

# Клинические и молекулярно-генетические особенности нейрофиброматоза 2 типа

Карандашева К.О.<sup>1</sup>, Макашова Е.С.<sup>2,3</sup>, Мартыанова А.А.<sup>4</sup>, Аношкин К.И.<sup>1</sup>, Золотова С.В.<sup>2</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 — ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко» Минздрава России  
125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., д. 16

3 — ГБУЗ МКНЦ имени А.С. Логинова ДЗМ  
111123, г. Москва, ш. Энтузиастов, д. 86

4 — ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России  
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

Нейрофиброматоз 2 типа – редкое генетическое заболевание, этиологическим фактором развития которого являются мутации в гене-онкосупрессоре *NF2*, кодирующем белок мерлин. В обзоре подробно описаны структура, функции и посттрансляционные модификации мерлина, освещены клинические особенности нейрофиброматоза 2 типа, известные клинико-генетические корреляции, а также представлена информация о сайтах связывания мерлина и о функциональном вкладе расположенных в них мутаций, что закладывает базис персонализированной терапии нейрофиброматоза 2 типа.

**Ключевые слова:** нейрофиброматоз 2 типа, *NF2*, мерлин, клинико-генетические корреляции.

**Для цитирования:** Карандашева К.О., Макашова Е.С., Мартыанова А.А., Аношкин К.И., Золотова С.В., Стрельников В.В. Клинические и молекулярно-генетические особенности нейрофиброматоза 2 типа. *Медицинская генетика* 2021; 20(10): 3-12.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2021.10.3-12

**Автор для корреспонденции:** Карандашева Кристина Олеговна, e-mail: karandasheva@epigenetic.ru

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (Грант РНФ № 21-15-00262) и в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на выполнение НИР в 2021 году.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 25.09.2021.

## Clinical and molecular genetic features of neurofibromatosis type 2

Karandasheva K.O.<sup>1</sup>, Makashova E.S.<sup>2,3</sup>, Martyanova A.A.<sup>4</sup>, Anoshkin K.I.<sup>1</sup>, Zolotova S.V.<sup>2</sup>, Strelnikov V.V.<sup>1</sup>

1 — Research Centre for Medical Genetics  
1 Moskvorechye st., Moscow, 115522, Russian Federation

2 — National Medical Research Center for Neurosurgery named after Academician N.N. Burdenko  
16 4th Tverskaya-Yamskaya st., Moscow, 125047, Russian Federation

3 — Moscow Clinical Scientific Center named after Loginov  
86 Shosse Entuziastov, Moscow, 111123, Russian Federation

4 — Pirogov Russian National Research Medical University  
1 Ostrovityanova st., Moscow, 117997, Russian Federation

Neurofibromatosis type 2 is a rare genetic disorder caused by pathogenic mutations in the *NF2* tumor suppressor gene which encodes a protein called merlin. This review describes the structure, functions, and post-translational modifications of merlin, highlights clinical features and known genotype-phenotype correlations of neurofibromatosis type 2, and provides information on the merlin binding sites and the functional contribution of mutations they harbor, which lays the basis for personalized therapy for neurofibromatosis type 2.

**Keywords:** neurofibromatosis type 2, *NF2*, merlin, genotype-phenotype correlations.

**For citation:** Karandasheva K.O., Makashova E.S., Martyanova A.A., Anoshkin K.I., Zolotova S.V., Strelnikov V.V. Clinical and molecular genetic features of neurofibromatosis type 2. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2021; 20(10): 3-12. (In Russ.)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2021.10.3-12

**Corresponding author:** Kristina O. Karandasheva, e-mail: karandasheva@epigenetic.ru

**Funding.** The research was supported by Russian Science Foundation (project № 21-15-00262) and by Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

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

**Accepted:** 25.09.2021.

## Введение

**Н**ейрофиброматоз 2 типа (НФ-2) — редкое моногенное заболевание с опухолевым синдромом, предрасполагающее к развитию множественных новообразований в тканях нейроэктодермального происхождения: шванном, менингиом, эпендимом, нейрофибром. Частота встречаемости в общей популяции составляет приблизительно 1:25000 вне зависимости от пола, а также расовой и этнической принадлежности [1].

НФ-2 наследуется по аутосомно-доминантному типу и обладает полной пенетрантностью. Этиологическим фактором развития заболевания являются мутации в гене-онкосупрессоре *NF2*. В 50-60% случаев пациенты не имеют семейной истории и НФ-2 развивается как следствие мутации *de novo* [2].

Патогномоничным признаком НФ-2, отличающим его от других состояний, составляющих группу нейрофиброматозов, являются двусторонние вестибулярные шванномы — доброкачественные опухоли, возникающие из шванновских клеток вестибулярного корешка VIII нерва. Несмотря на преимущественно доброкачественную природу новообразований, заболевание представляет существенный риск здоровью пациента и отрицательно влияет на качество жизни, нередко приводя к потере зрения и слуха, а также развитию неврологического дефицита. Конкретные клинические проявления НФ-2 детерминированы локализацией и распространенностью опухолей [3,4].

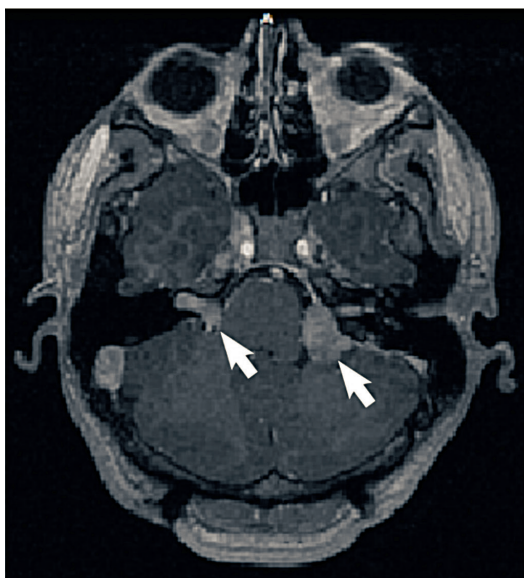
## Клинические проявления и диагностика НФ-2

НФ-2 ассоциирован с развитием доброкачественных опухолей периферической и центральной нервной системы: шванном, менингиом, эпендимом и глиом, среди которых наиболее частыми являются вестибулярные шванномы (ВШ), которые в абсолютном большинстве случаев являются билатеральными (рис. 1). Высокая частота ВШ обуславливает высокую распространенность тиннитуса, глухоты и вестибулярной атаксии у пациентов с НФ-2 [5]. В отличие от нейрофиброматоза 1 типа, опухоли при НФ-2 не имеют тенденции к злокачественной трансформации, однако в некоторых популяционных исследованиях для данной группы больных описан повышенный риск развития онкологических заболеваний (прежде всего рака яичника) [6].

Общепринято выделение двух клинических типов НФ-2: более тяжелого Вишарта и среднетяжелого Гарднера, при этом четкие критерии классификации отсутствуют. При типе Вишарта отмечаются ранний клинический дебют и большее количество опухолей, для которых характерна более высокая скорость роста [1]. Некоторые авторы предлагают выделение мозаичной формы заболевания как самостоятельного клинического типа [7].

В среднем, первые клинические признаки НФ-2 возникают в 18-24 года, а развитие билатеральных ВШ происходит к 30 годам [8]. Однако в литературе описаны случаи дебюта как в детском, так и в более позднем взрослом возрасте [9,10]. Широкие возрастные преде-

А



Б



**Рис. 1.** Опухоли центральной нервной системы у пациентов с НФ-2. **А** — Билатеральные вестибулярные шванномы. **Б** — Интрамедуллярные опухоли. Собственные наблюдения.

лы клинического дебюта, наряду с отсутствием строго специфичных признаков и преимущественно медленным развитием заболевания представляют определенные диагностические трудности.

В настоящее время в клинической практике используют две группы диагностических критериев НФ-2: Baser с соавт., 2011 г. и Манчестерские критерии.

Диагностические критерии, предложенные Evans с соавт., получили название Манчестерских (по географическому положению клиники, пациенты которой составили основную когорту исследования) и были разработаны на основании более строгих критериев NIH, которые не позволяли поставить диагноз НФ-2 пациенту без семейного анамнеза и двусторонних ВШ [11]. Манчестерские критерии были впервые опубликованы в 1992 г. и пересмотрены и расширены авторами в 2015 г. [12, 13]. Согласно им, для постановки диагноза требуется совпадение фенотипа и семейного анамнеза пациента с одной из групп клинических признаков (**табл. 1**).

В настоящее время широко обсуждается необходимость пересмотра Манчестерских критериев. Так, показано, что нейрофибромы не являются специфичным признаком НФ-2 [14]. Кроме того, результаты использования Манчестерских критериев не всегда согласо-

уются с данными ДНК-диагностики: у 1-2% пациентов с клиническим диагнозом НФ-2 молекулярно-генетическими методами подтверждают не НФ-2, а шванноматоз (мутации в генах *SMARCB1*, *LZTR1*), а у ~9% пациентов с клиническим диагнозом шванноматоз выявляют герминальную патогенную мутацию в гене *NF2* [15].

В 2019-м году Evans с соавт. опубликовали собственные предложения по модификации Манчестерских критериев. Было предложено заменить термин «нейрофиброма» на «шваннома» и ввести в качестве одного из основных признаков наличие эпендимомы, т.к. этот тип опухолей встречается много чаще чем глиома [16].

Другая система критериев (Baser с соавт., 2011) основана на подсчете суммы баллов (**табл. 2**). Диагноз считается определенным, если сумма составляет более 6 баллов, 4–5 баллов соответствуют вероятному диагнозу. Система отличается удобством применения в клинической практике и абсолютной специфичностью, однако чувствительность данных критериев составляет 79% [17].

В 2017-м году Halliday с соавт. предложили предиктивную шкалу, также получившую название Манчестерская,

Таблица 1

Манчестерские диагностические критерии, Evans с соавт., 2015

Основные критерии		
1	Билатеральные ВШ	
2	Родственник первой степени с НФ-2	
	• унилатеральная ВШ	ИЛИ
		• два признака из следующих: – менингиома – глиома – нейрофиброма – шваннома – катаракта – кальцификаты в головном мозге (ГМ)
Дополнительные критерии		
3	Унилатеральная ВШ	И
		• два признака из следующих: – менингиома – глиома – нейрофиброма – шваннома – катаракта – кальцификаты в ГМ
4	Множественные менингиомы (>2) и:	
	• унилатеральная ВШ	ИЛИ
		• два признака из следующих: – глиома – нейрофиброма – шваннома – катаракта – кальцификаты в ГМ

позволяющую предсказывать клинический тип на этапе ДНК-диагностики, что в будущем позволит стратифицировать подходы к наблюдению и терапии (табл. 3) [18].

Согласно Halliday с соавт., наиболее благоприятным является прогноз для пациентов с мозаичными генотипами, у которых не удастся выявить патогенный

аллель в клетках крови (тип 1А и 1В). Вероятно, более легкое течение заболевания обусловлено меньшим числом клеток, несущих мутантный аллель. Герминальные нонсенс-мутации и инделы со сдвигом рамки считывания в экзонах 2-13 гена *NF2* ассоциированы с ранней манифестацией заболевания (до 14 лет), повышенной скоростью роста опухолей и высокой преждевременной смертностью (тип 3). В остальных случаях ожидается классический фенотип с высокой выживаемостью (тип 2А и более тяжелый тип 2В).

Описанные Halliday с соавт. клинико-генетические корреляции являются статистически достоверными, в связи с чем для пациентов с НФ-2 результаты генетических исследований приобретают не только диагностическое, но и прогностическое значение.

### Характеристика гена *NF2*

Ген *NF2* (Gene ID: 4771) локализован на длинном плече хромосомы 22 (22q12.2), охватывает приблизительно 95 т.п.н. геномной ДНК и содержит 17 экзонов. Канонический транскрипт (RefSeq: NM\_000268) включает 16 из них и кодирует белок протяженностью 595 аминокислотных остатков. Ген *NF2* широко экспрессируется в различных тканях организма, в том числе в процессе эмбрионального развития [19, 20].

Таблица 2

Диагностические критерии Baser с соавт, 2011

Признак	Возраст клинического дебюта	
	менее 30 лет	более 30 лет
Родственник первой степени с НФ-2	2	2
Унилатеральная ВШ	2	1
Билатеральные ВШ	4	3
Одна менингиома	2	1
Две менингиомы и более	2	1
Подкожные шванномы (одна и более)	2	1
Шванномы краниальных нервов	2	1
Мононевропатия	2	1
Катаракта	2	1

Таблица 3

Предиктивная шкала Halliday с соавт., 2017

Тип	Клинический тип	Результат ДНК-диагностики гена <i>NF2</i>
1А	Предполагаемый соматический мозаицизм	Патогенная мутация отсутствует в крови, не выявлено двух одинаковых мутаций в двух разных опухолях.
1В	Подтвержденный соматический мозаицизм	Патогенная мутация отсутствует в крови, однако выявлены две одинаковые мутации в двух разных опухолях.
2А	Легкий тип	Герминальные и мозаичные инделы без сдвига рамки считывания.
		Герминальные и мозаичные миссенс-мутации.
		Герминальные и мозаичные нонсенс-мутации или инделы со сдвигом рамки считывания в экзоне 1.
		Герминальные и мозаичные мутации сплайсинга в экзонах 8-15.
		Мозаичные мутации сплайсинга в экзонах 1-7.
		Мозаичные нонсенс-мутации или инделы со сдвигом рамки считывания в экзонах 14-15.
		Герминальные и мозаичные протяженные делеции, захватывающие промотор или экзон 1.
		Мозаичные протяженные делеции, не захватывающие промотор или экзон 1.
2В	Средний тип	Герминальные мутации сплайсинга в экзонах 1-7.
		Герминальные нонсенс-мутации или инделы со сдвигом рамки считывания в экзонах 14-15.
		Мозаичные нонсенс-мутации или инделы со сдвигом рамки считывания в экзонах 2-13.
		Герминальные протяженные делеции, не захватывающие промотор или экзон 1.
3	Тяжелый тип	Герминальные нонсенс-мутации или инделы со сдвигом рамки считывания в экзонах 2-13.



Промотор гена *NF2* характеризуется отсутствием ТАТА-бокса, включает CpG-островок, содержит положительные и отрицательные *cis*-регуляторные элементы. Коровый промотор, необходимый для конститутивной экспрессии, получил название NF-CAR (NF2 *cis*-acting region). NF-CAR имеет длину 70 п.н., расположен на расстоянии с –591 по –522 нуклеотид от сайта инициации транскрипции, содержит три положительных *cis*-регуляторных элемента, связывающих Sp1, NF-1, E2F и транскрипционные факторы семейства Ets [19,21]. Chang с соавт. экспериментальными методами доказали присутствие отрицательного регуляторного элемента, локализованного с –295 по –271 нуклеотид от сайта инициации транскрипции, делеция которого приводит к увеличению уровня экспрессии гена [19].

В настоящий момент известно 10 изоформ мерлина, реализуемых посредством альтернативного сплайсинга. Наиболее экспрессируемыми являются изоформы 1 (Uniprot: P35240-1, RefSeq: NM\_000268) и 2 (Uniprot: P35240-3, RefSeq: NM\_016418, NM\_181832, NM\_181825) [22]. В литературных источниках присутствуют разночтения: изоформу 2 нередко называют третьей изоформой мерлина, основываясь на ее идентификаторе Uniprot [23]. При этом упоминания о собственно второй изоформе (P35240-2) практически отсутствуют, так как она, вероятно, является историческим артефактом.

На значительно меньшем уровне экспрессируются изоформы 4 (Uniprot: P35240-4, RefSeq: NM\_181830 NM\_181831), 5 (Uniprot: P35240-5, RefSeq: NM\_181828) и 6 (Uniprot: P35240-6, RefSeq: NM\_181829), с низкой частотой встречается изоформа 8 (Uniprot: P35240-8). Изоформы 7 (Uniprot: P35240-7), 9 (Uniprot: P35240-9, RefSeq: NM\_181833) и 10 (Uniprot: P35240-10) экспрессируются в эмбриональных тканях: изоформа 9 слабо экспрессируется в мозге, сердце, легких, скелетных мышцах и селезенке плода, тимус плода экспрессируется изоформы 1, 7, 9 и 10 [22].

В патогенезе НФ-2 значимыми являются мутации loss-of-function (LOF), приводящие к снижению функции или полному отсутствию экспрессируемого белка мерлина [24]. К настоящему моменту в базах данных HGMD Professional, LOVD и ClinVar представлено свыше 450 уникальных патогенных или вероятно патогенных мутаций в гене *NF2*.

Изучение молекулярных механизмов патогенности конкретных генетических вариантов и исследование их вклада в нарушение структурной и функциональной целостности белка имеют практическую значимость и закладывают базис для развития индивидуальных терапевтических подходов.

## Строение белка мерлина и его посттрансляционные модификации

Кодируемый геном *NF2* белок мерлин (Uniprot: P35240) обладает онкосупрессорной активностью, а также играет роль каркасного белка, связывающего F-актин, трансмембранные рецепторы и внутриклеточные эффекторы для модуляции сигнальных путей, контролирующих пролиферацию и выживание клеток [24].

По структуре и свойствам мерлин близок к трем гомологичным белкам семейства ERM: моззину (Uniprot: P26038), эзрину (Uniprot: P15311) и радиксину (Uniprot: P35241), которые, обеспечивая взаимодействие между плазматической мембраной и кортикальным актином, участвуют в регуляции цитоскелета. [25].

Являясь паралогами, ERM-белки обладают схожей структурой и содержат три домена: (1) FERM – N-концевой домен, взаимодействующий с клеточной мембраной, интегральными мембранными белками, каркасными белками и белками-эффекторами, (2) C-ERMAD – C-терминальный гидрофильный домен, связывающий актиновые нити (3) CC –  $\alpha$ -спиральный домен coiled-coil, расположенный между доменами FERM и C-ERMAD [26].

FERM домен состоит из трех субдоменов F1, F2, F3 и имеет структуру клеверного листа [27]. Наибольшей гомологией обладают его первые 300 аминокислотных остатков, имеющие ~65% идентичности внутри семейства ERM [28]. C-ERMAD имеет сайт связывания с F-актином и обладает ~50% гомологией с эзрином, радиксином и моззином [29]. При смене пространственной конформации ERM-белков, домены FERM и C-ERMAD связываются друг с другом по принципу «голова к хвосту», что приводит к маскировке C-концевого сайта связывания F-актина и N-концевых сайтов связывания мембранно-ассоциированных белков и ингибиторов диссоциации гуаниновых нуклеотидов Rho [29,30].

Особенности первичной последовательности мерлина отличают его от белков семейства ERM: (1) в C-терминальном домене, именуемом CTD, отсутствует сайт связывания с F-актином; (2) уникальный сайт связывания актина располагается в N-концевом домене; (3) FERM домен содержит состоящий из 7 аминокислотных остатков (177–183 aa) «Blue box» мотив, обладающий высокой межвидовой консервативностью; (4) идентифицировано ~70 консервативных аминокислот мерлина, большинство из которых можно разделить на три субдомен-специфичных кластера, расположенных на поверхности белка, что, вероятно, свидетельствует об их участии в белок-белковых взаимодействиях [28, 31–33].

Подобно ERM-белкам, мерлин существует в двух конформациях — открытой и закрытой, смена которых регулируется посредством посттрансляционных модификаций.

Открытая конформация мерлина ассоциирована с фосфорилированием аминокислотного остатка Ser518, расположенного в домене CTD. Реакция происходит с участием протеинкиназы A (PKA) и p21-активируемой протеинкиназы (PAK). Фосфорилирование Ser518 приводит к нарушению взаимодействия N- и C-терминальных доменов, что ингибирует онкосупрессорную активность белка, а также ослабляет его взаимодействие с элементами цитоскелета. Дефосфорилирование Ser518 протекает с участием миозин фосфатазы MYPT1-PP1δ и способствует принятию белком закрытой конформации, в которой он активен в качестве онкосупрессора (рис. 2) [34,35].

Другими известными посттрансляционными модификациями мерлина являются фосфорилирование аминокислотных остатков Ser10, Thr230, Ser315 и убиквитинирование.

Фосфорилирование Ser10, опосредованное протеинкиназой PKA, в противовес фосфорилированию Ser518, стабилизирует актиновые филаменты, а, следовательно, Ser10 и Ser518 играют противоположные роли в мерлин-ассоциированной динамике актина [34, 36].

Фосфорилирование мерлина по Thr230 и Ser315 происходит с участием протеинкиназы B (AKT), препятствует взаимодействию N- и C-концевых доменов и связыванию мерлином белков-партнеров, а также ведет к стимулированию убиквитин-зависимой деградации белка [37].

Убиквитинирование мерлина необходимо для его активации в сигнальном пути Hippo, реакция протекает с участием E3 убиквитин-лигазы NEDD4L и каркасного белка AMOTL1, в результате чего мерлин конъюгируется с одной или двумя молекулами убиквитина. Недавно было обнаружено, что повышение уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> в шванновских клетках является одним из триггеров данного процесса [38].

Основным сайтом конъюгации убиквитина является Lys396. Замена Lys396Arg наряду с другими мутациями, препятствующими убиквитинированию мерлина или его связыванию с комплексом AMOTL1-NEDD4L, нарушает его взаимодействие с Lats1, что сопровождается потерей антимитогенных и онкосупрессорных свойств [39].

Примечательно, что в настоящий момент в базах данных ClinVar, LOVD, HGMD Professional не описано патогенных миссенс-мутаций в сайтах фосфорилирования мерлина, ассоциированных с НФ-2 (рис. 3). В базе данных GnomAD представлен генетический вариант p.Thr230Ile (rs1468744457) с популяционной ча-

стотой 1/251478 человек в гетерозиготном состоянии, однако его клиническая интерпретация отсутствует. Экспериментально показано, что замена Ser518Asp является патогенной и приводит к подавлению онкосупрессорной функции мерлина, а также существенным изменениям актинового цитоскелета [39].

Так как миссенс-мутации в сайтах фосфорилирования мерлина отсутствуют не только в общей популяции, но и в когорте пациентов с НФ-2, можно предположить их ассоциацию с эмбриональной летальностью за счет дерегуляции частично активным мерлином нескольких сигнальных каскадов, однако данная гипотеза требует экспериментального подтверждения.

### Молекулярные взаимодействия белка мерлина

Исследование молекулярной биологии мерлина открывает новые потенциальные возможности таргетной терапии НФ-2. В настоящий момент известно, что мерлин взаимодействует с компонентами множества сигнальных каскадов, включая сигнальные пути Hippo, Ras, MAPK, PI3K/AKT, Rac/PAK/JNK, PKA, mTOR, FAK/SRC, WNT/B-catenin, YAP, p21-activated kinase, CD44, Rac/Rh, интегринами и тирозинкиназными рецепторами, а также подавляет активность E3 убиквитин-лигазы CRL4<sup>DCAF1</sup> [24].

Как компонент сигнального пути Hippo, мерлин осуществляет контроль пролиферации за счет контактного торможения [40,41]. Субдомен F2 мерлина содержит сайт связывания с серин-треониновыми киназами Lats1/2. Сайт связывания включает Blue Box мотив; гидрофобные остатки Val139, Leu140, Tyr177, Met179, Trp184, Trp191 и Ile210, образующие Lats1-связывающую поверхность, обладают высокой консервативностью и являются критическими для межбелкового взаимодействия [42]. Вероятно, мутации, затрагивающие данный сайт, могут ослабить способность мерлина связывать Lats1/2 и тем самым предотвратить последующее фосфорилирование и инактивацию белков YAP и TAZ в сигнальном пути Hippo [43].

Мерлин также взаимодействует с другим компонентом сигнального пути Hippo — ангиомотином (AMOT). AMOT-связывающий домен мерлина включает аминокислотные остатки 401-550 доменов CCD и CTD. Интересно, что AMOT не связывается с соответствующей областью моэзина, что говорит о высокой специфичности данного взаимодействия. Аминокислотный остаток Ser518 расположен в центре AMOT-связывающего домена, его фосфорилирование препятствует взаимодействию между белками. Патогенная делеция без сдвига рамки считывания (Δ513-

521), приводит к отсутствию связывания мерлина с ангиомотином [43].

В клеточном ядре дефосфорилированный мерлин ингибирует активность E3 убиквитинлигазы CRL4<sup>DCAF1</sup> посредством связывания субдомена F3 с DCAF1, что приводит к подавлению пролиферации. В свою очередь отсутствие мерлина приводит к гиперактивации YAP [44, 45].

Сравнение пептидных конформаций показывает, что комплекс мерлин-DCAF1 демонстрирует наибольшее сходство с комплексом радиксин-CD44 [46]. Два остатка лейцина и один остаток аспарагина (LxLN) в области -1 DCAF1 перекрываются с соответствующими остатками CD44 (LxIN) в Motif-1 $\beta$ , а ключевые остатки аспарагина, Asn1505 из DCAF1 и Asn306 из CD44 образуют сеть водородных связей, которая стабилизирует связывание с субдоменом F3. Сходство сайтов связывания DCAF1 и CD44 подразумевает, что они могут конкурировать за взаимодействие с FERM доменом мерлина. Предполагается, что CD44 ингибирует опосредованное мерлином подавление онкогенеза, так как его конкурентное связывание с мерлином приводит к увеличению концентрации свободного DCAF1 [45].

Экспериментально доказано, что FERM домен обеих изоформ мерлина способен связывать Ras, а изоформа 2 также взаимодействует с RasGAP [47].

Так как мерлин является участником множества пролиферативных сигнальных каскадов, очевидно, что

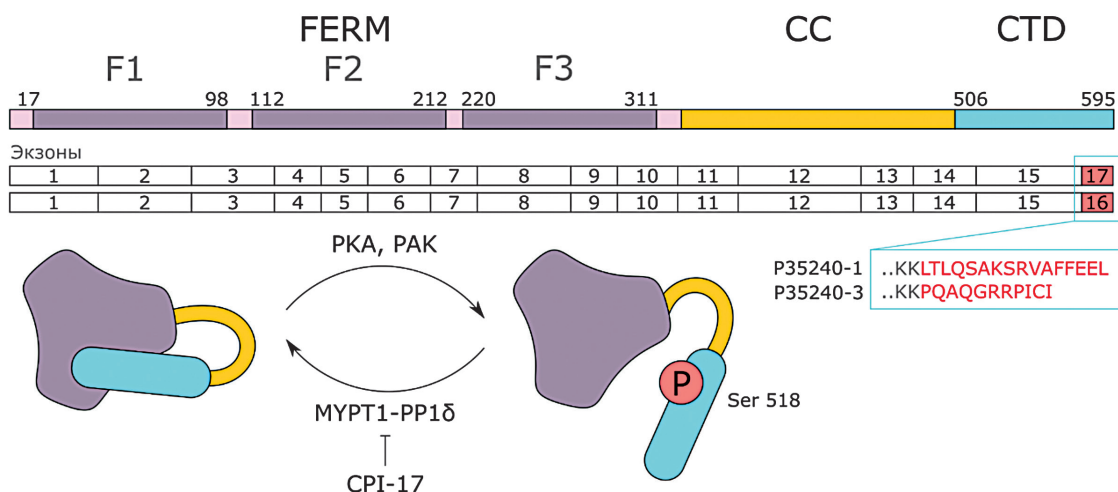
его утрата ведет к дестабилизации онкосупрессорной регуляции. Расширение знаний о молекулярной биологии мерина позволяет идентифицировать новые потенциальные терапевтические мишени [1,24].

## Терапия НФ-2

В настоящее время отсутствуют единые подходы к лечению и наблюдению пациентов с НФ-2. Последние клинические рекомендации были опубликованы в 2011 году [48], однако, к тому времени еще не были завершены исследования эффективности ингибитора VEGF бевацизумаба [49] и крупные популяционные исследования эффективности лучевого лечения [50].

Сегодня общепринятыми являются три основных подхода: хирургический, стереотаксическая лучевая терапия и системная терапия. Выбор метода лечения зависит от выраженности неврологического дефицита, размера и локализации опухоли, а также распространенности процесса [8].

Наиболее изученным препаратом для таргетной терапии НФ-2 остается ингибитор VEGF бевацизумаб, однако его эффективность доказана только для контроля роста шванном и эпендимом [51, 52]. Кроме того, отсутствуют четкие показания для начала и окончания терапии данным препаратом. Согласно Британскому протоколу, показаниями к назначению бевацизумаба являются: (1) быстрорастущие ВШ



**Рис. 2.** Смена открытой и закрытой конформаций мерлина ассоциирована со статусом фосфорилирования аминокислоты Ser518. Реакция фосфорилирования Ser518 протекает с участием протеинкиназ PKA и PAK, дефосфорилирования – с участием миозин фосфатазы MYPT1-PP1 $\delta$ . На схеме обозначено соответствие экзонов гена *NF2* белковым доменам основных изоформ мерлина (P35240-1, P35240-3). Для изоформы P35240-1 отмечены аминокислотные остатки, соответствующие границам домена FERM,  $\alpha$ -спирального домена coiled-coil (CC) и С-терминального домена (CTD). Рисунок авторов.

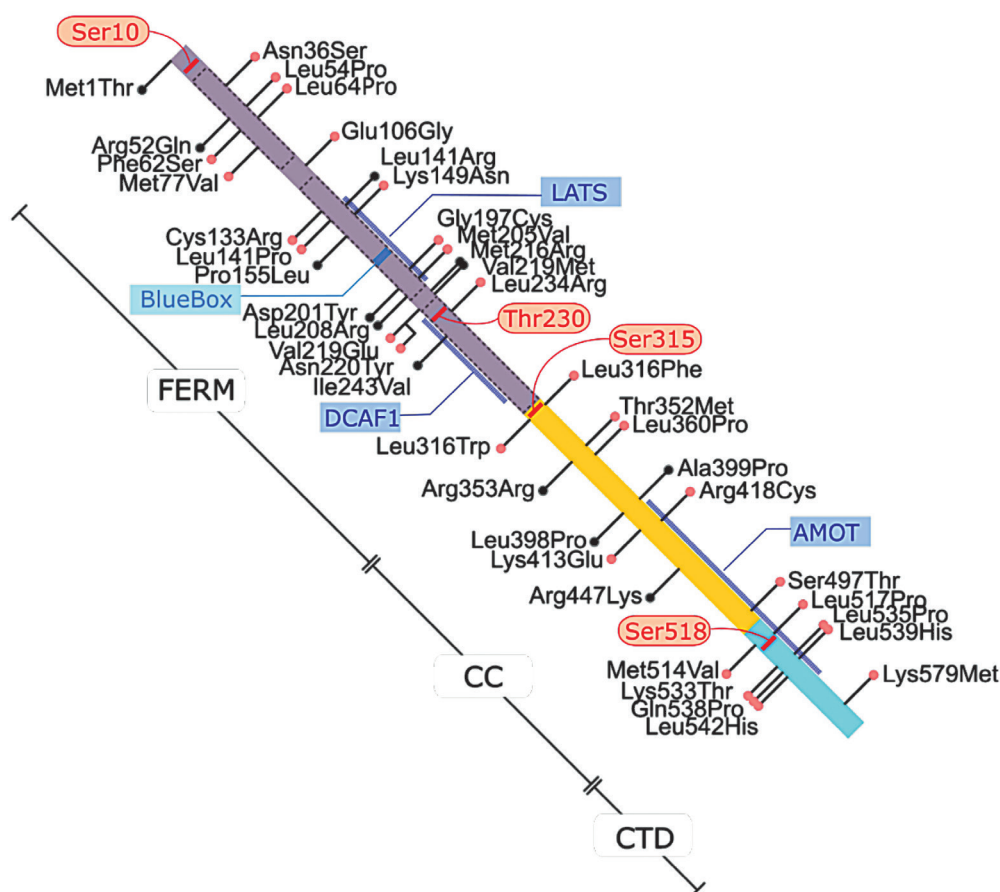
(не менее 60% от исходного объема) с высоким риском неврологического дефицита, (2) высокая распространенность опухолевого процесса, (3) гигантские ВШ у пациентов с сохранным слухом при невозможности выполнения слухосохраняющей операции [53].

При этом рекомендации, описывающие оптимальную продолжительность терапии бевацизумабом или условия, при которых прием препарата мог бы быть отменен или приостановлен, отсутствуют. Наибольшее описанное количество введений препарата пациенту с НФ-2 составило 144 (показанием для назначения бевацизумаба являлась большая эпендимома краниовертебрального перехода) [54].

Стереотаксическая лучевая терапия и хирургическое лечение остаются основными опциями терапии НФ-2-ассоциированных опухолей. Длительное время безопасность лучевой терапии в данной группе боль-

ных была предметом обсуждения ввиду риска злокачественной трансформации, однако по данным исследования 1348 пациентов с НФ-2, которым ранее проводилось радиохирургическое лечение, только у пяти отмечалась злокачественная трансформация, что сопоставимо с соответствующим риском в общей популяции [55, 56].

Среди опухолей центральной нервной системы наибольшие трудности вызывает лечение менингиом, так как бевацизумаб не эффективен для контроля их роста, а лучевое и хирургическое лечение не всегда применимы у пациентов с распространенным процессом и/или менингиоматозом. Широко обсуждается введение комбинаций с эверолимусом и/или лапатинибом, продемонстрировавших небольшую эффективность в отношении данной группы опухолей, однако большие рандомизированные контролируемые исследования в настоящее время отсутствуют [57, 58].



**Рис. 3.** Патогенные (розовый) и вероятно патогенные (серый) аминокислотные замены мерлина (на основании баз данных HGMD Professional, ClinVar и LOVD по состоянию на август 2021 г.) и их соответствие сайтам связывания (LATS, DCAF1, AMOT) и функциональным доменам: FERM домену, α-спиральному домену coiled-coil (CC) и С-терминальному домену (CTD). Красным шрифтом указаны известные сайты фосфорилирования мерлина. Рисунок авторов.



Динамическое наблюдение и определение симптомов динамических опухолей — основа лечения пациентов с НФ-2. Таким образом, так как для некоторых групп пациентов необходимо более частое наблюдение ввиду высокой скорости роста опухолей и генерализации процесса, Манчестерская предиктивная шкала может иметь важнейшее клиническое значение. Так, показано, что пациентам с типом 3 (наиболее тяжелое течение), требовалось более раннее проведение лучевой терапии и назначение бевацизумаба, в то время как пациентам с типами 1А, 1В и 2А системная терапия в большинстве случаев не требовалась [18].

Кохлеарная и стволовомозговая имплантация — неотъемлемая часть реабилитации пациентов с НФ-2. Во многих исследованиях показана безопасность проведения лучевой терапии у пациентов с кохлеарными имплантами, что создает предпосылки к более широкому применению данной технологии [59,60].

### Заключение

Несмотря на успехи современных диагностических и терапевтических подходов при НФ-2, своевременное выявление клинических случаев и лечение сопутствующих заболеванию фенотипических проявлений остаются актуальной медицинской проблемой.

Молекулярно-генетическая диагностика НФ-2 должна включать комплекс лабораторных исследований, охватывающих полный мутационный спектр и быть составлена с учетом вероятности наличия у пациента соматической мутации, не представленной в клетках крови.

Основу лечения НФ-2 составляет динамическое наблюдение, которое рекомендовано в том числе носителям патогенных мутаций в гене *NF2* до момента клинического дебюта заболевания.

Единые подходы к терапии ассоциированных с НФ-2 опухолей в настоящий момент отсутствуют. Большим потенциалом обладает Манчестерская предиктивная шкала, которая может существенно улучшить подходы к тактике лечения за счет стратификации и выделения групп риска.

Также в связи с ограниченной эффективностью бевацизумаба, необходимы большие клинические исследования и фундаментальные работы, направленные на поиск новых мишеней для таргетной терапии.

### Литература/References

1. Coy S., Rashid R., Stemmer-Rachamimov A., Santagata S. An update on the CNS manifestations of neurofibromatosis type 2. *Acta neuropathologica*. 2020 Apr;139(4):643-65.

2. Evans D.G., Hartley C.L., Smith P.T., et al. Incidence of mosaicism in 1055 de novo NF2 cases: much higher than previous estimates with high utility of next-generation sequencing. *Genetics in Medicine*. 2020 Jan;22(1):53-9.
3. Emmanouil B., Houston R., May A., et al. Progression of hearing loss in neurofibromatosis type 2 according to genetic severity. *The Laryngoscope*. 2019 Apr;129(4):974-80.
4. Gaudin R.A., Jowett N., Banks C.A., et al. Bilateral facial paralysis: a 13-year experience. *Plastic and reconstructive surgery*. 2016 Oct 1;138(4):879-87.
5. Gugel I., Grimm F., Teuber C., et al. Presenting symptoms in children with neurofibromatosis type 2. *Child's Nervous System*. 2020 Oct;36(10):2463-70.
6. Schroeder R.D., Angelo L.S., Kurzrock R. NF2/merlin in hereditary neurofibromatosis 2 versus cancer: biologic mechanisms and clinical associations. *Oncotarget*. 2014 Jan;5(1):67.
7. Kehrer-Sawatzki H., Kluwe L., Friedrich R.E., et al. Phenotypic and genotypic overlap between mosaic NF2 and schwannomatosis in patients with multiple non-intradermal schwannomas. *Human genetics*. 2018 Jul;137(6):543-52.
8. Forde C., King A.T., Rutherford S.A., et al. Disease course of neurofibromatosis type 2: a 30-year follow-up study of 353 patients seen at a single institution. *Neuro-oncology*. 2021 Jul;23(7):1113-24.
9. Gaudioso C., Listernick R., Fisher M.J., et al. Neurofibromatosis 2 in children presenting during the first decade of life. *Neurology*. 2019 Sep 3;93(10):e964-7.
10. Evans D.G., Freeman S., Gokhale C., et al. Bilateral vestibular schwannomas in older patients: NF2 or chance?. *Journal of medical genetics*. 2015 Jun 1;52(6):422-4.
11. Neurofibromatosis. NIH Consensus Statement Online 1987 Jul 13-15;6(12):1-19.
12. Evans D.G., Huson S.M., Donnai D., et al. A genetic study of type 2 neurofibromatosis in the United Kingdom. II. Guidelines for genetic counselling. *Journal of medical genetics*. 1992 Dec 1;29(12):847-52.
13. Evans D.G. Neurofibromatosis type 2. *Handbook of clinical neurology*. 2015 Jan 1;132:87-96.
14. Halliday D., Parry A., Evans D.G. Neurofibromatosis type 2 and related disorders. *Current opinion in oncology*. 2019 Nov 1;31(6):562-7.
15. Tamura R. Current Understanding of Neurofibromatosis Type 1, 2, and Schwannomatosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Jan;22(11):5850.
16. Evans D.G., King A.T., Bowers N.L., et al. Identifying the deficiencies of current diagnostic criteria for neurofibromatosis 2 using databases of 2777 individuals with molecular testing. *Genetics in Medicine*. 2019 Jul;21(7):1525-33.
17. Baser M.E., Friedman J.M., Joe H., et al. Empirical development of improved diagnostic criteria for neurofibromatosis 2. *Genetics in Medicine*. 2011 Jun;13(6):576-81.
18. Halliday D., Emmanouil B., Pretorius P., et al. Genetic Severity Score predicts clinical phenotype in NF2. *Journal of medical genetics*. 2017 Oct 1;54(10):657-64.
19. Chang L.S., Akhmametyeva E.M., Wu Y., et al. Multiple transcription initiation sites, alternative splicing, and differential polyadenylation contribute to the complexity of human neurofibromatosis 2 transcripts. *Genomics*. 2002 Jan 1;79(1):63-76.
20. Akhmametyeva E.M., Mihaylova M.M., Luo H., et al. Regulation of the neurofibromatosis 2 gene promoter expression during embryonic development. *Developmental dynamics*. 2006 Oct;235(10):2771-85.
21. Kino T., Takeshima H., Nakao M., et al. Identification of the cis-acting region in the NF2 gene promoter as a potential target for mutation and methylation-dependent silencing in schwannoma. *Genes to Cells*. 2001 May;6(5):441-54.
22. «UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021.» *Nucleic Acids Research* 49, no. D1 (2021): D480-D489.
23. Pertierra L.R., Hughes K.A., Vega G.C., Olalla-Tárraga M.Á. High resolution spatial mapping of human footprint across Antarctica and

- its implications for the strategic conservation of avifauna. *PLoS one*. 2017 Jan 13;12(1):e0168280.
24. Petrilli A.M., Fernández-Valle C. Role of Merlin/NF2 inactivation in tumor biology. *Oncogene*. 2016 Feb;35(5):537-48.
25. Gronholm M., Sainio M., Zhao F., et al. Homotypic and heterotypic interaction of the neurofibromatosis 2 tumor suppressor protein merlin and the ERM protein ezrin. *Journal of cell science*. 1999 Mar 15;112(6):895-904.
26. Michie K.A., Bermeister A., Robertson N.O., Goodchild S.C., Curmi P.M. Two sides of the coin: ezrin/radixin/moesin and merlin control membrane structure and contact inhibition. *International journal of molecular sciences*. 2019 Jan;20(8):1996.
27. Fiévet B., Louvard D., Arpin M. ERM proteins in epithelial cell organization and functions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2007 May 1;1773(5):653-60.
28. Cooper J., Giancotti F.G. Molecular insights into NF2/Merlin tumor suppressor function. *FEBS letters*. 2014 Aug 19;588(16):2743-52.
29. García-Ortiz A., Serrador J.M. ERM proteins at the crossroad of leukocyte polarization, migration and intercellular adhesion. *International journal of molecular sciences*. 2020 Jan;21(4):1502.
30. Nguyen R., Reczek D., Bretscher A. Hierarchy of merlin and ezrin N- and C-terminal domain interactions in homo- and heterotypic associations and their relationship to binding of scaffolding proteins EBP50 and E3KARP. *Journal of Biological Chemistry*. 2001 Mar 9;276(10):7621-9.
31. McClatchey A.I., Fehon R.G. Merlin and the ERM proteins—regulators of receptor distribution and signaling at the cell cortex. *Trends in cell biology*. 2009 May 1;19(5):198-206.
32. Shimizu T., Seto A., Maita N., et al. Structural basis for neurofibromatosis type 2: crystal structure of the merlin FERM domain. *Journal of Biological Chemistry*. 2002 Mar 22;277(12):10332-6.
33. Golovkina K., Blinov A., Akhmetova E.M., et al. Evolution and origin of merlin, the product of the Neurofibromatosis type 2 (NF2) tumor-suppressor gene. *BMC evolutionary biology*. 2005 Dec;5(1):1-8.
34. Kim J.E., Lee D.S., Kim T.H., et al. PLPP/CIN-mediated NF2-serine 10 dephosphorylation regulates F-actin stability and Mdm2 degradation in an activity-dependent manner. *Cell death & disease*. 2021 Jan 4;12(1):1-8.
35. Jin H., Sperka T., Herrlich P., Morrison H. Tumorigenic transformation by CPI-17 through inhibition of a merlin phosphatase. *Nature*. 2006 Aug;442(7102):576-9.
36. Laulajainen M., Muranen T., Carpen O., Grönholm M. Protein kinase A-mediated phosphorylation of the NF2 tumor suppressor protein merlin at serine 10 affects the actin cytoskeleton. *Oncogene*. 2008 May;27(23):3233-43.
37. Tang X., Jang S.W., Wang X., et al. Akt phosphorylation regulates the tumour-suppressor merlin through ubiquitination and degradation. *Nature cell biology*. 2007 Oct;9(10):1199-207.
38. Wei Y., Yee P.P., Liu Z., et al. NEDD4L-mediated Merlin ubiquitination facilitates Hippo pathway activation. *EMBO reports*. 2020 Dec 3;21(12):e50642.
39. Rong R., Surace E.I., Haipek C.A., et al. Serine 518 phosphorylation modulates merlin intramolecular association and binding to critical effectors important for NF2 growth suppression. *Oncogene*. 2004 Nov;23(52):8447-54.
40. Hong A.W., Meng Z., Plouffe S.W., et al. Critical roles of phosphoinositides and NF2 in Hippo pathway regulation. *Genes & development*. 2020 Apr 1;34(7-8):511-25.
41. Hikasa H., Sekido Y., Suzuki A. Merlin/NF2-Lin28B-let-7 is a tumor-suppressive pathway that is cell-density dependent and hippo independent. *Cell reports*. 2016 Mar 29;14(12):2950-61.
42. Primi M.C., Rangarajan E.S., Patil D.N., Izard T. Conformational flexibility determines the NF2/merlin tumor suppressor functions. *Matrix Biology Plus*. 2021 Dec 1;12:100074.
43. Li Y., Zhou H., Li F., et al. Angiotensin binding-induced activation of Merlin/NF2 in the Hippo pathway. *Cell research*. 2015 Jul;25(7):801-17.
44. Li W., You L., Cooper J., et al. Merlin/NF2 suppresses tumorigenesis by inhibiting the E3 ubiquitin ligase CRL4DCAF1 in the nucleus. *Cell*. 2010 Feb 19;140(4):477-90.
45. Mori T., Gotoh S., Shirakawa M., Hakoshima T. Structural basis of DDB 1-and-Cullin 4-associated Factor 1 (DCAF 1) recognition by merlin/NF 2 and its implication in tumorigenesis by CD 44-mediated inhibition of merlin suppression of DCAF 1 function. *Genes to Cells*. 2014 Aug;19(8):603-19.
46. Mori T., Kitano K., Terawaki S.I., Maesaki R., Fukami Y., Hakoshima T. Structural Basis for CD44 Recognition by ERM Proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 2008 Oct 24;283(43):29602-12.
47. Cui Y., Groth S., Troutman S., Carlstedt A., Sperka T., Riecken L.B., Kissil J.L., Jin H., Morrison H. The NF2 tumor suppressor merlin interacts with Ras and RasGAP, which may modulate Ras signaling. *Oncogene*. 2019 Sep;38(36):6370-81.
48. Blakeley J.O., Evans D.G., Adler J., Brackmann D., Chen R., Ferner R.E., Hanemann C.O., Harris G., Huson S.M., Jacob A., Kalamirides M. Consensus recommendations for current treatments and accelerating clinical trials for patients with neurofibromatosis type 2. *American journal of medical genetics Part A*. 2012 Jan;158(1):24-41.
49. Plotkin S., Tonsgard J., Ullrich N., Allen J., Blakeley J., Rosser T., Clapp D., Champion J., Fisher M., Cutter G., Korf B. Multicenter, phase 2 study of bevacizumab in children and adults with neurofibromatosis 2 and progressive vestibular schwannomas: an NF Clinical Trials Consortium study (S23. 004).
50. Soltys S.G., Milano M.T., Xue J., Tomé W.A., Yorke E., Sheehan J., Ding G.X., Kirkpatrick J.P., Ma L., Sahgal A., Solberg T. Stereotactic radiosurgery for vestibular schwannomas: Tumor control probability analyses and recommended reporting standards. *International Journal of Radiation Oncology\* Biology\* Physics*. 2021 May 1;110(1):100-11.
51. Gugel I., Zipfel J., Hartjen P., Kluwe L., Tatagiba M., Mautner V.F., Schuhmann M.U. Managing NF2-associated vestibular schwannomas in children and young adults: review of an institutional series regarding effects of surgery and bevacizumab on growth rates, tumor volume, and hearing quality. *Child's Nervous System*. 2020 Oct;36(10):2471-80.
52. Slusarz K.M., Merker V.L., Muzikansky A., Francis S.A., Plotkin S.R. Long-term toxicity of bevacizumab therapy in neurofibromatosis 2 patients. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2014 Jun 1;73(6):1197-204.
53. Lloyd S.K., Evans D.G. Neurofibromatosis type 2 service delivery in England. *Neurochirurgie*. 2018 Nov 1;64(5):375-80.
54. Nigro O., Tartaro T., Tuzi A., Giaquinto A., Suter M.B., Pinotti G. Long-term therapy with bevacizumab in a young patient affected by NF-2: a case report and review of the literature. *Anti-cancer drugs*. 2019 Mar 1;30(3):318-21.
55. Baser M.E., Evans D.G., Jackler R.K., Sujansky E., Rubenstein A. Neurofibromatosis 2, radiosurgery and malignant nervous system tumours. *British journal of cancer*. 2000 Feb;82(4):998.
56. Wentworth S., Pinn M., Bourland J.D., Deguzman A.F., Ekstrand K., Ellis T.L., Glazier S.S., McMullen K.P., Munley M., Stieber V.W., Tatter S.B. Clinical experience with radiation therapy in the management of neurofibromatosis-associated central nervous system tumors. *International Journal of Radiation Oncology\* Biology\* Physics*. 2009 Jan 1;73(1):208-13.
57. Osorio D.S., Hu J., Mitchell C., Allen J.C., Stanek J., Hagiwara M., Karajannis M.A. Effect of lapatinib on meningioma growth in adults with neurofibromatosis type 2. *Journal of Neuro-oncology*. 2018 Sep;139(3):749-55.
58. Thomas V.M., Bindal P., Vredenburg J.J. Everolimus and bevacizumab in the management of recurrent, progressive intracranial NF2 mutated meningioma. *Case reports in oncology*. 2019;12(1):126-30.
59. Halyur D.A., Rayanagoudar P.H., Kumar A., Dutt S.N. Neurofibromatosis 2: Primary Modality of Hearing Rehabilitation with Cochlear Implant. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2021 Jun 15:1-6.
60. Deep N.L., Patel E.J., Shapiro W.H., Waltzman S.B., Jethanambest D., McMenomey S.O., Roland Jr J.T., Friedmann D.R. Cochlear Implant Outcomes in Neurofibromatosis Type 2: Implications for Management. *Otology & Neurotology*. 2021 Apr 1;42(4):540-8.