

Nalini Kolar Srinivas

Dr.Sc.hum

Telomere length in basal cell carcinoma and melanoma

Deutsches Krebsforschungszentrum

Doktorvater: Prof. Dr. Rajiv Kumar

The work described in the present study was carried out in two parts. In the first part, the effect of telomere length on the risk of skin BCC and melanoma was determined. In the BCC study based on arsenic-exposed cases and controls, in contrast to earlier reports, decreased telomere length was associated with increased BCC risk. Due to the confounder effect of arsenic exposure, in a two-sample MR, telomere length associated SNPs as instrumental variables violated valid assumptions; however, a one-sample MR, adjusted for arsenic exposure, showed increased risk of BCC with short telomeres. The results show that in the presence of arsenic exposure, decreased telomere length predisposes individuals to increased risk of BCC, with the effect being synergistic in individuals with highest arsenic exposure and shortest telomeres. In the melanoma case-control study, increased telomere length was associated with increased risk of melanoma. MR analysis ruled out that the observation was due to confounders or reverse causality. Long telomeres are postulated to increase the proliferation potential by delaying senescence. In contrast to the association between long telomeres and increased melanoma risk, short telomeres predicted poor melanoma-specific survival in primary melanoma patients. The extension of this study to primary tumors from melanoma patients showed that, while telomeres in tumors were shorter than in corresponding blood tissues, tumors with *TERT* promoter mutations displayed shorter telomeres than those without mutations. In addition, methylation analysis of a specific region (-561 to -774bp from ATG) in the *TERT* promoter showed high frequency of methylation in BCC tumors. This region lies within THOR that is generally hypermethylated in various cancers. A higher frequency of methylation was also observed in tumors without *TERT* promoter mutations than in tumors with mutation.

In the second part, newly identified non-coding mutations in melanoma cell lines were screened. Mutations in five genes, *RPL13A*, *RPS20*, *RNF185*, *GMCL1* and *PES1* showed high frequency of recurrence among other genes. The mutations were either within or adjacent to the consensus binding motif 5'GGAA for ETS family of transcription factors. Based on reporter assays, the effect of these mutations on promoter activity was determined. The results suggest that the disruption or creation of ETS binding motifs due to recurrent mutations may be a common mechanism with functional consequences in melanoma.

Nalini Kolar Srinivas

Dr.Sc.hum

Telomere length in basal cell carcinoma and melanoma

Deutsches Krebsforschungszentrum

Doktorvater: Prof. Dr. Rajiv Kumar

Die in der vorliegenden Studie beschriebene Arbeit wurde in zwei Teilen durchgeführt. Im ersten Teil wurde der Einfluss der Telomerlänge auf das Risiko von Haut-BCC und Melanomen bestimmt. In der BCC-Studie, die auf Arsen-exponierten Fällen und Kontrollen basierte, war im Gegensatz zu früheren Berichten eine verringerte Telomerlänge mit einem erhöhten BCC-Risiko verbunden. Aufgrund des Störfaktoreffekts der Arsenexposition verletzten in einem MR mit zwei Stichproben die mit der Telomerlänge assoziierten SNPs als instrumentelle Variablen gültige Annahmen; Ein MR mit einer Probe, angepasst an die Arsenexposition, zeigte jedoch ein erhöhtes Risiko für BCC bei kurzen Telomeren. Die Ergebnisse zeigen, dass bei Vorhandensein von Arsen eine verringerte Telomerlänge das Risiko für ein erhöhtes BCC erhöht, wobei der Effekt bei Personen mit der höchsten Arsenexposition und den kürzesten Telomeren synergistisch ist. In der Fall-Kontroll-Studie zum Melanom war eine erhöhte Telomerlänge mit einem erhöhten Melanomrisiko verbunden. Die MR-Analyse schloss aus, dass die Beobachtung auf Störfaktoren oder umgekehrte Kausalität zurückzuführen war. Es wird postuliert, dass lange Telomere das Proliferationspotential erhöhen, indem sie das Altern verzögern. Im Gegensatz zu dem Zusammenhang zwischen langen Telomeren und einem erhöhten Melanomrisiko sagten kurze Telomere ein schlechtes melanomspezifisches Überleben bei primären Melanompatienten voraus. Die Ausweitung dieser Studie auf Primärtumoren von Melanompatienten zeigte, dass Tumore mit *TERT*-Promotormutationen kürzere Telomere aufwiesen als solche ohne Mutationen, obwohl die Telomere in Tumoren kürzer waren als in entsprechenden Blutgeweben. Zusätzlich zeigte eine Methylierungsanalyse einer spezifischen Region (-561 bis -774 bp von ATG) im *TERT*-Promotor eine hohe Methylierungshäufigkeit in BCC-Tumoren. Diese Region liegt innerhalb von THOR, das bei verschiedenen Krebsarten im Allgemeinen hypermethyliert ist. Eine höhere Methylierungshäufigkeit wurde auch bei Tumoren ohne *TERT*-Promotormutationen beobachtet als bei Tumoren mit Mutation.

Im zweiten Teil wurden neu identifizierte nicht kodierende Mutationen in Melanomzelllinien gescreent. Mutationen in fünf Genen, *RPL13A*, *RPS20*, *RNF185*, *GMCL1* und *PES1*, zeigten eine hohe Häufigkeit von Rezidiven unter anderen Genen. Die Mutationen befanden sich entweder innerhalb oder neben dem Consensus-Bindungsmotiv 5'GGAA für die ETS-Familie von Transkriptionsfaktoren. Basierend auf Reportertests wurde der Effekt dieser Mutationen auf die Promotoraktivität bestimmt. Die Ergebnisse legen nahe, dass die Störung oder Erzeugung von ETS-Bindungsmotiven aufgrund von wiederkehrenden Mutationen ein häufiger Mechanismus mit funktionellen Konsequenzen beim Melanom sein kann.