НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

NEW TECHNOLOGIES

Мутационный профиль генома нормальных и опухолевых клеток у больного множественной миеломой (клиническое наблюдение)

А.С. Жук[1], И.И. Кострома[2], Е.И. Степченкова[3,4], Д.В. Качкин[3], О.Б. Белопольская[5], И.В. Зотова[3,4], А.Д. Гарифуллин[2], С.В. Волошин[2,6], С.В. Грицаев[2], А.Ю. Аксенова[3]

[1] ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Кронверкский пр-т, д. 49, лит. А, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197101

[2] ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

[3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034

[4] ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН», Санкт-Петербургский филиал, Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034

[5] РЦ «Центр Биобанк», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034

[6] ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, ул. Академика Лебедева, д. 6, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194044

Mutation Profile of Normal and Tumor Cells in a Patient with Multiple Myeloma: A Case Report

AS Zhuk[1], II Kostroma[2], EI Stepchenkova[3,4], DV Kachkin[3], OB Belopolskaya[5], IV Zotova[3,4], AD Garifullin[2], SV Voloshin[2,6], SV Gritsaev[2], AYu Aksenova[3]

[1] ITMO National Research University, 49 lit. A Kronverkskii pr-t, Saint Petersburg, Russian Federation, 197101

[2] Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 16 2-ya Sovetskaya ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

[3] Saint Petersburg State University, 7/9 Universitetskaya nab., Saint Petersburg, Russian Federation, 199034

[4] NI Vavilov Institute of General Genetics, Saint Petersburg branch, 7/9 Universitetskaya nab., Saint Petersburg, Russian Federation, 199034

[5] Bio-Bank Resource Center, Saint Petersburg State University, 7/9 Universitetskaya nab., Saint Petersburg, Russian Federation, 199034

[6] SM Kirov Military Medical Academy, 6 Akademika Lebedeva ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 194044

РЕФЕРАТ*

В настоящем исследовании представлено клиническое наблюдение больного с впервые диагностированной множественной миеломой (ММ), у которого до начала лечения проведено секвенирование экзома лимфоцитов периферической крови и опухолевых плазматических клеток CD138+. У пациента выявлено несколько

ABSTRACT*

This paper is a case report of a patient with newly diagnosed multiple myeloma (MM) who underwent exome sequencing of peripheral blood lymphocytes and CD138+ tumor plasma cells prior to therapy. This patient showed some inherited genetic variants which are associated with underlying risk for MM. This patient's genotype was reported to

* Редакционная коллегия журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика» оставляет за собой право на принципиально иную интерпретацию результатов секвенирования нового поколения (NGS) с учетом международных рекомендаций (ACMG/AMP, doi: 10.1038/gym.2015.30) и отечественного руководства (https://mgs.med-gen.ru/) для клинического применения. Несмотря на существенные расхождения с личной точкой зрения авторов, редколлегия журнала сочла возможным опубликовать представленную статью.

* The editorial board of the "Clinical Oncohematology. Fundamental Studies and Clinical Practice" reserves the right to independently interpret the results of next-generation sequencing (NGS) in line with international recommendations (ACMG/AMP, doi: 10.1038/gym.2015.30) and national guidelines (https://mgs.med-gen.ru/) for clinical use. Despite considerable points of divergence with personal views of the authors, the editorial board of the journal finds it possible to publish the present paper.

наследуемых вариантов в генах, связанных с предрасположенностью к ММ. В генотипе у пациента обнаружены варианты в генах, отвечающих за репарацию ДНК, в т. ч. наследуемые мутации в генах *RFDW3* и *TP53*. Они участвуют в регуляции стабильности генома, скорости накопления соматических мутаций, в т. ч. структурных перестроек и хромосомных аберраций. На нарушение процессов репарации ДНК у пациента указывает большое количество структурных вариаций и наличие мутационной подписи ID6 в генетическом материале опухоли. Анализ экзома опухолевых клеток позволил определить профиль соматических мутаций, включающий мутации в генах, ранее считавшихся связанными с ММ, а также оценить функциональную значимость выявленных нарушений. Кроме того, среди соматических мутаций мы обнаружили повреждающие (в отношении белка) мутации и мутации высокой значимости в генах, связанных с развитием других типов опухолей, в частности в генах *ASCC3, TET3* и *CHD1,* а также в генах, кодирующих антимикробные пептиды *CAMP* и *HTN3*. За исключением дополнительной копии плеча 1q в геноме опухолевых плазматических клеток, у пациента не установлено других генетических факторов риска, связанных с неблагоприятным течением заболевания. У больного выявлены наследуемые (мутации в гене *ABCB1*) и соматические (трисомия по хромосоме 3) изменения генетического материала, которые характеризуются, по данным литературы, как факторы положительного прогноза при ММ.

Ключевые слова: множественная миелома, секвенирование нового поколения, экзом, наследуемые мутации, соматические мутации.

have some variants in the DNA repair genes, including inherited mutations in the *RFDW3* and *TP53* genes. They are involved in the maintenance of genome stability and accumulation rate of somatic mutations, including structural rearrangements and chromosome aberrations. A large number of structural variations and mutational signature ID6 in the tumor genetic material point to the disruption of DNA damage repair. The tumor cell exome analysis yielded a profile of somatic mutations, also the mutations in the genes previously associated with MM, as well as a functional significance of the detected abnormalities. Somatic mutations also included damaging protein mutations and highly significant mutations in the other tumor-associated genes, such as *ASCC3, TET3,* and *CHD1,* as well as in the antimicrobial peptide-coding genes *CAMP* and *HTN3*. With the exception of an extra copy of 1q arm in the tumor plasma cell genome, the patient showed no genetic risk factors associated with poor prognosis of the disease. Based on literature, inherited (*ABCB1* mutations) and somatic (trisomy 3) variations detected in the patient's genetic material can be characterized as positive prognostic factors in MM.

Keywords: multiple myeloma, next-generation sequencing, exome, inherited mutations, somatic mutations.

Получено: 12 августа 2022 г.
Принято в печать: 19 октября 2022 г.

Для переписки: Елена Игоревна Степченкова, канд. биол. наук, Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034; тел.: +7(905)282-57-72; e-mail: stepchenkova@gmail.com

Для цитирования: Жук А.С., Кострома И.И., Степченкова Е.И. и др. Мутационный профиль генома нормальных и опухолевых клеток у больного множественной миеломой (клиническое наблюдение). Клиническая онкогематология. 2023;16(3):337–49.

DOI: 10.21320/2500-2139-2023-16-3-337-349

Received: August 12, 2022
Accepted: October 19, 2022

For correspondence: Elena Igorevna Stepchenkova, PhD in Biology, 7/9 Universitetskaya nab., Saint Petersburg, Russian Federation, 199034; Tel.: +7(905)282-57-72; e-mail: stepchenkova@gmail.com

For citation: Zhuk AS, Kostroma II, Stepchenkova EI, et al. Mutation Profile of Normal and Tumor Cells in a Patient with Multiple Myeloma: A Case Report. Clinical oncohematology. 2023;16(3):337–49. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2023-16-3-337-349

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) является одним из самых распространенных онкогематологических заболеваний, которое характеризуется малигнизацией плазматических клеток в костном мозге и сопровождается рядом патологических процессов, ведущих к поражению костей скелета, развитию почечной недостаточности и тяжелой анемии. Несмотря на то что в последние годы наметился очевидный прогресс в улучшении показателей общей выживаемости (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП), ММ по-прежнему остается неизлечимым заболеванием и на определенном этапе развиваются рецидивы. Одной из причин рецидивов ММ служит высокая генетическая пластичность генома опухолевых плазматических клеток [1], благодаря которой они приобретают устойчивость к противоопухолевым лекарственным препаратам, а также способность ускользать от иммунного надзора и не отвечать на сигналы, регулирующие клеточную пролиферацию. Мутагенные процессы, проходящие с высокой интенсивностью в клетках ММ, приводят к накоплению большого количества разнообразных генетических нарушений, таких как однонуклеотидные замены и

вставки/выпадения, изменения копийности фрагментов и целых хромосом, хромосомные перестройки и изменение плоидности. Благодаря развитию технологии секвенирования нового поколения (NGS) было показано, что профиль генетических нарушений, выявляемых в опухолях у разных пациентов и в разных клетках опухоли у одного пациента, существенно отличается. С высокой генетической гетерогенностью ММ связывают различия в течении заболевания и характере ответа на лечение у различных больных. Несмотря на очевидный прогресс в изучении ММ, острой проблемой остается нехватка данных о молекулярно-генетических механизмах развития заболевания, позволяющих применять информацию о выявляемых у пациента тех или иных генетических нарушениях, а также их сочетаниях для прогнозирования рисков и подбора оптимального лечения [2].

При ММ описано как минимум 63 драйверных гена, участвующих в канцерогенезе заболевания [3], однако применение этих данных в клинической практике представляет нетривиальную задачу. Геном каждой конкретной опухоли несет множество мутаций, которые можно условно подразделить на три группы по принципу их влияния на развитие заболевания:

- первая — это мутации, которые инициируют развитие заболевания (так называемые драйверные мутации);
- вторая — это мутации в мутаторных генах, которые повышают скорость накопления изменений в геноме;
- третья — нейтральные, или «пассажирские», мутации, которые возникают в результате повышения скорости (темпа) мутагенеза в клетках ММ, но сами по себе не влияют на развитие опухоли.

В настоящей публикации мы подробно описываем результаты использования технологии NGS для выявления наследуемых и соматических опухолеспецифических мутаций, включая структурные изменения у пациента с впервые диагностированной ММ. В работе проведен анализ данных NGS с учетом их влияния на лечение пациента и потенциальный прогноз развития заболевания.

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ

Больному А.Е., 81 год, в мае 2019 г. по причине некорригируемой приемом препаратов железа и инъекциями витамина B_{12} анемии было проведено комплексное обследование. Данных за опухолевое заболевание не получено. Однако в костномозговом пунктате выявлено 37 % плазматических клеток, которые по результатам проточной цитофлюориметрии имели клональный иммунофенотип. По данным МРТ в костях черепа и таза обнаружены множественные очаги остеолиза диаметром до 1,0–1,5 см. Показатели функции почек в пределах нормальных значений. Диагностирована симптоматическая множественная миелома IgGκ, стадия I по шкале ISS. Из сопутствующих заболеваний, наличие которых принимали во внимание при выборе лечебного пособия, следует отметить пароксизмальную форму мерцательной аритмии и смешанную форму бронхиальной астмы средней степени тяжести вне обострения. Фракция выброса левого желудочка составляла 68 %.

После постановки диагноза и перед началом терапии у больного были взяты образцы периферической крови и аспирата костного мозга для последующего секвенирования экзома лимфоцитов периферической крови и опухолевых плазматических клеток пунктата костного мозга.

С июня 2019 г. инициирована специфическая терапия по схеме VCD (бортезомиб, циклофосфамид, дексаметазон). После 4 курсов специфической терапии констатирована положительная динамика снижения парапротеина с начальных 26,35 до 6,08 г/л. Редукция на 76 % расценена как достижение частичного ответа. Лечение продолжено и в декабре 2019 г., когда после 2 дополнительных курсов по схеме VCD уровень парапротеина составил 2,63 г/л. Больной был переведен на поддерживающую двухкомпонентную терапию VD (бортезомиб и дексаметазон) с увеличением межкурсового интервала до 3 мес. Начиная с сентября 2020 г. зафиксировано незначительное повышение продукции парапротеина до 5,23 г/л, которое в декабре 2020 г. достигло уже показателя 9,01 г/л. Данное состояние было расценено как прогрессирование ММ, в связи с чем с марта 2021 г. больной был переведен на вторую линию терапии по схеме RVd (леналидомид, бортезомиб и дексаметазон). После 3 курсов констатирована положительная динамика со снижением продукции парапротеина до 3,75 г/л, т. е. снижение на 58 % от исходного. Терапия продолжена. Следует отметить, что активизация заболевания не сопровождалась появлением новых очагов деструкции в костной ткани.

С сентября 2021 г. в связи со стабильно сохраняющейся минимальной активностью ММ пациент переведен на поддерживающую терапию леналидомидом в режиме монотерапии: по 25 мг внутрь с 1-го по 21-й день каждые 28 дней цикла. Переносимость удовлетворительная. По результатам биохимического мониторинга продукция парапротеина во временно́м интервале с сентября 2021 г. по апрель 2022 г. находится в диапазоне 3,2–4,5 г/л.

Для исследования молекулярно-генетических механизмов, которые могли сыграть инициирующую роль в развитии ММ, и определения основных факторов, влияющих на течение заболевания, было проведено секвенирование полного экзома лимфоцитов периферической крови и плазматических клеток CD138+ костного мозга больного. При анализе опухолевых образцов и образцов крови мы использовали 224,9 и 216,4 млн коротких прочтений длиной 150 пар оснований (п.о.) соответственно, полученных на приборе Illumina Hiseq4000 (рис. 1). Выравнивание на геном человека версии GRC38 для опухолевых и нормальных клеток составило 99,8 % с уровнем ошибки 0,41 %. Уровень ошибки определяется как отношение числа неспаренных нуклеотидов к числу выровненных оснований. Среднее покрытие для опухолевых и нормальных клеток составляло ×267 и ×260, которое было определено без учета дуплицированных коротких прочтений. Половина экзома имела покрытие ×200. Статистика выравнивания выполнена с использованием нескольких инструментов: samtools, picard, qualimap.

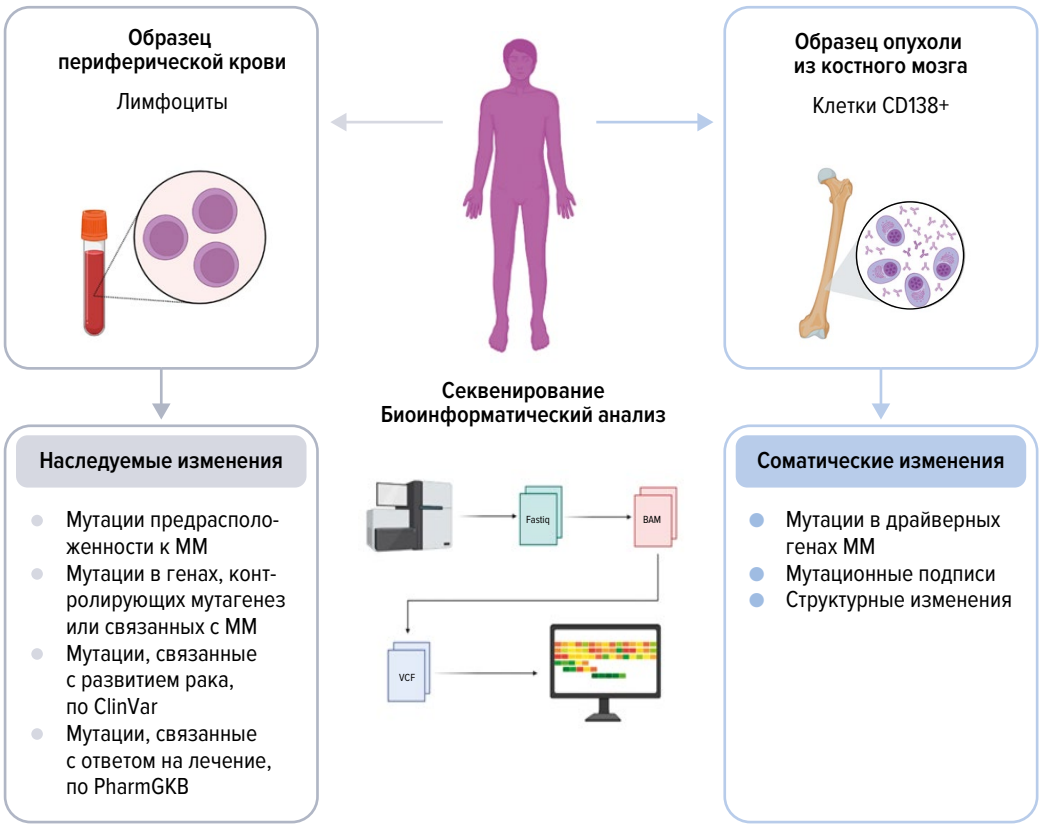

Рис. 1. Схема эксперимента. У пациента с впервые диагностированной множественной миеломой (ММ) проводили забор периферической крови и аспирата костного мозга. Затем методом NGS секвенировали экзом лимфоцитов крови и плазматических клеток CD138+. В ходе биоинформатического анализа данных NGS выявляли наследуемые и соматические мутации, структурные перестройки и мутационные подписи

Fig. 1. Experimental design. Peripheral blood and bone marrow aspirate were collected from a patient with newly diagnosed multiple myeloma (MM). Then, the exome of blood lymphocytes and CD138+ plasma cells were sequenced by NGS. Bioinformatics analysis of NGS data yielded inherited and somatic mutations as well as structural rearrangements and mutational signatures

Анализ данных секвенирования генома лимфоцитов крови позволил выявить следующие наследуемые генетические нарушения: а) однонуклеотидные замены, связанные с предрасположенностью к ММ; б) однонуклеотидные замены, связанные с развитием других онкологических заболеваний и аннотированные в базе данных ClinVar; в) различные мутации в генах, регулирующих стабильность генома (генах репликации, репарации, метаболизма ксенобиотиков и т. п.), а также в генах, связанных с предрасположенностью к ММ или характером течения болезни; г) однонуклеотидные замены, связанные с ответом на лечение и чувствительностью к противоопухолевым препаратам, применяемым у пациентов с ММ, с использованием данных из базы PharmGKB (см. рис. 1). Секвенирование экзома плазматических клеток CD138+ позволило выявить генетические нарушения, возникшие непосредственно в опухолевых клетках до начала лечения: а) однонуклеотидные замены в драйверных генах, связанных с развитием ММ; б) структурные нарушения; в) мутационные подписи (см. рис. 1).

Наследуемые мутации, обнаруженные у пациента с впервые диагностированной ММ

В результате анализа данных NGS нормальных клеток периферической крови установлено, что у пациента имелось более 33 000 различных наследуемых вариантов, из них около 1850 мутаций в генах, вовлеченных в процесс сохранения стабильности генома или связанных с предрасположенностью к ММ и ее развитием. У больного выявлено 4 наследственных варианта, которые ранее считались связанными с предрасположенностью к ММ или моноклональной гаммапатии неясного генеза: rs3793616, rs7193541, rs755017, rs1052501 (табл. 1). Один из них является гомозиготной миссенс-мутацией и затрагивает ген *RFDW3*. Особое значение это наблюдение приобретает в связи с тем, что у пациента также была обнаружена гомозиготная миссенс-мутация в гене *TP53* (rs1042522, 215C→G), приводящая к замене Pro72Arg. Гены *RFDW3* и *TP53* кодируют белки, участвующие в регуляции репарации ДНК и контроле клеточного цикла. RFDW3 является E3-убиквитин-лигазой, контролирующей работу путей репарации межмолекулярных сшивок в ДНК и гомологичной рекомбинации (FA- и HR-путей). Кроме того, RFDW3 участвует в контроле перезапуска репликации ДНК после остановки реплисомы напротив повреждений, а также в регуляции активности p53 [4].

Ген *TP53*, кодирующий онкосупрессор p53, является одним из важнейших регуляторов клеточного цикла и осуществляет координацию между репарацией ДНК и клеточным циклом. Мутации в генах

Таблица 1. Наследуемые варианты в генах, связанных с предрасположенностью к ММ или влияющих на ее развитие, обнаруженные у пациента с ММ

Ген	Функция продукта гена	rsID	Тип мутации	Замена в белке
NDUFA8	НАД(Н) дегидрогеназа и оксидоредуктаза, участвует в переносе электронов с НАД(Н) на дыхательную цепь	rs3793616	216–26G→T (ГМЗ)	Интрон
RFWD3	Е3-убиквитин-лигаза, убиквитинирует и стабилизирует p53, регулируя таким образом остановку клеточного цикла на стадии G1/S в ответ на повреждение ДНК; мутации в гене *RFWD3* связаны с анемией Фанкони	rs7193541	1690A→G (ГМЗ)	Ile564Val
ZBTB46	Предполагаемый регулятор транскрипции РНК-полимеразой II; предположительно белок участвует в регуляции дифференцировки лейкоцитов и является частью хроматина	rs755017	489T→C (ГТЗ)	Синонимичная мутация
ULK4	Псевдокиназа с предполагаемой ролью в функционировании центросомы; заболевания, связанные с *ULK4*, включают шизофрению и биполярное расстройство	rs1052501	1624G→A (ГТЗ)	Ala542Thr

ГМЗ — гомозигота; ГТЗ — гетерозигота; ММ — множественная миелома; НАД(Н) — никотинамидадениндинуклеотид.

RFDW3 и *TP53* могут влиять на стабильность генома и накопление мутаций, которые в итоге могут способствовать онкотрансформации клетки. Замена T на C в полиморфном сайте rs7193541 *RFDW3* приводит к замене Ile564Val в белке в функционально-значимом WD2-повторе, мутации в котором могут блокировать взаимодействие RFWD3 с RPA [5]. Известно, что вариант rs7193541 связан с развитием ММ (у носителей отмечались снижение экспрессии *RFWD3* и изменения в метилировании этого гена), а также с развитием рака печени [1, 6–8]. Вариант rs1042522 (генотип GG, а также в некоторых случаях GC) в гене *TP53* классифицируется как патогенный в соответствии с базой ClinVar и связан с развитием ряда опухолевых заболеваний, таких как остеогенная саркома, рак простаты, гематологические злокачественные опухоли [9–13].

Необходимо отметить, что белок p53, несущий аргинин в позиции 72, имеет ряд функциональных отличий по сравнению с вариантом, который несет пролин. Он менее эффективно связывается отрицательными регуляторами iASPP, лучше фосфорилируется по N-концу и хуже инактивируется MDM2, а также эффективнее активирует апоптоз [14, 15]. Вопрос о связи rs1042522 с риском развития ММ пока не имеет прямого ответа [16, 17], хотя и показано, что генотип CC связан с худшими показателями ОВ и ВБП и плохим ответом на лечение талидомидом в японской популяции пациентов с ММ [18].

Мы также обнаружили ряд других изменений, затрагивающих гены *TP53* и *RFWD3*. В частности, пациент является гетерозиготой по rs17880847 (*TP53*, интрон), rs59758982 (*TP53*, интрон), гомозиготой по rs1625895 (*TP53*, интрон), rs1642785 (*TP53*, интрон), rs8058922 (*RFWD3*, миссенс-мутация 269C→A Thr90Asn), rs7188880 (*RFWD3*, синонимичная мутация 1623T→A) и rs4888262 (*RFWD3*, синонимичная мутация 1212G→A). Сообщения об этих мутациях в базе ClinVar отсутствуют. Среди выявленных вариантов в гетерозиготном состоянии была обнаружена миссенс-мутация rs1052501 в гене *ULK4* (см. табл. 1), которая повышает риск развития ММ, а также моноклональной гаммапатии неясного генеза [19]. Обнаруженный вариант связывают с семейными случаями развития ММ [20].

Помимо генов и генетических вариантов, связанных с ММ, у пациента выявлено около 40 наследуемых однонуклеотидных замен, которые аннотированы в базе ClinVar как варианты риска или варианты, связанные с различными патологическими состояниями. Среди них мы выделили несколько вариантов, связанных с развитием рака. К ним относятся гомозиготные варианты rs1051730 в гене *CHRNA3* (синонимичная замена), связанный с раком легкого, и rs1799796 (замена в интроне) в гене *KLC1*, связанный с раком молочной железы. Другим интересным вариантом является представленный у пациента в гетерозиготном состоянии rs1805010, который затрагивает ген *IL4R*, кодирующий рецептор интерлейкина-4. Вариант rs1805010 является миссенс-мутацией и приводит к замене в белке Ile75Val во внеклеточной части рецептора. Такой вариант белка является более активным и приводит к стойкому фосфорилированию фактора транскрипции STAT6 и его аномальной активации [21].

Вариант rs1805010 был ранее описан как связанный с аутоиммунными и воспалительными заболеваниями. Кроме того, он ассоциируется с некоторыми видами злокачественных опухолей [22, 23]. Необходимо отметить, что активация транскрипционных факторов STAT тесно коррелирует с развитием различных типов рака [24]. Мутации в гене *STAT6* были найдены в клеточных линиях ММ [25]. Кроме этих замен мы обнаружили две мутации в гомозиготном состоянии в гене *ALK*, кодирующем тирозинкиназу: rs1881421 (миссенс-мутация 4587C→G, Asp1529Glu) и rs1670283 (миссенс-мутация 4381A→G, Ile1461Val). Мутации в гене *ALK*, включая указанные варианты, часто находят в различных опухолях, однако вопрос о значимости их связи с канцерогенезом до сих пор не решен из-за высокой распространенности данных вариантов в популяции.

Для более детального изучения особенностей молекулярно-генетического профиля пациента был проведен дополнительный анализ экзома нормальных клеток и осуществлен поиск не только однонуклеотидных замен, связанных с предрасположенностью к ММ, но и мутаций в других генах, в которых часто возникают соматические мутации при ММ, включая гены репарации, репликации и рекомбинации ДНК. Изменения в таких генах могут влиять на стабильность генома, провоцировать мутационную лабильность генома и таким образом вносить вклад в процесс

эволюции опухоли. Из более 33 000 различных выявленных у пациента наследуемых вариантов обнаружено около 1850 мутаций, затрагивающих гены, вовлеченные в процесс поддержания стабильности генома или связанные с предрасположенностью к ММ. Из них выделили миссенс-мутации с предсказанным алгоритмами SIFT и PolyPhen патогенным потенциалом (в отношении белка) в гомо- и гетерозиготном состоянии, гомозиготные миссенс-мутации (мутации средней значимости), а также мутации с высоким повреждающим белок потенциалом, к которым отнесли мутации сдвига рамки считывания, преждевременный стоп-кодон и др. (мутации высокой значимости) в гомо- и гетерозиготном состоянии (рис. 2). В частности, мы обнаружили варианты средней значимости в гомозиготном состоянии в генах *USP45* (rs6570065) и *EP300* (rs20551) и потенциально патогенную миссенс-мутацию rs7744845 в гене *USP45* в гетерозиготном состоянии. Мутации в этих генах ранее были выявлены при анализе случаев семейной предрасположенности к ММ [26, 27]. Оказалось, что у пациента имелась гомозиготная мутация высокой значимости в гене *FOLR3*, связанном с ММ (см. рис. 2).

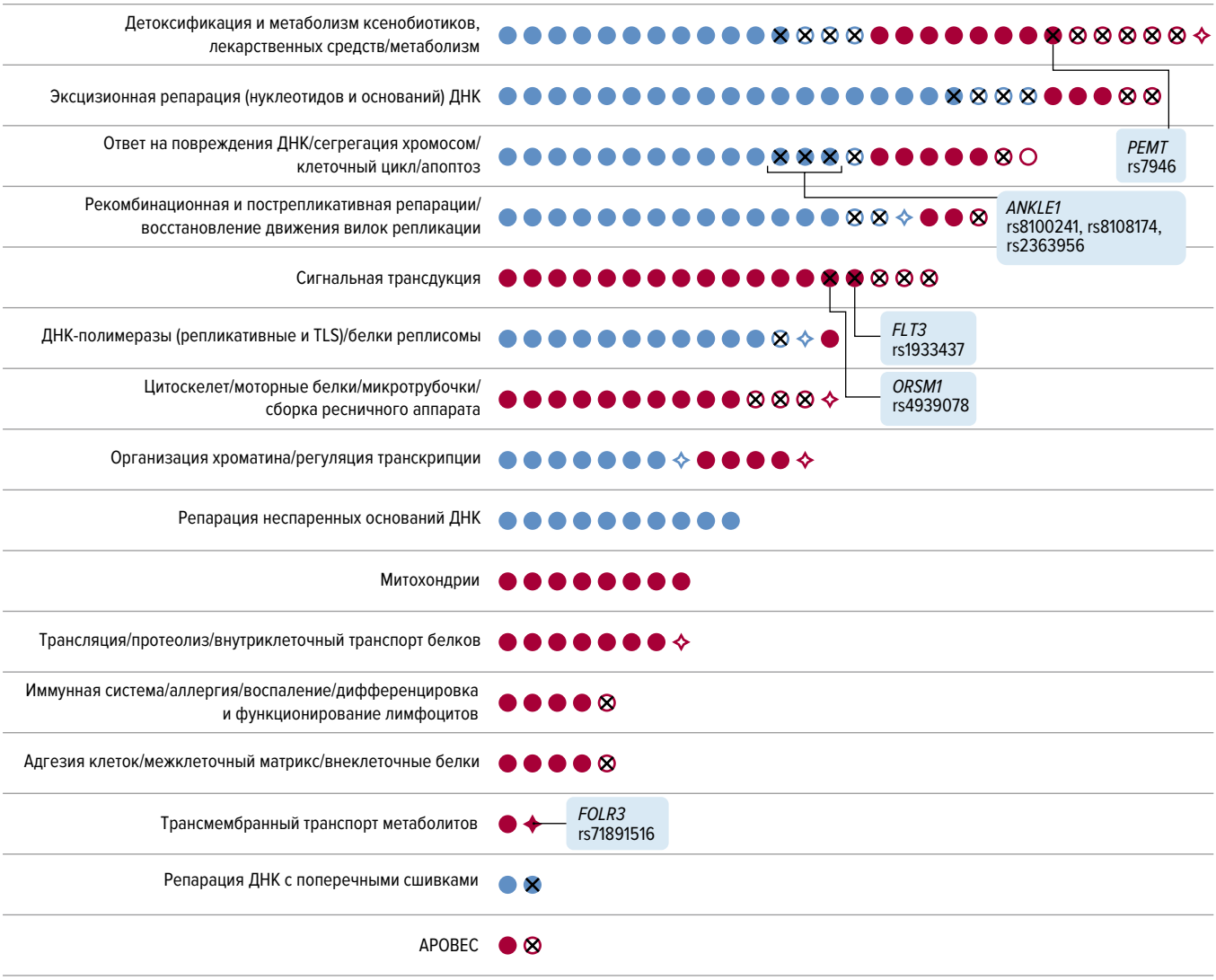

Рис. 2. Тип наследуемых мутаций, обнаруженных у пациента с впервые диагностированной ММ, и функция соответствующих генов. Показаны мутации, патогенные по алгоритмам SIFT и PolyPhen (в отношении белка), а также мутации среднего риска в гомозиготном состоянии и высокого риска в гомо- и гетерозиготном состоянии; остальные типы обнаруженных у пациента мутаций не отображены. Каждый символ (круг или звездочка) обозначает одну из выявленных у пациента мутаций. Круг — мутация среднего риска (миссенс-мутации, инсерции и делеции в рамке считывания), звездочка — мутация высокого риска (сдвиг рамки считывания, преждевременный стоп-кодон, потеря стоп-кодона, потеря сайта сплайсинга), перечеркнутый круг — миссенс-мутация, повреждающая белок согласно алгоритмам SIFT и PolyPhen. Красный цвет — связь соответствующего гена с ММ, синий цвет — связь гена с ММ не показана. Есть заливка — гомозигота, нет заливки — гетерозигота

TLS — транслезионный синтез; ММ — множественная миелома.

Fig. 2. The type of inherited mutations detected in a patient with newly diagnosed MM and the function of the corresponding genes. The pathogenic mutations according to SIFT and PolyPhen algorithms (with respect to protein) as well as intermediate-risk homozygous mutations and high-risk homo- and heterozygous mutations; other mutation types identified in this patient are not showed. Each symbol (circle or asterisk) designates one of the identified mutations. The circle stands for intermediate-risk mutation (missense mutation, in-frame insertion and deletion), the asterisk stands for high-risk mutation (frameshifting, premature stop codon, stop codon loss, splice site loss), the crossed circle stands for missense protein-damaging mutation according to SIFT and PolyPhen algorithms. The red color shows the gene relationship with MM, the blue color shows no relationship of the gene with MM. Fill shows homozygote, no fill shows heterozygote

TLS — translesion synthesis; MM — multiple myeloma.

Ген *FOLR3* кодирует рецептор фолиевой кислоты 3, при этом rs71891516 (мутация сдвига рамки считывания) может приводить к инактивации этого гена. Данные о роли рецепторов фолиевой кислоты в развитии ММ довольно скудны и сводятся к единичным сообщениям, в которых показана связь гиперэкспрессии генов этих рецепторов с заболеванием [28]. Гомозиготные миссенс-мутации с повреждающим белок потенциалом были выявлены в генах *PEMT*, *OR5M1* и *FLT3*, связанных с ММ. Кроме того, обнаружены гомозиготные мутации с повреждающим белок потенциалом в генах *ANKLE1*, *PARP4*, *DCLRE1A* и *CYP2A7* (см. рис. 2). В гене *ANKLE1*, кодирующем эндонуклеазу, специфичную к ряду рекомбинационных интермедиатов и поперечным сшивкам в ДНК [29], мы выявили 3 варианта: rs8100241, rs8108174 и rs2363956, ранее исследованных на предмет связи с раком толстой кишки, молочной железы и яичников [30–32]. Таким образом, генетический фон пациента включает целый ряд мутаций в генах, отвечающих за репарацию ДНК, в т. ч. в некоторых ключевых для стабильности генома. Это может увеличивать скорость накопления мутаций и выступать благоприятным фоном для образования структурных перестроек и хромосомных аберраций.

У пациента выявлены наследуемые однонуклеотидные варианты, связанные с ответом на лечение и чувствительностью к токсическому воздействию лечебных препаратов. У пациента установлены гетерозиготные мутации rs2032582 (миссенс-мутация 2677T→G, Ser893Ala) и rs1045642 (синонимичная замена 3435T→C), а также гомозиготная мутация rs1128503 (синонимичная замена 1236T→C) в гене *ABCB1*, кодирующем белок из семейства ABC-транспортеров. Такие белки у человека осуществляют транспорт различных веществ, в т. ч. ксенобиотиков, из клетки во внеклеточную среду, таким образом понижая их внутриклеточную концентрацию [33]. Уровень экспрессии гена *ABCB1* положительно коррелирует с лекарственной устойчивостью и плохим прогнозом течения ММ [34]. Интересно отметить, что комбинация аллелей rs2032582, rs1045642 и rs1128503, часто встречающаяся совместно в различных популяциях, может снижать транспортную активность ABCB1 и таким образом повышать внутриклеточную концентрацию ряда цитостатических препаратов [35].

Гетерозиготность по rs1045642 (генотип CT) связана с лучшей ОВ у пациентов с плазмоклеточной миеломой [36], а гомозиготность по аллелю T — с лучшей ВБП у пациентов с ММ, получавших пегилированный липосомальный доксорубицин и бортезомиб [37]. В другом исследовании rs2032582 (генотипы TG и TT) коррелировали с лучшей ОВ у пациентов, получавших винкристин, доксорубицин и дексаметазон [38]. Таким образом, обнаруженные у пациента варианты гена *ABCB1* связаны с лучшей выживаемостью и могут рассматриваться в роли факторов благоприятного прогноза на фоне применявшегося лечения.

Соматические опухолеспецифические мутации, выявленные у пациента с впервые диагностированной ММ

При анализе соматических вариантов мы обнаружили, что в опухоли возникло 115 различных изменений в 110 генах. В 13 из них имели место изменения высокой значимости, а 22 миссенс-мутации классифицируются как повреждающие белок в соответствии с алгоритмами SIFT и PolyPhen (рис. 3). Мутации высокой значимости затрагивают гены *GLUL*

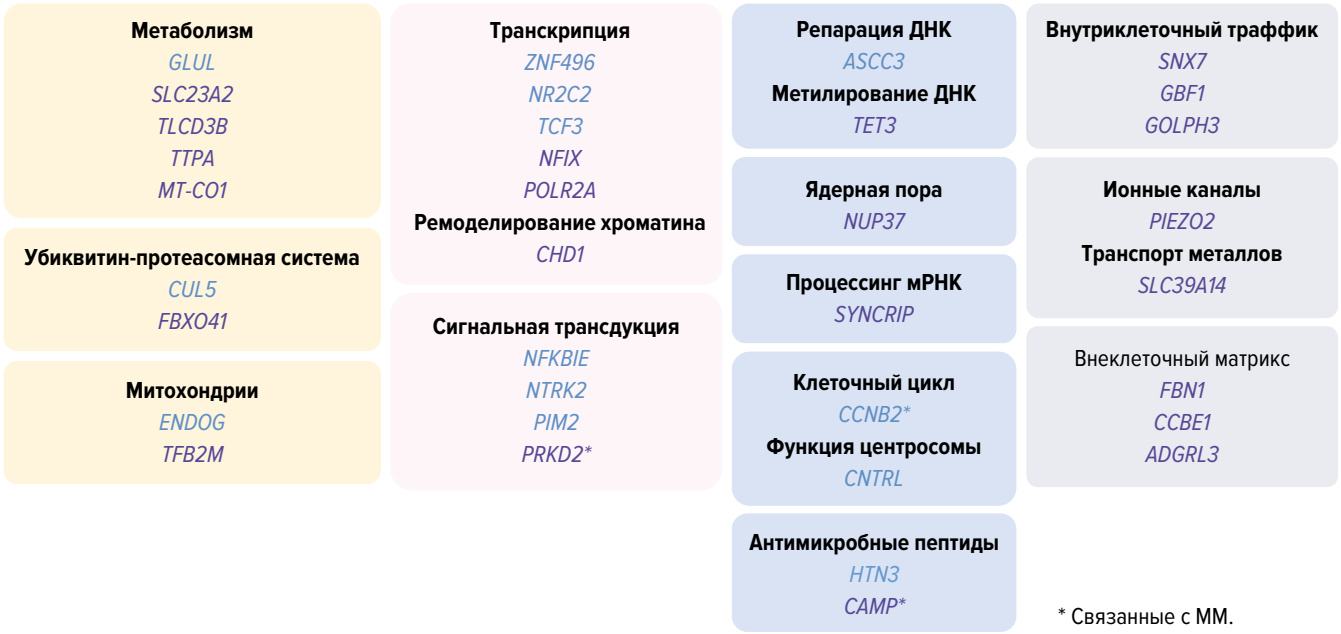

Рис. 3. Типы соматических мутаций, обнаруженных у пациента с впервые диагностированной ММ, и функция соответствующих генов. Голубым шрифтом обозначены мутации высокой значимости (сдвиг рамки считывания, преждевременный стоп-кодон, потеря старт- или стоп-кодона, инактивация сайта сплайсинга), синим — миссенс-мутации, которые классифицируются как повреждающие согласно алгоритмам SIFT и PolyPhen

Fig. 3. The types of somatic mutations detected in a patient with newly diagnosed MM and the function of the corresponding genes. The light blue font shows highly significant mutations (frameshifting, premature stop codon, start or stop codon loss, splice site inactivation), the blue color shows missense mutations classified as damaging according to SIFT and PolyPhen algorithms

(потеря стоп-сигнала), *ZNF496* (преждевременный стоп-кодон), *CUL5* (сдвиг рамки считывания), *CCNB2* (rs770704262, сдвиг рамки считывания с образованием преждевременного стоп-кодона), *TCF3* (мутация в сайте сплайсинга), *NR2C2* (сдвиг рамки считывания), *HTN3* (rs1000049861, потеря старт-кодона), *NFKBIE* (мутация в сайте сплайсинга), *ASCC3* (rs763748649, сдвиг рамки считывания), *NTRK2* (мутация в сайте сплайсинга), *CNTRL* (преждевременный стоп-кодон), *ENDOG* (преждевременный стоп-кодон), *PIM2* (две мутации сдвига рамки считывания). При этом ген *CCNB2* кодирует циклин B2 и связан с развитием ММ.

Среди генов, связанных с ММ, мы обнаружили мутации в генах *KMT2D* (синонимичная замена 9840G→A), *PRKD2* (rs771555628, миссенс-мутация 2477G→A, Arg826Gln), *ERBB4* (мутация в интроне 1288+58T→C), *CAMP* (миссенс-мутация 341C→G, Thr114Arg), *RASA2* (мутация в интроне), *BST1* (мутация в интроне), *IKBKB* (мутация в интроне), *MT-CO1* (5'UTR-вариант) и уже упомянутую выше мутацию в гене *CCNB2*. Миссенс-мутации в генах *PRKD2* и *CAMP* являются повреждающими согласно SIFT и PolyPhen. Таким образом, в опухоли обнаружены мутации высокой и средней значимости в трех генах, связанных с ММ: *PRKD2, CCNB2* и *CAMP.* Дополнительно мы выявили делеции в гене *RASA2* (222 п.о., захватывающие участок экзон 22–интрон 22) и генах *NFKBIE* (37 п.о., на границе интрон 3–экзон 4) и *IRF2BPL* (83 п.о., в экзоне 1), также связанных с ММ [39, 40]. Известно, что около 50 % пациентов с ММ имеют мутации в генах RAS/MAPK-пути сигнальной трансдукции, которые в основном обнаруживаются в генах *KRAS* и *NRAS* [3].

Гены *PRKD2* и *RASA2* также участвуют в этом пути передачи сигналов, но мутации в них обнаруживаются при ММ с частотой менее 5 % [3]. Ген *PRKD2* кодирует сериновую и треониновую киназы, участвующие в регуляции путей RAS/MAPK и NFκB, и служит драйверным геном ММ [3]. Тем не менее обнаруженная нами миссенс-мутация в гене *PRKD2*, несмотря на повреждающий потенциал, локализуется в конце гена и не затрагивает функционально важных участков белка.

Ген *RASA2* также входит в число драйверных генов ММ и рассматривается как ген-онкосупрессор [3]. При этом мутации в гене *RASA2*, приводящие к синтезу укороченного белка, были описаны при ММ [41]. Обнаруженная нами делеция может рассматриваться как драйверная мутация при описываемом наблюдении ММ. То же самое нельзя сказать про выявленную мутацию в гене *CCNB2.* Экспрессия гена *CCNB2* положительно коррелировала с прогрессированием ММ [42], в связи с чем инактивирующую этот ген мутацию можно расценивать как благоприятное событие. Помимо этого обращает на себя внимание наличие в опухоли мутаций в двух генах, кодирующих антимикробные пептиды. Ген *CAMP* кодирует антимикробный пептид семейства кателицидинов, участвующий в контроле врожденного иммунитета и регуляции воспаления. Мы также обнаружили мутацию высокой значимости в гене *HTN3*, кодирующем другой антимикробный пептид гистатин 3.

Следует отметить, что наибольшее число повреждающих (в отношении белка) мутаций в опухоли обнаружено в генах, участвующих в регуляции транскрипции, сигнальной трансдукции, метаболизма (см. рис. 3). При этом мы выявили мутации в генах, которые ранее не ассоциировались с ММ, но обнаруживали связь с другими онкологическими заболеваниями. Например, пациент имеет мутацию в гене *ASCC3* (rs763748649, сдвиг рамки считывания), который кодирует компонент комплекса ASCC, участвующего в репарации алкилированных повреждений в ДНК. ASCC3 является ДНК-геликазой, которая высвобождает поврежденную нить ДНК из дуплекса, что необходимо для последующего деалкилирования поврежденного основания диоксигеназой ALKBH3 [43, 44]. Мутации в гене *ASCC3* обнаруживаются в различных опухолях и опухолевых клеточных линиях [45]. Инактивация гена *ASCC3* приводит к увеличению количества 3'-метилцитозина в ДНК, который блокирует движение вилки репликации и является мутагеном. Вследствие этого пролиферация клеток подавляется [43]. У описываемого нами пациента более 10 других мутаций, затрагивающих ген *ASCC3*. В частности, больной является гетерозиготой по миссенс-мутации rs9390698, приводящей к замене Leu146Phe в N-терминальном домене белка, участвующем во взаимодействии с ASCC2, а также гомозиготой по мутации rs240780, приводящей к замене Ser1995Cys в белке.

Кроме того, мы нашли в опухоли миссенс-мутацию в гене *TET3*, кодирующем 5'-метилцитозиндиоксигеназу. Пациент является гетерозиготой по двум наследуемым вариантам rs61741171 (миссенс-мутация 1006C→T, замена в белке Pro336Ser) и rs7560668 (синонимичная замена 2257T→C) в гене *TET3*. При этом в опухоли появляется дополнительная мутация 5069C→T, приводящая к аминокислотной замене Ser1690Leu в белке. Диоксигеназы TET (TET1, TET2 и TET3) контролируют динамику метилирования/деметилирования ДНК и необходимы для поддержания нормального гемопоэза [46]. При ММ часто обнаруживаются мутации в гене *TET2*, которые коррелируют с прогрессированием заболевания и устойчивостью к противоопухолевой терапии [1]. Мутации в гене *TET3* до сих пор не были обнаружены при ММ, но встречались в других опухолях, включая гематологические, такие как Т-клеточная лимфома и хронический лимфолейкоз [46, 47]. Интересно отметить, что активность белков TET зависит от витамина C, причем мутации в транспортерах этого витамина связаны с различными опухолями [46, 48].

Мы обнаружили в опухоли мутацию COSV57772281 (rs1313457895, 1370G→A, Arg457His) в гене *SLC23A2*, кодирующем транспортер L-аскорбиновой кислоты. Следует также отметить выявленную в опухоли мутацию в гене *CHD1* (2542G→C, Asp848His), кодирующем фактор ремоделирования хроматина, который участвует в поддержании открытой структуры хроматина и репарации двунитевых разрывов в ДНК посредством гомологичной репарации [49, 50]. Эта замена затрагивает высококонсервативный остаток аспарагиновой кислоты в С-терминальном геликазном домене белка и может влиять на его функции [51]. Мутации в гене *CHD1* обнаруживаются чаще всего при раке простаты [52].

Мы выявили в геноме опухоли более 40 структурных перестроек. Подавляющее большинство из

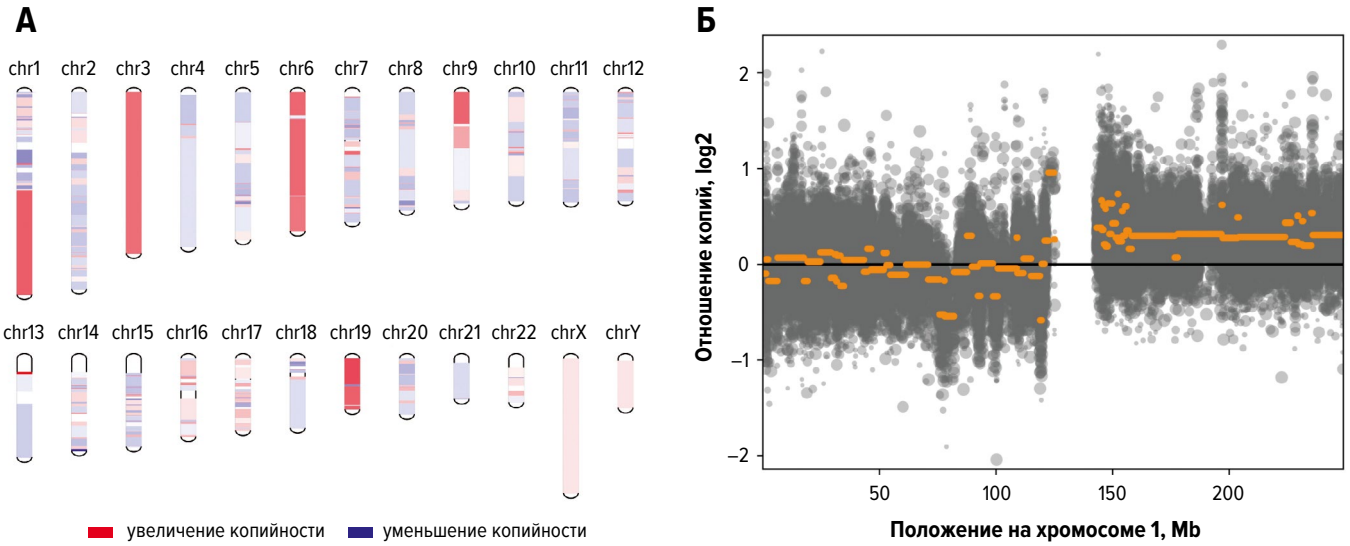

Рис. 4. Изменения числа копий фрагментов хромосом:
А — изменение копийности, определенное с помощью инструмента CNVkit [56]; *Б* — изменения количества копий на хромосоме 1. Желтым цветом отмечены участки с измененным числом копий

Fig. 4. Changes in the copy number of chromosome fragments:
A — a copy number change detected by CNVkit [56]; *Б* — copy number changes on chromosome 1. The yellow color shows the sites with copy number changes

них представлены дупликациями, которые затрагивают хромосомы 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17 и 19 (рис. 4, *А*). В их числе дупликация длинного плеча хромосомы 1 (+1q) (рис. 4, *Б*), имеющая важное клиническое значение. Наибольшее число дупликаций было выявлено в хромосомах 5, 6, 7, 12 и 15 (по 4 в каждой). Кроме того, в опухоли установлено четыре делеции в хромосомах 7, 14, 15 и 17. Большое число дупликаций может свидетельствовать об активации механизма инсерций посредством репликативного синтеза ДНК со сменой матрицы (templated insertions) [53]. В результате перестроек была дуплицирована большая часть хромосомы 6, включая участки, содержащие гены *IRF4*, *CCND3*, *PRDM1*, *USP45*, *JARID2*, которые играют важную роль в развитии ММ, короткое плечо хромосомы 9, где локализуется ген *CDKN2A*, а также большая часть хромосомы 19, включая локус *KLF2*. Кроме того, в опухоли установлена трисомия по хромосоме 3. Следует отметить, что трисомия 3 улучшает ОВ и ВБП вне зависимости от проводимого лечения и учитывается как благоприятный фактор прогноза течения заболевания на фоне некоторых других хромосомных перестроек [54, 55]. В результате структурных изменений увеличилась копийность большого количества генов, связанных с ММ, среди которых в дополнение к указанным выше важно отметить *DAXX*, *ATR*, *ATRIP*, *TERC*, *XPC*, *MYNN*, *ERCC1*, *KMT2B*, *CRBN*.

Мы провели анализ мутационных подписей и распределения количества мутаций в ДНК опухолевого материала. В хромосомах 14, 17 и 22 мы выявили кластерные мутации (рис. 5). При этом в хромосомах 14 и 17 обнаружены дупликации и делеции больших блоков генетического материала (см. рис. 4, *А*). При анализе мутационных подписей структурных вариаций была найдена подпись ID6 (рис. 6), коррелирующая с нарушением гомологичной рекомбинации. Следует отметить, что появление такой подписи может быть связано с обнаруженными у пациента герминальными мутациями в генах *RFDW3* и *TP53*, которые вовлечены в репарацию двунитевых разрывов ДНК, межмолекулярных сшивок и остановившихся вилок репликации ДНК, а также с рядом мутаций, выявленных в опухоли, в частности, в генах *ASCC3* и *CHD1*.

При анализе нетранслируемых регионов (5'UTR и 3'UTR) генов мы обнаружили мутационные подписи SBS1 и SBS17b. Подпись SBS1 связана с возрастом, когда количество мутаций увеличивается по мере старения пациента. Наличие этой подписи согласуется с пожилым возрастом пациента. Основным молекулярным механизмом появления подписи SBS1 является спонтанное дезаминирование 5'-метилцитозина до тимина в ДНК, приводящее к возникновению неправильной пары G:T. Для восстановления генетической информации Т должен быть замещен на С, как правило, благодаря активности системы эксцизионной репарации и, частично, системы репарации неспаренных оснований. У пациента установлено множество мутаций (в т. ч. мутации высокого риска), затрагивающих гены системы эксцизионной репарации ДНК. Кроме того, мы обнаружили мутации в генах системы репарации неспаренных оснований и мутацию в гене *TET3* в опухоли (см. рис. 3). Интересно, что диоксигеназа TET3 участвует в гидроксилировании 5'-метилцитозина до 5'-гидроксиметилцитозина, который может вырезаться из ДНК системой эксцизионной репарации или спонтанно деметилироваться до цитозина [58]. Данный факт, несомненно, может объяснить появление мутационной подписи SBS1 в геноме опухолевых клеток пациента (см. рис. 6).

Мутационная подпись SBS17b, также обнаруженная в нетранслируемых регионах, имеет неизвестное происхождение и практически неотличима от подписи SBS28. Предполагается, что появление

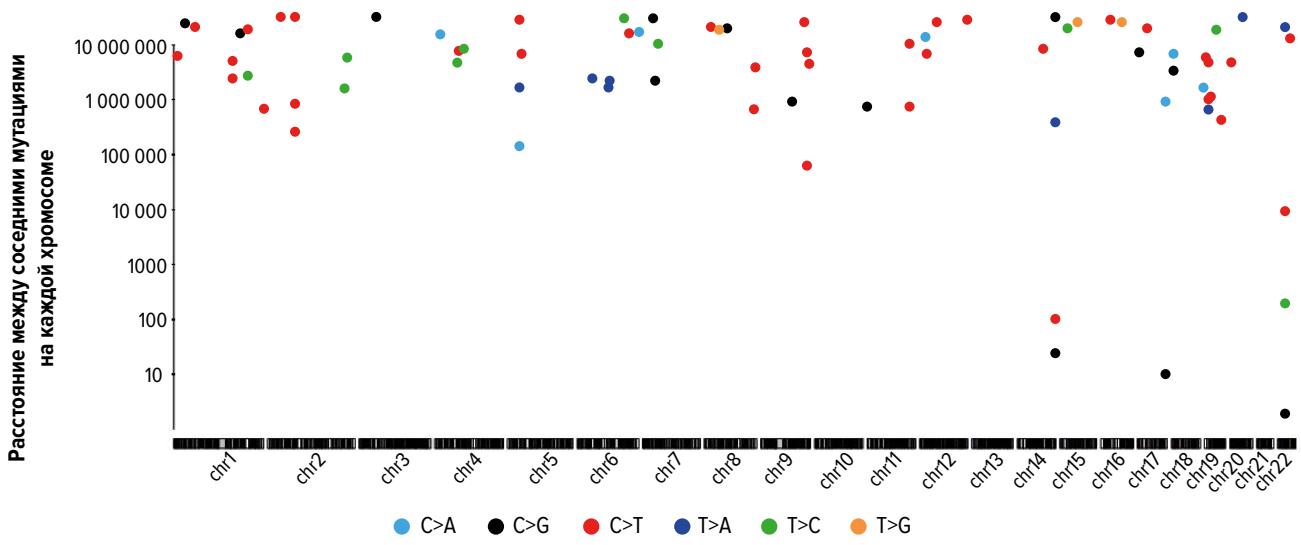

Рис. 5. Паттерн локализованных гипермутаций (кластерных мутаций), рассчитанный с помощью Mutalisk (цит. по [57])

Fig. 5. Pattern of localized hypermutations (cluster mutations) calculated using Mutalisk (quoted from [57])

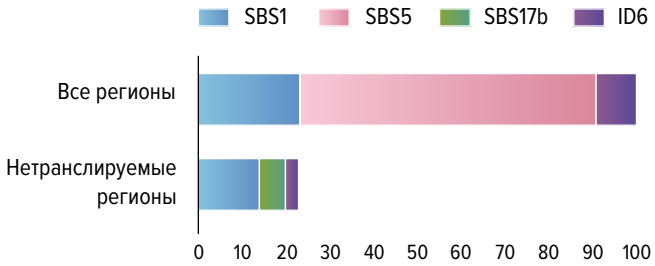

Рис. 6. Мутационные подписи, рассчитанные для соматических вариаций в кодирующих и регуляторных (нетранслируемых) регионах. Представлено количество вариаций для каждой из мутационных подписей. SBS — мутационные подписи, найденные при анализе однонуклеотидных замен; ID — мутационные подписи, найденные при анализе делеций и инсерций (инделов)

ID6 — нарушение гомологичной рекомбинации; SBS1 — спонтанное дезаминирование 5-метилцитозина, связанное с возрастом; SBS5 — нарушение репарации неспаренных нуклеотидов; SBS17b — терапия фторурацилом и окислительные повреждения, индуцированные активными формами кислорода.

Fig. 6. Mutation signatures calculated for somatic variations in the coding and regulatory (non-translated) regions. Mutation signatures with the number of variations for each of them. SBS represent mutation signatures detected with single nucleotide substitution analysis; ID are mutation signatures detected with deletion and insertion (indel) analysis

ID6 — homologous recombination deficiency; SBS1 — age-associated spontaneous deamination of 5-methylcytosine; SBS5 — mismatch repair deficiency; SBS17b — fluorouracil therapy and reactive-oxygen-species-induced oxidative damage.

таких мутаций в ДНК может быть вызвано рядом противоопухолевых лекарственных соединений, таких как фторурацил, а также дефектами экзонуклеазной функции ДНК-полимераз ε. Поскольку образец аспирата костного мозга пациента был получен для секвенирования до начала лечения, влияние противоопухолевых препаратов на появление подписей SBS17b и SBS28 можно исключить. У пациента обнаружено 7 наследуемых вариантов (rs4883544, rs5745022, rs5744944, rs5744934, rs5744857, rs4077170, rs2075784) в гене *POLE*, кодирующем каталитическую субъединицу ДНК-полимеразы ε, однако ни одна из них не затрагивает экзонуклеазный домен фермента. Большинство из этих мутаций локализуется в некодирующих областях гена *POLE* (интронах или 3'-UTR). Вариант rs5744934 представляет собой миссенс-мутацию Asn1396Ser, которая у наблюдаемого пациента находится в гетерозиготном состоянии. Согласно базе данных https://www.cbioportal.org/, вариант rs5744934 был обнаружен в нескольких опухолевых образцах (нейробластомы, острого миелоидного лейкоза, В-лимфобластного лейкоза и меланомы). Подпись SBS5 наряду с подписью SBS1 установлена при анализе всех найденных соматических мутаций. При этом подпись SBS5, так же как и SBS1, связана с возрастом, однако ее этиология неизвестна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных данных показывает, что геномы нормальных и опухолевых клеток у наблюдаемого пациента имеют как ряд особенностей, характерных для типичной ММ, так и ряд отличительных черт, которые не были описаны ранее при этой злокачественной опухоли. Первое, что обращает на себя внимание, — это наличие у пациента сразу нескольких наследуемых мутаций, характеризующих предрасположенность к ММ, часть из которых способна нарушать процесс рекомбинационной репарации ДНК. Мы полагаем, что нарушения рекомбинационной репарации могли стать одной из основных причин возникновения ММ у пациента. На это указывает не только наличие наследуемых мутаций в генах *RFDW3* и *TP53*, но и факт выявления в опухоли мутационной подписи ID6, а также большое количество структурных перестроек, которые часто появляются вследствие снижения точности рекомбинационной репарации поврежденной ДНК.

Необходимо отметить, что несмотря на наличие у пациента сразу нескольких мутаций предрасположенности, заболевание развилось в более позднем возрасте (81 год), чем это происходит в среднем. Так, медиана возраста пациентов, у которых впервые диагностируется ММ, составляет приблизительно 64 года. В геноме опухолевых клеток мы обнаружили мутационную подпись SBS1, связанную с возрастом. Этот факт заслуживает особого внимания в связи с выявлением в опухоли мутации в гене *TET3* и наличием у пациента нескольких мутаций по генам эксцизионной репарации. Это позволяет предположить, что нарушения не только рекомбинационной, но и эксцизионной репарации могли способствовать развитию ММ.

Вторая особенность, которая привлекает внимание, — это профиль соматических мутаций, выявленных у пациента. В опухоли мы обнаружили мутации высокой и средней значимости в ряде генов, которые связаны с ММ, а также делеции, затрагивающие гены *RASA2*, *NFKBIE* и *IRF2BPL*, которые с высокой вероятностью повреждают функцию соответствующих генов. Из обнаруженных мутаций делеция в гене *RASA2* может рассматриваться с высокой вероятностью как драйверное событие.

Помимо этого мы обнаружили мутации в генах, связанных с развитием других типов опухолей, в частности в генах *ASCC3*, *TET3, CHD1*, и мутации в генах *CAMP, HTN3*, кодирующих антимикробные пептиды. Формат исследования не позволяет нам во многих случаях отличить драйверные мутации от «пассажирских», которые могли возникнуть вследствие повышения скорости мутагенеза на фоне нарушения функционирования систем рекомбинационной и эксцизионной репарации. Однако в совокупности полученные данные позволяют говорить о том, что профиль соматических мутаций, обнаруженных в опухоли, имеет ряд интересных особенностей. Нельзя исключать, что для части из обнаруженных нами мутаций ассоциация с ММ будет доказана позже, при накоплении большего количества данных.

Следует отметить, что в исследовании B.A. Walker и соавт. более 15 % пациентов не имели мутаций ни в одном из драйверных генов ММ [3]. Данный факт указывает на то, что существует дополнительная группа драйверных генов, для которых связь с ММ пока не удалось установить. Мы не выявили у пациента существенных факторов риска, за исключением дупликации длинного плеча хромосомы 1 (+1q), которая расценивается рядом систем стадирования как перестройка высокого риска [2]. Тем не менее ввиду отсутствия амплификации 1q21 и других факторов риска вклад одной дополнительной копии 1q остается неопределенным [59]. При этом у пациента в опухолевых клетках выявлена трисомия по хромосоме 3, связанная с улучшением ОВ и ВБП [54, 55]. Мутационный профиль гена *ABCB1* и других генов, связанных с реакцией на противоопухолевые лекарственные препараты, позволяет предположить, что на фоне применявшегося лечения существенные риски отсутствуют.

Таким образом, по совокупности полученных данных пациент с высокой вероятностью может войти в группу с относительно высокими показателями выживаемости. Однако наличие большого числа мутаций, влияющих на работу систем рекомбинационной и эксцизионной репарации, и большого числа структурных перестроек в геноме опухоли создает определенные генетические риски, особенно с учетом возраста пациента. Необходимо отметить, что наше исследование имеет ограничение, т. к. использование NGS с короткими прочтениями не всегда позволяет определить некоторые структурные изменения генома, включая ряд транслокаций. Данный факт не отменяет широкого использования методов NGS (как полногеномных, так и экзомных) для характеристики структурных изменений геномов ММ. Дальнейшая разработка подобных исследований возможна в направлении изучения динамики накопления соматических мутаций на фоне лечения и на разных этапах течения ММ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РНФ № 20-15-00081.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: А.Ю. Аксенова, С.В. Грицаев.
Сбор и обработка данных: А.С. Жук, И.И. Кострома, Е.И. Степченкова, Д.В. Качин, О.Б. Белопольская, И.В. Зотова, А.Д. Гарифуллин, С.В. Волошин.
Анализ и интерпретация данных: все авторы.
Подготовка рукописи: А.Ю. Аксенова, А.С. Жук, С.В. Грицаев, Е.И. Степченкова.
Окончательное одобрение рукописи: все авторы.
Административная поддержка: А.Ю. Аксенова, С.В. Грицаев.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны Научному парку СПбГУ (РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий», РЦ «Биобанк») и Научной лаборатории биологии амилоидов СПбГУ (проект ID 93025998). Работа выполнена при государственной финансовой поддержке ведущих университетов Российской Федерации в рамках программы ITMO Fellowship and Professorship Program. Авторы благодарны Ю.И. Павлову (Медицинский центр штата Небраска, США) и А.Г. Лада (Калифорнийский университет в Дэвисе, США) за продуктивное обсуждение результатов исследования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Aksenova AY, Zhuk AS, Lada AG, et al. Genome instability in multiple myeloma: Facts and factors. Cancers. 2021;13(23):5949. doi: 10.3390/cancers13235949.

2. Аксенова А.Ю., Жук А.С., Степченкова Е.И., Грицаев С.В. Стратификация больных множественной миеломой: современное состояние вопроса и дальнейшие перспективы. Клиническая онкогематология. 2022;15(3):259–70. doi: 10.21320/2500-2139-2022-15-3-259-270.

[Aksenova AYu, Zhuk AS, Stepchenkova EI, Gritsaev SV. Stratification of Patients with Multiple Myeloma: State-of-the-Art and Prospects. Clinical oncohematology. 2022;15(3):259–70. doi: 10.21320/2500-2139-2022-15-3-259-270. (In Russ)]

3. Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP, et al. Identification of novel mutational drivers reveals oncogene dependencies in multiple myeloma. Blood. 2018;132(6):587–97. doi: 10.1182/blood-2018-03-840132.

4. Fu X, Yucer N, Liu S, et al. RFWD3-Mdm2 ubiquitin ligase complex positively regulates p53 stability in response to DNA damage. Proc Nat Acad Sci USA. 2010;107(10):4579–84. doi: 10.1073/PNAS.0912094107.

5. Feeney L, Munoz IM, Lachaud C, et al. RPA-Mediated Recruitment of the E3 Ligase RFWD3 Is Vital for Interstrand Crosslink Repair and Human Health. Mol Cell. 2017;66(5):610–621.e4. doi: 10.1016/j.molcel.2017.04.021.

6. Mitchell JS, Li N, Weinhold N, et al. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for multiple myeloma. Nat Commun. 2016;7:12050. doi: 10.1038/ncomms12050.

7. Went M, Sud A, Forsti A, et al. Identification of multiple risk loci and regulatory mechanisms influencing susceptibility to multiple myeloma. Nat Commun. 2018;9(1):3707. doi: 10.1038/s41467-018-04989-w.

8. Hou P, Su X, Cao W, et al. Whole-exome sequencing reveals the etiology of the rare primary hepatic mucoepidermoid carcinoma. Diagn Pathol. 2021;16(1):29. doi: 10.1186/s13000-021-01086-3.

9. Huang X, Wu F, Zhang Z, Shao Z. Association between TP53 rs1042522 gene polymorphism and the risk of malignant bone tumors: a meta-analysis. Biosci Rep. 2019;39(3):20181832. doi: 10.1042/BSR20181832.

10. Akter R, Islam MS, Islam MS, et al. A case-control study investigating the association of TP53 rs1042522 and CDH1 rs16260 polymorphisms with prostate cancer risk. Meta Gene. 2021;30:100962. doi: 10.1016/J.MGENE.2021.100962.

11. Henner WD, Evans AJ, Hough KM, et al. Association of codon 72 polymorphism of p53 with lower prostate cancer risk. Prostate. 2001;49(4):263–6. doi: 10.1002/PROS.10021.

12. Dunna NR, Vure S, Sailaja K, et al. TP53 codon 72 polymorphism and risk of acute leukemia. Asian Pacif J Cancer Prevent. 2012;13(1):347–50. doi: 10.7314/APJCP.2012.13.1.349.

13. Kochethu G, Delgado J, Pepper C, et al. Two germ line polymorphisms of the tumour suppressor gene p53 may influence the biology of chronic lymphocytic leukaemia. Leuk Res. 2006;30(9):1113–8. doi: 10.1016/J.LEUKRES.2005.12.014.

14. Bergamaschi D, Samuels Y, Sullivan A, et al. iASPP preferentially binds p53 proline-rich region and modulates apoptotic function of codon 72-polymorphic p53. Nat Genet. 2006;38(10):1133–41. doi: 10.1038/ng1879.

15. Dumont P, Leu JIJ, Della Pietra AC, et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. Nat Genet. 2003;33(3):357–65. doi: 10.1038/ng1093.

16. Weng Y, Lu L, Yuan G, et al. p53 codon 72 polymorphism and Hematological Cancer Risk: An Update Meta-Analysis. PLoS ONE. 2012;7(9):e45820. doi: 10.1371/journal.pone.0045820.

17. Ortega MM, Honma HN, Zambon L, et al. GSTM1 and codon 72 P53 polymorphism in multiple myeloma. Ann Hematol. 2007;86(11):815–9. doi: 10.1007/S00277-007-0347-X/TABLES/3.

18. Hattori Y, Ikeda Y, Suzuki Y, et al. Codon 72 polymorphism of TP53 gene is a novel prognostic marker for therapy in multiple myeloma. Br J Haematol. 2014;165(5):728–31. doi: 10.1111/BJH.12784.

19. Greenberg AJ, Lee AM, Serie DJ, et al. Single-nucleotide polymorphism rs1052501 associated with monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. Leukemia. 2013;27(2):515–6. doi: 10.1038/leu.2012.232.

20. Broderick P, Chubb D, Johnson DC, et al. Common variation at 3p22.1 and 7p15.3 influences multiple myeloma risk. Nat Genet. 2012;44(1):58–61. doi: 10.1038/ng.993.

21. Ford AQ, Heller NM, Stephenson L, et al. An Atopy-Associated Polymorphism in the Ectodomain of the IL-4Rα Chain (V50) Regulates the Persistence of STAT6 Phosphorylation. J Immunol. 2009;183(3):1607–16. doi: 10.4049/JIMMUNOL.0803266.

22. Luo Y, Ye Z, Li K, et al. Associations between polymorphisms in the IL-4 and IL-4 receptor genes and urinary carcinomas: a meta-analysis. Int J Clin Exp Med. 2015;8(1):1227–33.

23. Ivansson EL, Gustavsson IM, Magnusson JJ, et al. Variants of chemokine receptor 2 and interleukin 4 receptor, but not interleukin 10 or Fas ligand, increase risk of cervical cancer. Int J Cancer. 2007;121(11):2451–7. doi: 10.1002/IJC.22989.

24. Alvarez JV, Frank DA. Genome-wide analysis of STAT target genes: Elucidating the mechanism of STAT-mediated oncogenesis. Cancer Biol Ther. 2004;3(11):1045–50. doi: 10.4161/cbt.3.11.1172.

25. Vikova V, Jourdan M, Robert N, et al. Comprehensive characterization of the mutational landscape in multiple myeloma cell lines reveals potential drivers and pathways associated with tumor progression and drug resistance. Theranostics. 2019;9(2):540–53. doi: 10.7150/thno.28374.

26. Waller RG, Darlington TM, Wei X, et al. Novel pedigree analysis implicates DNA repair and chromatin remodeling in multiple myeloma risk Epstein MP, editor. PLOS Genet. 2018;14(2):e1007111. doi: 10.1371/journal.pgen.1007111.

27. Bolli N, Barcella M, Salvi E, et al. Next-generation sequencing of a family with a high penetrance of monoclonal gammopathies for the identification of candidate risk alleles. Cancer. 2017;123(19):3701–8. doi: 10.1002/cncr.30777.

28. Greipp P, Cascino G, Kimlinger T, et al. Plasma Cell Folate Receptor Overexpression Differentiates Multiple Myeloma from Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Smoldering Myeloma. Blood. 2004;104(11):3649. doi: 10.1182/BLOOD.V104.11.3649.3649.

29. Song J, Freeman ADJ, Knebel A, et al. Human ANKLE1 Is a Nuclease Specific for Branched DNA. J Mol Biol. 2020;432(21):5825–34. doi: 10.1016/J.JMB.2020.08.022.

30. Antoniou AC, Wang X, Fredericksen ZS, et al. A locus on 19p13 modifies risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers and is associated with hormone receptor-negative breast cancer in the general population. Nat Genet. 2010;42(10):885–92. doi: 10.1038/NG.669.

31. Tian J, Ying P, Ke J, et al. ANKLE1 N6-Methyladenosine-related variant is associated with colorectal cancer risk by maintaining the genomic stability. Int J Cancer. 2020;146(12):3281–93. doi: 10.1002/IJC.32677.

32. Rhie SK, Coetzee SG, Noushmehr H, et al. Comprehensive functional annotation of seventy-one breast cancer risk Loci. PloS One. 2013;8(5):e63925. doi: 10.1371/journal.pone.0063925.

33. Hodges LM, Markova SM, Chinn LW, et al. Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). Pharmacogenet Genomics. 2011;21(3):152–61. doi: 10.1097/FPC.0B013E3283385A1C.

34. Hassen W, Kassambara A, Reme T, et al. Drug metabolism and clearance system in tumor cells of patients with multiple myeloma. Oncotarget. 2014;6(8):6431–47. doi: 10.18632/ONCOTARGET.3237.

35. Salama NN, Yang Z, Bui T, Ho RJY. MDR1 haplotypes significantly minimize intracellular uptake and transcellular P-gp substrate transport in recombinant LLC-PK1 cells. J Pharm Sci. 2006;95(10):2293–308. doi: 10.1002/JPS.20717.

36. Drain S, Catherwood M, Orr N, et al. ABCB1 (MDR1) rs1045642 is associated with increased overall survival in plasma cell myeloma. Leuk lymphoma. 2009;50(4):566–70. doi: 10.1080/10428190902853144.

37. Buda G, Ricci D, Huang CC, et al. Polymorphisms in the multiple drug resistance protein 1 and in P-glycoprotein 1 are associated with time to event outcomes in patients with advanced multiple myeloma treated with bortezomib and pegylated liposomal doxorubicin. Ann Hematol. 2010;89(11):1133. doi: 10.1007/S00277-010-0992-3.

38. Maggini V, Buda G, Martino A, et al. MDR1 diplotypes as prognostic markers in multiple myeloma. Pharmacogenet Genomics. 2008;18(5):383–9. doi: 10.1097/FPC.0B013E3282F82297.

39. Ziccheddu B, Biancon G, Bagnoli F, et al. Integrative analysis of the genomic and transcriptomic landscape of double-refractory multiple myeloma. Blood Adv. 2020;4(5):830–44. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000779.

40. Zheleznyak A, Mixdorf M, Marsala L, et al. Orthogonal targeting of osteoclasts and myeloma cells for radionuclide stimulated dynamic therapy induces multidimensional cell death pathways. Theranostics. 2021;11(16):7735–54. doi: 10.7150/THNO.60757.

41. Bolli N, Biancon G, Moarii M, et al. Analysis of the genomic landscape of multiple myeloma highlights novel prognostic markers and disease subgroups. Leukemia. 2018;32(12):2604–16. doi: 10.1038/s41375-018-0037-9.

42. Dementyeva E, Kryukov F, Kubiczkova L, et al. Clinical implication of centrosome amplification and expression of centrosomal functional genes in multiple myeloma. J Transl Med. 2013;11(1):1–9. doi: 10.1186/1479-5876-11-77/FIGURES/5.

43. Dango S, Mosammaparast N, Sowa ME, et al. DNA unwinding by ASCC3 helicase is coupled to ALKBH3-dependent DNA alkylation repair and cancer cell proliferation. Mol Cell. 2011;44(3):373–84. doi: 10.1016/J.MOLCEL.2011.08.039.

44. Fedeles BI, Singh V, Delaney JC, et al. The AlkB Family of Fe(II)/α-Ketoglutarate-dependent Dioxygenases: Repairing Nucleic Acid Alkylation Damage and Beyond. J Biol Chem. 2015;290(34):20734–42. doi: 10.1074/JBC.R115.656462.

45. Jia J, Absmeier E, Holton N, et al. The interaction of DNA repair factors ASCC2 and ASCC3 is affected by somatic cancer mutations. Nat Commun. 2020;11(1):1–13. doi: 10.1038/s41467-020-19221-x.

46. Ko M, An J, Pastor WA, et al. TET proteins and 5-methylcytosine oxidation in hematological cancers. Immunol Rev. 2015;263(1):6–21. doi: 10.1111/IMR.12239.

47. Bray JK, Dawlaty MM, Verma A, Maitra A. Roles and Regulations of TET Enzymes in Solid Tumors. Trends Cancer. 2021;7(7):635–46. doi: 10.1016/j.trecan.2020.12.011.

48. Linowiecka K, Foksinski M, Brozyna AA. Vitamin c transporters and their implications in carcinogenesis. Nutrients. 2020;12(12):1–19. doi: 10.3390/nu12123869.

49. Kari V, Mansour WY, Raul SK, et al. Loss of CHD1 causes DNA repair defects and enhances prostate cancer therapeutic responsiveness. EMBO Rep. 2016;17(11):1609–23. doi: 10.15252/EMBR.201642352.

50. Zhou J, Li J, Serafim RB, et al. Human CHD1 is required for early DNA-damage signaling and is uniquely regulated by its N terminus. Nucleic Acids Res. 2018;46(8):3891–905. doi: 10.1093/nar/gky128.

51. Cardoso AR, Lopes-Marques M, Oliveira M, et al. Genetic variability of the functional domains of chromodomains helicase DNA-binding (CHD) proteins. Genes. 2021;12(11):1–15. doi: 10.3390/genes12111827.

52. Burkhardt L, Fuchs S, Krohn A, et al. CHD1 Is a 5q21 tumor suppressor required for ERG rearrangement in prostate cancer. Cancer Res. 2013;73(9):2795–805. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1342.

53. Li Y, Roberts ND, Wala JA, et al. Patterns of somatic structural variation in human cancer genomes. Nature. 2020;578(7793):112–21. doi: 10.1038/s41586-019-1913-9.

54. Chretien ML, Corre J, Lauwers-Cances V, et al. Understanding the role of hyperdiploidy in myeloma prognosis: Which trisomies really matter? Blood. 2015;126(25):2713–9. doi: 10.1182/blood-2015-06-650242.

55. Perrot A, Lauwers-Cances V, Tournay E, et al. Development and validation of a cytogenetic prognostic index predicting survival in multiple myeloma. J Clin Oncol. 2019;37(19):1657–65. doi: 10.1200/JCO.18.00776.

56. Talevich E, Shain AH, Botton T, Bastian BC. CNVkit: Genome-Wide Copy Number Detection and Visualization from Targeted DNA Sequencing. PLOS Comput Biol. 2016;12(4):e1004873. doi: 10.1371/JOURNAL.PCBI.1004873.

57. Lee J, Lee AJ, Lee JK, et al. Mutalisk: A web-based somatic MUTation AnaLyIS toolKit for genomic, transcriptional and epigenomic signatures. Nucleic Acids Res. 2018;46(W1):W102–W108. doi: 10.1093/nar/gky406.

58. Wu H, Zhang Y. Mechanisms and functions of Tet protein-mediated 5-methylcytosine oxidation. Genes Dev. 2011;25(23):2436. doi: 10.1101/GAD.179184.111.

59. Schmidt TM, Barwick BG, Joseph N, et al. Gain of Chromosome 1q is associated with early progression in multiple myeloma patients treated with lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone. Blood Cancer J. 2019;9(12):94. doi: 10.1038/s41408-019-0254-0.