

ПРЕДИКТИВНАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МУТАЦИЙ ГЕНА *PALB2* В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.М. Цыганов, М.К. Ибрагимова, А.А. Хозяинова

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

Абстракт.

Показано, что потеря функции *PALB2*, за счет мутаций или хромосомных aberrаций, может иметь влияние на эффективность химиотерапевтического лечения и прогноз заболевания у больных с различными онкологическими заболеваниями. Таким образом, целью данной работы явилась оценка предиктивного и прогностического потенциала aberrаций числа копий ДНК и мутаций гена *PALB2* в опухоли молочной железы. **Материалы и методы.** В исследование были включены 66 больных раком молочной железы (РМЖ). Для оценки наличия aberrаций числа копий ДНК (CNA) использовали микроматричный анализ при помощи микроматриц высокой плотности CytoScan™HD Array. Оценку мутаций гена проводили при помощи секвенирования на приборе MiSeq™ Sequencing System с использованием панели «Accel-Amplicon *BRCA1*, *BRCA2*, and *PALB2* Panel». **Результаты.** Наличие CNA гена *PALB2* не связано с эффективностью неoadъювантной химиотерапии (НХТ), $p=0.07$. Наличие делеции определяют 100% показатели безметастатической выживаемости, против 68% в группе с нормальной копийностью (log-rank test $p=0,04$). Установлено, что при элиминации в процессе НХТ мутации frameshift deletion c.2552delA наблюдается объективный ответ на лечение. Выявленные missense мутации (c.2993G>A; c.2014G>C; c.1010T>C) наблюдались у пациентов с прогрессирующей опухолью. Но только c.1010T>C имеет патогенетическую значимость. Наличие мутаций гена *PALB2* не связаны с безметастатической выживаемостью (log-rank test $p=0,15$). **Заключение.** Исследование гена *PALB2* имеют большой потенциал для проведения тестирования, ориентированного на диагностику, профилактику и персонализированный подход к лечению онкологических больных.

Ключевые слова: *PALB2*, aberrации числа копий ДНК, мутации, эффективность химиотерапии, прогноз.

Установлено, что ген *PALB2* играет ключевую роль в процессе восстановления ДНК путем гомологичной рекомбинации. Дефицит же гомологичной рекомбинации (HRD-Homologous recombination deficiency) приводит к репарации повреждений ДНК с помощью потенциально мутагенных механизмов, приводящих к риску малигнизации. При этом показано, что потеря функции *PALB2*, за счет мутаций, является важной причиной наследственного рака молочной железы (РМЖ), наряду с носительством мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Установлено, что пациенты с наличием мутаций *PALB2* имеют более агрессивные клинико-патологические особенности опухолевого процесса, что может иметь отражение в эффективности лечения и прогнозе заболевания. Таким образом целью работы явилась оценка хромосомных aberrаций и мутаций гена *PALB2* в опухоли молочной железы и их предиктивного и прогностического потенциала. **Материалы и методы.** В исследование включено 66 больных РМЖ II–III стадий. Микроматричное исследование опухолевых образцов проводили на ДНК-чипах высокой плотности Affymetrix CytoScan™ HD Array. Оценку мутаций гена *PALB2* в опухоли и крови пациентов проводили при помощи секвенирования на приборе MiSeq™ Sequencing

System (Illumina, USA) с использованием панели «Accel-Amplicon BRCA1, BRCA2, and PALB2 Panel» (Swift Biosciences, USA). **Результаты.** Установлено, что частота хромосомных aberrаций (делеций (Loss)) и амплификаций (Gain)) составляет 48,5% (32/66 пациентов), у остальных пациентов наблюдается нормальная копия гена (n). Показатели 5-летней безметастатической выживаемости (БМВ) в группе больных с делецией *PALB2* составляют 100%, против 83% в группе с амплификацией (log-rank test $p=0,04$). Связь с эффектом химиотерапии показали на уровне выраженной тенденции ($p=0,07$) (Рисунок 1).

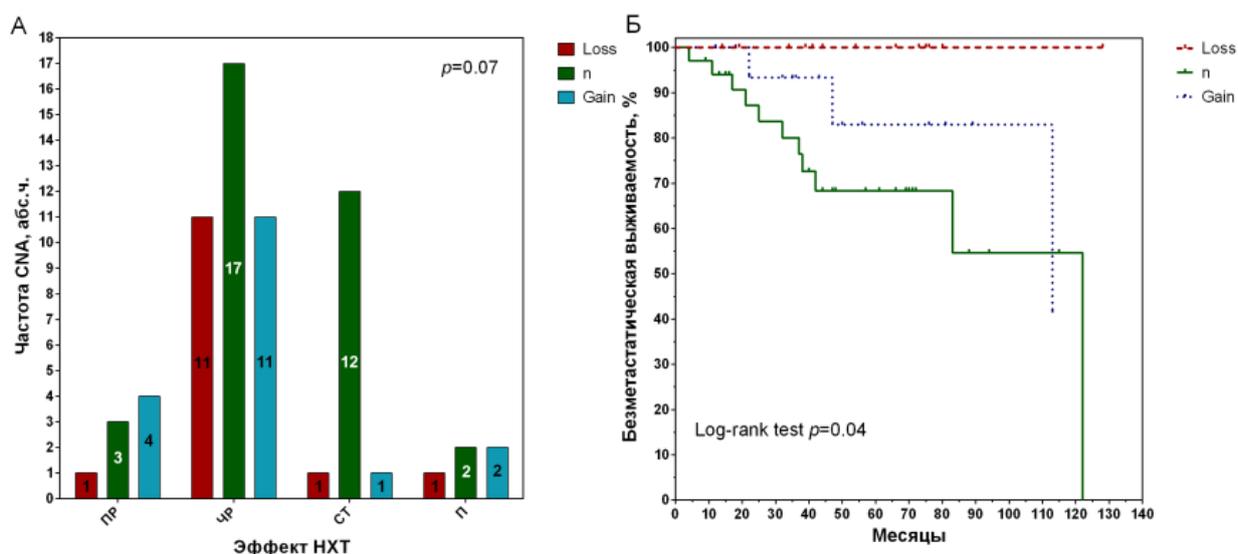


Рис. 1. Связь наличия хромосомных aberrаций гена *PALB2* с эффективностью НХТ (А) и прогнозом заболевания (Б).

Примечание: ПР - полная регрессия; ЧР - частичная регрессия, СТ - стабилизация; П - прогрессирующее

На следующем этапе работы в сформированной выборке больных при помощи панели был проведен скрининг опухолевых образцов до и после проведения химиотерапии на наличие мутаций в гене *PALB2*. В результате проведенного анализа, было обнаружено 27 мутаций, со 2 по 12 экзоны. В подавляющем большинстве (97%, 64/66 больных) у пациентов найдены 5 интронных мутаций: с.3114-51T>A (rs249936); с.2586+58C>T (rs249954); с.212-58A>C (rs80291632); с.2587-38C>T (rs180177119); с.3351-53delT (rs35294437), при чем последняя имеет не выявленную клиническую значимость. Кроме этого выявлено 8 frameshift deletion и 1 non-frameshift deletion; 1 frameshift insertion и 2 non-frameshift insertion; 3 missense варианта; 3 non-synonymous SNV и 3 synonymous SNV, и один stopgain, в общей сложности у 26 пациентов. Далее было установлено, что при элиминации в процессе неoadьювантной химиотерапии (НХТ) делеции со сдвигом рамки считывания с.2552delA (p.Asn851fs) наблюдается объективный ответ на лечение, тогда как при появлении данной мутации, у одного пациента наблюдается стабилизация опухолевого процесса. Кроме этого у больных с объективным ответом на лечение были обнаружены мутации с.1706_1707del (p.Lys569fs), с.1706delA (p.Lys569fs) и с.1288delC (p.Gln467fs). В опухоли до лечения чаще всего встречались несинонимичные замены (15 из 66 пациентов). Мутация с.1676A>G (p.Gln559Arg) встречалась у 12 пациентов, из них у 4 больных наблюдалась полная и частичная регрессия, у 8 - стабилизация и прогрессирующее. Все выявленные

миссенс мутации (с.2993G>A; с.2014G>C; с.1010T>C) наблюдались у пациентов с прогрессирующим опухолем. Но только с.1010T>C имеет патогенетическую значимость (Рисунок 2).

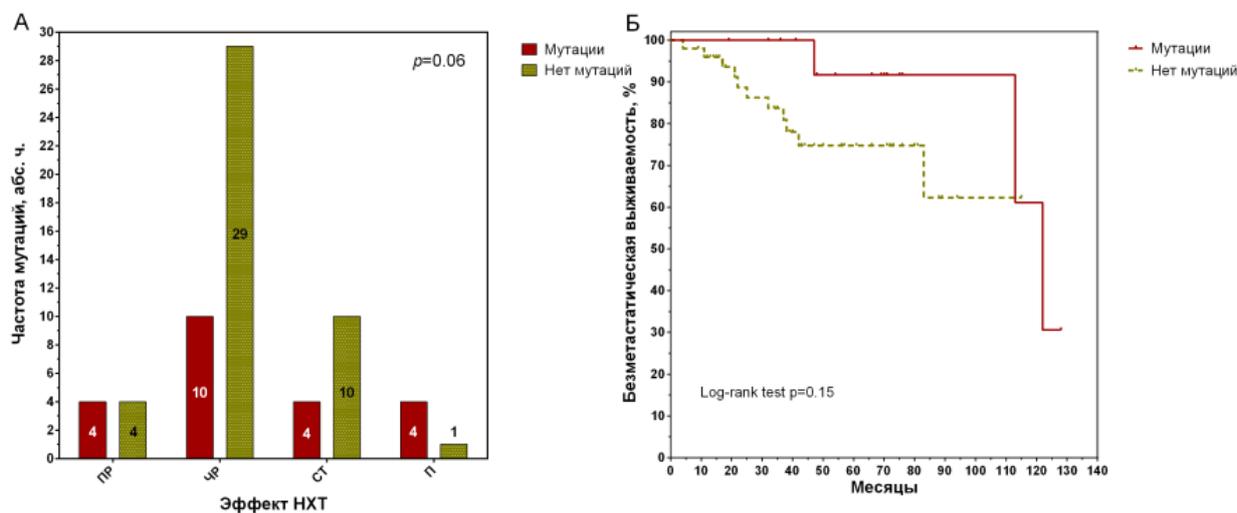


Рис. 2. Связь наличия мутаций гена *PALB2* до лечения с эффективностью НХТ (А) и после НХТ с прогнозом заболевания (В).

Примечание: ПР - полная регрессия; ЧР - частичная регрессия, СТ - стабилизация; П - прогрессирование

Далее с использованием метода Каплана-Мейера была оценена связь БМВ с наличием мутаций гена *PALB2* в операционном материале опухоли (Рисунок 2-Б). Несмотря на то, что показатели 5-летней выживаемости у пациентов с наличием мутаций гена *PALB2* составляют 92%, по сравнению с группой без мутаций (показатель 75%), различия статистически достоверно не различаются (log-rank test $p=0,15$). (Рисунок 2-Б).

Заключение. Таким образом, несмотря на то, что частота мутаций в гене *PALB2* является редким событием (от 0,1% до 2,7%), риск развития РМЖ, по крайней мере, для некоторых мутаций *PALB2* остается высоким. В настоящее время имеется мало данных о влиянии нарушений в гене *PALB2* на эффективность лечения и прогноз заболевания, но при этом исследование данного гена имеют большой потенциал для проведения тестирования, ориентированного диагностику, профилактики и персонализированный подход к лечению онкологических больных.

Работа поддержана грантом РФФИ 22-15-00169

PREDICTIVE AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PALB2 GENE MUTATIONS IN BREAST TUMORS

M.M. Tsyganov, M.K. Ibragimova, A.A. Khozyainova

Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract.

It has been shown that the loss of *PALB2* function, due to mutations or chromosomal aberrations, may have an impact on the effectiveness of chemotherapy treatment and disease prognosis in patients with various oncological diseases. Thus, the aim of this work was to evaluate the predictive and prognostic potential of DNA copy number aberrations and *PALB2* gene mutations in breast tumors.

Materials and methods. The study included 66 patients with breast cancer (BC). To evaluate the presence of DNA copy number aberrations (CNA), microarray analysis was used with the CytoScanTMHD Array high density microarrays. Gene mutations were assessed by sequencing on the MiSeqTM Sequencing System using the Accel-Amplicon *BRCA1*, *BRCA2*, and *PALB2* Panel. Results. The presence of the *PALB2* CNA gene is not associated with the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy (NAC), $p=0.07$. The presence of a deletion is determined by 100% metastatic-free survival, versus 68% in the group with normal copy number (log-rank test $p=0.04$). It has been established that elimination of the frameshift deletion c.2552delA mutation during NAC leads to an objective response to treatment. Identified missense mutations (c.2993G>A; c.2014G>C; c.1010T>C) were observed in patients with tumor progression. But only c.1010T>C has pathogenic significance. The presence of mutations in the *PALB2* gene is not associated with metastatic survival (log-rank test $p=0.15$). Conclusion. Currently, there is little data on the impact of disorders in the *PALB2* gene on the effectiveness of treatment and prognosis of the disease, but the study of this gene has great potential for testing focused on diagnosis, prevention, and a personalized approach to the treatment of cancer patients.

Keywords: *PALB2*, DNA copy number aberrations, mutations, chemotherapy efficacy, prognosis.