

# A neurofibromin-1 gén kóros elváltozásai daganatos betegségekben

NAGY ÁDÁM<sup>1</sup>, GARZULY FERENC<sup>2</sup>, KÁLMÁN BERNADETTE<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Egészségtudományi Kar, Doktori Iskola, Pécs, <sup>2</sup>Markusovszky Egyetemi Oktatókórház, Szombathely

Ajánlás:

A jelen tudományos közleményt a szerzők a Pécsi Tudományegyetem alapításának 650. évfordulója emlékének szentelik.

Támogatás:

N. Á. PhD hallgató állami támogatásban részesült az elmúlt 3 év során. K. B. és N. Á. a PTE „Innovatív fejlesztés támogatása” és „Kutatáshasznosítás támogatása” c. belső egyetemi támogatásban részesült a 2016–2017. év során.

## Levezései cím:

Prof. Dr. Kálmán Bernadette, Pécsi Tudományegyetem,  
Egészségtudományi Kar. Tel.: +36-94-515-624,  
e-mail: bernadett.kalman@etk.pte.hu

## Közlésre érkezett:

2017. július 12.

## Elfogadva:

2017. szeptember 5.

A neurofibromin (*NF1*) gén terméke a tumorszuppresszor proteinek családjába tartozik. Fontos funkciót tölt be olyan jelátviteli útvonalak negatív szabályozásában, melyekben a Ras onkogén szerepet játszik. Nevét a neurofibromatózis betegségről kapta, amelynek kialakulásában a csírvonalban található és autoszomális domináns módon öröklődő mutációi fontos szerepet játszanak. Az *NF1* génnek csírvonal-mutációin kívül szerzett, szomatikus mutációi is ismertek, melyek számos további malignus és benignus tumoros elváltozásban megtalálhatóak. Nagyszámú szolid tumorból, leukémiás sejtekből és malignus bőrelváltozásból (többek között melanómákból) is kimutatták az *NF1* mutációit. A gliómák bizonyos csoportjaiban meghatározó szerepet játszik ez a gén. Ilyen például a glioblasztóma egyik molekuláris alcsoportja, a mezenhimális alcsoport, melyben az *NF1* szomatikus deléciója és mutációja a leggyakrabban fordul elő. Összefoglalónk célja, hogy áttekintést adjunk az *NF1* gén leggyakoribb elváltozásairól, azoknak a neurofibromin proteinre gyakorolt hatásáról és sejtbiológiai következményeiről, valamint a kapcsolódó betegségekről. Egyben rövid betekintést is nyújtunk az *NF1* gén abnormalitásaival foglalkozó kutatások állásáról. *Magy Onkol* 61:327–336, 2017

**Kulcsszavak:** *NF1*, neurofibromin, tumorszuppresszor, mutációk, rákok keletkezése

*The product of the neurofibromin gene (NF1) belongs to the family of tumor suppressor proteins. Neurofibromin plays important roles in the negative regulation of signaling pathways where the Ras oncogene is involved. The protein and gene names were derived from the disease, neurofibromatosis type 1 that is caused by germline mutations in NF1 and inherited by an autosomal dominant manner. Besides germline mutations, acquired, somatic mutations are also observed in NF1 in several malignant and benign tumors. NF1 mutations have been identified in a great number of solid tumors, leukemias and malignant skin lesions (e.g. melanoma). Such mutations define certain subsets of gliomas. More specifically, a molecular subset of glioblastomas, termed the mesenchymal subtype, is most frequently associated with somatic NF1 deletions and mutations. The aim of this survey is to provide an overview of the most frequent alterations in the NF1 gene with their effects on the function of the protein and the biology of the cell, as well as of the resultant diseases. Simultaneously, we give some insight into ongoing research studies investigating abnormalities of NF1.*

Nagy Á, Garzuly F, Kálmán B. Pathogenic alterations within the neurofibromin gene in various cancers. *Magy Onkol* 61:327–336, 2017

**Keywords:** *NF1*, neurofibromin, tumor suppressor gene, mutations, tumorigenesis

## BEVEZETÉS

A neurofibromin-1 fehérje szerepét az elmúlt évtizedekben kiterjedten vizsgálták. A kódoló gén elhelyezkedését és legfontosabb patogén mutációit szintén leírták. Ennek ellenére számos olyan *NF1*-génmutációval kapcsolódó onkológiai betegség ismert, amelynek a terápiája a mai napig korlátozott hatékonyságú (pl. glioblastóma). Hogy az *NF1* gén mutációit és magának a neurofibromin fehérjének az elváltozásait megérthessük a különböző betegségekben, érdemesnek gondoltuk összevetni az eddig feltárt legfontosabb molekuláris adatokat és onkológiai elváltozásokat. Ebben a témában korábban több tanulmány is készült [1, 2]. Az olyan munkák azonban ritkák, amelyek részletesen tanulmányozzák az *NF1* gén aberrációit az egyes betegségekben [3]. A jelen tanulmányba nemcsak a genetikai és az onkológiai elváltozások kerültek be felsorolásszerűen, hanem a TCGA és a Cosmic adatbázis adatai is, amelyek rövid áttekintése segít megértenünk, hogy az alább felsorolásra került *NF1*- és neurofibromin-elváltozásokkal társult betegségek között milyen hasonlóságok és különbségek vannak.

## AZ *NF1* GÉN SZERKEZETE

1987-ben Barker és munkatársai felismerték, hogy a „von Recklinghausen” neurofibromatózis, vagy ahogy ma ismerjük, az I. típusú neurofibromatózis (vagy neurofibromatózis-1, *NF1*) felelős génje a 17-es kromoszóma pericentromerikus régióján helyezkedik el [4]. Alig két évvel később Ledbetter és munkatársai sikeresen meghatározták a neurofibromin gén (*NF1*) pontos lokalizációját a 17-es kromoszóma hosszú (q) karjának 11.2-es régiójában [5]. Maga az *NF1* egy 62 exonból álló, nagyméretű gén, amely egy 2818 aminosavból álló fehérjét kódol. A fehérjetermék molekulatömege 280 kDa [6, 7].

## AZ *NF1* FEHÉRJE SZERKEZETE ÉS KIFEJEZŐDÉSI MINTÁZATA

A neurofibromin fehérje az emberi szervezetben szinte mindenütt előfordul, de nem egyforma mennyiségben. Az *NF1* gén gyakorlatilag az összes sejtben expresszálódik, de a legnagyobb mennyiségben a neuronokban, Schwann-sejtekben, gliasejtekben és leukocitákban [8]. Fagerberg és munkatársai 2014-ben a humán szövetre specifikus fehérjeexpressziót genom szintű elemzésekkel, többek között antitest alapú jelöléssel és transzkriptom-, valamint proteomelemzéssel hasonlították össze. Vizsgálatuk neurofibrominnal foglalkozó részében 95 személy 27 különböző szövettípusát elemezték RNS-szekvenálással, hogy az *NF1*-génexpresszió szabályozásának szövetspecifitására fény derüljön. Az eredmények szerint a központi idegrendszer mellett az immunrendszer, az izomzat sejtjei, a szekretoros sejtek, a reproduktív szervek és a zsigerek sejtjei szintén expresszálják az *NF1* gén mRNS-ét és a neurofibromint, igaz, jóval kisebb mértékben [9].

## A NEUROFIBROMIN FIZIOLÓGIÁS SZEREPE

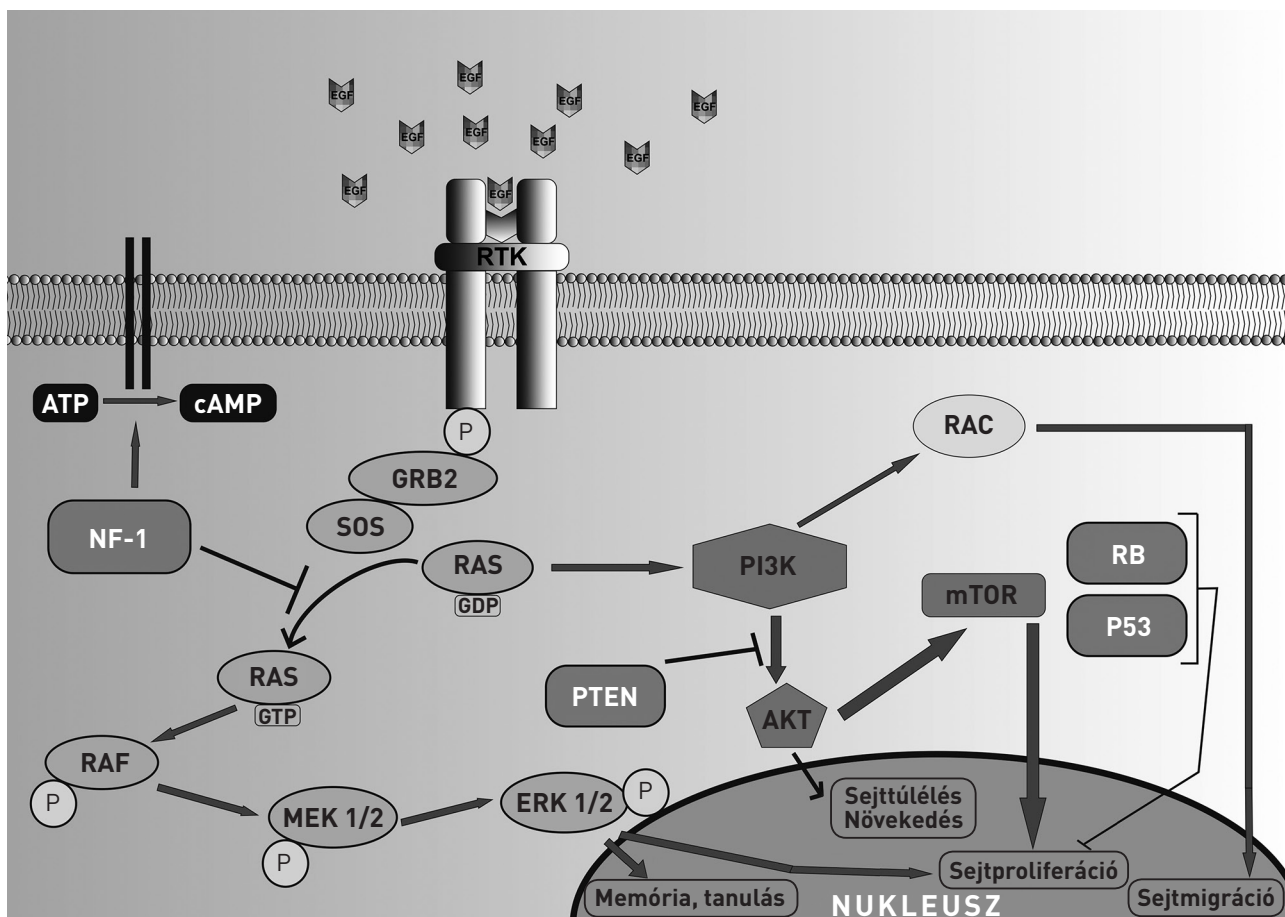
A neurofibromin fehérje egyrészt aktiválja az ATP – cAMP átalakulást, másrészt a Ras/MAPK jelátviteli útvonal negatív

szabályozását végzi a citoplazmában (1. ábra). A neurofibromin rendelkezik egy Ras-specifikus GTP-áz aktiváló protein (GAP) doménnel. Ezen a doménon keresztül képes direkt kapcsolatba lépni a Ras-sal. A kapcsolat létrejöttének hatására konformációváltozás történik a neurofibrominban, amely így felerősíti a sejtben belüli Ras protein GTP-áz aktivitását. Ezzel felgyorsítja az aktív GTP-kötő Ras-formából az inaktív GDP-kötő Ras-formába való átalakulást. Ez a Ras-tól „downstream” negatív módon szabályozza a jelátvitelt, így a teljes mitogénaktivitás nettó csökkenése következik be a sejtben. Mivel a Ras/MAPK útvonal kritikus fontosságú a sejtosztódás és -differenciálódás szabályozásában, a funkcionális neurofibromin hiánya ennek a központi jelátviteli útvonalnak a konstitutív aktivációját és ez által az érintett sejt fokozott növekedését okozza [10].

A neurofibromin fehérjének számos további szerepe is ismert (pl. a neuronok közötti transzsinaptikus transzport szabályozása, a kognitív készségek befolyásolása), melyek azonban e tanulmány fókuszán kívül esnek [11].

## AZ *NF1*-EXPRESSZIÓ SZABÁLYOZÁSA ALTERNATÍV SPLICING ÁLTAL

Az *NF1* gén pre-mRNS-ének érését splicing folyamatok szabályozzák. Az *NF1* génnek számos olyan alternatív exonja létezik, amely beépülése/kizáródása számottevően vagy egyáltalán nem változtatja meg a fehérjetermék funkcióját és szubcelluláris lokalizációját. Ilyen például a 9a/9br, 10a-2, 23a és 48a exon [12, 13]. A központi idegrendszerben a 9a/9br alternatív exon további tíz aminosavat ad a transzkriptumhoz. Ez a fajta alternatív splicing csak a központi idegrendszerben jelenik meg [12, 14]. Egy másik hasonló alternatív splicing a 10a-2, amely a 10a és 10b exon közé ékelődik be és tizenöt bázispár beépülését vonja maga után a transzkriptumba. Ennek következtében az ezzel a plusz exonnal rendelkező termék rendelkezni fog egy transzmembrán egységgel is. Noha ezt a 10a-2 exont szélesebb körben még nem vizsgálták, feltételezik, hogy az intracelluláris membránon valamilyen housekeeping (fenntartási) funkciót tölthet be [15]. A 48a alternatív exonnal a transzkriptum 18 aminosavval hosszabbodik meg. Ennek az exonnak az expressziója mind a magzati, mind a felnőtt szív- és vázizomszövetekben a legmagasabb [13]. Az exonról feltételezik, hogy a szív- és vázizomszövetek differenciációjában lehet szerepe [13, 16]. Mind közül a legérdekesebb a 23a alternatív exon. Az első két neurofibromin-izomorfát (I-es és II-es típus) a 23a exon beépülése vagy kivágódása hozza létre. Az exon huszonegy aminosavval toldja meg a transzkriptumot, a 23-as és 24-es exon közti szakaszon, emellett beépülési módja és kapcsolata a szomszédos exonokkal szövetspecifikus. Bár ez az exon a legtöbb szövetben expresszálódik, túlnyomórészt viszont a központi idegrendszer sejtjeiben találjuk meg. Érdemes ugyanakkor megemlítenünk, hogy a 23a alternatív exon nélkül splice-olt neurofibromin tizenhatszor erősebb a Ras-jelátvitel regulálásában, mint az az izoforma, amely magába foglalja a 23a exont is. Ennek hátterében az áll, hogy az exon olyan bázikus aminosavakat ad a transzkriptumhoz,



**1. ÁBRA.** Az *NF1* gén szerepe a különböző jelátviteli útvonalakban. A neurofibromin egyrészt aktiválja az ATP – cAMP átalakulást (az ábra bal oldala), másrészt gátolja a növekedésfaktor-receptorhoz (az ábrán RTK, azaz receptor-tirozinkináz) kapcsolódó jelátviteli útvonalat a RAS GDP – RAS GTP lépésben. A neurofibromin ily módon befolyásolja a különböző jelátviteli útvonalak végeredményét, azaz hatással van a sejttúlélésre, a proliferációra, valamint a migrációra is (ábrán a nukleuszban). Az ábrán a különböző jelátviteli útvonalak egyes összetartozó elemeit a megfelelő árnyalatú szövegdobozzal érzékeltettük

amelyek jelentősen gyengítik a neurofibromin és a Ras közötti kapcsolatot (17). Costa és munkatársai 2001-ben egérkísérletben kitorölték a 23a alternatív exont az egerek egy csoportjából. Ezek az egerek a kontrollcsoporthoz képest normális fejlődést mutattak, tumorfejlődést nem tapasztaltak náluk. A hippocampuszteszteken a térbeli tanulási és memóriabeli elmaradásuk azonban szignifikáns volt a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Összességükben az eredmények arra utaltak, hogy a két variáns (23a exonnal és anélkül splice-olt) neurofibromin egyensúlyi aránya fontos lehet fiziológiás körülmények között (18).

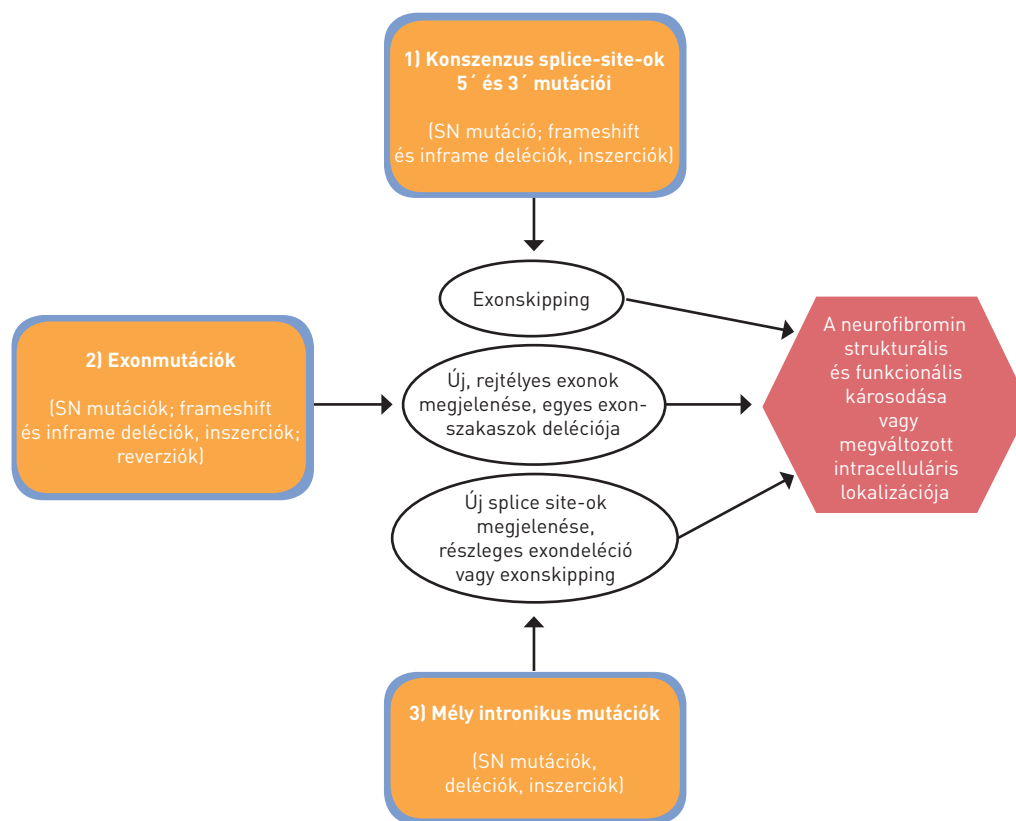
### AZ *NF1* GÉN ABNORMALITÁSAI

Az *NF1* gént érintő összes mutáció 85–90%-a pontmutáció, az egyszeres vagy multiexon-deléciók körülbelül 2%-ot tesznek ki, míg az *NF1*-et és szomszédos génjeit érintő deléciók 5–10%-ot adnak (18–20). Az *NF1* gén pontmutációinak meg-

oszlása az alábbiak szerint alakul: 37,34% misszensz szubsztitúció (mely aminosav-változással jár), 24,02% nonszensz szubsztitúció (mely korai stopkodon beiktatásával hoz létre módosított fehérjét), 13,87% frameshift deléció (mely a kodon eltolódásával változtatja meg az aminosav-sorrendet és fehérjestruktúrát), 10,53% pedig szinonim szubsztitúció (mely nukleinsavszinten, de nem aminosavszinten okoz változást). A fennmaradó 14,24%-ot inszerciós frameshift mutációk, inframe deléciók és inframe inszerciók teszik ki (17, 19).

### SPLICE SITE MUTÁCIÓK (2. ábra)

Az *NF1* gén patogén elváltozásainak körülbelül 25%-a köthető a pre-mRNS „splicing”-ját szabályozó szekvenciák valamilyen mutációjához. Hernández-Imaz és munkatársai 2015-ben 60 splicing mutációt vizsgáltak meg. Azt találták, hogy a splicing mutációk 78%-a az 5' splicing oldalhoz, míg 17%-a a 3'



**2. ÁBRA.** A neurofibromin mRNS-ének splicingja során fellépő rendellenességek. A splicing során három fő hibatípus léphet fel: a konszenzus splice site-ok 5' és 3' mutációi, a mély intronikus mutációk, valamint az exonok mutációi. Ezek exonskippinghez, új kriptikus exonok létrejöttéhez, új splice site-ok kialakulásához, vagy egyes exonok részleges vagy teljes deléciójához vezetnek. A mutációk lehetnek egyes nukleotidokat érintő mutációk (single nucleotide, SN), olvasási keret eltolódások (deléciók, inszerciók) stb. A 43-as alternatív exon transzlációja a fehérjébe a normális fehérjére nem jellemző sejtmagi lokalizációhoz vezet. A splicing hibák általában a neurofibromin-1 fehérje funkciójának elvesztéséhez vezetnek annak csonkolása, hibás összeszerelődése által

oldalhoz tartozott, a maradék 5% pedig intronikus szakaszokban fordult elő. Az *NF1* génben ennek köszönhetően 20 különböző „exonskipping” (exonkihagyás vagy -átugrás) jött létre. Ezeknek a módosult transzkriptumoknak és csonkolt fehérjetermékeknek a jellemzése jelenleg is folyamatban van, és szerepük megértése egyelőre részleges. A tanulmány szintén kitért az *NF1* gén 9-es exonjának mutációira is. E mutációk közül öt bizonyult nyilvánvalóan patogénnek (az expressziós termék funkcióképtelen vagy csökkent aktivitási mintázattal rendelkező volt): c.910 C>T (nonszensz mutáció), c.943 C>T (nonszensz mutáció), c.945\_946 dupla mutáció (inszerció és deléció aminosavsorrend-változást okozva), c.1007 G>A (nonszensz mutáció), valamint a c.1039 C>T (nonszensz mutáció). A többi mutáció érdemben nem befolyásolta az expressziós termék minőségét [21–23].

Weihong és munkatársai 2014-ben további 54 új mutációt írtak le, amelyek egyértelműen befolyással vannak az

*NF1* splicing folyamatára. Ezek 25,2%-a aberráns splicing következtében hibás génterméket állított elő, amelyek nem tudták ellátni fiziológiai funkciójukat, 40,6%-uk pedig egyéb exonikus variánsokat eredményezett, amelyek csak részben maradtak aktívak [24].

Szemben a legtöbb tumorszuppresszor génnel, mely a sejtmag és citoplazma között közlekedik, a neurofibromin proteint csaknem kizárólag a citoplazmában mutatták ki fiziológiai körülmények között. Vandenbroucke és munkatársai (2004) egy magasan expresszált splice-variánst azonosítottak a fehérje C-terminálisának közelében, melyet a 43-as exon hiánya jellemezett, és megtalálható volt különböző magzati és felnőtt szervezetben. Az *NF1* gén 28-49-es exonjának Cos-7 sejtvonalban történő expressziója és *in vitro* mutagenézise által a szerzők kimutatták, hogy a 43-as exon tartalmaz egy nukleáris lokalizációs szignált (NLS). A NLS génrégióknak a mutációi és deléciói, vagy ennek a régióknak a splicingját

szabályozó mutációk meghatározzák a neurofibromin szubcelluláris expresszióját és funkcióját patológiás körülmények között [25].

### AZ NF1 GÉN EGYÉB MUTÁCIÓI ÉS DELÉCIÓI

Az NF1 gént érintő csírvonal-mutációkat legjobban a neurofibromatózis betegségben jellemezték, azonban a gén teljes deléciója és egyéb mutációs elváltozása szomatikus sejtekben előfordul számos ráktípusban (pl. melanóma, tüdőrák, glioblasztóma stb.) [25].

A neurofibromatózisban a leggyakoribb mutációk a 17-es kromoszóma hosszú karjának az NF1 gén régióját érintő kisebb mikrodélációi. Ilyen NF1 génen belüli részleges deléciók például egy 11 kb méretű, egy 40 kb-nyi, valamint egy 190 kb-os tartomány deléciója. Ezenkívül jóval kisebb arányban (1% alatt), de megtalálható a teljes 17-es kromoszóma hosszú karjának deléciója is. Az utóbbi kiterjedt deléciót azonban inkább szomatikus megjelenéssel a kolorektális karcinómákban és azok májjáttéteiben találták [26].

Frameshift mutációk szintén szerepet játszanak az NF1 gén csendesítésében. Ilyen frameshift mutációkból több tucatot írtak le a 17q11-es kromoszómarégióban, ebből az NF1 gént tíz érinti, gyakorlatilag egyenletes térbeli és előfordulás-gyakorisági eloszlással. Ezeket a frameshift mutációkat néhány bázispáros deléciók okozzák leggyakrabban. A mutációk következménye, hogy az NF1 gén nem íródik át, vagy nem elégséges mennyiségben és minőségben („truncated” fehérje), ami a neurofibromin fehérje elégtelen funkcionális működését eredményezi. Ilyen mutációk szintén megfigyelhetők a glioblasztómák mezenhimális molekuláris alcsoportjában, amely a legrosszabb prognózisú glioblasztóma-alcsoport [24–30].

A jelen publikáció keretei az NF1 gén és a neurofibromin jellegzetességeinek, valamint a mutációival társuló betegségeknek csak rövid áttekintését engedi. Részletesebb áttekintés céljából utalunk Philpott és munkatársai hasonló témájú összefoglaló cikkére [3].

### AZ NF1 GÉN ABNORMALITÁSAIVAL TÁRSULT BETEGSÉGEK (1. táblázat)

#### Az NF1 örökletes (csírvonal-) mutációi és az I. típusú neurofibromatózis (NF1)

Az I. típusú neurofibromatózis prevalenciája 1:3000 és 1:4000 között alakul világszerte. Ennek hátterében az NF1 tumor-suppresszor gén örökletes (germline) inaktiváló mutációi állnak autoszomális domináns átadódással. Knudson kettős találat hipotézise szerint a patológiás elváltozások kialakulásához az NF1-mutációt hordozó heterozigóta betegekben az örökölt csírvonal-mutáció mellett szükséges egy második, a még vad típusú allélt érintő szomatikus mutáció kialakulása is [31].

A betegséget számos tünet jellemzi: hiperpigmentáció a bőrfelületen (café au lait makulák), szeplők a hónalj- és lágyéktájékon, íriszhamartómák (Lisch-csomók), valamint

a többnyire jóindulatú neurofibromák megjelenése a perifériás ideghüvelyeken. Ez utóbbi képződményekről kapta a betegség elnevezését is. A bőr alatti neurofibromák csaknem minden felnőtt, NF1-mutációt hordozó betegben jelentkeznek [32, 33].

A betegség egy formája a plexiform neurofibroma, amely a szokásos bőr alatti neurofibromáknál sokkal kiterjedtebb. Bár szövettanilag benignus tumor, azonban lokalizációjánál (pl. nyak) és a környező szövetek (pl. erek, idegek, trahea) beszűrésénél és nyomásánál fogva életveszélyes helyzetet teremthet. Az összes NF1-beteg körülbelül 30%-ánál manifesztálódik a plexiform forma, melyek megközelítőleg 15%-a malignusabb formákká is transzformálódhat [34].

Az NF1 betegség további klinikai tünetei a csontváz rendellenességeihez kapcsolódnak, mint például a sípcsont görbülése vagy pszeudoartrózis, az orbitális diszplázia, oszteoporózis, agyvízelvezető struktúrák (aqueductus) szűkülete, makrocefália, pectus excavatum, alacsony növés, kardiovaszkuláris rendellenességek, tanulási nehézségek, figyelem-, valamint koncentrációs zavarok [32, 35].

Az NF1 betegség súlyosabb manifesztációi közé tartozik az optikus glióma, mely különösen gyakori a korai pubertás korú betegeknél, de már egészen fiatalon, akár egy-két éves korban is jelentkezhet [1]. A kezdeti fázisban ez gyakran tünetmentes, ezért nagyon fontos, hogy a feltehetően NF1-mutációt örökölt gyermekeket rendszeres szemészeti vizsgálatokkal ellenőrizzék, korcsoportjuk későbbi morbiditásának csökkentése érdekében [36].

Az NF1-mutációk egy másik megjelenési formája a pilocitás asztrocitóma. Ez a tumor maga a WHO-besorolás szerinti I-es grádusba tartozik, a legtöbb betegnél elegendő műtéti reszekcióval eltávolítani. Azonban ez az elváltozás is képes a malignizációra, amely esetekben a transzformálódó tumorokat csak erőteljes és agresszív terápiával lehetséges kezelni.

Említést érdemel, hogy az örökölt NF1-mutációk mellett gyakran megjelennek egyéb szomatikus génmutációk (pl. az EGFR-t kódoló, DNS-hibákat javító, sejtciklust szabályozó és egyéb fontos génekben), melyek a sejtbiológia szabályozásában és a malignus transzformációban kulcsszerepet játszanak. A magasabb malignitású tumorok (pl. a pilocitás asztrocitómákból kialakuló magasabb grádusú gliómák) kezelése vagy a célzott terápiák kidolgozása ezért is jelent komoly kihívást [36].

#### Az NF1 gén szomatikus mutációival asszociált tumoros megbetegedések

##### Melanóma

A melanóma a bőr, nyálkahártyák, szem vagy egyéb szervek pigmentált sejtjeiből kiinduló rosszindulatú daganat. A bőr-melanóma tünetei kezdetben egy nagyobb anyajegyhez hasonló, aszimmetrikus, gyulladt környezetű, hiperpigmentált régióra korlátozódnak. Amennyiben a közeli nyirokcsomókra nem terjed rá, úgy kezelése sebészi eltávolítással megfelelően

**1. TÁBLÁZAT.** Az *NF1* gén leggyakoribb csíravonal- és szomatikus mutációi I. típusú neurofibromatózisban, és szomatikus mutációi rákos megbetegedésekben

Betegség	Prevalencia	Mutáció típusai	Referencia
I. típusú neurofibromatózis	1:3000–1:4000	<b>Örökletes mutációk:</b>	17, 26, 29, 30
		11 kb, 40 kb, 190 kb deléció; 1%-ban a teljes 17-es kromoszóma deléciója, indel, splice site, misszensz, nonszensz mutációk	
		<b>Szomatikus mutációk:</b>	
		37,34% misszensz szubsztitúció	
		24,02% nonszensz szubsztitúció	
		13,87% frameshift deléció	
Melanóma	0,3:100 000	10,53% szinonim szubsztitúció	23, 36
		14,24% egyéb	
		41,94% misszensz szubsztitúció	
		37,1% nonszensz szubsztitúció	
		17,74% szinonim szubsztitúció	
Nyálmirigy	4–0,05:100 000	3,22% egyéb	38, 39
		36,84% frameshift mutáció	
		26,32% nonszensz szubsztitúció	
		5,26% inszerció inframe mutáció	
Tüdőrák	0,2:10 000	31,58% egyéb	28, 41
		55,63% misszensz szubsztitúció	
		18,31% nonszensz szubsztitúció	
		12,68% szinonim szubsztitúció	
Glióma/glioblasztóma	3,19:100 000	13% egyéb frameshift mutációk	29, 30, 43–46
		42,74% nonszensz szubsztitúció	
		24,19% misszensz mutáció	
		20,16% frameshift deléció	
Emlőrák	125:100 000	12,9% egyéb	55–57
		35,94% misszensz szubsztitúció	
		17,19% nonszensz szubsztitúció	
		14,06% frameshift deléció	
Petefészekrák	12,8:100 000	30% egyéb	27, 59
		34,29% nonszensz szubsztitúció	
		25,71% misszensz szubsztitúció	
		14,29% frameshift deléció	
		25,71% egyéb	

A táblázat az *NF1*-mutációkkal leggyakrabban társuló tumorokat foglalja magába. Részletesebb áttekintésre utalunk Philpott és mtsai munkájára [3]

kezelhető. Előrehaladott állapotban a bőr mélyebb rétegeit és az alatta levő szöveteket infiltrálhatja, beszűrheti az elvezető nyirokcsomókat vagy távoli metasztatizisokat képezhet.

A Ras-Raf jelátviteli útvonal aktivációja a melanómákban is kulcsszerepet játszik. Négy molekuláris alcsoportja a *BRAF*-mutáns, az *NRAS*-mutáns, az *NF1*-mutáns és a tripla vad típusú. A közelmúltban elvégzett számos teljes genom-szekvenáláson alapuló tanulmány eredményei alapján tudjuk, hogy a neurofibromin a melanóma kialakulásának egyik jelentős résztvevője. Az összes melanóma kb. ötöde *NF1*-mutációkkal vezérelt kialakulású. Az *NF1*-mutációs alcsoportba tartozó melanómák jellemzően az erős UV-sugárzásnak és napfénynek kitett bőrfelületen és főleg idősebb betegekben jelentkeznek. A dezmozplasztikus melanóma egy ritkább klinikopatológiai altípus, gyakran *NF1*-génmutációkat hordoz. A neurofibromin által szabályozott útvonalak (pl. Raf, Mek) célzott terápiás megközelítése az *NF1*-mutációt hordozó melanómák esetében jó és széleskörű hatékonyságot sugall [32, 35]. Az összes melanóma megközelítőleg 16%-ában az *NF1* gén mutációi meghatározóak a molekuláris profil kialakításában. Ezek az *NF1*-mutációk az alábbiak: 41,94%-ban misszensz szubsztitúciók, 37,1%-ban nonszensz szubsztitúciós mutációk, 17,74%-ban szinonim szubsztitúciók. A fennmaradó 3,22%-ban inframe vagy frameshift inszerciók és deléciók [37].

#### Nyálmirigyrák

A nyálmirigyeket számos daganatos elváltozás érintheti. Ezek közül a malignus nyálmirigyrákok kialakulásában és progressziójában játszanak szerepet az *NF1* gén mutációi. Maga a rosszindulatú nyálmirigy-elváltozás viszonylag ritkának tekinthető, prevalenciája 0,05–4:100 000. A nyálmirigyrák tünetei a nehézkes teljes szájnnyitás, a daganat oldali arcizmok gyengesége, duzzanat vagy csomó az állkapcsos és szájszél közelében, vagy a nyak területén attól függően, hogy mely nyálmirigy érintett. A nyálmirigy állandó fájdalom is gyakori [38]. Terápiája hasonló a standard rákkezelésekhez: a műtéti reszekciót sugár- és kemoterápia követi [39]. Az összes nyálmirigyrák körülbelül 8%-ára jellemző, hogy valamilyen *NF1* gént érintő mutációt hordoz. Ezen belül a legnagyobb részt, 36,84%-ot a frameshift mutációk teszik ki. Továbbá 26,32%-ban nonszensz szubsztitúciók, 5,26%-ban inszerció inframe mutációk történnek, és a maradék 31,58%-ban egyéb mutációk jelentkeznek, pl. inframe deléciók, frameshift inszerciók [40].

#### Tüdőrák

A rákos elváltozások közül világszerte a tüdőrák áll az élen előfordulási gyakoriságban és vezető rákos halálokban egyaránt. Bár a klinikai gyakorlatban rutinszerűen jelenleg az *EGFR* (epidermal growth factor receptor) és a *KRAS* gén mutációit, valamint az *ALK-EML4* és *ROS1* gének átrendeződését tesztelik a célzott kezelésekre való érzékenység meghatározása érdekében, ezen áttekintés szempontjából

az *NF1* gén mutációival foglalkozó referenciák az érdekesek. Ez utóbbiak közül kiemelnénk Redig és munkatársai 2016-os munkáját. Tanulmányukba 591 beteget vontak be, újgenerációs szekvenálással genomikai átrendeződéseket kerestek. Az összes eset kb. 10%-ában *NF1*-mutációt mutattak ki. A *KRAS*-mutációk szintén nagy számot tettek ki, 25%-ot. A vizsgálatokat kiterjesztették további mutációs markerek vizsgálatára is, sőt ezek között összefüggéseket is kerestek. Így megállapították, hogy a 60 *NF1*-génmutáns tumor esetében 72 különböző neurofibromin splice-variáns változat jött létre, mely az adenokarcinómák harmadát és a laphámsejtes karcinómák 10%-át képviselte. Az *NF1* gén mutációi bár önállóan is előfordultak, azonban gyakran valamely másik gén mutációjával asszociálódtak, melyek leggyakrabban a *TP53*- és *KRAS*-mutációk voltak (az esetek kb. 33 és 46%-ában). Az aktiváló *KRAS*-mutációk tesztelése mellett ezek az eredmények indokoltá tehetik az *NF1*-mutációk tesztelését is [41].

Egy másik tanulmány az erlotinibre (egy receptor-tirozinkináz-gátlóra) rezisztenssé váló (*EGFR*-mutáns) tüdőrákokkal foglalkozott. De Bruin és munkatársai 2014-ben felfedezték, hogy a Ras-Erk jelátvitelt az erlotinib nem tudta kielégítően gátolni, ha a neurofibromin szintje csökkent. A neurofibromin-hiányos tüdőrákok ezért MEK-gátlóval való kezelésre is szorultak, mivel a MEK a neurofibromin hatástól „downstream” van (1. ábra). Ez képes volt helyreállítani az erlotinibérzékenységet. A tanulmány két tanulságot vont le. Egyrészt az erlotinibrezisztens tüdőrákokat érdemes erlotinib és MEK-gátló kombinált terápiával kezelni, másrészt pedig monitorozni kellene az *NF1* gén mutációs és expressziós mintázatát, hogy felismerhető legyen az erlotinibrezisztencia [24].

Az összes tüdőrák körülbelül 6%-a rendelkezik valamilyen, *NF1* gént érintő mutációval. Ezek a mutációk nagy százalékban, 55,63%-ban misszensz szubsztitúciós mutációk, míg 18,31%-ra a nonszensz szubsztitúciós mutáció jellemző, valamint 12,68%-ban szinonim szubsztitúciók. A fennmaradó kb. 13%-ra frameshift inszerciók és deléciók jellemzőek [42].

#### Gliómák

A glióma az agyszövetet vagy a gerincvelőt érintő tumortípus, mely az összes központi idegrendszeri daganatok körülbelül 30%-át, az összes rosszindulatú agydaganatnak pedig a 80%-át képviseli [43]. A gliómák osztályozásának 2016-os WHO-revíziója a szövettani felosztást molekuláris markerekkel egészítette ki [29, 30]. A glióma okozta gyakori panaszok közé tartozik a fejfájás, hányinger és hányás, mely a koponyaüri nyomásfokozódás következtében alakul ki. Szintén gyakori kezdeti tünet az epilepsziás roham, a kérgi izgalom következtében. A tumor okozta szöveti sérülések pedig fokális neurológiai tünetek formájában jelentkeznek. Az I. típusú neurofibromatózissal szemben a gliómák sporadikus megjelenésűek, és tipikusan nem kapcsolódnak csírvonal-mutációkhoz. Azonban a tumor kialakulása és evolúciója során szomatikus strukturális kromoszómaátrendeződések,

génkópia-változások és mutációk nagy számban halmozódhatnak fel. A driver mutációk (hasonlóan más szövetekből kiinduló daganatokhoz) gyakran onkogének, tumorszuppresszor gének, és a sejtciklus, osztódás, apoptózis, motilitás vagy adhézió szabályozásában részt vevő gének régióban halmozódnak fel. Az érintett tumorszuppresszor gének között fontos szerep jut az *NF1* gént érintő mutációknak [44–46].

A glioblasztóma (GBM) a WHO-besorolás szerinti IV-es grádusú glióma. 1926-ban Bailey és Cushing írták le változatos megjelenési formáit [44, 47]. Tünetei átfednek a gliómák általános, érintett agyterülettől függő tüneteivel. A daganat szövettani meghatározói közé tartozik a vaszkularitás, cellularitás, pleomorfizmus és nekrozisok jelenléte, mely jegyek azonban nagyfokú intratumorális és intertumorális heterogenitást mutatnak. A gliális elemek időnként neuroektodermális és mezenhimális elemekkel is keverednek [48]. Az átlagos túlélés alig haladja meg az egy évet. Az ötéves túlélés 5% alatt van [44]. A Cancer Genome Atlas Network (TCGA) 2008-ban publikált genomszintű elemzése és Verhaak munkacsoportjának 2010-ben publikált integrált transzkriptom- és genomszintű vizsgálatai óta négy molekuláris alcsoportját különítjük el klasszikus, mezenhimális, proneurális és neurális néven [29, 30]. A jelen áttekintés szempontjából a mezenhimális alcsoport kiemelendő, mivel erre az alcsoportra az *NF1* gént érintő deléciók és mutációk jellemzőek [29, 30]. Az összes glioblasztóma 6%-át érintik valamilyen formában az *NF1* gén mutációi. Ennek a 6%-nak az eloszlása az alábbiak szerint alakul: 42,74%-uk nonszensz, 24,19%-uk misszensz mutáció, 20,16%-ban pedig frameshift deléciók. A maradék 12,9%-ra frameshift inszerciók és inframe deléciók jellemzőek [49].

A glioblasztómák molekuláris áttekintése keretében megemlíjtük egy saját tanulmányunkat [50]. A Markusovszky Egyetemi Oktatókórház Patológiai Osztályán 2000 és 2016 között összegyűjtött formalinfixált, paraffinba ágyazott (FFPE) glioblasztómából metszeteket készítettünk, és immunhisztokémiai (IHC) tesztek végeztünk a TCGA-eredmények alapján kiválasztott molekuláris alcsoportokat meghatározó markerek segítségével. Tanulmányunkban a TCGA molekuláris alcsoportokkal átfedő alcsoportokat tudtunk azonosítani az FFPE klinikai anyagban. Itt kiemeljük a neurofibrominra specifikus antitesttel kapott eredményeket, melyet 96 glioblasztóma IHC-vizsgálatával nyertünk. Ebből 20 tumor negatívnak (citoplazma és nukleusz is negatív) és 12 tumor normál típusnak (nukleusz negatív, citoplazma pozitív) bizonyult. Emellett 44 tumor esetében kettős pozitív (citoplazma és nukleusz is pozitív), valamint 12 tumornál csak nukleuszpozitív eredményt kaptunk. Az IHC neurofibromin festődési mintázatok alapján feltételeztük, hogy a vizsgált tumorokban olyan *NF1*-deléciók és -mutációk lehetnek jelen, melyek a fehérjetermék mennyiségi expresszióját, intracelluláris lokalizációját és IHC szempontból releváns epitóp expresszióját megváltoztatják. Az *NF1*-genotípus és -fenotípus leggyakoribb összefüggéseire rávilágítanak a TCGA eddigi tanulmányai [29, 30, 51].

### Emlőrák

A nők leggyakoribb rosszindulatú daganatos elváltozása az emlőrák, melynek prevalenciája 125:100 000. A betegség kezdetekor komolyabb tünetek nem mutatkoznak, leggyakrabban fájdalmat nem okozó csomók jelennek meg az emlő szövetében, de bőrpír és ödéma is jelentkezhet. Amennyiben kezdeti fázisban sikerül diagnosztizálni a tumort, úgy a későbbi szövődmények kialakulása jelentős mértékben csökkenthető. Azonban amikor a nyirokcsomók is érintetté válnak, vagy a daganat távoli áttéteket képez, jelentősen romlik a prognózis, így világszerte a vezető rákos halálokok közé tartozik. Kezelése a standard kiterjedt sebészi reszekció, majd a sugár- és kemoterápia [52]. Az emlőráknak többféle mutációs profilja létezik. A teljesség kedvéért röviden megemlíjtük, hogy az emlőrák (és a petefészekrák) ritkább, örökletes mutációi közé tartoznak a „Breast Cancer-1” (*BRCA-1*) és a „Breast Cancer-2” (*BRCA-2*) mutációk, melyek autoszomális domináns módon öröklődnek, kórfüggő penetranciát mutatnak és apai vagy anyai eredetűek is lehetnek [53]. Mindkét gén terméke tumorszuppresszor funkciót tölt be. Az emlőrák azonban tipikusan sporadikus vagy komplex genetikai jellemző meghatározottságot mutat, és szomatikus mutációk felhalmozódása jellemző a tumorban. A rutindiagnosztika a legnyilvánvalóbb mutációk tesztelését foglalja magába. Ehhez az örökletes mutációkra, a *BRCA* génekre elérhető tesztek végeznek. A szomatikus mutációk széles körét pedig az alábbiak szerint tipizálják. Immunhisztokémiával ösztrogén- és progeszteronreceptor-, valamint HER-2-tesztet végeznek, az utóbbit a *HER-2* gén amplifikációját hordozó daganatok felismerésére. Az immunhisztokémiát gyakran fluoreszcens *in situ* hibridizációval is kiegészítik. Ilyen tesztek pl. a HER-2/CEP17 teszt, vagy az EML-4/ALK fúzió tesztelése [54]. Amennyiben az eredmény a „tripla-negatív” (ösztrogén-, progeszteronreceptor és HER-2 is negatív), az EGFR tesztelésére is sor kerülhet [55]. Az elmúlt évtizedben felfigyeltek arra az összefüggésre, hogy azoknál a személyeknél, akik I. típusú neurofibromatózis betegségben szenvednek, megnövekszik az emlőrák kialakulásának kockázata is. Azonban a sporadikus emlőrákok molekuláris biológiai profiljában is kiemelt szerepet kap az *NF1* gén mutációja [52–57]. Az összes emlőrák körülbelül 3%-ában fordul elő valamilyen *NF1*-mutáció. Ezen a három százalékon belül 35,94%-ot adnak a misszensz szubsztitúciós mutációk, 17,19%-ot tesznek ki a nonszensz mutációk, valamint 14,06%-ban megjelennek a frameshift deléciók. A fennmaradó kb. 30%-ot frameshift inszerciók és szinonim szubsztitúciók adják [56].

### Petefészekrák

A petefészekrák a kezdeti fázisban (hasonlóan az emlőrákhoz) nem okoz különösebb tüneteket. Éppen emiatt az esetek túlnyomó többségében már csak az előrehaladott állapotában diagnosztizálják, amikor a tumor már áttéteket képez a hasüregben. Általános tünetei a hasi teltségérzet, étkezéskor nagyon korai jóllakottságérzet kialakulása, medencetájéki fájdalmak, vizeletürítési zavarok, valamint a hasúri szóródást



kísérő folyadékgyülem, amely megnövekedett nyomáshoz vezet. Előrehaladott állapotban erősebb fájdalmak is jelentkeznek, rendszerint egyre erősebb intenzitással [59]. A petefészekrák prevalenciája 12,8:100 000 [60]. A petefészekrákban is előfordul örökletes mutáció, de a tumorban itt is szomatikus mutációk halmozódnak fel. Örökletes mutációi közül kiemelendők az emlőrák kapcsán már említett *BRCA* gének. Ezek a mutációk nem örökletes petefészekrákban csak ritkán figyelhetők meg [53]. A meghatározó gének közül más tumorszuppresszor gének mutációi is fontos szerepet játszanak, így az *NF1* gén is. A petefészekrákra jellemző mutációkkal az *NF1* gén elváltozásai rendszerint asszociáltan jelennek meg, ritka, hogy az *NF1* gén önmagában mutálódjon és az petefészekrák kialakulásához vezessen. Ugyanakkor viszont a meglévő *NF1* gén szomatikus mutációi már jelentős hatást gyakorolhatnak a progresszióra [28]. Az összes petefészekrák 3%-át érinti az *NF1* gén mutációja. Ezen belül 34,29%-ban nonszensz szubsztitúciós mutációkat, 25,71%-ban misszensz mutációkat, 14,29%-ban pedig frameshift deléciókat találunk. A maradék 25,71%-ban frameshift inszerciákat és inframe mutációkat írtak le [61].

## IRODALOM

- Kocova M, Kochova E, Sukarova-Angelovska E. Optic glioma and precocious puberty in a girl with neurofibromatosis type 1 carrying an R681X mutation of NF1: case report and review of the literature. *BMC Endocr Disord* 15:82, 2015
- Patil S, Chamberlain RS. Neoplasms associated with germline and somatic NF1 gene mutations. *Oncologist* 17:101–116, 2012
- Philpott C, Tovell H, Frayling IM, et al. The NF1 somatic mutational landscape in sporadic human cancers. *Hum Genom* 11:13, 2017
- Barker D, Wright E, Nguyen K, et al. Gene for von Recklinghausen neurofibromatosis is in the pericentromeric region of chromosome 17. *Science* 236:1100–1103, 1987
- Ledbetter DH, Rich DC, O'Connell P, et al. Precise localization of NF1 to 17q11. 2 by balanced translocation. *Am J Hum Genet* 44:20–24, 1989
- DeClue JE, Cohen BD, Lowy DR. Identification and characterization of the neurofibromatosis type 1 protein product. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:9914–9918, 1991
- Marchuk DA, Saulino AM, Tavakkol R, et al. cDNA cloning of the type 1 neurofibromatosis gene: complete sequence of the NF1 gene product. *Genomics* 11:931–940, 1991
- Daston MM, Scrabble H, Nordlund M, et al. The protein product of the neurofibromatosis type 1 gene is expressed at highest abundance in neurons, Schwann cells, and oligodendrocytes. *Neuron* 8:415–428, 1992
- Fagerberg L, Hallström BM, Oksvold P, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics* 13:397–406, 2014
- Gutmann DH, Donahoe J, Brown T, et al. Loss of neurofibromatosis 1 (NF1) gene expression in NF1-associated pilocytic astrocytomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 26:361–367, 2000
- Trovó-Marqui AB, Tajara EH. Neurofibromin: a general outlook. *Clin Genet* 70:1–13, 2006
- Danglot G, Régnyer V, Fauvet D, et al. Neurofibromatosis 1 (NF1) mRNAs expressed in the central nervous system are differentially spliced in the 5' part of the gene. *Hum Mol Genet* 4:915–920, 1995
- Gutmann DH, Andersen LL, Cole J, et al. An alternatively-spliced mRNA in the carboxy terminus of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene is expressed in muscle. *Hum Mol Genet* 2:989–992, 1993
- Gutmann DH, Zhang Y, Hirbe A. Developmental regulation of a neuron-specific neurofibromatosis 1 isoform. *Ann Neurol* 46:777–782, 1999

## KÖVETKEZTETÉSEK

Az *NF1* tumorszuppresszor gén fehérjeterméke, a neurofibromin a normális sejtbiológia szempontjából meghatározó jelentőségű, így funkcionális károsodást okozó elváltozásai gyakran és súlyos patogén jelentőséggel bírnak. Mutációi különösen jelentős zavarokat eredményeznek a sejtek növekedési faktorok által vezérelt jelátviteli útvonalaiiban (onkogén hatás) vagy a szinapszisok kialakulásában, és ezzel a tanulási készségek fejlődésében (kognitív hatás). Itt az *NF1* génnek a daganatok kialakulásában betöltött szerepét vizsgáltuk. Röviden áttekintettük leggyakoribb örökletes és szomatikus mutációit az azokhoz kapcsolódó leggyakoribb fenotípusokkal. Kiemeltük az inaktíváló *NF1*-mutációk gliómákban és azok altípusaiban betöltött szerepét, és megemlítettük az ezzel kapcsolatos exploratív kutatásainkat. Utaltunk arra, hogy bár a jelen célzott terápiák még nem irányulnak e fontos tumorszuppresszor gén pótlására, maga a neurofibromin protein vagy az általa befolyásolt jelátviteli útvonalak gyógyszeres célbavétele szerepet játszhat a tumorok jövőbeli gyógyításában.

- Kaufmann D, Müller R, Kenner O, et al. The N-terminal splice product NF1-10a-2 of the NF1 gene codes for a transmembrane segment. *Biochem Biophys Res Commun* 294: 496–503, 2002
- Skuse GR, Cappione AJ. RNA processing and clinical variability in neurofibromatosis type I (NF1). *Hum Mol Genet* 6:1707–1712, 1997
- Andersen LB, Ballester R, Marchuk DA, et al. A conserved alternative splice in the von Recklinghausen neurofibromatosis (NF1) gene produces two neurofibromin isoforms, both of which have GTPase-activating protein activity. *Mol Cell Biol* 13:487–495, 1993
- Costa RM, Yang T, Huynh DP, et al. Learning deficits, but normal development and tumor predisposition, in mice lacking exon 23a of NF1. *Nat Genet* 27:399–405, 2001
- <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/analysis?ln=NF1>.
- Wimmer K, Roca X, Beiglböck H, et al. Extensive in silico analysis of NF1 splicing defects uncovers determinants for splicing outcome upon 5' splice-site disruption. *Hum Mutat* 28:599–612, 2007
- Pros E, Gómez C, Martín T, et al. Nature and mRNA effect of 282 different NF1 point mutations: focus on splicing alterations. *Hum Mutat* 29:E173–193, 2008
- Hernández-Imaz E, Martín Y, de Conti L, et al. Functional analysis of mutations in exon 9 of NF1 reveals the presence of several elements regulating splicing. *PLoS One* 10:e0141735, 2015
- Wimmer K, Eckart M, Stadler PF, et al. Three different premature stop codons lead to skipping of exon 7 in neurofibromatosis type I patients. *Hum Mutat* 16:90–91, 2000
- Weihong X, Yang X, Hu X, et al. Fifty-four novel mutations in the NF1 gene and integrated analyses of the mutations that modulate splicing. *Int J Mol Med* 34:53–60, 2014
- Vandenbroucke I, Van Oostveldt P, Coene E, et al. Neurofibromin is actively transported to the nucleus. *FEBS Lett* 560:98–102, 2004
- de Bruin EC, Cowell C, Warne PH, et al. Reduced NF1 expression confers resistance to EGFR inhibition in lung cancer. *Cancer Discov* 4:606–619, 2014
- Kanchi KL, Johnson KJ, Lu C, et al. Integrated analysis of germline and somatic variants in ovarian cancer. *Nat Commun* 5:3156, 2014
- Way GP, Allaway RJ, Bouley SJ, et al. A machine learning classifier trained on cancer transcriptomes detects NF1 inactivation signal in glioblastoma. *BMC Genomics* 18:127, 2017
- The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 455:1061–1068, 2008

30. Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 17:98–110, 2010
31. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 68:820–823, 1971
32. Spurlock G, Griffiths S, Uff J, et al. Somatic alterations of the NF1 gene in an NF1 individual with multiple benign tumours (internal and external) and malignant tumour types. *Fam Cancer* 6:463–471, 2007
33. Maertens O, Brems H, Vandesompele J, et al. Comprehensive NF1 screening on cultured Schwann cells from neurofibromas. *Hum Mutat* 27:1030–1040, 2006
34. Bardi E, Masat P, Kisely M, et al. Life threatening plexiform neurofibroma of a young child. *Case Rep Clin Path* 2:34, 2014
35. Serra E, Puig S, Otero D, et al. Confirmation of a double-hit model for the NF1 gene in benign neurofibromas. *Am J Hum Genet* 61:512–519, 1997
36. Parkhurst E, Abboy S. Optic gliomas in neurofibromatosis type 1. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 53:334–338, 2016
37. [http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=skin&ss=all&hn=malignant\\_melanoma](http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=skin&ss=all&hn=malignant_melanoma)
38. Adams A, Warner K, Nör JE. Salivary gland cancer stem cells. *Oral Oncol* 49:845–853, 2013
39. Carlson J, Licitra L, Locati L, et al. Salivary gland cancer: an update on present and emerging therapies. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2013:257–263, 2013
40. [http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=salivary\\_gland&ss=all&hn=carcinoma](http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=salivary_gland&ss=all&hn=carcinoma)
41. Redig AJ, Capelletti M, Dahlberg SE, et al. Clinical and molecular characteristics of NF1-mutant lung cancer. *Clin Cancer Res* 22:3148–3156, 2016
42. <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=lung&ss=all&hn=carcinoma>
43. Goodenberger ML, Jenkins RB. Genetics of adult glioma. *Cancer Genet* 205:613–621, 2012
44. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 114:97–109, 2007
45. Milllichap J. MRI screening for optic gliomas in neurofibromatosis type 1. *Pediatr Neurol Briefs* 29:72, 2015
46. de Blank PMK, Berman JI, Liu GT, et al. Fractional anisotropy of the optic radiations is associated with visual acuity loss in optic pathway gliomas of neurofibromatosis type 1. *Neuro Oncol* 15:1088–1095, 2013
47. Bailey P, Cushing H. Tumors of the glioma group. Philadelphia: IB Lippincott Co., 1926
48. Kalman B, Szep E, Garzuly F, Post DE. Epidermal growth factor receptor as a therapeutic target in glioblastoma. *Neuromolecular Med* 15:420–434, 2013
49. [http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=central\\_nervous\\_system&ss=all&hn=glioma](http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=central_nervous_system&ss=all&hn=glioma)
50. Nagy Á, Garzuly F, Padányi G, et al. Molecular subgroups of glioblastoma determined in the clinical setting. *Pathol Oncol Res*, DOI 10.1007/s12253-017-0311-6, 2017
51. Goldmann J, Kwizdzinski E, Brandt C, et al. T cells traffic from brain to cervical lymph nodes via the cribroid plate and the nasal mucosa. *J Leukoc Biol* 80:797–801, 2006
52. Ryerson AB, Miller J, Ehemann CR. Reported breast symptoms in the National Breast and Cervical Cancer Early Detection Program. *Cancer Causes Control* 26:733–740, 2015
53. Van Der Looij M, Szabó C, Besznyák I, et al. Prevalence of founder BRCA1 and BRCA2 mutations among breast and ovarian cancer patients in Hungary. *Int J Cancer* 86:737–740, 2000
54. Secq V, Villeret J, Fina F, et al. Triple negative breast carcinoma EGFR amplification is not associated with EGFR, Kras or ALK mutations. *Br J Cancer* 110:1045–1052, 2014
55. Seminog OO, Goldacre MJ. Age-specific risk of breast cancer in women with neurofibromatosis type 1. *Br J Cancer* 112:1546–1548, 2015
56. <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=breast&ss=all&hn=carcinoma>
57. Madanikia SA, Bergner A, Ye X, et al. Increased risk of breast cancer in women with NF1. *Am J Med Genet A* 158:3056–3060, 2012
58. Lakshmaiah KC, Kumar AN, Purohit S, et al. Neurofibromatosis type I with breast cancer: not only for women! *Hered Cancer Clin Pract* 12:5, 2014
59. Donovan KA, Donovan HS, Cella D, et al. Recommended patient-reported core set of symptoms and quality-of-life domains to measure in ovarian cancer treatment trials. *J Natl Cancer Inst* 106:pil: dju128, 2014
60. Menon U, Gentry-Maharaj A, Hallett R, et al. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *Lancet Oncol* 10:327–340, 2009
61. <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#in=t&sn=ovary&ss=all&hn=carcinoma>