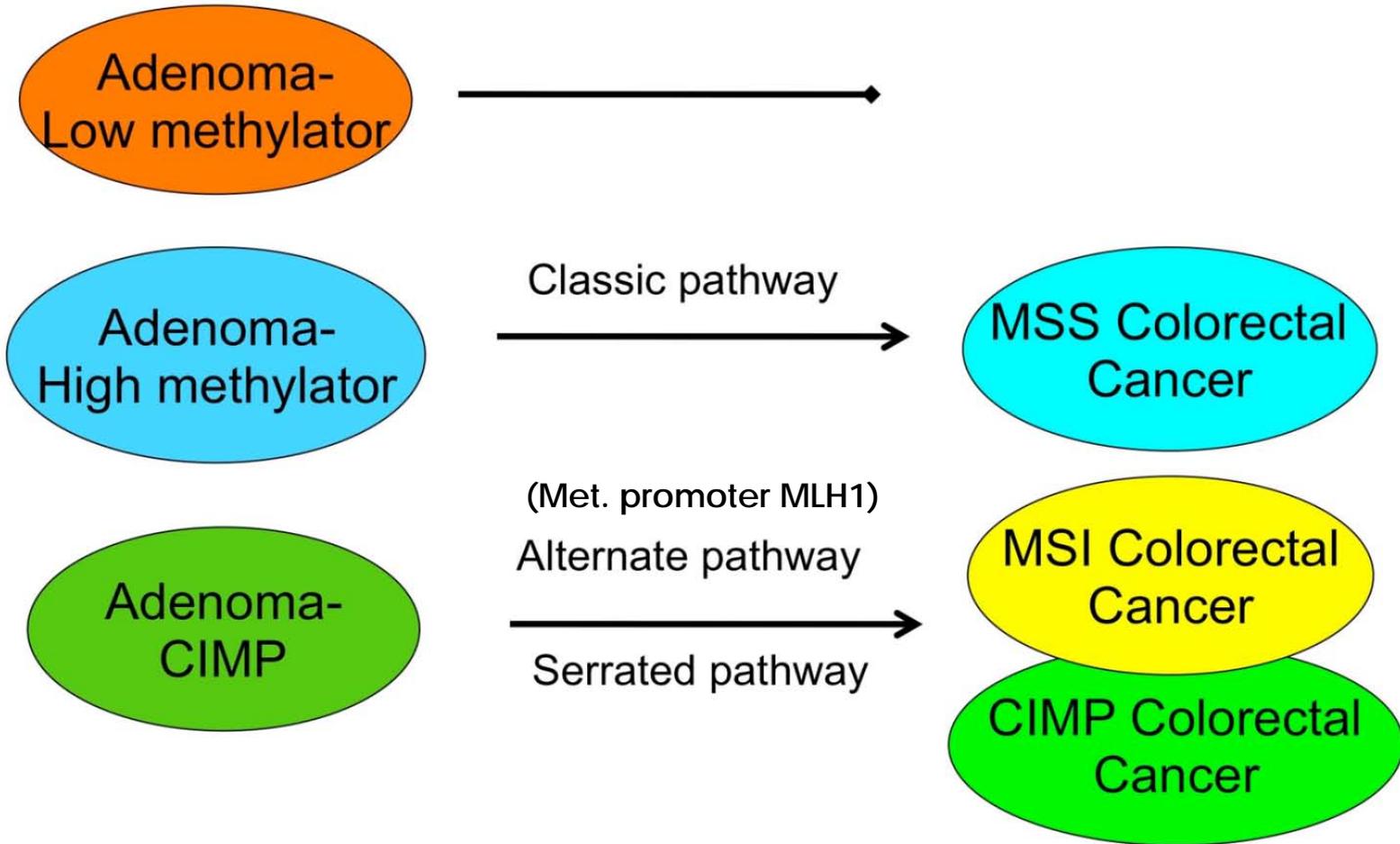


POSSIAMO ABBOZZARE  
UN MODELLO DELLE  
DIVERSE VIE CHE  
CONDUCONO AL  
CANCRO COLORETTALE?

# LE DIVERSE VIE DEL CANCRO

- ▶ Rilevante il contributo di Luo apparso su Gastroenterology nel 2014 e di Burnett-Hartmann : essi esaminano la presenza di mutazioni e di metilazione aberrante in un gran numero di campioni tissutali di mucosa normale, adenomi e carcinomi

# Novel insights into the polyp → cancer sequence



Il primo ad intuire il ruolo regolativo della metilazione

negli anni 60-70 del 900

fu Eduardo Scarano

nei suoi studi sul riccio di mare al Ligb di Napoli.

Non vi erano ancora le tecnologie per portare avanti il discorso.

Le vicende storiche della ricerca in Italia non ne favorirono lo sviluppo.



Review Article

## DNA methylation 40 years later: Its role in human health and disease<sup>†</sup>

Maria Irene Scarano ✉, Maria Strazzullo, Maria Rosaria Matarazzo,  
Maurizio D'Esposito ✉

First published: 12 January 2005 [Full publication history](#)

**IL SOLE 24 ORE,**

09 dicembre 2012

**Ligb, modello dimenticato**

**Il Mattino,**

12 dicembre 2014

**Napoli ricorda Scarano, pioniere  
dell'epigenetica**

**Eduardo Scarano. Uno scienziato  
antesignano della epigenetica**

a cura di G. Chieffi, F. Scarano

Editoriale Scientifica

**Le Scienze**

03 agosto 2015

**Ricci, geni ed epigenetica**