

## Соматические мутации в генах эпигенетической регуляции, выявленные при помощи NGS в опухолях желудка

Немцова М.В.<sup>1,2</sup>, Калинин А.И.<sup>1</sup>, Кузнецова Е.Б.<sup>1</sup>, Алексеева Е.А.<sup>1</sup>,  
Буре И.В.<sup>2</sup>, Михайленко Д.С.<sup>1</sup>, Танас А.С.<sup>1</sup>, Стрельников В.В.<sup>1</sup>

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

2 — ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)  
119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2

Эпигенетические механизмы регулируют структуру хроматина и создают устойчивые закономерности экспрессии генов в процессе жизни клеток. Нарушение эпигенетической регуляции играет значительную роль в канцерогенезе, инвазии, рецидивировании и метастазировании опухолей и может служить полезным клиническим маркером. Мутационное профилирование генов эпигенетической регуляции в опухолевых образцах рака желудка позволит определить новые клинические и прогностические маркеры и дополнительные таргеты для лечения пациентов. В статье представлены первые результаты исследования соматических мутаций в генах эпигенетической регуляции, проведенного методом NGS.

**Ключевые слова:** рак желудка, гены эпигенетические регуляторы, высокопроизводительное секвенирование (NGS), соматические мутации.

**Для цитирования:** Немцова М.В., Калинин А.И., Кузнецова Е.Б., Алексеева Е.А., Буре И.В., Михайленко Д.С., Танас А.С., Стрельников В.В. Соматические мутации в генах эпигенетической регуляции, выявленные при помощи NGS в опухолях желудка. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 75-76.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.06.75-76

**Автор для корреспонденции:** Немцова М.В.; **e-mail:** nemtsova\_m\_v@mail.ru

**Финансирование.** Работа поддержана грантом РФФИ (18-29-09020) и государственным заданием Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 20.05.2020

## *Somatic mutations in epigenetic regulation genes detected by NGS in gastric tumors*

Nemtsova M.V.<sup>1,2</sup>, Kalinkin A.I.<sup>1</sup>, Kuznetsova E.B.<sup>1</sup>, Alekseeva E.A.<sup>1</sup>, Bure I.V.<sup>1</sup>, Mikhaylenko D.S.<sup>1</sup>, Tanas A.S.<sup>1</sup>, Strelnikov V.V.<sup>1</sup>

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

2 — I.M. Sechenov First Moscow State Medical University  
Trubetskaya st. 8. Moscow, 119991, Russia

Epigenetic mechanisms regulate chromatin structure and create stable patterns of gene expression during cell life. Violation of epigenetic regulation plays a significant role in carcinogenesis, invasion, recurrence and metastasis of tumors, and can serve as a useful clinical marker. Mutational profiling of epigenetic regulation genes in tumor samples of gastric cancer will allow us to identify new clinical and prognostic markers and additional targets for the treatment of patients with gastric cancer. This article presents the first results of a study of somatic mutations in the epigenetic regulation genes carried out using NGS.

**Keywords:** gastric cancer, genes, epigenetic regulators, NGS, somatic mutations

**For citation:** Nemtsova M.V., Kalinkin A.I., Kuznetsova E.B., Alekseeva E.A., Bure I.V., Mikhaylenko D.S., Tanas A.S., Strelnikov V.V. Somatic mutations in epigenetic regulation genes detected by NGS in gastric tumors. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 75-76 (In Rus)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.06.75-76

**Corresponding author:** Nemtsova M.V.; **e-mail:** nemtsova\_m\_v@mail.ru

**Funding.** This work was supported by the Russian Foundation of Basic Research no. 18-29-09020 and 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

**Н**арушение эпигенетических процессов играет значительную роль в канцерогенезе, рецидивировании и метастазировании опухолей и может служить полезным клиническим маркером [1]. Рак желудка (РЖ) является третьей по значимости причиной смертности пациентов в мире [2]. Показано, что РЖ не обогащен мутациями в генах-драйверах, поэтому таргетные препараты, которые полезны в лечении других опухолей, мало эффективны при РЖ. Несмотря на активный поиск новых средств для опухолевой терапии, только трастузумаб и рамуцирумаб, направленные на HER2 и VEGFR2 соответственно, в настоящее время одобрены для лечения РЖ [3]. Сегодня актуальным является поиск новых генов, имеющих повышенную частоту соматических мутаций в опухоли желудка для выявления клинических маркеров и новых таргетов для лечения.

**Цель:** осуществить мутационное профилирование генов эпигенетической регуляции в опухолевых образцах РЖ, охарактеризовать спектр выявленных изменений и оценить патогенность выявленных вариантов *in silico*.

### Материалы и методы

Мы осуществили дизайн таргетной панели для NGS исследования 25 генов, продукты которых участвуют в эпигенетических процессах, и провели определение соматических мутаций в 52 опухолевых образцах РЖ. В состав панели вошли гены, регулирующие метилирование ДНК: *DNMT1*, *MBD1*, *TET1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*; гены, участвующие в модификации гистоновых белков: *EZH2*, *UTX*, *EP300*, *JARID1B*, *CREBBP*, *HDAC2*, *SIRT1*, *KMT2A*, *KMT2D*, *KMT2C*; гены, регулирующие ремоделирование хроматина: *SMARCB1*, *SMARCA2*, *SMARCA4*, *ARID1A*, *ARID2*, *BRD7*, *PBRM1*, *CHD5*, *CHD7*, *CHD4*. Панель для NGS-исследования является уникальной, подбор генов проведен с учетом частоты соматических мутаций при РЖ по данным COSMIC. В состав панели входят 1376 пар праймеров, обеспечивающих не менее чем 98%-ное покрытие всех экзонов и прилежащих интронных участков на протяжении не менее 25 п.н. от интрон/экзонных границ. Для каждого фрагмента получали в среднем не менее 1000 прочтений. Выявленные мутации верифицировали секвенированием по Сэнгеру в ДНК, полученной из опухолевой ткани.

### Результаты

Нами проведено мутационное профилирование в 52 образцах РЖ, с использованием таргетной панели генов, регулирующих в эпигенетических механизмах. Выявлены 50 несинонимичных замен и 5 нонсенс-мутаций. Для анализа отбирали нонсенс-мутации, инделы со сдвигом рамки считывания, а также миссенс-замены, не аннотированные в базах данных, либо имеющие частоту  $MAF < 0,0001$ . В 38/52 образцах (73%) выявлен, по крайней мере, один генетический вариант, удовлетворяющий этим критериям. Наиболее часто, по нашим данным, замены в опухоли желудка происходят в генах *KMT2D* – 29,7%, *ARID1A* – 23,4% и *KMT2C* – 19,1%. Восемь вариантов: *KMT2A*:p.I3246T, *KMT2A*:p.V3083I, *ARID1A*:p.A182T, *ARID1A*:p.Q1415H, *HDAC2*:p.T477N, *MBD1*:p.T431A, *CHD4*:p.P141A, *ARID2*:c.53\_57del:p.A18fs – выявлены впервые и не представлены в базах данных. Одиннадцать замен представлены в dbSNP, но имеют низкую популяционную частоту ( $MAF < 0,0001$ ) и не описаны в ClinVar. По результатам анализа патогенности *in silico* (предикторы PolyPhen2, PROVEAN, SNPs&GO и MutPred2) наибольший интерес представляют замены в генах *KMT2D* (p.D3419G), *KMT2C* (p.M959I) rs4024402, *SMARCA4* (p.P913L) rs778175819, *ARID1A* (p.R2236C) rs763691986 и *CHD7* (p.R1943Q) rs753723769, которые оценены как патогенные всеми предикторами патогенности.

Выявленная нами высокая частота соматических мутаций в генах *KMT2D*, *ARID1A* и *KMT2C* при РЖ не противоречит ранее опубликованным данным. В то же время в нашей выборке частота мутаций в этих генах оказалась в 2-3 раза выше значений, представленных в базе данных COSMIC, что может объясняться применением нами более информативного метода глубокого таргетного параллельного секвенирования.

### Литература/ References

1. Thomas M.L., Marcato P. Epigenetic Modifications as Biomarkers of Tumor Development, Therapy Response, and Recurrence across the Cancer Care Continuum. *Cancers* 2018; 10: 101. doi:10.3390/cancers10040101
2. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394–424
3. Apicella M., Corso S., Giordano S. Targeted therapies for gastric cancer: failures and hopes from clinical trials. *Oncotarget* 2017; 8: 57654