Клиническая дерматология и венерология
2024, Т. 23, № 2, с. 141-148
https://doi.org/10.17116/klinderma202423021141

Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology
2024, Vol. 23, No. 2, pp. 141-148
https://doi.org/10.17116/klinderma202423021141

Молекулярная патология генов эпигенетической регуляции при эпителиальных опухолях кожи

© К.И. АНОШКИН[1], Т.Г. СЕДОВА[2], А.Н. ХЛЕБНИКОВА[3], Т.А. ДЕРЯГИНА[1], Е.В. БЫЧКОВА[1], М.М. БЯХОВА[4], К.О. КАРАНДАШЕВА[1], В.В. СТРЕЛЬНИКОВ[1]

[1]ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва, Россия;
[2]ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия;
[3]ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия;
[4]ГБУЗ «Городская клиническая онкологическая больница №1 Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Дерегуляция эпигенетических механизмов играет роль в развитии рака кожи. Выявление ее причин в предраке и карциномах позволит расширить представления о взаимозависимости состояний и мишенях для терапии.

Цель исследования. Определить спектр соматических мутаций генов эпигенетических регуляторов в эпителиальных опухолях кожи — базально-клеточной карциномы (БКР), плоскоклеточного рака (ПКР) и актинического кератоза (АК).

Материал и методы. В исследование включено 769 образцов. Высокопроизводительное параллельное секвенирование ДНК выполняли с использованием 3 панелей, включающих 5 генов — PIK3CA, CDKN2A, CDH1, TP53, PTEN и 25 генов ремоделирования хроматина.

Результаты. Во внутренней когорте в БКР встречали альтерации в генах *KMT2D* (47,0%), *EZH2* (42,0%), *TP53* (37,0%) и *HDAC2* (32,0%), в ПКР — мутации в гене *CDKN2A* в 61,0% случаев, в гене *TP53* — в 56,0%, в генах *EZH2* и *PBRM1* — в 44,0 и 28,0%. В АК в 40,0% случаев наблюдали мутации в генах *PIK3CA* и *TP53.* Мутации обнаружены в генах гистоновых модификаторов типа «писатели» и кофакторов гистоновых модификаторов типа «писатели». Во внутренней выборке обнаружены различия частот мутаций в генах между АК и БКР (*p*-value 0,0001), АК и ПКР (*p*-value 0,04). Во внешней когорте более высокая частота мутаций в БКР по сравнению с ПКР наблюдалась в генах ремоделирования хроматина, кофакторов модификации гистонов и гистоновых модификаторов типа «стиратели» (*p*-value 0,01, 0,007 и 0,003 соответственно). В АК зарегистрировано больше мутаций в группе гистоновых модификаторов типа «стиратели» по сравнению с ПКР (*p*-value 0,01).

Заключение. Выявлены высокая частота соматических мутаций разных типов генов эпигенетической регуляции и различия в вовлеченности групп генов эпигенетических регуляторов между АК и ПКР, АК и БКР.

Ключевые слова: *плоскоклеточный рак, базально-клеточный рак, актинический кератоз, высокопроизводительное параллельное секвенирование ДНК, мутации генов, гены эпигенетической регуляции.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Аношкин К.И. — https://orcid.org/0000-0003-2335-5990
Седова Т.Г. — https://orcid.org/0000-0002-2660-0536
Хлебникова А.Н. — https://orcid.org/0000-0003-4400-5631
Дерягина Т.А. — https://orcid.org/0000-0003-3433-8766
Бычкова Е.В. — https://orcid.org/0000-0001-9278-740X
Бяхова М.М. — https://orcid.org/0000-0002-5296-0068
Карандашева К.О. — https://orcid.org/0000-0001-6120-6748
Стрельников В.В. — https://orcid.org/0000-0001-9283-902X
Автор, ответственный за переписку: Седова Т.Г. — sedovca-1978@yandex.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Аношкин К.И., Седова Т.Г., Хлебникова А.Н., Дерягина Т.А., Бычкова Е.В., Бяхова М.М., Карандашева К.О., Стрельников В.В. Молекулярная патология генов эпигенетической регуляции при эпителиальных опухолях кожи. *Клиническая дерматология и венерология*. 2024;23(2):141–148. https://doi.org/10.17116/klinderma202423021141

Molecular pathology of genes of epigenetic regulation in epithelial skin tumors

© K.I. ANOSHKIN[1], T.G. SEDOVA[2], A.N. HLEBNIKOVA[3], T.A. DERYAGINA[1], E.V. BICHKOVA[1], M.M. BYAHOVA[4], K.O. KARANDASHEVA[1], V.V. STRELNIKOV[1]

[1]Institution Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia;
[2]Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner» Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, st. Petropavlovskaya, Russia;
[3]Moscow Regional Research Clinical Institute named after V.I. M.F. Vladimirsky, Moscow, Russia;
[4]City Clinical Oncological Hospital No. 1 Department of Health of the Department of Health of the City of Moscow», Moscow, Russia

ABSTRACT

Deregulation of epigenetic mechanisms plays a role in the development of skin cancer. Detection of its causes in precancer and carcinomas will allow to expand the understanding of the interdependence of conditions and therapeutic targets.

Objective. To determine the spectrum of somatic genes' mutations of epigenetic regulators in epithelial skin tumors — basal cell carcinoma (BCC), squamous cell carcinoma (SCC) and actinic keratosis (AK).
Material and methods. The study included 769 samples. High-throughput parallel sequencing of DNA was performed using 3 panels, including 5 genes — PIK3CA, CDKN2A, CDH1, TP53, PTEN and 25 chromatin remodeling genes.
Results. In the internal cohort, alterations in *KMT2D* (47.0%), *EZH2* (42.0%), *TP53* (37.0%) and *HDAC2* (32.0%) have been seen in BCC, in SCC — mutations in *CDKN2A* gene in 61.0%, in *TP53* gene — in 56.0%, in *EZH2* and *PBRM1* genes — in 44.0% and 28.0%. In AK, mutations in *PIK3CA* and *TP53* genes have been observed in 40.0% of cases. Mutations have been found in the genes of histone modifiers of «writers» type and cofactors of histone modifiers of «writers» type. In the internal sample, differences in mutation rates between AK and BCC (*p*-value 0.0001), AK and SCC (*p*-value 0.04) have been found. In the external cohort, a higher mutation rate in BCC compared to SCC was observed in chromatin remodeling genes, histone modification cofactors and histone modifiers of «erasers» type (*p*-value 0.01, 0.007 and 0.003 respectively). In AK more mutations were registered in the group of histone modifiers of «erasers» type in comparison with SCC (*p*-value 0.01).
Conclusion. The high rate of somatic mutations of different types of genes of epigenetic regulation and differences in the involvement of genes groups of epigenetic regulators between AK and SCC, AK and BCC were identified.

Keywords: *squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma, actinic keratosis, high-throughput parallel sequencing of DNA, mutation of genes, genes of epigenetic regulation.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Anoshkin K.I. — https://orcid.org/0000-0003-2335-5990
Sedova T.G. — https://orcid.org/0000-0002-2660-0536
Hlebnikova A.N. — https://orcid.org/0000-0003-4400-5631
Deryagina T.A. — https://orcid.org/0000-0003-3433-8766
Bichkova E.V. — https://orcid.org/0000-0001-9278-740X
Byahova M.M. — https://orcid.org/0000-0002-5296-0068
Karandasheva K.O. — https://orcid.org/0000-0001-6120-6748
Strelnikov V.V. — https://orcid.org/0000-0001-9283-902X
Corresponding author: Sedova T.G. — sedovca-1978@yandex.ru

TO CITE THIS ARTICLE:
Anoshkin KI, Sedova TG, Hlebnikova AN, Deryagina TA, Bichkova EV, Byahova MM, Karandasheva KO, Strelnikov VV. Molecular pathology of genes of epigenetic regulation in epithelial skin tumors. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology*. 2024;23(2):141–148. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/klinderma202423021141

Введение

Эпителиальные опухоли кожи представляют собой наиболее распространенную группу новообразований наружной локализации, из них базально-клеточный рак (БКР) и плоскоклеточный рак (ПКР) занимают лидирующие места в структуре общей онкологической заболеваемости населения РФ [1]. Согласно данным литературы [2], БКР и ПКР развиваются из очагов актинического кератоза (АК) в 36 и 65% случаев соответственно. Генетические альтерации в данных типах эпителиальных опухолей кожи изучены, однако вовлеченность генов эпигенетических регуляторов остается спорной.

Эпигенетические механизмы включают в себя метилирование/деметилирование ДНК, модификации гистоновых белков, ремоделирование хроматина, взаимодействие некодирующих РНК с хроматином и участвуют в регуляции экспрессии генов в течение жизни клетки [3]. Дерегуляция эпигенетических механизмов коррелирует с канцерогенезом, рецидивом и метастазированием опухоли, а также является маркером ответа на терапию. Профилирование соматических мутаций генов эпигенетической регуляции выявляет причины эпигенетической дерегуляции при эпителиальных опухолях кожи [4].

Материал и методы

В исследование включен биопсийный материал 57 опухолей, полученный при хирургической эксцизии в Пермском краевом онкологическом диспансере за 2018–2019 гг. **(табл. 1)**: АК — 20 пациентов, БКР — 19 и ПКР — 18 больных. Всего в исследование вошли 26 мужчин и 31 женщин. Средний возраст мужчин составил 69±7,7 года, женщин — 64±13,5 года. Из внешних источников в исследование включено 95 образцов спорадического БКР (пациенты с синдромом Горлина—Гольца исключены), 144 образцов ПКР, 37 образцов АК, 75 образцов меланомы (de novo) и 361 образец метастатической меланомы. Совокупная внешняя выборка составила 712 образцов опухолей **(см. табл. 1)**.

ДНК из свежей опухолевой ткани АК, БКР и ПКР выделяли с помощью набора GeneRead DNA FFPE kit (Qiagen, кат. №180134). Высокопроизводительное параллельное секвенирование ДНК проводили на системе Ion S5 System («Thermo Fisher Scientific», США) с использованием 3 панелей: одной коммерческой панели Ion AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 («Thermo Fisher Scientific», США, кат. №4475346) и 2 пользовательских панелей, включающих все кодирующие области, прилегающие области интронов и 5'-, 3'-нетранслируемые области 5 генов — *PIK3CA*, *CDKN2A*, *CDH1*, *TP53*, *PTEN*. Кроме того, в исследо-

Таблица 1. **Распределение пациентов по возрасту и полу из внутренних и внешних источников**
Table 1. **Distribution of patients by age and sex from internal and external sources**

Нозология	Число пациентов в группе	Мужчины	Женщины	Медиана возраста мужчин, годы	Медиана возраста женщин, годы
		Внутренняя выборка			
АК	20	5	15	68±7,4	64±13,2
БКР кожи	19	6	13	67,5±9	70±11
ПКР кожи	18	15	3	70±7,5	60±21
Всего	57	26	31	69±7,7	64±13,5
		Внешняя выборка			
АК	37	27	10	70±10,9	70±10,1
БКР кожи	95	Неизвестно	Неизвестно	73±13,9	73±13,9
ПКР кожи	144	109	35	67±16,9	69±21,9
Первичная меланома	75	44	31	63±14,8	65±13,9
Метастатическая меланома	361	222	131	56±15,6	57±16,3

Таблица 2. **Мутационный профиль эпителиальных опухолей кожи**
Table 2. **Mutational profile of epithelial skin tumors**

Нозология	Нонсенс мутации	Инделы	Сайт сплайсинга	Миссенс-мутации	Синонимичные	Делеция	Амплификация	Всего
АК	8	3	1	41	3	0	0	56
БКР кожи	14	4	3	22	1	18	4	66
ПКР кожи	3	6	2	20	1	30	13	75
Итого	25	13	6	83	5	48	17	197

вание включены 25 генов, участвующих в ремоделировании хроматина: *DNMT1*, *MBD1*, *TET1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*, *EZH2*, *KDM6A*, *EP300*, *JARID1B*, *CREBBP*, *HDAC2*, *SIRT1*, *SMARCB1*, *SMARCA2*, *SMARCA4*, *ARID1A*, *ARID2*, *BRD7*, *PBRM1*, *CHD5*, *CHD7*, *CHD4*, *KMT2A*, *KMT2D* и *KMT2C*.

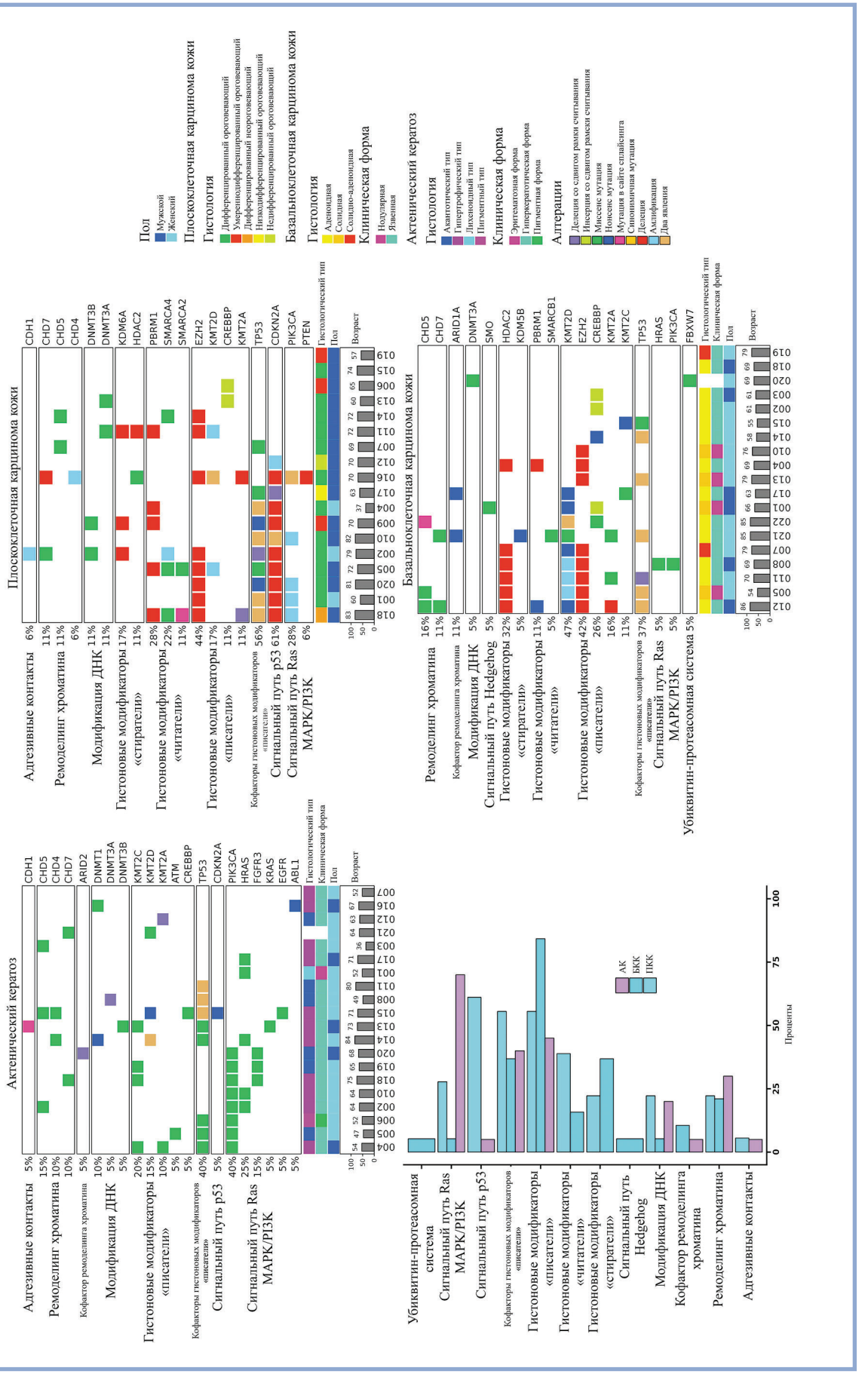
Фильтрацию патогенных мутаций в исследуемой выборке проводили по следующим параметрам: из анализа исключали однонуклеотидные замены, имеющие статус доброкачественных (Benign), вероятно доброкачественных (Likely benign) или доброкачественных/вероятно доброкачественных (Benign/Likely_benign), по данным ClinVar [5], а также однонуклеотидные замены, имеющие статус неясного значения (Uncertain significance), противоречивую интерпретацию патогенности (Conflicting interpretations of pathogenicity), отсутствие статистических данных (not provided) или другое (other), в том числе не соответствующие критериям патогенности по обоим из предикторов MetaSVM [6] и MetaLR [7]. При этом представленность альтернативного аллеля (VAF) должна быть более чем 3,0%, а встречаемость по базе данных gnomAD ниже, чем 0,01%. Все отфильтрованные однонуклеотидные замены и инделы просматривали вручную с помощью программы Integrative Genomics Viewer (IGV) [8]. Вариации числа копий (CNV) анализировали с помощью пакета CNVpanelizer R (версия 1.22.0) со стандартными параметрами. Биоинформатический анализ данных биопсийного материала выполнен с использованием программного обеспечения Torrent Suite software (version 5.10.1). Аннотирование генетических вариантов проводили с помощью программы ANNOVAR [9].

Для формирования группы сравнения использована информация из онлайн-базы данных cbioportal [10, 11]. В анализ включены выборки из БКР [12], ПКР [13–15], образцов первичной опухоли меланомы и метастазов меланомы [10, 11]. Для АК группа сравнения была взята из исследования The genomic landscape of actinic keratosis [16].

Фильтрацию патогенных однонуклеотидных замен и инделов проводили аналогично исследуемой внутренней выборке. Статистический анализ полученных данных выполнен с использованием программы R-studio. Для оценки достоверности при сравнении частотных показателей использовали точный критерий Фишера.

Результаты

Во внутренней выборке выявлено 132 однонуклеотидных замен и инделов, соответствующих критериям патогенности. Кроме того, с помощью пакета CNVpanelizer выявлено 48 делеций и 17 амплификаций. Суммарно выявлено 197 мутаций **(табл. 2)**. С учетом целенаправленного анализа генов, участвующих в эпигенетической регуляции, в исследуемой нами внутренней когорте наиболее часто в опухолевом материале БКР встречались альтерации в генах *KMT2D* (47,0%), *EZH2* (42,0%), *TP53* (37,0%) и *HDAC2* (32,0%). Причем альтерации



Мутационный профиль внутренней выборки кожных опухолей.
Mutational profile of the internal sample of skin tumors.

Таблица 3. **Группы генов эпигенетической регуляции во внешней выборке, в которых наблюдаются статистически значимые различия частот мутаций между типами опухолей**

Table 3. **Genes groups of epigenetic regulation in an external sample in which statistically significant differences in mutation rates between tumor types are observed**

Группа сравнения	*p*-value
Ремоделинг хроматина	
БКР против первичной меланомы	0,000118
БКР против метастазов меланомы	0,0158
АК против первичной меланомы	0,00459
БКР против ПКР	0,0102
Кофакторы ремоделинга хроматина	
БКР против первичной меланомы	0,0447
Кофакторы гистоновых модификаторов	
БКР против первичной меланомы	0,00872
БКР против метастазов меланомы	0,00467
БКР против ПКР	0,00677
Гистоновые модификаторы типа «стиратели»	
БКР против первичной меланомы	0,00311
БКР против метастазов меланомы	0,0298
АК против ПКР	0,00973
АК против первичной меланомы	0,00816
БКР против ПКР	0,00311
Кофакторы гистоновых модификаторов типа «стиратели»	
БКР против первичной меланомы	0,0205
АК против первичной меланомы	0,00614
АК против метастатической меланомы	0,0455
Гистоновые модификаторы типа «читатели»	
БКР против первичной меланомы	0,0019
Первичная меланома против метастазов меланомы	0,0019
Гистоновые модификаторы типа «писатели»	
БКР против первичной меланомы	$9{,}34 \cdot 10^{-6}$
БКР против метастазов меланомы	0,000148
ПКР против первичной меланомы	0,00142
ПКК против метастазов меланомы	0,0314
АК против первичной меланомы	0,00513
Кофакторы гистоновых модификаторов типа «писатели»	
БКР против первичной меланомы	$2{,}49 \cdot 10^{-9}$
БКР против метастазов меланомы	$1{,}96 \cdot 10^{-6}$
ПКР против первичной меланомы	$2{,}13 \cdot 10^{-11}$
ПКР против метастазов меланомы	$3{,}02 \cdot 10^{-9}$
АК против первичной меланомы	$1{,}02 \cdot 10^{-5}$
АК против метастазов меланомы	$3{,}11 \cdot 10^{-3}$
Первичная меланома против метастазов меланомы	$9{,}88 \cdot 10^{-3}$
РНК-модификаторы	
БКР против первичной меланомы	0,0154
АК против первичной меланомы	0,00124
Первичная меланома против метастазов меланомы	0,0184

в генах *EZH2* и *HDAC2* являлись исключительно делециями **(см. рисунок)**. Пять из 7 образцов, в которых наблюдались мутации в гене *TP53*, имели «двойной удар», что соответствует двухударной модели канцерогенеза. Выявленная повышенная частота мутаций в генах *KMT2D* (9/19) и делеции гена *HDAC2* (6/19) в образцах БКР ранее не наблюдалась в исследованиях. В 61,0% случаев ПКР встречались мутации в гене *CDKN2A*, в 56,0% образцах — мутации в гене *TP53* (из которых только в 4 случаях фиксировалась двухударная модель канцерогенеза), в 44,0 и 28,0% образцах — в генах *EZH2* и *PBRM1* **(см. рисунок)**. Интересным наблюдением является то, что мутации в *EZH2* в данной группе опухолей являются исключительно делециями, так же как и в материале опухоли БКР **(см. рисунок)**. В 40,0% случаев АК наблюдались несинонимичные мутации в генах *PIK-3CA* и *TP53*, носящие патогенный статус, по данным ClinVar.

Во всех изученных образцах внутренней выборки замечена вовлеченность генов, чьи продукты принимают участие в эпигенетической регуляции. Например, в образцах БКР 84,0% случаев мутаций обнаружены в генах гистоновых модификаторов типа «писатели» **(см. рисунок)**. Гены, связанные с гистоновыми модификаторами типа «стиратели» и кофакторами гистоновых модификаторов типа «писатели», занимали второе место с одинаковой долей в 36,8% случаев **(см. рисунок)**. В образцах ПКР мутации наблюдали в группе гистоновых модификаторов типа «писатели» и их кофакторов в 55,5% случаев и типа «читатели» в 38,8% случаев **(см. рисунок)**. В образцах АК гены гистоновых модификаторов типа «писатели» и их кофакторы встречались в 40,0 и 45,0% соответственно. Однако статистически значимых различий между изучаемыми группами не обнаружено. Установлены статистически достоверные различия между АК и базально-клеточной карциномой (*p*-value 0,000118) и актиническим кератозом и плоскоклеточным раком кожи (*p*-value 0,0434) в группе генов, участвующих в сигнальном пути Ras/MAPK/PI3K, где мутации значимо чаще встречались в выборке АК **(табл. 3)**.

Анализ внешней выборки показал, что гены эпигенетических регуляторов играют гораздо более заметную роль в этиопатогенезе исследуемых опухолей. При сравнении с меланомой статистически достоверны различия в 9 группах генов эпигенетических регуляторов, включая ремоделинг хроматина, кофакторы и гистоновые модификаторы типа «читатели», «писатели» и «стиратели», а также РНК-модификаторы **(см. табл. 3)**, что говорит о большей вовлеченности генов эпигенетических регуляторов в эпителиальных опухолях кожи. Помимо этого, отмечены статистически значимые различия вовлеченности генов эпигенетических регуляторов внутри группы эпителиальных опухолей. Так,

наблюдались различия между БКР и ПКР в группах генов ремоделирования хроматина (*p*-value 0,0102), кофакторов модификации гистонов (*p*-value 0,00677) и гистоновых модификаторов типа «стиратели» (*p*-value 0,00311) **(см. табл. 3)**. Установлено, что в вышеуказанных группах генов наблюдалась низкая частота мутаций в плоскоклеточной карциноме кожи по сравнению с БКР. Также статистически достоверные различия наблюдались в группе гистоновых модификаторов типа «стиратели» между АК и ПКР (*p*-value 0,00973), где АК агрегировал больше мутаций. В этих группах генов частоты мутаций различались между типами опухолей. Так, в группе генов ремоделинга хроматина в образцах ПКР мутации наиболее часто встречались в генах *EP400* и *SRCAP*, по 17% для каждого гена; в базально-клеточной карциноме мутации выявлялись только в гене *SRCAP* — 28% случаев; в АК наибольшая частота мутаций выявлена в генах группы ремоделеров хроматина *CHD5* и *ATAD2*, по 30% для каждого гена. В группе кофакторов модификации гистонов во всех 3 выборках эпителиальных опухолей мутации наиболее часто встречались в гене *ERBB4* (29, 11 и 8% в БКР, АК и ПКР соответственно), а в группе гистоновых модификаторов — в гене *SRCAP* (28, 27 и 17% в БКР, АК и ПКР соответственно). Несмотря на значительную частоту мутаций этих генов в исследуемых образцах опухолей, они в подавляющем числе случаев являлись миссенс-вариантами, которые не описаны в базе данных ClinVar, но имеют патогенный статус по предикторам MetaSVM [3] и MetaLR [4].

В образцах эпителиальных опухолей кожи внешней выборки наиболее часто обнаруживали мутации гена TP53 — 70,8% образцов ПКР, 58,9% образцов БКР и 55,5% образцов АК. Вторым по частоте встречаемости мутаций был ген *KMT2D*. Так, в образцах БКР и ПКР его мутации выявлялись в 30,5 и 20,8% случаев соответственно. Установлено, что мутации в гене *KMT2C* в образцах АК встречались в 44,4% случаев, а в гене *KMT2D* — в 33,3% образцов.

Обсуждение

Эпигенетические механизмы, такие как ДНК-метилирование/деметилирование, модификации гистоновых белков, ремоделирование хроматина и действие некодирующих РНК, участвуют в формировании паттернов экспрессии генов в течение жизненного цикла клетки [3, 17, 18].

В исследуемых когортах внутренней выборки и группы сравнения превалировали эпигенетические мутации в генах гистоновых модификаторов. «Стиратели», «писатели» и «читатели» гистонов являются ферментами, которые играют одну из важных ролей в эпигенетической регуляции. «Писатели» гистонов (гистоновые ацетилтрансферазы и гистоновые метилтрансферазы) добавляют к гистонам специфические посттрансляционные модификации, тогда как «стиратели» гистонов (гистоновые деацетилазы и гистоновые деметилазы) удаляют эти модификации. «Читатели» гистонов распознают специфические модификации гистонов и опосредуют их функциональный результат, они участвуют в изменении структуры хроматина и экспрессии генов. Мутации в генах, которые кодируют вышеуказанные ферменты, связывают с развитием онкологических заболеваний [19].

Базально-клеточная карцинома является наиболее распространенной злокачественной эпителиальной опухолью и составляет 3/4 всех опухолей данного вида [20]. По данным литературы, чаще всего генетическими альтерациями, наблюдаемыми в опухолевом материале БКР, являются мутации в генах сигнального пути hedgehog, на который приходится более 80,0% случаев мутаций [12, 21, 22]. В исследовании Bonilla и соавт. [12] проанализировано 293 образца опухолевого материала БКР от 236 пациентов, в число наиболее часто встречающихся генов с мутациями входят гены *PTCH1* (85,0%), *SMO* (20,0%) и *SUFU* (8,0%). В 61,0% случаев мутации встречаются в гене онкосупрессоре *TP53*, однако лишь в 6,0% из них обнаружена вторая мутация. В нашем исследовании в образцах БКР встречались альтерации (исключительно делеции) в генах *KMT2D* (47,0%), *EZH2* (42,0%), *TP53* (37,0%) и *HDAC2* (32,0%). При этом повышенная частота мутаций в генах *KMT2D* (9/19) и *HDAC2* (6/19) при БКР ранее не наблюдалась в исследованиях, причем механизмы участия в канцерогенезе гена *KMT2D* в настоящее время полностью не изучены [24–25].

Вторым по частоте встречаемости раком является ПКР. Исследования показывают, что при данной опухоли мутации чаще встречаются в генах сигнального пути Notch (79,5%), *p*53 (71,1%), Rb и в генах, продукты которых участвуют в ремоделинге хроматина (по 38,6%). В основном это гены *TP53* (66,3%), *NOTCH1* (55,4%), *NOTCH2* (36,1%), *CDKN2A* (34,9%) и *FAT1* (30,1%), *EZH2* (2,4%) [15]. *EZH2* является изученным онкогеном, связанным с агрессивными клиническими формами и менее благоприятным прогнозом многих видов рака, включая меланому, ПКР и БКР [26, 27]. Мы обнаружили в образцах ПКР мутации в генах *CDKN2A* — 61,0% случаев, *TP53* — 56,0%, *EZH2* — 44,0% и *PBRM1* — 28,0%. Следует отметить, что мутации гена *PBRM1* в материалах ПКР кожи ранее зарегистрированы не были.

АК считается предшественником плоскоклеточной карциномы кожи. Показано, что не менее $^{2}/_{3}$ ПКР возникают из АК [28, 29]. Мутационный профиль АК схож с плоскоклеточной карциномой кожи: в 73,0% случаев выявляются мутации *TP53*, в 68,0% — *NOTCH1*, в 65,0% — *FAT1* [18]. В нашем

исследовании в 40,0% случаев АК наблюдались несинонимичные мутации в генах *PIK3CA* и *TP53*, носящие патогенный статус, по данным ClinVar.

Как во внутренней, так и во внешней выборке нами отмечена высокая вовлеченность генов эпигенетического регулирования в онкогенез эпителиальных опухолей. На основании полученных данных выявлены статистически значимые различия между АК и ПКР, а также между АК и БКР.

В эпителиальных опухолях различия наблюдались между группами генов, участвующих в ремоделировании хроматина (БКР и ПКР), кофакторов модификации гистонов (БКР и ПКР) и гистоновых модификаторов типа «стиратели» (АК и ПКР). Выявлены частые мутации генов в ПКР, БКР и АК. Так, в плоскоклеточной карциноме установлены мутации в генах *EP400* и *SCRAP*, в БКР наиболее часто встречались мутации гена *ERBB4*, а в АК — в генах *CHD5* и *ATAD2*. Необходимо отметить, что ранее данные гены не были отмечены в исследованиях, которые включали большое количество образцов [11, 14, 15].

Заключение

Исследована вовлеченность разных групп генов эпигенетической регуляции при эпителиальных опухолях кожи. Установлена высокая частота соматических мутаций разных типов генов эпигенетической регуляции как во внутренней, так и во внешней выборке. Наиболее явное отличие наблюдалось в группе гистоновых модификаторов кофакторов типа «писатели». В ПКР установлены частые мутации в генах *EP400* и *SCRAP*, в БКР наиболее часто встречались мутации гена *ERBB4*, а в АК — в генах *CHD5* и *ATAD2*.

В обеих когортах отмечены статистические различия вовлеченности разных групп генов эпигенетических регуляторов между АК и ПКР, между АК и БКР. Так, в нашем исследовании установлены частые мутации гена *KMT2D* и TP53 в опухолевом материале БКР, ПКР и АК, мутации в генах *CDKN2A* и *PIK3CA* при ПКР и АК. Выявлена большая вовлеченность генов эпигенетических регуляторов в эпителиальных опухолях кожи по сравнению с меланомой.

Участие авторов:
Концепция и дизайн исследования, написание текста — Аношкин К.И.
Сбор материала — Седова Т.Г.
Редактирование — Седова Т.Г., Хлебникова А.Н., Стрельников В.В.
Анализ данных и интерпретация результатов — Карандашева К.О.
Выделение ДНК из образцов биопсийного материала — Дерягина Т.А.
Выполнение молекулярно-генетического анализа — Бычкова Е.В.
Анализ данных и интерпретация результатов — Бяхова М.М.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на выполнение НИР в 2023 г.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Authors' contributions:
The concept and design of the study, drafting the manuscript: Anoshkin K.I.
Collecting the data: Sedova T.G.
Revising the manuscript: Sedova T.G., Hlebnikova A.N., Strelnikov V.V.
Data analysis and interpretation of results —Karandasheva K.O.
DNA isolation from biopsy samples —Deryagina T.A.
Performing molecular genetic analysis — Bichkova E.V.
Data analysis and interpretation of results —Byahova M.M.

The source of financing. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation for the Federal State Budgetary Scientific Institution «MGNC» to carry out research in 2023.
The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Чеботарев В.В., Хисматуллина З.Р., Закирова Ю.А. Некоторые аспекты эпидемиологии и диагностики злокачественных новообразований кожи. *Креативная хирургия и онкология*. 2020;10(1):65-73.
Chebotarev VV, Khismatullina ZR, Zakirova YA. Some aspects of the epidemiology and diagnostics of malignant skin neoplasms. *Kreativnaya hirurgiya i onkologiya*. 2020;10(1):65-73. (In Russ.).
https://doi.org/10.24060/2076-3093-2020-10-1-65-73
2. Абрамова Т.В., Мураховская Е.К., Ковалева Ю. П. Актинический кератоз: современный взгляд на проблему. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2019;95(6):5-13.
Abramova TV, Murakhovskaya EK, Kovaleva YuP (2020) Actinic keratosis: actual view. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2020;95(6):5-13. (In Russ.).
https://doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-6-5-13
3. Bure IV, Nemtsova MV. Mutual Regulation of ncRNAs and Chromatin Remodeling Complexes in Normal and Pathological Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(9):7848.
https://doi.org/10.3390/ijms24097848
4. Chatterjee A, Kulshreshtha R. Editorial: Role of epigenetic regulators in the initiation, progression, and metastasis of cancer. *Frontiers in Genetics*. 2022; 13:978097.
https://doi.org/10.3389/fgene.2022.978097
5. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, Gu B, Hart J, Hoffman D, Jang W, Karapetyan K, Katz K, Liu C, Maddipatla Z, Malheiro A, McDaniel K, Ovetsky M, Riley G, Zhou G, Holmes JB, Kattman BL, Maglott DR. ClinVar: improving access to variant inter-

pretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(D1): D1062-D1067.
https://doi.org/10.1093/nar/gkx1153

6. Kim S, Jhong J-H, Lee J, Koo J-Y. Meta-analytic support vector machine for integrating multiple omics data. *BioData Mining*. 2017;10:2.
https://doi.org/10.1186/s13040-017-0126-8
7. Dong C, Wei P, Jian X, et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Human Molecular Genetics*. 2015;24:2125-2137.
https://doi.org/10.1093/hmg/ddu733
8. Robinson JT, Thorvaldsdottir H, Turner D, Mesirov JP. igv.js: an embeddable JavaScript implementation of the Integrative Genomics Viewer (IGV). *Bioinformatics and Genomics*. 2020;39:5.
https://doi.org/10.1101/2020.05.03.075499
9. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Research*. 2010;38:e164.
https://doi.org/10.1093/nar/gkq603
10. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discovery*. 2012;2:401-404.
https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0095
11. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Science Signaling*. 2013;6:11.
https://doi.org/10.1126/scisignal.2004088
12. Bonilla X, Parmentier L, King B, et al. Genomic analysis identifies new drivers and progression pathways in skin basal cell carcinoma. *Nature Genetics*. 2016;48:398-406.
https://doi.org/10.1038/ng.3525
13. Li YY, Hanna GJ, Laga AC, et al. Genomic analysis of metastatic cutaneous squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2015;21:1447-1456.
https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1773
14. Pickering CR, Zhou JH, Lee JJ, et al. Mutational landscape of aggressive cutaneous squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2014;20:6582-6592.
https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1768
15. Chang D, Shain AH. The landscape of driver mutations in cutaneous squamous cell carcinoma. *NPJ Genomic Medicine*. 2021;6:61.
https://doi.org/10.1038/s41525-021-00226-4
16. Thomson J, Bewicke-Copley F, Anene CA, et al. The genomic landscape of actinic keratosis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2021;141:1664-1674.
https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.12.024
17. Shen H, Laird PW. Interplay between the cancer genome and epigenome. *Cell (biology)*. 2013;153:38-55.
https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.008
18. Kandoth C, McLellan MD, Vandin F, et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature (journal)*. 2013;502:333-339.
https://doi.org/10.1038/nature12634
19. Dai E, Zhu Z, Wahed S, et al. Epigenetic modulation of antitumor immunity for improved cancer immunotherapy. *Molecular Cancer*. 2021;20:171.
https://doi.org/10.1186/s12943-021-01464-x
20. Griffin LL, Ali FR, Lear JT. Non-melanoma skin cancer. *Journal of Clinical Medicine*. 2016;16:62-65.
https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-1-62
21. Nawrocka PM, Galka-Marciniak P, Urbanek-Trzeciak MO, et al. Profile of Basal Cell Carcinoma Mutations and Copy Number Alterations — Focus on Gene-Associated Noncoding Variants. *Frontiers in Oncology*. 2021;11:752579.
https://doi.org/10.3389/fonc.2021.752579
22. Vergara IA, Aivazian K, Carlino MS, et al. Genomic Profiling of Metastatic Basal cell Carcinoma Reveals Candidate Drivers of Disease and Therapeutic Targets. *Modern Pathology*. 2023;36:100099.
https://doi.org/10.1016/j.modpat.2023.100099
23. Froimchuk E, Jang Y, Ge K. Histone H3 lysine 4 methyltransferase KMT2D. *Gene (journal)*. 2017;627:337-342.
https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.06.056
24. Augert A, Zhang Q, Bates B, et al. Small cell lung cancer exhibits frequent inactivating mutations in the histone methyltransferase KMT2D/MLL2: CALGB 151111 (alliance). *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12:704-713.
https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.12.011
25. Ortega-Molina A, Boss IW, Canela A, et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development. *Nature Medicine*. 2015;21:1199-1208.
https://doi.org/10.1038/nm.3943
26. Xie Q, Wang H, Heilman ER, et al. Increased expression of enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2) differentiates squamous cell carcinoma from normal skin and actinic keratosis. *European Journal of Dermatology*. 2014; 24:41-45.
https://doi.org/10.1684/ejd.2013.2219
27. Rao RC, Chan MP, Andrews CA, Kahana A. EZH2, proliferation rate, and aggressive tumor subtypes in cutaneous basal cell carcinoma. *JAMA Oncology*. 2016;2:962-963.
https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.0021
28. Siegel JA, Korgavkar K, Weinstock MA. Current perspective on actinic keratosis: a review. *British Journal of Dermatology*. 2017;177:350-358.
https://doi.org/10.1111/bjd.14852
29. Criscione VD, Weinstock MA, Naylor MF, et al. Actinic keratoses: Natural history and risk of malignant transformation in the Veterans Affairs Topical Tretinoin Chemoprevention Trial. *Cancer*. 2009;115:2523-2530.
https://doi.org/10.1002/cncr.24284

Поступила в редакцию 24.07.2023
Received 24.07.2023
Принята к печати 29.01.2024
Accepted 29.01.2024