Метилирование ДНК промотора гена дигидропиримидиназы DPYS в опухолях молочной железы с различным ответом на неоадъювантную химиотерапию

Стрельников В.В.¹, Сигин В.О.¹, Калинин А.И.¹, Литвяков Н.В.², Снеговой А.В.³, Кононенко И.Б.³, Цыганов М.М.², Ибрагимова М.К.², Залетаев Д.В.¹, Танас А.С.¹

1 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1

2 — НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5;

3 — ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ
115522, г. Москва, Каширское ш., д. 24

По результатам широкогеномного исследования нами обнаружено аномальное метилирование промотора гена дигидропиримидиназы *DPYS* в образцах рака молочной железы (РМЖ). Поскольку дигидропиримидиназа вовлечена в катаболизм антагонистов пиримидинов, представляет интерес роль метилирования *DPYS* в определении чувствительности опухолей к препаратам этой группы. Детальный анализ состояния метилирования *DPYS* в 29 образцах биопсий РМЖ люминального В подтипа, полученных до неоадъювантной химиотерапии (НАХТ) с использованием антагонистов пиримидинов, показал, что опухоли с метилированным промотором *DPYS* более чувствительны к НАХТ, чем с неметилированным промотором (площадь под ROC-кривой AUC=0,87). Результаты указывают на целесообразность включения антагонистов пиримидинов в схемы НАХТ РМЖ люминального В подтипа тем пациенткам, в биопсийном материале опухолей которых, взятых до лечения, определяется гиперметилированное состояние промотора гена *DPYS*.

Ключевые слова: рак молочной железы, неоадъювантная химиотерапия, широкогеномный анализ метилирования ДНК, 5-фторурацил, капецитабин.

Для цитирования: Стрельников В.В., Сигин В.О., Калинин А.И., Литвяков Н.В., Снеговой А.В., Кононенко И.Б., Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Залетаев Д.В., Танас А.С. Метилирование ДНК промотора гена дигидропиримидиназы *DPYS* в опухолях молочной железы с различным ответом на неоадъювантную химиотерапию. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 16-17.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.16-17

Автор для корреспонденции: Стрельников Владимир Викторович; e-mail: vstrel@list.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на выполнение НИР в 2020 году.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

DNA methylation of the dihydropyrimidinase DPYS gene promoter in breast tumors with different response to neoadjuvant chemotherapy

Strelnikov V.V.¹, Sigin V.O.¹, Kalinkin A.I.¹, Litviakov N.V.², Snegovoi A.V.³, Kononenko I.B.³, Tsyganov M.M.², Ibragimova M.K.², Zaltaev D.V.¹, Tanas A.S.¹

1 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st.1, Moscow, 115522, Russia

2 — Tomsk Cancer Research Institute
Kooperativniy Lane, 5, Tomsk, 634009, Russia

3 — N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
Kashirskoe Sh., 24, Moscow, 115522, Russia

Within a genome-wide study, we have identified abnormal methylation of the dihydropyrimidinase *DPYS* gene promoter in breast cancer (BC). Since dihydropyrimidinase is involved in the catabolism of pyrimidine antagonists, the role of *DPYS* methylation in determining the sensitivity of tumors to such drugs is of interest. Detailed analysis of *DPYS* methylation in 29 biopsy samples of the LumB BC subtype obtained before neoadjuvant chemotherapy (NACT) with pyrimidine antagonists discovered that tumors with methylated *DPYS* promoter are more sensitive to NACT than tumors with unmethylated *DPYS* (AUC=0.87). Our results indicate the advisability of including pyrimidine antagonists in the LumB BC NACT regimens for patients whose tumor biopsy samples taken before treatment demonstrate hypermethylation of the *DPYS* promoter.

Keywords: breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, genome-wide DNA methylation analysis, 5-fluorouracil, capecitabine.

For citation: Strelnikov V.V., Sigin V.O., Kalinkin A.I., Litviakov N.V., Snegovoi A.V., Kononenko I.B., Tsyganov M.M., Ibragimova M.K., Zaletaev D.V., Tanas A.S. DNA methylation of the dihydropyrimidinase *DPYS* gene promoter in breast tumors with different response to neoadjuvant chemotherapy. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 16-17 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.16-17

Corresponding author: Vladimir V. Strelnikov; e-mail: vstrel@list.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

В принятых в настоящее время схемах неоадъювантной химиотерапии (НАХТ) рака молочной железы (РМЖ) антагонисты пиримидинов (АП), как правило, не используются. Мы проанализировали биоптаты РМЖ, полученные до начала НАХТ, от пациенток, проходивших лечение в 2006–2010 гг. с использованием схем, включавших АП (5-фторурацил или капецитабин), антрациклины и циклофосфамид (схемы FАC или САХ), чтобы выяснить возможную роль эпигенетического нарушения пути катаболизма этих лекарств в опухолях в определении их чувствительности к НАХТ.

Цель — охарактеризовать зависимость ответа РМЖ на НАХТ с использованием АП от соматического статуса метилирования ДНК промотора гена *DPYS* до лечения.

Материалы и методы

на материале ДНК из 29 образцов биоптатов РМЖ люминального В (LumB) подтипа, полученных до НАХТ с включением АП, проводили широкогеномное бисульфитное секвенирование XmaI-RRBS по методике, разработанной авторами ранее [1]. По результатам секвенирования оценивали уровни метилирования CpG-динуклеотидов промоторного CpG-островка гена *DPYS* в координатах chr8:105479037–chr8:105479327 (GRCh37/hg19). Статистическую значимость различий средних уровней метилирования CpG-динуклеотидов в группах образцов опухолей, чувствительных (полная или частичная регрессия опухоли) и нечувствительных (стабилизация или прогрессирование) к НАХТ, оценивали U-тестом Манна-Уитни. Диагностическую ценность маркеров оценивали методом ROC-анализа с применением кросс-валидации.

Результаты

Методом XmaI-RRBS проведен количественный анализ метилирования 36 CpG-динуклеотидов промоторного CpG-островка гена *DPYS* в 16 образцах LumB РМЖ с хорошим ответом и в 13 образцах с пло-

хим ответом на НАХТ. Выявлена положительная ассоциация гиперметилирования промотора *DPYS* с хорошим ответом на НАХТ ($AUC=0,73$). Анализ различий уровней метилирования в группах сравнения выявил участок промотора *DPYS*, в котором уровни метилирования CpG-динуклеотидов обладают наибольшим дискриминативным потенциалом. Использование в качестве маркера среднего уровня метилирования на протяжении только этого участка промотора (6 CpG-динуклеотидов, координаты chr8:105479248–chr8:105479302) повышает диагностическую ценность ($AUC=0,79$), а при использовании классификатора на основе логистической регрессии для тех же 6 динуклеотидов достигается $AUC=0,87$.

Ассоциированное с метилированием промотора *DPYS* снижение экспрессии дигидропиримидиназы должно приводить к снижению катаболизма 5-фторурацила и повышению его концентрации в опухолевой клетке, обеспечивая более выраженный токсический эффект для клеток опухоли по сравнению с нормальными клетками организма. Ранее гиперметилирование промотора *DPYS* было показано в различных типах злокачественных новообразований [2]. Однако, до сих пор аномальное метилирование *DPYS* было принято трактовать только как маркер общей разбалансировки процессов метилирования ДНК в опухолях [3].

Полученные результаты указывают на целесообразность включения АП в схемы НАХТ РМЖ LumB подтипа тем пациенткам, в образцах биопсийного материала опухолей которых до лечения определяется гиперметилированное состояние промотора гена *DPYS*.

Литература/ References

1. Tanas A.S., Borisova M.E., Kuznetsova E.B. et al. Rapid and affordable genome-wide bisulfite DNA sequencing by XmaI-reduced representation bisulfite sequencing. *Epigenomics*. 2017; 9(6): 833–847.
2. Chung W., Kwabi-Addo B., Ittmann M., et al. Identification of novel tumor markers in prostate, colon and breast cancer by unbiased methylation profiling. *PloS one*. 2008; 3(5).
3. Jelinek J., Gharibyan V., Estecio M.R., et al. Aberrant DNA methylation is associated with disease progression, resistance to imatinib and shortened survival in chronic myelogenous leukemia. *PloS one*. 2011; 6(7).