

Транскриптом опухоли молочной железы с различным статусом амплификации длинного плеча 8 хромосомы

Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Литвяков Н.В.

Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

Изучено изменение транскриптома опухоли молочной железы (РМЖ) с различным статусом амплификации длинного плеча 8 хромосомы (с локусом 8q24) и в процессе предоперационной химиотерапии. В исследовании использовались парные образцы биопсийного материала до лечения и операционного материала от 60 больных РМЖ люминального В подтипа, получавших 4–8 курсов неоадьювантной химиотерапии (НХТ). Показано, что в 65% случаев амплификация 8q сохраняется в опухоли после НХТ. Показаны топ-10 сигнальных путей дифференциально-экспрессируемых генов (ДЭГ) в опухоли больных РМЖ до лечения и после НХТ с наличием амплификации 8q. ДЭГ пациентов с различным статусом амплификации 8q (с регионом 8q24) до лечения и после НХТ пересекаются всего по 8 генам. В резидуальной опухоли у больных с амплификацией 8q было установлено повышение экспрессии генов стволовости *GSK3B*, *MYC*, *GATA3*, *SMAD4*, *SMAD2*, принимающих участие в WNT- и TGFb-сигналинге. Проведенное исследование показывает большое влияние амплификации длинного плеча хромосомы 8 на опухолевый транскриптом при РМЖ, независимо от других молекулярно-генетических признаков. Амплификация 8q с участием региона 8q24 приводит к значительному сдвигу уровня транскрипции большого количества генов именно после воздействия химиотерапии.

Ключевые слова: рак молочной железы, 8q, дифференциально-экспрессируемые гены, амплификация.

Для цитирования: Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Литвяков Н.В. Транскриптом опухоли молочной железы с различным статусом амплификации длинного плеча 8 хромосомы. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 31-32.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.31-32

Автор для корреспонденции: Ибрагимова Марина Константиновна; e-mail: imk1805@yandex.ru

Финансирование. Работа поддержана грантом РФФИ 18-29-09131.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Transcriptome of breast tumor with different amplification statuses of long arm of chromosome 8

Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Litviakov N.V.

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Cancer Research Institute
Kooperativny St. 5, Tomsk, 634009, Russia

The aim of this work was to study changes in the breast tumor transcriptome and the amplification status of the long arm of chromosome 8 (with locus 8q24) and in the process of pre-surgery chemotherapy. The study used paired samples of biopsy material before treatment and surgical material from 60 patients with breast cancer of luminal B subtype who received 4-8 courses of NAC. It was shown that in 65% of cases, amplification of 8q is preserved in the tumor after NAC. Top-10 DEG signaling pathways in the tumor of breast cancer patients before treatment and after NAC with the presence of amplification of 8q are shown. DEG of patients with different amplification statuses of 8q (with region 8q24) before treatment and after NAC overlap in 8 genes. In the residual tumor of patients with amplification of 8q, an increase in the expression of stemness genes *GSK3B*, *MYC*, *GATA3*, *SMAD4*, *SMAD2* participating in WNT and TGFb signaling was found. The study shows a large effect of amplification of the long arm of chromosome 8 on the tumor transcriptome in breast cancer, regardless of other molecular genetic features. Amplification of 8q involving region 8q24 leads to a significant shift in the level of transcription of a large number of genes precisely after exposure to chemotherapy.

Keywords: breast cancer, amplification, chromosome 8, DEG, NAC.

For citation: Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Litviakov N.V. Transcriptome of breast tumor with different amplification statuses of long arm of chromosome 8. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 31-32 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.31-32

Corresponding author: Ibragimova Marina K.; e-mail: imk1805@yandex.ru

Funding. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, Grant 18-29-09131.

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

Accepted: 20.05.2020

Согласно базе www.progenetix.org по частоте встречаемости при опухолях всех локализаций (177 типов опухолей) амплификация длинного плеча 8 хромосомы, в частности 8q24, оказалась наиболее распространенной aberrацией числа копий (CNA) и встречалась более чем в 30% всех образцов [1]. Наиболее значимым геном в этом локусе по данным COSMIC является протоонкоген *MYC*, который участвует во многих сигнальных путях [2]. В настоящей работе проведено изучение изменений транскриптома опухоли молочной железы и статуса амплификации длинного плеча 8 хромосомы (с локусом 8q24) и в процессе предоперационной химиотерапии.

Материал и методы

В исследование включены 60 больных раком молочной железы (РМЖ) T₁₋₄N₀₋₂M₀ (IIA–IIIB стадии) люминального В подтипа с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 22–68 лет (средний возраст 46,2±0,4 лет). Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного материала до лечения и операционного материала для каждого из пациентов. Была выделена ДНК и РНК из исследуемого материала при помощи наборов QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany) и RNeasy mini kit plus (Qiagen, Germany), соответственно. Наличие амплификаций до лечения и после неоадьювантной химиотерапии (НХТ) в 8q определялось с использованием микроматрицы CytoScan HD Array (Affymetrix, USA). Экспрессию генов оценивали у 40 больных при помощи микроматрицы Clariom S Assays Human (Affymetrix, USA) и определяли дифференциально-экспрессируемые гены (ДЭГ) в зависимости от наличия амплификации 8q, изменения экспрессии в процессе НХТ, гематогенного метастазирования и эффекта НХТ.

Результаты

Частота амплификации 8q с регионом 8q24 в опухоли больных до лечения составила 62% (37/60 случаев). Из 37 больных амплификация 8q в резидуальной опухоли после проведения НХТ сохранилась у 24/37 пациентов (65%), кроме этого еще у 3 пациентов амплификации 8q в опухоли возникли *de novo* под действием предоперационной терапии.

Количество ДЭГ в опухоли до лечения у больных с наличием амплификации 8q и без амплификации составило 105 (41 up-regulated, 64 down-regulated). После проведения НХТ резидуальные опухоли больных с амплификацией 8q и без амплификации различались очень существенно, почти по 2137 ДЭГ (1394 up-regulated, 780 down-regulated). Выделены топ-10 сигнальных путей ДЭГ в опухоли больных РМЖ до лече-

ния и после НХТ, общими сигнальными путями стали: *mapk signaling pathway* и *circadian rhythm related genes*.

Построение диаграммы Венна показало, что ДЭГ пациентов с различным статусом амплификации 8q (с регионом 8q24) до лечения и после НХТ пересекаются всего по 8 генам — *NBPF4*, *PI4KB*, *UGT2B11*, *UGT2B28*, *PLAT*, *MYBPC1*, *SETBP1* и *ZNF223*.

Было показано, что при частичной регрессии количество ДЭГ в резидуальной опухоли после НХТ с наличием/отсутствием амплификации 8q составило 879 (601 up-regulated, 278 down-regulated). На фоне стабилизации количество ДЭГ в резидуальной опухоли больных после НХТ с наличием/отсутствием амплификации 8q составило 1321 (652 up-regulated, 669 down-regulated). Построение диаграммы Венна показало, что ДЭГ у пациентов с наличием и отсутствием амплификации 8q после НХТ на фоне частичной регрессии и стабилизации пересекаются по 145 генам (данные не представлены).

Ранее нами было показано, что гены, функции которых связаны с индукцией и поддержанием стволового состояния клеток — гены стволовости, играют значимую роль в механизмах метастазирования опухоли молочной железы. По базам данных был отобран 51 такой ген, в число которых вошел и ген *MYC*, локализованный в 8q24. Было показано, что амплификация генов стволовости давала возможность клеткам приобрести способность к переходу из нестволовых опухолевых клеток в стволовые опухолевые клетки и осуществлять метастазирование. Повышенная экспрессия генов стволовости наблюдалась в резидуальной опухоли у больных с разившимися впоследствии метастазами [3]. По данным диаграммы Венна, было установлено пересечение 8/51 генов стволовости (*GSK3B*, *TERT*, *BMP6*, *MYC*, *GATA3*, *NANOG*, *SMAD4*, *SMAD2*) и ДЭГ у пациентов с наличием/отсутствием амплификации 8q после НХТ. При этом у больных с амплификацией 8q экспрессия *GSK3B*, *MYC*, *GATA3*, *SMAD4*, *SMAD2* повышена в 2,1–3,8 раза, а экспрессия *TERT*, *BMP6*, *NANOG* снижена в 2,1–2,3 раза. Таким образом, амплификация региона локализации гена *MYC* в резидуальной опухоли приводит в повышенной экспрессии комплекса генов, которые также принимают участие в WNT- и TGFb-сигналинге.

Литература/References

1. Cai H., Kumar N., Baudis M. Arraymap: A reference resource for genomic copy number imbalances in human malignancies. *PLoS ONE* 2012; 7(5): e36944.
2. Jönsson G., Staaf J., Vallon-Christersson J., et al. Research article Genomic subtypes of breast cancer identified by array-comparative genomic hybridization display distinct molecular and clinical characteristics. *Breast Cancer Research* 2012; (12): R42.
3. Litviakov N.V., Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., et al. Amplifications of stemness genes and the capacity of breast tumors for metastasis. *Oncotarget* 2020; 11(21): 1988–2001