

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-17

**АНАЛИЗ *IN SILICO* ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С ВНЕКЛЕТОЧНЫМ МАТРИКСОМ И ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ
ПЛАСТИЧНОСТЬЮ, ПРИ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

***IN SILICO* ANALYSIS OF GENE EXPRESSION PROFILE FEATURES ASSOCIATED
WITH EXTRACELLULAR MATRIX AND PHENOTYPIC PLASTICITY
IN TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER**

М. Ю. Карпушин, Н. А. Шелепин, И. В. Балалаева

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского

M. U. Karpushin, N. A. Shelepin, I. V. Balalaeva

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

✉ carpushin.misha@yandex.ru

Аннотация

Цель работы — анализ *in silico* особенностей профиля экспрессии генов, ассоциированных с внеклеточным матриксом и фенотипической пластичностью, при трижды негативном раке молочной железы. С использованием набора данных GSE65194 из базы данных NCBI GEO показаны специфические изменения в экспрессии генов исследованной группы, что в перспективе может быть использовано при поиске новых терапевтических мишеней для ТНРМЖ.

Abstract

The aim of the work is to analyze *in silico* the features of the gene expression profile associated with the extracellular matrix and phenotypic plasticity in triple-negative breast cancer. Using the GSE65194 dataset from the NCBI GEO database, specific changes in gene expression of the studied group are shown, which in the future can be used in the search for new therapeutic targets for TNBC.

Введение

По данным литературы, на долю пациентов с раком молочной железы (РМЖ) приходится до 36 % онкологических больных [1]. Существует несколько молекулярных подтипов РМЖ: люминальный А, люминальный В, HER2+, трижды негативный (ТНРМЖ) [2]. ТНРМЖ отличается отсутствием рецепторов эстрогена, прогестерона и рецептора HER2, высокой степенью агрессивности, склонностью к раннему метастазированию, низкой чувствительностью к иммунотерапии и гормональному лечению. Это обуславливает необходимость поиска новых молекулярных механизмов в качестве новых мишеней для терапии данного заболевания.

Особое внимание в рамках такого поиска представляет взаимодействие клеток с внеклеточным матриксом (ВКМ). Многочисленными исследованиями установлено, что ВКМ активно участвует в регуляции поведения опухолевых клеток и играет ключевую роль в инвазии, ангиогенезе, метастазировании и резистентности к терапии [3–5].

Целью работы являлся анализ *in silico* особенностей экспрессии генов, ассоциированных с ВКМ и фенотипической пластичностью, при ТНРМЖ, а также их функциональная аннотация.

Методы

Для анализа использовался набор данных GSE65194 [6] из NCBI GEO [7], полученный на платформе Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array [8]. Набор данных содержит 178 образцов: ТНРМЖ ($n = 41$), HER2+ ($n = 30$), люминальный А ($n = 29$), люминальный В ($n = 29$), клеточные линии РМЖ ($n = 14$), нормальные ткани, полученные в ходе маммопластики ($n = 11$). Нами использовались нормализованные данные в формате \log_2 значений уровня экспрессии генов.

Список генов интереса составлен с использованием The Matrisome Project [9], из которого получено 1027 генов, связанных с ВКМ, и MSigDB [10], из которого получено 250 генов, связанных с фенотипической пластичностью в количестве 250 генов. Итоговый список включал в себя 1027 генов. Из них в наборе данных обнаружено 943 гена, включенных в исследование.

Для анализа набора данных была разработана оригинальная программа АндЭГ. С использованием программы проводился анализ дифференциальной экспрессии генов (ДЭГ) для каждого подтипа РМЖ в сравнении с нормальными тканями ($|\log_2FC| > 1, p < 0,001$).

Для выявления генов, показавших изменение экспрессии только в образцах ТНРМЖ или во всех подтипах РМЖ, использовался веб-инструмент InteractiVenn [11].

Для биологической интерпретации изменений экспрессии генов интереса проводилось обогащение сигнальных путей ($p < 0,001$) из KEGG Pathway Database [12]. Обогащение проводилось отдельно для групп генов с повышенной и пониженной экспрессией с помощью программы АндЭГ через обращение в REST API сервиса Enrichr [13, 14].

Результаты

Анализ показал, что все подтипы РМЖ демонстрируют значимые изменения в профиле экспрессии генов, ассоциированных с ВКМ и фенотипической пластичностью (см. таблицу).

Результаты анализа ДЭГ для подтипов РМЖ

Подтип РМЖ	Общее количество генов с изменившейся экспрессией	Количество генов с повышенной экспрессией	Количество генов с пониженной экспрессией
Люминальный А	165	104	61
Люминальный Б	164	84	80
HER2-позитивный	196	108	88
ТНРМЖ	186	89	97

Среди генов, экспрессия которых меняется при ТНРМЖ, изменение 34 генов является специфичным для этого подтипа рака: 17 с повышенной экспрессией (CLEC4A, CLEC5A, CLEC7A, IFNG, IL15, MUC16, COL9A3, COL22A1, PLOD3, NCAN, CRLF3, SDC2, NRTN, EGLN1, CTSV, HPSE, PRSS2), 17 с пониженной экспрессией (CXCL12, COL4A5, DCN, DPT, LAMB1, SPON1, OMD, NTN4, MUC20, SEMA5A, ANGPTL2, INHBB, PDGFC, VWA5A, HTRA1, PLAT, CST3). Изменение экспрессии этих генов не встречается в других подтипах РМЖ, что установлено в ходе отдельного сравнения генов, показавших повышенную и пониженную экспрессию.

Для генов со специфичной для ТНРМЖ повышенной экспрессией выявлена связь с двумя сигнальными путями: Protein digestion and absorption, Malaria. Можно интерпретировать эту связь как свидетельство активного ремоделирования ВКМ опухолевыми клетками.

Для генов со специфичной для ТНРМЖ пониженной экспрессией обнаружена связь с двумя другими путями: Axon guidance, Focal adhesion, что может свидетельствовать о высокой подвижности клеток ТНРМЖ.

Таким образом, показано, что агрессивный фенотип ТНРМЖ связан со специфичным изменением экспрессии 34 генов. Более детальное изучение этих генов и процессов, в которых они участвуют, может дать начало разработке новых терапевтических мишеней для лечения данного заболевания.

Литература

- Smolarz B., Nowak A. Z., Romanowicz H. Breast Cancer — Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature) // Cancers. 2022. Vol. 14, No. 10. P. 2569.
- Orrantia-Borunda E. Subtypes of Breast Cancer // Breast Cancer / ed. Mayrovitz H. N.; Department of Medical Education, Dr. Kiran C. Patel College of Allopathic Medicine, Nova Southeastern University, FL, USA. Exon Publications, 2022. P. 31–42.
- Eble J. A., Niland S. The Extracellular Matrix in Tumor Progression and Metastasis // Clinical & Experimental Metastasis. 2019. Vol. 36, No. 3. P. 171–198.
- Campbell N. E. Extracellular Matrix Proteins and Tumor Angiogenesis // Journal of Oncology. 2010. Vol. 2010. P. 1–13.
- Henke E., Nandigama R., Ergün S. Extracellular Matrix in the Tumor Microenvironment and Its Impact on Cancer Therapy // Frontiers in Molecular Biosciences. 2020. Vol. 6. P. 160.
- Edgar R. Gene Expression Omnibus: NCBI Gene Expression and Hybridization Array Data Repository // Nucleic Acids Research. 2002. Vol. 30, suppl. 1 (Gene Expression Omnibus). P. 207–210.
- Dubois T. Expression Profiling of Breast Cancer Samples from Institut Curie (Maire Cohort) — Affy CDF // NCBI Gene Expression Omnibus. 2015. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE65194> (date of access: 01.05.2025).
- Affymetrix Inc. [HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array // NCBI Gene Expression Omnibus. 2020. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GPL570> (date of access: 01.05.2025).
- Naba A. et al. The Matrisome: In Silico Definition and In Vivo Characterization by Proteomics of Normal and Tumor Extracellular Matrices // Molecular & Cellular Proteomics. 2012. Vol. 11, No. 4 (The Matrisome). P. M111.014647.
- Liberzon A. et al. The Molecular Signatures Database Hallmark Gene Set Collection // Cell Systems. 2015. Vol. 1, No. 6. P. 417–425.
- Heberle H. et al. InteractiVenn: A Web-Based Tool for the Analysis of Sets Through Venn Diagrams // BMC Bioinformatics. 2015. Vol. 16, No. 1 (InteractiVenn). P. 169.

-
12. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. 2024. URL: <https://www.kegg.jp> (date of access: 05.05.2025).
 13. Xie Z. et al. Gene Set Knowledge Discovery with Enrichr // Current Protocols. 2021. Vol. 1, No. 3. P. e90.
 14. Chen E. Y. et al. Enrichr: Interactive and Collaborative HTML5 Gene List Enrichment Analysis Tool // BMC Bioinformatics. 2013. Vol. 14, No. 1 (Enrichr). P. 128.