Идентификация маркеров дифференциального метилирования ДНК в опухолях молочной железы, различающихся ответом на неоадъювантную химиотерапию

Сигин В.О.¹, Игнатова Е.О.², Литвяков Н.В.^{3,4}, Калинин А.И.¹, Стрельников В.В.¹, Танас А.С.¹

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

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

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

4 — Национальный исследовательский Томский государственный университет
634050, г. Томск, пр. Ленина, д. 36

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции среди новообразований у женщин по показателям заболеваемости и смертности. Несмотря на то, что неоадъювантная химиотерапия (НАХТ) позволяет добиться высоких результатов лечения, остается значительная часть пациенток с резидуальной опухолью и значимо худшим прогнозом. Мы провели широкогеномный анализ метилирования ДНК и выявили 33 гена, метилирование промоторных областей которых различается в опухолях молочной железы с различным ответом на НАХТ. Полученные результаты создают основу формирования систем маркеров метилирования ДНК для диагностики потенциальной чувствительности опухолей молочной железы к НАХТ.

Ключевые слова: рак молочной железы, неоадъювантная химиотерапия, широкогеномный анализ метилирования ДНК, XmaI-RRBS.

Для цитирования: Сигин В.О., Игнатова Е.О., Литвяков Н.В., Калинин А.И., Стрельников В.В., Танас А.С. Идентификация маркеров дифференциального метилирования ДНК в опухолях молочной железы, различающихся ответом на неоадъювантную химиотерапию. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 20-21.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.20-21

Автор для корреспонденции: Сигин Владимир Олегович; **e-mail:** sigin.vladimir@gmail.com

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 18-15-00430).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Identification of DNA differential methylation markers in breast tumors with different response to neoadjuvant chemotherapy

Sigin V.O.¹, Ignatova E.O.², Litviakov N.V.^{3,4}, Kalinkin A.I.¹, Strelnikov V.V.¹, Tanas A.S.¹

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

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

3 — Tomsk Cancer Research Institute,
Kooperativniy pereulok, 5, Tomsk, 634009, Russia

4 — National Research Tomsk State University
Lenin Ave, 36, Tomsk, 634050, Russia

Breast cancer (BC) occupies a leading position among neoplasms in women in terms of morbidity and mortality. Despite the advantages of neoadjuvant chemotherapy (NACT) which allows achieving high treatment results, a significant part of patients with residual tumor and significantly worse prognosis remains. We have carried out a genome-wide DNA methylation analysis and identified 33 genes methylation of which distinguishes breast tumors with different responses to NACT. Our findings provide the basis for development of test systems for diagnostics of potential sensitivity of breast tumors to NACT via DNA methylation analysis.

Keywords: breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, genome-wide analysis of DNA methylation, XmaI-RRBS.

For citation: Sigin V.O., Ignatova E.O., Litviakov N.V., Kalinkin A.I., Strelnikov V.V., Tanas A.S. Identification of DNA differential methylation markers in breast tumors with different response to neoadjuvant chemotherapy. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 20-21 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.20-21

Corresponding author: Sigin Vladimir Olegovich; **e-mail:** sigin.vladimir@gmail.com

Funding. The work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 18-15-00430).

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

Accepted: 20.05.2020

В настоящее время рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции среди новообразований у женщин по показателям заболеваемости и смертности [1]. Одним из подходов к повышению эффективности лечения у больных является проведение неoadъювантной химиотерапии (НАХТ). Несмотря на то, что НАХТ позволяет добиться довольно высоких результатов лечения, остается значительная часть пациенток с резидуальной опухолью и значимо худшим прогнозом [2]. Возможность прогнозировать эффект НАХТ еще до начала терапии позволит индивидуально подойти к выбору стратегии и тактики лечения.

Цель — выявление методом широкогеномного анализа метилирования ДНК дифференциально метилированных участков генома, различающих группы РМЖ с хорошим и плохим ответом на НАХТ для формирования ограниченной панели маркеров метилирования ДНК, наиболее информативных с точки зрения прогноза эффективности НАХТ.

Материалы и методы

широкогеномное бисульфитное секвенирование методом XmaI-RRBS [3, 4] выполнено для 74 образцов биоптатов РМЖ, полученных до начала НАХТ. Выборку составили 31 образец трижды-негативного РМЖ (ТН РМЖ) и 43 образца люминального В (LumB) подтипа. Дифференциально метилированные CpG-динуклеотиды, которые различаются в опухолях молочной железы с различным ответом на НАХТ, идентифицировали U-тестом Манна-Уитни; CpG со значением p -value $< 0,01$ считали статистически значимыми. Из них выбирали CpG, принадлежащие сайтам начала транскрипции (TSS).

Результаты

по результатам секвенирования получено в среднем 118 млн п.н. в 700 000–800 000 прочтений на образец. Нами определен состав списка кандидатов маркеров метилирования ДНК для формирования панели из ограниченного числа маркеров (CpG-островки ге-

нов *BNC1*, *VGLL4*, *CDO1*, *DPYS*, *TLX3*, *GMDS*, *PTGIS*, *GRIK1*, *PRKCB*, *SFRP2*, *CLEC14A*, *DOK1*, *PLCD1*, *PRR5*, *PSKH2*, *RABL6*, *PTGER2*, *ITGB4*, *IRF4*, *ABCA3*, *SNAP25*, *GFRA1*, *LAMA3*, *OXT*, *MYO15B*, *DLEU2*, *TERT*, *INTS4L1*, *SEPT9*, *TMEM132C*, *TMEM132D*, *TTC34*, *KRTCAP3*).

Непредвзятым широкогеномным скринингом дифференциального метилирования ДНК в группах РМЖ, различающихся ответом на НАХТ, определены наиболее информативные маркеры. Анализ литературных данных показал, что для целого ряда генов из полученного набора другими авторами уже были выявлены ассоциации экспрессии с особенностями фенотипа опухоли и/или её чувствительностью к химиотерапии, причем направление изменения экспрессии маркерных генов или белков в ранее проведенных исследованиях совпадает с направлением, которое можно предполагать, исходя из выявленных нами аномалий метилирования промоторов соответствующих генов. Это наблюдение позволяет ожидать, что предложенный нами набор маркеров аномального метилирования ДНК для определения потенциальной чувствительности РМЖ к НАХТ покажет высокую диагностическую ценность в клинических испытаниях, поскольку он базируется на непредвзято выявленных в разведочной выборке маркерах, которые не только статистически наиболее информативны, но и ассоциированы с биологическими функциями, нарушения которых приводят к изменению ответа опухолей на химиотерапию.

Литература/ References

1. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018; 68(6): 394–424.
2. Criscitiello C., Golshan M., Barry W.T. et al. 170P Impact of neoadjuvant therapy (NT) and pathological complete response (pCR) on breast-conserving surgery (BCS) in patients (pts) with breast cancer (BC): A meta-analysis. *Annals of Oncology*. 2017; 28(suppl 5): 50–51
3. Tanas A.S., Sigin V.O., Kalinkin A.I. et al. Genome-wide methylotyping resolves breast cancer epigenetic heterogeneity and suggests novel therapeutic perspectives. *Epigenomics*. 2019; 11(6):605–617
4. 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