

Метилирование генов белков внеклеточного матрикса и трансмембранных рецепторов в норме и при раке молочной железы

Симонова О.А., Кузнецова Е.Б., Танас А.С., Руденко В.В., Кекеева Т.В., Немцова М.В., Залетаев Д.В., Стрельников В.В.

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

Для понимания особенностей регуляции и механизмов взаимодействия белков матрикса и трансмембранных рецепторов и их роли в поддержании структуры и функции ткани молочной железы в норме и при канцерогенезе важно установить вклад изменений экспрессии этих белков в процессы развития, роста, инвазии и метастазирования опухолей. Изучение статуса метилирования генов, кодирующих белки ламининов, нидогенов, интегринов, кадгерин, матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в нормальной и опухолевой ткани необходимо для установления роли этих генов и механизмов их регуляции при раке молочной железы. Нами проведено исследование состояния метилирования этих генов в нормальных и опухолевых тканях молочной железы с целью поиска эпигенетических маркеров, ассоциированных с клинико-морфологическими характеристиками опухолей.

Ключевые слова: метилирование ДНК, внеклеточный матрикс, рак молочной железы, метилчувствительная ПЦР, бисульфитное секвенирование ДНК

Для цитирования: Симонова О.А., Кузнецова Е.Б., Танас А.С., Руденко В.В., Кекеева Т.В., Немцова М.В., Залетаев Д.В., Стрельников В.В. Метилирование генов белков внеклеточного матрикса и трансмембранных рецепторов в норме и при раке молочной железы. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 24-25.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.24-25

Автор для корреспонденции: Симонова Ольга Анатольевна; **e-mail:** simonova_o.a@mail.ru.

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

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Methylation of the genes encoding extracellular matrix proteins and transmembrane receptors in breast cancer

Simonova O.A., Kuznetsova E.B., Tanas A.S., Rudenko V.V., Kekeeva T.V., Nemtsova M.V., Zaletaev D.V., Strelnikov V.V.

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

To understand mechanisms of interaction between extracellular matrix proteins and transmembrane receptors, as well as their role in maintaining the structure and function of breast tissue in norm and in cancer, an important issue is to determine the contribution of changes in the expression of these proteins to the processes of development, growth, invasion and metastasis of breast cancer. Studies of the methylation status of genes encoding laminins, nidogens, integrins, cadherins, matrix metalloproteinases and their inhibitors in normal and tumor tissues are necessary to determine the roles of these genes and the mechanisms of their regulation in cancer. We have studied methylation status of these genes in normal and tumor tissues of the mammary gland in order to search for epigenetic markers associated with the clinical and morphological characteristics of the tumors.

Keywords: DNA methylation, extracellular matrix, breast cancer, methylation sensitive PCR, bisulfite DNA sequencing

For citation: Simonova O.A., Kuznetsova E.B., Tanas A.S., Rudenko V.V., Kekeeva T.V., Nemtsova M.V., Zaletaev D.V., Strelnikov V.V. Methylation of the genes encoding extracellular matrix proteins and transmembrane receptors in breast cancer. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 24-25 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.24-25

Corresponding author: Simonova Olga Anatol'evna; **e-mail:** simonova_o.a@mail.ru.

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

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

Accepted: 20.05.2020

Для понимания особенностей регуляции и механизмов взаимодействия белков матрикса и трансмембранных рецепторов и их роли в поддержании структуры и функции ткани молочной железы (МЖ) в норме и при канцерогенезе важно установить вклад изменений экспрессии этих белков в процессы развития, роста, инвазии и метастазирования опухолей [1]. Одним из эпигенетических механизмов, участвующих в регуляции генной экспрессии, является метилирование/деметилирование CpG-островков в их промоторных регионах [2]. Изучение статуса метилирования генов, кодирующих белки ламининов, нидогенов, интегринов, кадгеринов, матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в нормальной и опухолевой ткани необходимо для установления роли этих генов и механизмов их регуляции при раке молочной железы (РМЖ).

Цель — изучить состояние метилирования генов белков внеклеточного матрикса и трансмембранных рецепторов для поиска маркеров метилирования, ассоциированных с клинико-морфологическими характеристиками РМЖ.

Материалы и методы

В исследование включены парные образцы опухолевой и не опухолевой условно нормальной ткани МЖ, полученные от 208 пациенток с РМЖ, 6 аутопсийных образцов нормальной МЖ и клеточные линии РМЖ ZR75-1, HBL-100, HS 578 T, BT-474, T-47D и MCF7. Анализ метилирования ДНК проводили методами многолокусной метилчувствительной ПЦР (МЧ-ПЦР) и бисульфитного секвенирования по технологиям, разработанным нами ранее [3]. Для исключения ложноотрицательных и ложноположительных результатов МЧ-ПЦР были разработаны многолокусные системы из 3–5 пар праймеров, где 1–3 фрагмента принадлежали исследуемым генам, а два других служили в качестве положительного и отрицательного контроля.

Результаты

Разработана методология многолокусных МЧ-ПЦР и метилспецифического секвенирования для исследования метилирования промоторных регионов 40 генов белков внеклеточного матрикса и трансмембранных рецепторов. Определены гены, дифференциально метилированные (*LAMA1*, *LAMA2*, *LAMA3B*, *LAMA4*, *LAMB1*, *LAMC1*, *NID1*, *NID2*, *ITGA1*, *ITGA4*, *ITGA7*, *ITGA9*, *CDH2*, *CDH3*, *MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28*) и конститутивно метилированные (*LAMA3A*, *LAMB3*, *LAMC2*, *LAMB2*, *MMP14*, *MMP21*, *TIMP1*, *TIMP4*) в опухолевой и условно нормальной ткани МЖ. Выявлены статисти-

чески достоверные ассоциации метилированного состояния промоторов генов *LAMA2*, *LAMB1*, *ITGA4*, *MMP23B* с высоким уровнем экспрессии рецептора HER2, *LAMA2* и *LAMB1* — с люминальным В типом РМЖ, *CDH3* и *MMP23B* — с отсутствием экспрессии рецепторов ER и PR. Неметилированное состояние *LAMA2* и *LAMB1* ассоциировано с отсутствием экспрессии маркера HER2, *LAMA2*, *NID1*, *ITGA9* — с трижды негативным типом РМЖ. Показано, что метилирование 14 генов *LAMA1*, *LAMA2*, *LAMB1*, *ITGA1*, *ITGA4*, *ITGA7*, *ITGA9*, *NID1*, *NID2*, *CDH2*, *CDH3*, *MMP2*, *MMP25*, *MMP28* достоверно ассоциировано с гиперметилированным подтипом РМЖ, выявленным нами ранее по результатам широкогеномного анализа метилирования ДНК [4].

Комплексный анализ метилирования генов белков внеклеточного матрикса и трансмембранных рецепторов позволяет классифицировать образцы РМЖ на группы, различающиеся паттернами метилирования ДНК и ассоциированными клинико-морфологическими характеристиками. Предложенная система из 14 маркеров может использоваться для определения принадлежности образцов РМЖ к гиперметилированному или умеренно метилированному типу РМЖ.

Литература

1. Kaushik S, Pickup M.W., Weaver V.M. From transformation to metastasis: deconstructing the extracellular matrix in breast cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2016. 35(4): 655–667.
2. Залетаев Д.В., Стрельников В.В., Немцова М.В. с соавт. Структурно-функциональный анализ опухолевых геномов и разработка тест-систем для ранней диагностики, прогноза течения и оптимизации терапии злокачественных новообразований. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2013. 68(9): 7–14.
3. Simonova O.A., Kuznetsova E.B., Poddubskaya E.V. et al. DNA methylation in the promoter regions of the laminin family genes in normal and breast carcinoma tissues. *Molecular Biology* 2015; 49(4): 598–607.
4. Tanas A.S., Sigin V.O., Kalinkin A.I. et al. Genome-wide methylation typing resolves breast cancer epigenetic heterogeneity and suggests novel therapeutic perspectives. *Epigenomics* 2019; 11(6): 605–617

References

1. Kaushik S., Pickup M.W., Weaver V.M. From transformation to metastasis: deconstructing the extracellular matrix in breast cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2016. 35(4): 655–667.
2. Zaletaev D.V., Strel'nikov V.V., Nemtsova M.V. s soavt. Strukturno-funktsional'nyi analiz opukholevikh genomov i razrabotka test-sistem dlya ranney diagnostiki, prognoza techeniya i optimizatsii terapii zlo-kachestvennih novoobrazovaniy. [Structural and functional analysis of tumor genomes and the development of test systems for early diagnosis, prognosis and cancer therapy optimization]. *Vestnik Rossiiskoi akademii medicinskih nauk [Annals of the Russian academy of medical sciences]* 2013. 68(9): 7–14. (In Russ.)
3. Simonova O.A., Kuznetsova E.B., Poddubskaya E.V. et al. DNA methylation in the promoter regions of the laminin family genes in normal and breast carcinoma tissues. *Molecular Biology* 2015; 49(4): 598–607.
4. Tanas A.S., Sigin V.O., Kalinkin A.I. et al. Genome-wide methylation typing resolves breast cancer epigenetic heterogeneity and suggests novel therapeutic perspectives. *Epigenomics* 2019; 11(6): 605–617