

# Анализ ассоциации полиморфных локусов, расположенных в сайтах связывания микроРНК, с развитием рака молочной железы

Бермишева М.А.<sup>1,4</sup>, Гилязова И.Р.<sup>1,4</sup>, Зиннатуллина Г.Ф.<sup>2</sup>, Богданова А.А.<sup>3</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,4</sup>

- 1 — Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФБНУ Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 71
- 2 — ГАУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Башкортостан 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 73/1
- 3 — ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди 32
- 4 — ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная 7-9

Рак молочной железы (РМЖ) – многофакторное, генетически гетерогенное заболевание. Результаты многочисленных исследований доказали важную роль микроРНК в прогрессии опухолей. Гены микроРНК являются высоко консервативными, и считается, что любые варианты в этих последовательностях, а также сайтах связывания микроРНК в генах-мишенях находятся под отрицательным селективным давлением. Предполагается, что такие изменения могут быть связаны с повышенным риском развития рака. Наше исследование направлено на выявление генетических вариантов в сайтах связывания микроРНК с мишенью, ассоциированных с риском развития РМЖ. Проведен анализ полиморфных вариантов, расположенных в 3'-нетранслируемых регионах генов *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *RAD51*, *RAD52*, *MRE11A*, *NBN*, *ERBB4*, *PTEN* у больных РМЖ и в группе контроля. Определено, что полиморфные варианты rs11895168/*ERBB4* и rs7180135/*RAD51* ассоциированы с риском развития РМЖ.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, микроРНК, наследственная предрасположенность.

**Для цитирования:** Бермишева М.А., Гилязова И.Р., Зиннатуллина Г.Ф., Богданова А.А., Хуснутдинова Э.К. Анализ ассоциации полиморфных локусов, расположенных в сайтах связывания микроРНК, с развитием рака молочной железы. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 12-13.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.06.12-13

**Автор для корреспонденции:** Бермишева М.А.; e-mail: marina\_berm@mail.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-29-06014 ОФИ-м с использованием образцов ДНК ЦКП «Коллекция биологических материалов человека» №007-030164/2.

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

**Поступила:** 20.05.2020

## MicroRNA-binding site polymorphisms and risk of breast cancer

Bermisheva M.A.<sup>1,4</sup>, Gilyazova I.R.<sup>1,4</sup>, Zinnatullina G.F.<sup>2</sup>, Bogdanova A.A.<sup>3</sup>, Khusnutdinova E.K.<sup>1,4</sup>

- 1 — Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences Prospekt Oktyabrya 71, Ufa, 450054, Russia
- 2 — Republic Clinical Oncological Center of Bashkortostan Republic Prospekt Oktyabrya 73/1, Ufa, 450054, Russia
- 3 — Bashkir State University Zaki Validi st., 32, Ufa, 450076, Russia
- 4 — St Petersburg University Universitetskaya Emb. 7-9, St Petersburg 199034, Russia

Breast cancer (BC) is a complex, genetically heterogeneous disease. The results of numerous studies have proven the important role of miRNA in tumor progression. miRNA sequences are highly conserved. Any variants in these sequences as well as the binding sites of miRNA in the target genes are supposed to be under negative selective pressure. miRNA that alter the expression of genes have been identified to play a significant role in BC regulation. The present study is aimed at investigating the involvement of SNPs in miRNA-binding sites as risk factors for the development of BC. A case - control study was performed to evaluate genetic variants of *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *RAD51*, *RAD52*, *MRE11A*, *NBN*, *ERBB4*, *PTEN* genes as BC risk factors. The results of the present study suggest that genetic variants rs11895168 / *ERBB4* and rs7180135 / *RAD51* are associated with breast cancer risk.

**Keywords:** breast cancer, microRNA, genetic predisposition.

**For citation:** Bermisheva M.A., Gilyazova I.R., Zinnatullina G.F., Bogdanova A.A., Khusnutdinova E.K. MicroRNA-binding site polymorphisms and risk of breast cancer. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 12-13 (In Rus)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.06.12-13

**Corresponding author:** *Bermisheva M.A.*; e-mail: marina\_berm@mail.ru

**Funding.** This work was supported of the Russian Foundation of Basic Research no. 17-29-06014 ofi\_m, and the Program for the Development of Bioresource Collections no. 007-030164/2.

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

**Accepted:** 20.05.2020

**И**зучение биологической роли микроРНК в патогенезе РМЖ является актуальным направлением молекулярно-генетических исследований. Полиморфные варианты, расположенные в регуляторных областях генов, в сайтах связывания микроРНК или в локусах количественных признаков, играют большую роль в функционировании и фенотипическом проявлении генов.

### Материалы и методы

Исследование проводилось в группах сравнения «случай/контроль». В работе использовали образцы ДНК 858 пациенток с РМЖ, проходивших лечение в ГБУЗ РКОД МЗ РБ г.Уфы и ГБУЗ РБ КБ №1 г. Стерлитамак РБ (2000–2013 гг.), а также 793 женщин без онкологической патологии в анамнезе. Участники дали информированное согласие на проведение исследования.

ДНК выделяли из венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных вариантов, расположенных в 3'-нетранслируемых регионах генов *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *RAD51*, *RAD52*, *MRE11A*, *NBN*, *ERBB4*, *PTEN* и др. проводилось с использованием технологии QuantStudio™ 12K Flex RT PCR System. Распределение частот генотипов изученных локусов в контрольной группе проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Для статистической обработки данных использовали программу SNPStats. Различия при статистическом критерии  $p < 0,05$  оценивались как значимые.

### Результаты

Установлено, что у женщин с генотипом AA полиморфного варианта rs11895168 увеличивается риск развития РМЖ (рецессивная модель CC + AC / AA, OR = 1,65, CI 1,20–2,25;  $p = 0,0015$ ). Полиморфный вариант rs11895168 A>C, расположен в 3'-нетранслируемой области гена *ERBB4* (рецептор тирозинкиназы 4). Данный сайт является местом взаимодействия для нескольких микроРНК, таких как hsa-miR-1276, hsa-miR-4311, hsa-miR-583 (аллель T) и hsa-miR-4797-5p, hsa-miR-6501-3p (аллель G). Анализ *in silico* показывает, что замена A>C rs11895168 приводит к ослаблению взаимодействия микроРНК 1267 с мРНК гена-мишени *ERBB4*, что в свою очередь может приводить к снижению подавления функции *ERBB4*. Относительно мало известно о биологической роли ErbB4 в развитии рака молочной железы. В одной из работ продемонстрировано, что ErbB4 играет ключевую роль в выживании раковых клеток ERBB2+ после развития у них устойчивости к ингибиторам ERBB2 лапатинибу и трастузумабу [1].

Выявлена ассоциация аллелей и генотипов полиморфного локуса *RAD51* rs7180135 с риском развития РМЖ. Согласно доминантной модели генотипы AG+GG связаны с повышенным риском РМЖ (OR = 1,24, CI 1,02–1,51;  $p = 0,03$ ). При рецессивной модели у носителей генотипа GG увеличивается риск развития заболевания (OR = 1,44,  $p = 0,03$ ). rs7180135 A>G расположен в 3'-нетранслируемой области гена *RAD51*, ключевого участника процесса репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации. Показано, что экспрессия *RAD51* увеличивается при метастатической карциноме молочной железы, указывая на его важную роль в канцерогенезе молочной железы. При различных типах опухолей избыточная экспрессия *RAD51* также связана с более агрессивным фенотипом рака и устойчивостью к лечению, тогда как подавление *RAD51* снижает способность к восстановлению поврежденной ДНК и повышает чувствительность к химиотерапии и лучевой терапии [2]. *RAD51* rs7180135 играет потенциально защитную роль при раке мочевого пузыря и связан с лучшей выживаемостью пациентов [3]. miR-197 сильнее связывается с аллелем G, и это связывание снижает экспрессию *RAD51* [3]. Несколько исследований показали дифференциальную экспрессию miR-197 среди типов рака: повышение экспрессии при плоскоклеточной карциноме языка и РМЖ у мужчин и понижение экспрессии при раке желудка. На основании результатов этих исследований было сделано предположение, что полиморфный вариант *RAD51* rs7180135 вызывает функциональные изменения, а miR-197 или другие микроРНК могут регулировать *RAD51* посредством связывания miR197-мРНК.

Результаты нашего исследования показали, что полиморфные локусы, расположенные в сайтах связывания микроРНК с мишенью, ассоциированы с риском развития опухолей молочной железы, хотя их роль в процессе канцерогенеза еще предстоит изучить.

### Литература/References

1. Canfield K., Li J., Wilkins O.M. et al. Receptor tyrosine kinase ERBB4 mediates acquired resistance to ERBB2 inhibitors in breast cancer cells *Cell Cycle* 2015; 14(4): 648–655.
2. Zhu L., Sturgis E.M., Lu Zh. et al. Association between miRNA-binding site polymorphisms in double-strand break repair genes and risk of recurrence in patients with squamous cell carcinomas of the non-oropharynx. *Carcinogenesis* 2017; 38(4): 432–438.
3. Teo M.T., Landi D., Taylor C.F. et al. The role of microRNA-binding site polymorphisms in DNA repair genes as risk factors for bladder cancer and breast cancer and their impact on radiotherapy outcomes. *Carcinogenesis* 2012; (33): 581–586.