

ПРОФИЛИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ BCR-ABL1-ПОДОБНОМ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Вшивкова О.С. Корзик А.В.

*ГУ «Республиканский научно-практический центр
детской онкологии, гематологии и иммунологии»*

Минск, Беларусь

vshyukova@gmail.com

Ввиду гетерогенности BCR-ABL1-подобного острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), его дифференциальная диагностика и стратификация пациентов в клинической практике является трудной, но необходимой задачей. Цель данного исследования – составление панели генов для профилирования BCR-ABL1-подобного ОЛЛ. По результатам исследования было выбрано 7 наиболее информативных генов, которые будут использованы при проведении комплексной молекулярно-генетической диагностики BCR-ABL1-подобного ОЛЛ.

Ключевые слова: *BCR-ABL1-подобный ОЛЛ; Ph-like ОЛЛ; острый лимфобластный лейкоз.*

SELECTION OF AN EXPRESSION GENE PANEL FOR THE DIAGNOSIS OF BCR-ABL1-LIKE ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

Vshyukova V. S., Korzik A. V.

*Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology
Minsk, Belarus*

vshyukova@gmail.com

Due to the heterogeneity of BCR-ABL1-like acute lymphoblastic leukemia (ALL), its differential diagnosis and patient stratification in clinical practice is a difficult but necessary task. The aim of this study is to compile a panel of genes for profiling BCR-ABL1-like ALL. Based on the results of the study, 7 most informative genes were selected, which will be used in the complex molecular genetic diagnosis of BCR-ABL1-like ALL.

Key words: *BCR-ABL1-like ALL; Ph-like ALL; acute lymphoblastic leukemia.*

BCR-ABL1-подобный острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) может быть охарактеризован как лейкоз из В-линейных предшественников со сходным с BCR-ABL1-позитивным ОЛЛ профилем экспрессии генов при отсутствии транслокации t(9;22)/BCR-ABL1, а также наличием множественных аберраций, активирующих передачу сигналов киназных или цитокиновых рецепторов [1, 2]. Прогноз пациентов с BCR-ABL1-подобным ОЛЛ крайне неблагоприятный и зависит от возраста – у взрослых показатели выживаемости хуже, чем у детей и подростков: 5-летняя бессобытийная выживаемость 24,1% против 41,0% и 58,2%, соответственно, а 5-летняя общая выживаемость – 25,8% против 72,8% и 65,8%, соответственно [3]. Ввиду неблагоприятного течения заболевания, в 2016 г. Всемирная организация здравоохранения включила BCR-ABL1-подобный ОЛЛ как предварительную единицу в классификацию В-линейных острых лимфобластных лейкозов/лимфом, подтверждая его клиническую важность. Тем не менее, ввиду гетерогенности данного подтипа ОЛЛ, его

дифференциальная диагностика и стратификация пациентов в клинической практике до сих пор остается трудной, но необходимой задачей.

Целью исследования является составление панели генов для профилирования BCR-ABL1-подобного ОЛЛ.

Профилирование экспрессии генов, чаще всего методом анализа микрочипов низкой плотности на основе технологии TaqMan (LDA), является наиболее распространенным для идентификации BCR-ABL1-подобного ОЛЛ. Данные по экспрессии генов подвергаются математической обработке математическими алгоритмами иерархической кластеризации данных или предсказательного анализ микрочипов и классификации [1-3]. Однако метод является дорогостоящим и не всегда экономически оправдан в рутинной лабораторной практике.

В исследование ретроспективно включено 23 педиатрических пациента с В-линейным ОЛЛ, получавших терапию в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» согласно терапевтическому протоколу ОЛЛ-МБ 2015 (Acute Lymphoblastic Leukemia Moscow-Berlin 2015), применение которого было начато в декабре 2014 года. В контрольную группу вошли 8 пациентов с транслокацией t(9;22)/BCR-ABL1, исследовательскую группу составили 15 пациентов – это пациенты без выявленных качественных и количественных хромосомных aberrаций, так называемая группа «других В-линейных ОЛЛ», среди которых осуществляется поиск BCR-ABL1-подобных случаев заболевания.

Оценка экспрессии генов выполнялась методом количественной обратной транскриптазной полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР). Гены для анализа были выбраны из панели LDA, использованной Детской онкологической группой (COG) в ретроспективном анализе, где она оказалась надежным предиктором BCR-ABL1-подобного ОЛЛ и применяется в текущем клиническом исследовании AALL1131 (NCT02883049) в Национальном институте рака (NCI) для скрининга всех пациентов высокого риска с первичным В-ОЛЛ на наличие BCR-ABL1-подобного фенотипа. Для проведения данного анализа нами были выбраны 15 генов, наиболее часто фигурирующие в зарубежных публикациях в контексте диагностики BCR-ABL1-подобного ОЛЛ: immunoglobulin J polypeptide (IGJ), spermatogenesis associated serine rich 2 like (SPATS2L), mucin 4 (MUC4), cytokine receptor-like factor 2 (CRLF2), carbonic anhydrase 6 (CA6), neurexin 3 (NRXN3), bone morphogenic protein receptor type 1B (BMPR1B), G protein-coupled receptor 110 (GPR110), chimerin 2 (CHN2), semaphorin 6A (SEMA6A), paraoxonase 2 (PON2), solute carrier family 2 member 5 (SLC2A5), S100 calcium binding protein Z (S100Z), tumor protein P53 inducible nuclear protein 1 (TP53INP1), and interferon induced transmembrane protein 1 (IFITM1).

Для поиска специфических последовательностей целевых генов и подбора праймеров к ним была использована программа Vector NTI. Три различные флуоресцентных метки были использованы при конструировании проб для дальнейшего применения в мультиплексной реакции, по три гена в каждой реакции, а также ген внутреннего контроля – гена GUS. Проведен анализ эффективности амплификации перечисленных генов и условия

оптимальной амплификации продуктов. Конечные данные были представлены как относительный уровень экспрессии генов, рассчитанных по методу 2^{deltaCt} .

Для определения различий в показателях экспрессии генов между исследуемыми группами пациентов был использован непараметрический тест Манна-Уитни. Значимые различия между группами обнаружены по уровню экспрессии восьми генов из пятнадцати: NRXN3 ($p=0,033$), GPR110 ($p=0,033$), SPATS2L ($p=0,024$), PON2 ($p=0,0005$), SLC2A5 ($p=0,02$), SEMA6A ($p=0,009$), CA6 ($p=0,0009$), MUC4 ($p=0,011$).

Последующий ROC-анализ позволил выделить 7 наиболее информативных генов из перечисленного множества, которые значимо различались у пациентов в исследуемой и контрольной группах: GPR110, SPATS2L, PON2, SLC2A5, SEMA6A, CA6, MUC4, CHN2. Результаты ROC-анализ сопоставимы с тестом Манна-Уитни для всех генов, за исключением генов NRXN3 и CHN2.

Специфичность для генов GPR110, SPATS2L, PON2, SLC2A5, CA6 и MUC4 составила 93,3% (95% CI 68,05–99,83%), для SEMA6A – 86,7% (95% CI 59,54–98,34%), для CHN2 была характерна самая низкая специфичность – 60,0% (95% CI 32,29–83,66%). Были определены значения относительной экспрессии генов, выше которых случай ОЛЛ можно отнести к BCR-ABL1-подобному фенотипу.

Таким образом, по результатам данной работы было выбрано 7 наиболее информативных генов, которые будут включены в модель мультиномиальной логистической регрессии при проведении комплексной молекулярно-генетической диагностики BCR-ABL1-подобного ОЛЛ на базе РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Список литературы

1. Harvey, R. C. Clinical diagnostics and treatment strategies for Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia / R. C. Harvey, S. K. Tasian // *Blood Adv.* – 2020. – Vol.4, №1. – P. 218–228.
2. Roberts, K. G. The biology of Philadelphia chromosome-like ALL / K. G. Roberts // *Best Pract Res Clin Haematol.* – 2017. – Vol. 30, №3. – P. 212–221.
3. Reshmi S. C., Harvey R. C., Roberts K. G. Targetable kinase gene fusions in high-risk B-ALL: a study from the Children's Oncology Group / S. C. Reshmi, R. C. Harvey, K. G. Roberts // *Blood.* – 2017. – Vol. 129. – P. 3352–3361.