

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33



# Роль мутаций в гене *NF1* в спорадическом канцерогенезе

**Р.Н. Мустафин**

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»; Россия, 450008 Уфа, ул. Ленина, 3

**Контакты:** Рустам Наилевич Мустафин [ruji79@mail.ru](mailto:ruji79@mail.ru)

В обзорной статье представлены данные о роли соматической инактивации гена нейрофибромина *NF1* в развитии спорадических злокачественных неоплазм. Рассмотрена взаимосвязь особенностей опухолевого синдрома при нейрофиброматозе 1-го типа и специфических типов спорадических новообразований, при которых наиболее часто обнаруживают мутации в гене *NF1*. Описаны примеры химиорезистентности меланомы, нейробластомы, рака яичника, молочной железы и легких, обусловленной мутациями в этом гене (при условии отсутствия мутаций известных протоонкогенов). Для преодоления устойчивости к химиотерапии данных новообразований предложено использовать ингибиторы митоген-активируемой протеинкиназы, эффективность которых доказана при лечении плексиформных нейрофибром. Представлены данные о взаимосвязи *NF1* и микроРНК, которые могут быть применены в таргетной терапии нейрофиброматоза 1-го типа и спорадических неоплазм с мутациями данного гена. Рассмотрены перспективы генной терапии данных заболеваний.

**Ключевые слова:** ген *NF1*, злокачественные новообразования, микроРНК, нейрофибромин, таргетная терапия, химиорезистентность

**Для цитирования:** Мустафин Р.Н. Роль мутаций в гене *NF1* в спорадическом канцерогенезе. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(3):25–33. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.

## The role of mutations in *NF1* gene in sporadic carcinogenesis

**R.N. Mustafin**

Bashkir State Medical University, 3 Lenin St., Ufa 450008, Russia

**Contacts:** Rustam Nailevich Mustafin [ruji79@mail.ru](mailto:ruji79@mail.ru)

The review article presents data on somatic inactivation of *NF1* gene as a cause of sporadic malignant neoplasms. The relationship between the features of specific tumors in neurofibromatosis type 1 and specific types of sporadic neoplasms, in which mutations in *NF1* gene are found, are presented. Evidence for the role of somatic mutations in *NF1* gene in the development of chemoresistance in melanoma, neuroblastoma, ovarian and breast cancer, and lung cancer is described (only if there are no mutations of known protooncogenes). To overcome the resistance of these neoplasms, inhibitors of mitogen-activated protein kinase have been proposed, the effectiveness of which has been proven in the treatment of plexiform neurofibromas. The review presents evidence of the relationship between *NF1* and microRNA, which can be used for targeted therapy of both neurofibromatosis type 1 and sporadic neoplasms with mutations of this gene. Prospects for gene therapy of these diseases are considered.

**Key words:** *NF1* gene, malignant neoplasms, microRNA, neurofibromin, targeted therapy, chemoresistance

**For citation:** Mustafin R.N. The role of mutations in *NF1* gene in sporadic carcinogenesis. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2021;8(2):25–33. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.

### ВВЕДЕНИЕ

Ген *NF1* кодирует нейрофибромин, Ras-специфический ГТФаз-активирующий белок, который катализирует инактивацию Ras путем гидролиза ГТФ (гуанозинтрифосфата) в ГДФ (гуанозиндифосфат). Поэтому потеря функции нейрофибромина вследст-

вие мутаций в гене *NF1* является функциональным эквивалентом активации гена *RAS*. Герминативные гетерозиготные мутации в *NF1* вызывают развитие нейрофиброматоза 1-го типа (НФ1) [1], который встречается с частотой 1 случай на 3000 человек. Этот ген располагается на 17q11.2 и характеризуется высо-

кой мутабельностью, в связи с чем в 50 % случаев НФ1 являются спорадическими [2]. Инактивация *NF1* стимулирует каскад RAF (proto-oncogene serine/threonine-protein kinase)/MEK (mitogen-activated protein kinase)/ERK (extracellular signal-regulated kinase), что ведет к развитию множества доброкачественных опухолей и повышает риск возникновения злокачественных новообразований (ЗНО) [3]. Нейрофиброматоз 1-го типа характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования, полной пенетрантностью и варьирующей экспрессивностью. Чертами данного заболевания являются пятна цвета кофе с молоком (café au lait macules – CALM), веснушки на коже и нейрофибромы (доброкачественные опухоли оболочек периферических нервов). Помимо кожных проявлений, при НФ1 часто встречаются глиомы зрительных нервов, узелки Лиша, сколиоз, псевдоартроз, когнитивный дефицит, опухоли центральной нервной системы [4].

У 99 % взрослых с НФ1 обнаруживаются кожные нейрофибромы [5] и CALM, у 90 % – веснушчатость [6]. Пятна цвета кофе с молоком являются опухолеподобными образованиями, развивающимися вследствие инактивации 2-го аллеля *NF1* в меланоцитах. Последние, как и клетки Шванна, происходят от общих предшественников нервного гребня [7]. У 70 % больных НФ1 наблюдаются гамартомы радужной оболочки глаза (узелки Лиша), у 15–20 % – глиомы зрительных нервов [8], у 10 % – опухоли ствола головного мозга [9]. У 50 % пациентов развиваются плексиформные нейрофибромы, которые характеризуются инфильтративным ростом и склонностью к озлокачествлению [5]. У 81 % больных НФ1 выявляются проблемы с поведением (в 40 % случаев они соответствуют критериям диагностики синдрома дефицита внимания и гиперактивности) [6], у 30–65 % – нарушения интеллекта (среднее значение коэффициента интеллекта = 85) [8].

Нейрофибромы при НФ1 отличаются сложным механизмом развития. Для данных опухолей характерно аномальное иммунное микроокружение мастоцитов, Т-лимфоцитов и макрофагов со взаимным потенцированием пролиферации опухолевых и иммунных клеток [10]. *NF1*-/- клетки Шванна вырабатывают SCF (stem cell factor), который рекрутирует *NF1*+/- мастоциты в опухолевое микроокружение. Данные мастоциты характеризуются высокой чувствительностью к SCF [11]. Клетки Шванна при НФ1 экспрессируют также протоонкоген с-KIT (рецепторная тирозинкиназа), способствующий дегрануляции тучных клеток вследствие активации путей фосфоинозитид-3-киназы (PIK3) [12]. В свою очередь, активированные мастоциты стимулируют фибробласты для выработки повышенного количества коллагена и TGF-β (transforming growth factor β), что вызывает рост опухоли. Тучные клетки при НФ1 секретируют фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и матриксные металлопротеиназы (MMP), активизируя ангиогенез нейрофибром. Вследствие стимуляции Ras активируются Т-лимфоциты,

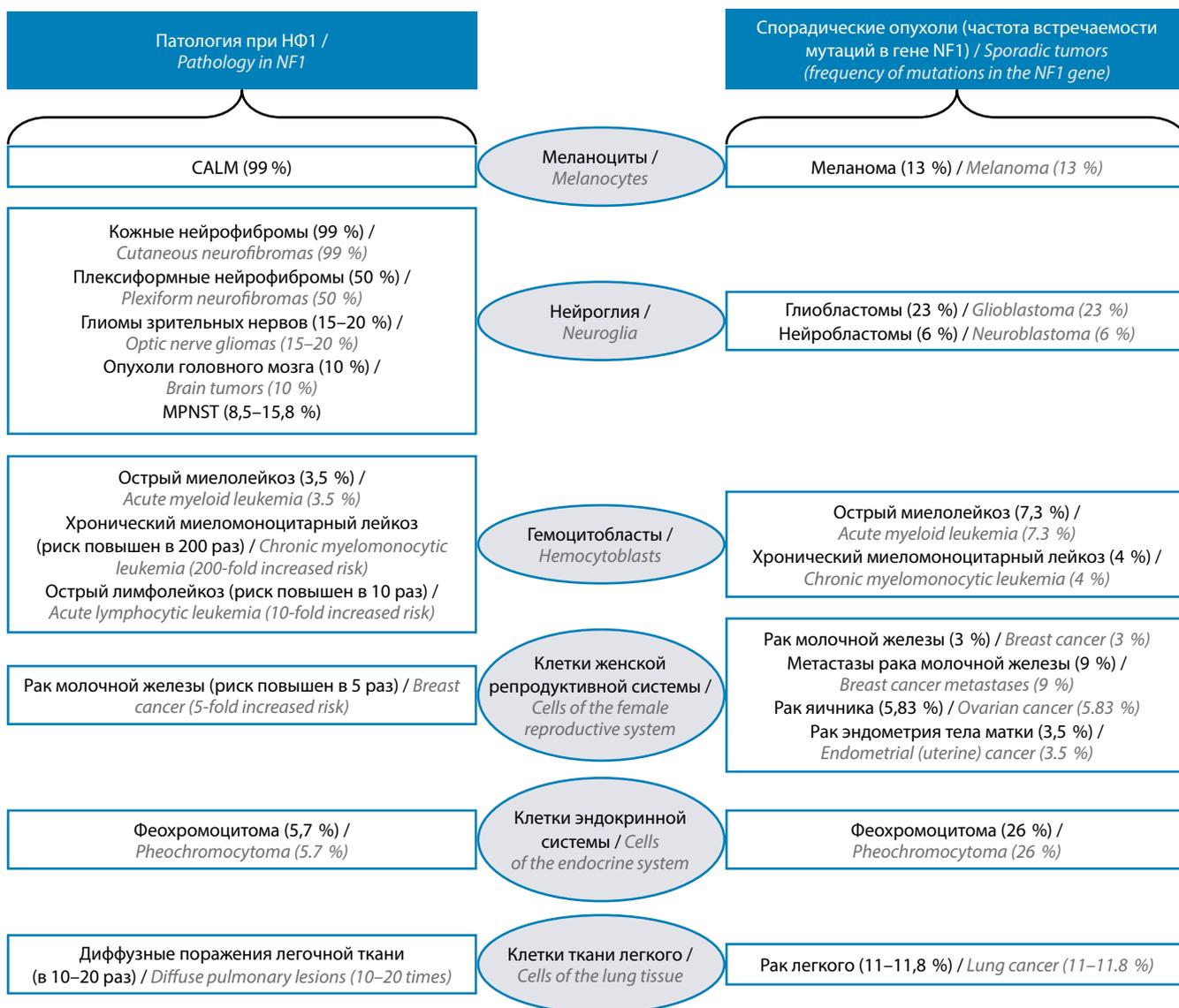
вырабатывающие воспалительные цитокины, которые способствуют секреции хемокинового лиганда CCL15 клетками микроглии и макрофагами [10]. То есть Т-клетки не обеспечивают адекватный противоопухолевый иммунный ответ, а провоцируют рост опухолей. Данная особенность может быть связана с нарушением работы иммунных клеток вследствие мутации в гене *NF1*, о чем свидетельствует высокий риск развития миелолейкоза у больных НФ1. При этом *NF1*-/- миелоциты становятся гиперчувствительными к GM-CSF (colony stimulating factor) [13].

Для больных НФ1 характерен высокий риск развития специфических типов ЗНО, имеющих худший прогноз по сравнению со спорадическими ЗНО, возникающими у пациентов без НФ1. Это свидетельствует о роли мутаций в *NF1* в иницировании более агрессивного и химиорезистентного канцерогенеза, что необходимо учитывать при лечении пациентов с данным заболеванием. Для НФ1 наиболее специфичны злокачественные опухоли оболочек периферических нервов (malignant peripheral nerve sheath tumors, MPNST), риск развития которых у больных до 30 лет составляет от 8,5 %, до 50 лет – 12,3 % и до 85 лет – 15,8 %. Кроме того, при НФ1 наблюдается высокий риск возникновения гастроинтестинальных стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта (gastrointestinal stromal tumours, GIST), злокачественной фиброзной гистиоцитомы, рабдомиосаркомы и рака головного мозга [5]. Показатель RR (rate ratios) при НФ1 для опухолей костей составляет 19,6, рака щитовидной железы – 4,9, печени – 3,8, пищевода и Неходжкинской лимфомы – 3,3, желудка – 2,8, толстой кишки – 2,0 [14].

Исследование особенностей патогенеза НФ1 может стать основой для разработки перспективных способов лечения спорадических ЗНО, в развитии которых участвуют мутации в *NF1*. Это связано с тем, что данные опухоли отличаются химиорезистентностью к препаратам, эффективным при терапии опухолей, в которых не обнаруживаются мутации в *NF1* [15–20]. Логично рассмотреть взаимосвязь специфических клинических проявлений НФ1 и роли соматических мутаций в развитии спорадических ЗНО (рис. 1).

### МУТАЦИИ В ГЕНЕ *NF1* В СПОРАДИЧЕСКИХ НЕОПЛАЗМАХ

Поскольку одной из основных особенностей НФ1 являются CALM [6], представляющие собой опухолеподобные образования [7], можно предположить, что мутации в гене *NF1* выступают драйверными событиями в развитии некоторых меланом. Действительно, самым ранним событием, которое наблюдается при развитии спорадической десмопластической меланомы, является гомозиготная мутация в гене *NF1* [21]. Она обнаруживается в 93 % случаев данного ЗНО и в 20 % случаев недесмопластической меланомы [22]. В масштабном исследовании 213 образцов



**Рис. 1.** Сравнительная характеристика клинических проявлений нейрофиброматоза 1-го типа и спорадических опухолей с наличием соматических мутаций в гене NF1. НФ1 – нейрофиброматоз 1-го типа; MPNST – malignant peripheral nerve sheath tumors (злокачественные опухоли оболочек периферических нервов); CALM – café au lait macules (пятна цвета кофе с молоком)

**Fig. 1.** Comparison of clinical manifestations of Neurofibromatosis type 1 and sporadic tumors with somatic mutations in the NF1 gene. NF1 – neurofibromatosis type 1; MPNST – malignant peripheral nerve sheath tumors; CALM – café au lait macules (coffee-au-lait spots)

меланом мутации *NF1* выявлены в 13 % данных опухолей [23].

Генетический анализ 3281 опухоли 12 типов показал, что мутации в *NF1* в целом обнаруживаются в 4,4 % случаев. Хотя новообразования легкого не служат специфическим проявлением НФ1, часто при раке легкого выявляются мутации в *NF1* (11,8 %) [24]. В ходе исследования тканей аденокарциномы легкого у 230 человек в 11 % образцов обнаружены мутации в этом гене, которые были драйверными событиями в канцерогенезе онкоген-негативных опухолей. Следует отметить, что мутация в *NF1* признается драйверной в том случае, когда в исследуемом новообразовании не обнаруживаются мутации известных протоонкогенов [25]. Поражение тканей легкого наблюдается у 10–20 % взрослых больных НФ1 в виде двусторон-

них базальных ретикуляций, апикальных булл и кист, что свидетельствует о роли этого гена в развитии данного органа [26].

Для НФ1 характерны нейрофибромы и глиомы. Соответственно, дефицит нейрофибромина может способствовать развитию спорадических нейробластом. Мутации в *NF1* определяют в 23 % глиобластом, 6 % нейробластом [15] и 11 % мультиформных глиобластом [24]. Поскольку в патогенезе нейрофибром большую роль играют патологические реакции клеток иммунной системы [10–13], у больных НФ1 риск развития хронического миеломоноцитарного лейкоза выше в 200 раз, а острого лимфолейкоза – в 10 раз по сравнению с общей популяцией [27]. Соматические мутации в *NF1* могут способствовать возникновению спорадических гемобластозов. Делеции *NF1* обнаруживаются

в 5,1 % всех миелопролиферативных неоплазм, в том числе в 7,3 % случаев острого миелолейкоза, в 4 % — хронического миеломоноцитарного лейкоза и в 1,2 % — миелодиспластических синдромов [1]. У 9 % всех больных с хроническим миеломоноцитарным лейкозом обнаруживают НФ1 [27]. В ходе исследования, в котором участвовали 488 пациентов с острым миелолейкозом, у 3,5 % больных выявлены делеции в *NF1* размером 0,3 мегабазы [28]. Можно предположить, что часть обнаруженных мутаций в этом гене в описанных спорадических ЗНО являются драйверными, если не изменены известные протоонкогены [25].

Помимо регуляции Ras, нейрофибромин служит корепрессором транскрипции эстрогенового рецептора- $\alpha$  (ESR1) за счет наличия в белке лейцин/изолейцинового домена, функционально независимого от GAP-активности. В экспериментах данный домен (LBD, ligand-binding domain) способствует коиммунопреципитации с эстрогеновыми рецепторами [20]. Соответственно, мутации в гене *NF1* способствуют развитию опухолей женской репродуктивной системы. Для пациенток с НФ1 характерен высокий риск возникновения рака молочной железы (РМЖ), особенно у женщин младше 40 лет. Это свидетельствует о роли мутаций в *NF1* в развитии данного типа ЗНО [5]. В целом для женщин с НФ1 младше 50 лет риск возникновения РМЖ в 5 раз выше, чем в общей популяции [29]. Мутации в *NF1* обнаруживают в 3 % образцов спорадического РМЖ [30] и 9 % образцов его метастазов в головной мозг. Мутации в этом гене занимают 4-е место (после мутаций в генах *TP53*, *ERBB2* и *RAD21*) [31].

Мутации в *NF1* обнаруживают в 3,5 % случаев рака эндометрия тела матки [24], в 5,83 % [32] образцов рака яичника (22 % серозного рака яичника) [33]. При исследовании 124 образцов эпителиального рака яичника в 93 из них было выявлено значительное снижение уровней матричной РНК (мРНК) *NF1* и нейрофибромина. При этом выявлена отрицательная корреляция экспрессии *NF1* с 5-летней выживаемостью больных и метастазами в лимфатические узлы [34]. Риск развития феохромоцитомы при НФ1 составляет до 5,7 % (в 22 % случаев заболевание протекает без симптомов) [5]. В то же время мутации в гене *NF1* выявляются в 26 % образцов спорадической феохромоцитомы [35].

### РОЛЬ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *NF1* В РАЗВИТИИ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕЙ

В фармакотерапии НФ1 наиболее перспективным считается патогенетическое лечение, направленное на подавление активности системы RAF/MEK/ERK. Из препаратов, прошедших клинические испытания и показавших эффективность в отношении плексиформных нейрофибром в ходе ряда исследований [36–39], наиболее результативным оказался ингибитор MEK селуметиниб. Полученные данные могут быть использованы для планирования комплексного лечения спорадических ЗНО, устойчивость к фармакоте-

рапии которых обусловлена мутациями в гене *NF1* (при отсутствии мутаций в протоонкогенах в ткани опухоли [25]). Сложность патогенеза НФ1 обуславливает особенности развития спорадических ЗНО, резистентных к химиотерапии вследствие соматических мутаций в *NF1*. Хотя ингибиторы MEK, воздействующие на систему RAF/MEK/ERK, показали свою эффективность в лечении опухолей при НФ1 [36–39], мутации в *NF1* вызывают резистентность к ингибитору RAF вемурафенибу при лечении меланомы [40–41].

Несмотря на эффективность ретиноевой кислоты при лечении нейробластомы (восстанавливает дифференцировку клеток), часть опухолей оказалась устойчивой к терапии вопреки отсутствию мутаций в генах — компонентах сигналинга данной кислоты. Обнаружено, что именно мутации в *NF1* способствуют резистентности к данному препарату вследствие подавления белка цинкового пальца ZNF423 при активации сигналинга RAS/MEK. ZNF423 является ключевым транскрипционным коактиватором рецепторов ретиноевой кислоты. Нейробластомы с мутациями в генах *NF1* и *ZNF423* характеризуются выраженной агрессивностью и крайне неблагоприятным прогнозом [15]. При исследовании тканей химиорезистентного серозного рака яичника у 92 пациентов выявлена инактивация гена *NF1* (наряду с инактивацией RB1, RAD51B, PTEN), которая способствовала устойчивости опухоли к применяемым препаратам платины [17]. При изучении 336 ESR1+ образцов РМЖ мутации в *NF1* были обнаружены главным образом в устойчивых к гормональной терапии инвазивных лобулярных карциномах с метастазами [18]. Роль дефицита нейрофибромина в развитии химиорезистентности РМЖ доказана при исследовании 210 образцов опухолей. Мутации в *NF1* обнаружены в 8,1 % случаев данного заболевания, в основном в образцах прогрессирующего метастазирующего РМЖ. Данные мутации вызывают устойчивость ESR1+ раковых клеток к ингибиторам ароматазы [42]. Следует отметить, что не все обнаруживаемые мутации *NF1* являются драйверами для развития химиорезистентности в рассмотренных ЗНО. Необходимым условием этого является сохранение нормальной структуры и экспрессии протоонкогенов [25].

При плоскоклеточном раке легкого резистентность к дазатинибу (оральному ингибитору тирозинкиназы) развивается не только в случае наличия мутаций в гене рецептора тирозинкиназы *DDR2*, но и обходным путем при мутациях в гене *NF1* [16], которые вызывают также устойчивость рака легкого к ингибиторам рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) эрлотинибу и гефитинибу [43]. Роль мутаций в *NF1* в развитии химиорезистентности была доказана в ходе экспериментов. На линиях клеток колоректального рака показано, что мутации в этом гене вызывают резистентность к терапии ингибиторами EGFR [19]. Экспериментальные исследования

позволили также выявить механизмы развития устойчивости раковых клеток к ингибиторам ароматазы. Поскольку нейрофибромин служит также корепрессором транскрипции *ESR1*, мутации в *NF1* вызывают гиперчувствительность к эстрадиолу, что снижает эффективность терапии РМЖ тамоксифеном. Более того, мутации *NF1* чаще обнаруживаются в метастазирующих неоплазмах, что говорит о вероятной роли данных мутаций в опухолевой прогрессии [20].

### РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С *NF1* МИКРОРНК В РАЗВИТИИ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕЙ

Помимо мутаций в *NF1* в спорадических ЗНО происходят изменения эпигенетического контроля этого гена вследствие повышенной экспрессии микроРНК, вызывающих сайленсинг мРНК гена *NF1*. К таким микроРНК (miRNA) относятся miR-128, -137, -103, которые комплементарно связываются с 3'-UTR (3'-untranslated region) мРНК *NF1* и снижают уровни нейрофибромина [44]. В 69 % линий клеток меланомы наблюдается повышенный уровень miR-514a, которая специфически подавляет экспрессию *NF1* и повышает выживаемость клеток [45]. Для рака желудка характерна повышенная экспрессия miR-107, которая ингибирует мРНК гена *NF1* за счет связывания со специфическими последовательностями нуклеотидов внутри 3'-UTR. Уровни miR-107 коррелируют с размерами и глубиной инвазии опухоли [46]. Фибробласты плоскоклеточного рака легкого экспрессируют miR-369, которая оказывает целевое воздействие на мРНК гена *NF1*, стимулируя развитие опухоли, миграцию и инвазию раковых клеток [47].

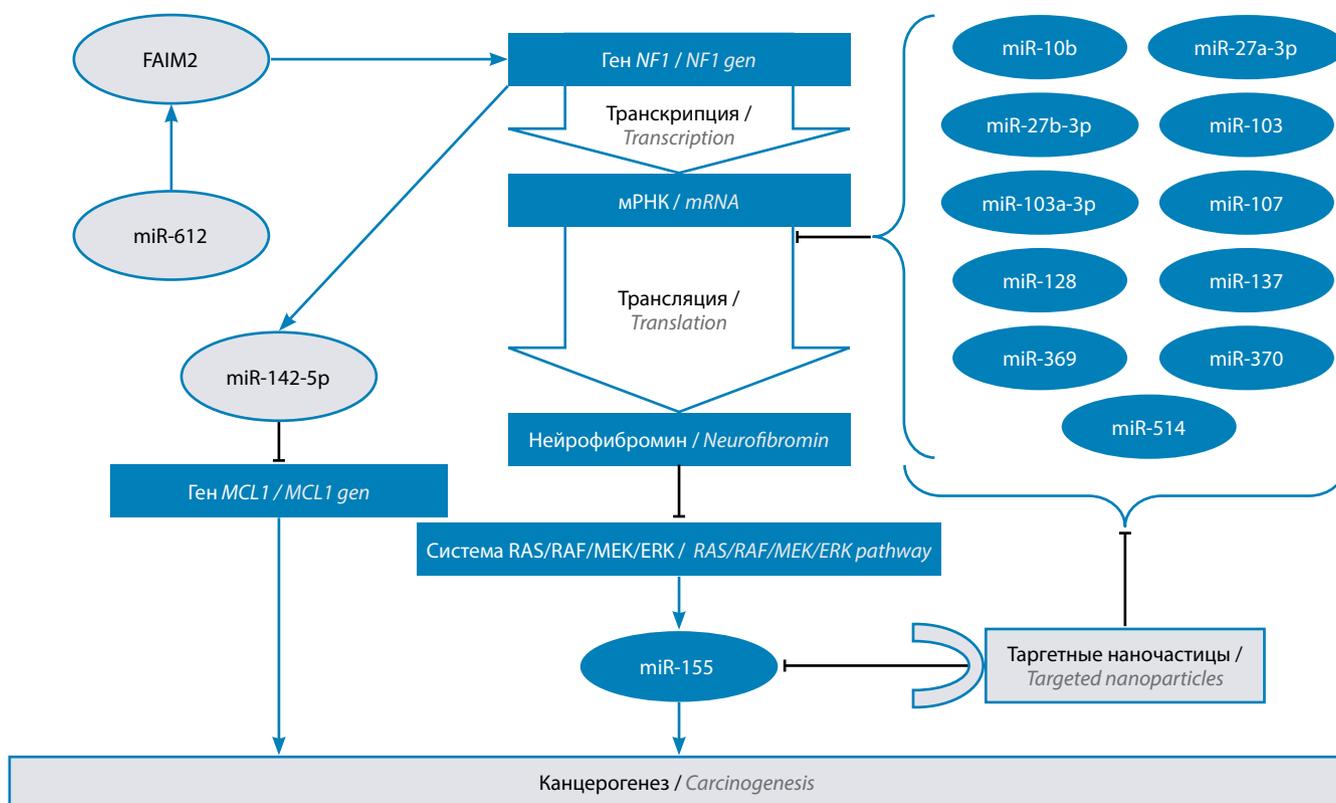
Имеются данные о роли микроРНК, влияющих на *NF1*, в развитии химиорезистентности опухолей. Так, устойчивость немелкоклеточного рака легкого к ингибиторам EGFR, может быть обусловлена повышенной экспрессией miR-641. Данная микроРНК специфически взаимодействует с мРНК гена *NF1* и снижает уровни нейрофибромина [48]. Неэффективность цисплатина при немелкоклеточном раке легкого аналогичным образом связана с гиперпродукцией miR-103a-3p, ингибирующей *NF1* [49]. В глиомах, резистентных к темозоломиду, определяются высокие концентрации miR-27a-3p, также взаимодействующей с *NF1* [50]. По данным ПЦР (полимеразной цепной реакции) в реальном времени и вестерн-блоттинга подавление экспрессии *NF1* происходит в 30,8 % случаев острого миелолейкоза. Частой причиной этого служит повышение уровня miR-370, которая ингибирует синтез нейрофибромина [51]. Сам ген *NF1* оказался вовлечен в регуляцию транскрипции некоторых микроРНК. При его нокдауне усиливается экспрессия антиапоптотического белка *MCL1* (myeloid cell leukemia 1), что обусловлено ролью промотора *NF1* в управлении транскрипцией онкосупрессорной miR-142-5p. Ее мишенью является 3'-UTR гена *MCL1*. При коло-

ректальном раке, плоскоклеточном раке легкого и раке печени уровень miR-142-5p снижается. MiR-142-5p также ингибирует пролиферацию клеток немелкоклеточного рака легкого за счет целевого воздействия на ген *PIK3CA* (кодирует субъединицу PIK3) [52].

Данные о микроРНК, влияющих на уровни нейрофибромина, могут быть использованы в лечении спорадических ЗНО и опухолей при НФ1. Так, в клетках MPNST ингибирование miR-10b вызывает снижение их пролиферации, миграции и инвазии, что связано с ее целевым воздействием на мРНК гена *NF1* [53]. При НФ1 в кожных нейрофибромах и клеточных линиях MPNST определяется повышение уровней miR-27a-3p и miR-27b-3p, которые способствуют пролиферации, миграции и инвазивной способности опухолевых клеток. Обе микроРНК непосредственно воздействуют на мРНК гена *NF1* [54]. Для лечения ЗНО (в возникновении которых доказана драйверная роль мутаций *NF1*) могут быть использованы онкосупрессорные микроРНК, влияющие на экспрессию нейрофибромина опосредованно, через другие молекулы. В частности, miR-612, уровень которой в опухолевых клетках при НФ1 значительно снижен, регулирует активность *NF1* посредством целевого воздействия на *FAIM2* (Fas apoptotic inhibitory molecule 2) [55]. Более того, в качестве мишени для таргетной терапии НФ1 можно применять микроРНК, стимулированные усиленным сигналингом MAPK (mitogen-activated protein kinase) вследствие инактивации *NF1*. К таким микроРНК относится miR-155, усиленно экспрессируемая в плексиформных нейрофибромах. Подавление транскрипции miR-155 с помощью специфических наночастиц подавляет рост нейрофибром. Данный подход предполагается применять при лечении НФ1 [56]. Таким образом, в терапии химиорезистентных опухолей, обусловленных мутациями *NF1*, могут быть использованы онкосупрессорные микроРНК, опосредованно стимулирующие выработку нейрофибромина, а также антисмысловые молекулы с целевым воздействием на микроРНК, как подавляющие экспрессию *NF1*, так и участвующие в онкогенном сигналинге системы RAF/MEK/ERK (рис. 2).

### ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНЫХ ОПУХОЛЕЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *NF1*

Определение мутаций в *NF1* в химиорезистентных ЗНО может стать основой для разработки эффективных способов их лечения. Важным условием этого является отсутствие мутаций в известных протоонкогенах в данных опухолях, что свидетельствует о драйверной роли дефицита нейрофибромина, на регуляторные пути которого планируется воздействие. Так, показано, что сочетание ингибитора RAF 2-го типа с аллостерическим ингибитором MEK способствует преодолению приобретенной устойчивости к терапии ЗНО с мутациями в *NF1*. Наибольшего успеха можно добиться при использовании метода активации



**Рис. 2.** Взаимосвязь гена *NF1* с микроРНК, а также пути воздействия на них с целью таргетной терапии опухолей. *FAIM2* – *Fas apoptotic inhibitory molecule 2*; *RAF* – *proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*; *MEK* – *mitogen-activated protein kinase kinase*; *ERK* – *extracellular signal-regulated kinase*; *мРНК* – *матричная РНК*; *miR* – *микроРНК*

**Fig. 2.** Relationship of the *NF1* gene with microRNAs, ways to influence them for targeted tumors' therapy. *FAIM2* – *Fas apoptotic inhibitory molecule 2*; *RAF* – *proto-oncogene serine/threonine-protein kinase*; *MEK* – *mitogen-activated protein kinase kinase*; *ERK* – *extracellular signal-regulated kinase*; *mRNA* – *messenger RNA*; *miR* – *microRNA*

противоопухолевого ответа CD8<sup>+</sup> Т-клеток с помощью анти-PD-L1 (лиганда рецептора запрограммированной клеточной гибели 1) [57], который был предложен для лечения нейрофибром при НФ1 [58]. В ходе эксперимента на линиях клеток колоректального рака устойчивость к ингибиторам EGFR преодолевалась с помощью совместного применения ингибиторов EGFR и ингибитора MEK селуметиниба [19]. Чувствительность нейробластомы к ретиноевой кислоте также восстанавливалась при использовании ингибиторов MEK [15]. ESR1<sup>+</sup> клетки РМЖ с дефицитом нейрофибромина изначально сохраняют восприимчивость к селективным деструкторам ESR1 (SERD). Однако активация Ras вызывает устойчивость к SERD, которую можно преодолеть при введении ингибитора MEK вместе с SERD. Соответственно, комбинация ингибиторов SERD/MEK способствует регрессу опухоли. Поскольку около 80 % всех типов РМЖ являются ESR1-позитивными, в современной онкологии актуально выявление мутаций в *NF1* как фактора резистентности к гормональной терапии [20]. В ходе эксперимента устойчивость рака легкого к эрлотинибу и гефитинибу устранялась за счет блокирования MEK [43]. Это свидетельствует о перспективности применения ингибиторов MEK, таких

как селуметиниб, которые используются в клинической практике [36–39] для данных ЗНО.

Помимо классических ингибиторов MEK в опухолях с мутациями в *NF1* перспективно применение и других препаратов в соответствии с механизмами взаимодействия нейрофибромина. Так, мутации в этом гене способствуют ангиогенезу ЗНО и их прогрессированию за счет активации зависимых от mTOR-путей HIF-1 $\alpha$  (фактора, индуцируемого гипоксией 1- $\alpha$ ) и VEGF в опухолевых клетках Шванна [59]. Поэтому при высокозлокачественных глиомах, обусловленных мутациями в *NF1*, показана эффективность ингибитора VEGF бевацизумаба [60]. Поскольку большую роль в накоплении коллагена в нейрофибромах играет вызванный мутацией в этом гене пониженный синтез MMP, предполагается восстановление уровней этих металлопротеиназ с помощью блокаторов лизосом хлорохина и гидроксихлорохина с целью подавления роста опухолей [4]. У женщин с РМЖ, устойчивым к эндокринной терапии вследствие мутации в *NF1* в исходной опухолевой ДНК, была показана эффективность фулвестранта в комплексной терапии с палбоциклибом [42]. Меланома, в которой имеется дефицит нейрофибромина, резистентная к ингибиторам RAF, оказалась чувствительной к необратимому ингибитору RAF

AZ628 и ингибитору ERK [41], а также к комбинации ингибиторов MEK и mTOR [40].

Для лечения опухолей, химиорезистентных вследствие мутаций в *NF1*, перспективна также генная терапия, направленная на восстановление нормального уровня и активности нейрофибромина. Введение полноразмерного нормального гена *NF1* с использованием рекомбинантного аденоассоциированного вируса (гAAV) затруднительно вследствие больших размеров комплементарной ДНК этого гена (8500 п. н.). Поэтому предполагается использовать усеченные варианты *NF1*, сохраняющие функциональные домены [61]. На линиях клеток Шванна и MPNST человека продемонстрирована эффективность восстановления Ras-ГТФазной активности за счет экспрессии GRD с использованием гAAV. Это привело к выраженному подавлению путей RAS/RAF/MEK [3]. В эксперименте на линии клеток нейрофибромы трансфекция изолированных доменов GRD, CSRD, LRD, CTD белка нейрофибромина частично восстанавливала нормальную дифференцировку и функцию клеток [62]. Планируется внедрение данных методов в клиническую практику.

Для использования более простых способов восстановления функции гена *NF1* большое значение имеет молекулярно-генетическое исследование больных. Так, при нонсенс-мутациях возможно подавление терминации трансляции преждевременных стоп-кодонов (РТС – premature termination codons) в рамке считывания. Для этого проводят псевдоуридилирование РТС, ингибирование нонсенс-опосредованного распада мРНК и осуществляют воздействие супрессорными тРНК (транспортными РНК). Наиболее приемлемо использование аминокликозидов, которые подавляют считывание преждевременных стоп-кодонов за счет воздействия на центр декодирования рибосом. Сходными свойствами обладают негамидин (связывается с малой субъединицей рибосомы), спирамицин, джозамицин, тилозин и РТС124 (аталурен) [63]. Противоопухолевым действием обладают также антибиотики из группы тетрациклинов за счет подавления синтеза белка в митохондриях опухолей. На линии клеток MPNST, в которых имелся дефицит нейрофибромина, доксициклин в сочетании с фотодина-

мическим воздействием, вызванным 5-аминолевулиновой кислотой, оказывал выраженный цитотоксический эффект [64]. При глубоких интронных мутациях в гене *NF1*, вызывающих инсерции латентных экзонов в мРНК, экспериментальные исследования на линиях фибробластов и лимфоцитов показали эффективность антисмысловых олигомеров (АМО – antisense morpholino oligomers) при восстановлении нормального сплайсинга. АМО специфически подавляют новые 5'-сайты сплайсинга, необходимые для включения латентных экзонов [65]. Выявление мутаций в *NF1* имеет также большое значение для планирования лучевой терапии ЗНО, поскольку инактивация данного гена способствует развитию индуцированных радиацией вторичных опухолей [66].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование особенностей патогенеза НФ1 может стать основой для разработки путей терапии химиорезистентных спорадических злокачественных новообразований, обусловленных мутациями в гене *NF1* (при отсутствии изменений в протоонкогенах). В настоящее время в лечении опухолевого синдрома при НФ1 эффективность показали ингибиторы MEK, совместное применение которых позволяет также преодолевать химиорезистентность спорадических злокачественных неоплазм, обусловленных соматическими мутациями в гене *NF1*. Дефицит нейрофибромина в опухолях может быть вызван также эпигенетическим подавлением экспрессии *NF1* вследствие повышения уровня специфических микроРНК. Поэтому перспективным направлением в лечении таких новообразований может стать таргетная терапия, нацеленная на микроРНК. Планируется также внедрение в практику генной терапии для восстановления уровней нейрофибромина в тканях новообразований. Для данного подхода большое значение имеет выявление типа мутации в гене *NF1*. В разработке терапии ЗНО наиболее перспективно исследование всех известных протоонкогенов и онкосупрессоров с целью определения драйверной роли специфических молекул в каждом конкретном случае, что является основой современной персонализированной медицины.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Haferlach C., Grossmann V., Kohlmann A. et al. Deletion of the tumor-suppressor gene *NF1* occur in 5 % of myeloid malignancies and is accompanied by a mutation in the remaining allele in half of the cases. *Leukemia* 2012;26(4):834–9. DOI: 10.1038/leu.2011.296.
2. Gutmann D.H., Ferner R.E., Lister-nick R.H. et al. Neurofibromatosis type 1. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17004. DOI: 10.1038/nrdp.2017.4.
3. Bai R.Y., Esposito D., Tam A.J. et al. Feasibility of using NF1-GRD and AAV for gene replacement therapy in NF1-associated tumors. *Gene Ther* 2019;26(6): 277–86. DOI: 10.1038/s41434-019-0080-9.
4. Tsuji G., Takai-Yumine A., Kato T., Furue M. Metalloproteinase 1 downregulation in neurofibromatosis 1: therapeutic potential of antimalarial hydroxychloroquine and chloroquine. *Cell Death Dis* 2021;12(6):513. DOI: 10.1038/s41419-021-03802-9.
5. Stewart D.R., Korf B.R., Nathanson K.L. et al. Care of adults with neurofibromatosis type 1: a clinical practice resource of the American College of Medical

- Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2018;20(7):671–82. DOI: 10.1038/gim.2018.28.
6. Ly K.L., Blakeley J.O. The diagnosis and management of neurofibromatosis type 1. *Med Clin North Am* 2019;103:1035–54. DOI: 10.1016/j.mcna.2019.07.004.
  7. Sung H., Hyland P.L., Pemov A. et al. Genome-wide association study of café-au-lait macule number in neurofibromatosis type 1. *Mol Genet Genomic Med* 2020;8(10):e1400. DOI: 10.1002/mgg3.1400.
  8. Anderson J.L., Gutmann D.H. Neurofibromatosis type 1. *Handb Clin Neurol* 2015;132:75–86. DOI: 10.1016/B978-0-444-62702-5.00004-4.
  9. Costa A.D.A., Gutmann D.H. Brain tumors in neurofibromatosis type 1. *Neurooncol Adv* 2019;1(1):vdz040. DOI: 10.1093/noonajnl/vdz040.
  10. Wei C.J., Gu S.C., Ren J.Y. et al. The impact of host immune cells on the development of neurofibromatosis type 1: the abnormal immune system provides an immune microenvironment for tumorigenesis. *Neurooncol Adv* 2019;1(1):vdz037. DOI: 10.1093/noonajnl/vdz037.
  11. Yang F.C., Ingram D.A., Chen S. et al. Neurofibromin-deficient Schwann cells secrete a potent migratory stimulus for Nfl+/- mast cells. *J Clin Invest* 2003;112(12):1851–61. DOI: 10.1172/JCI19195.
  12. Chen S., Burgin S., McDaniel A. et al. Nfl-/- Schwann cell-conditioned medium modulates mast cell degranulation by c-Kit-mediated hyperactivation of phosphatidylinositol 3-kinase. *Am J Pathol* 2010;177(6):3125–32. DOI: 10.2353/ajpath.2010.100369.
  13. Karmakar S., Reilly K.M. The role of the immune system in neurofibromatosis type 1-associated nervous system tumors. *CNS Oncol* 2017;6(1):45–60. DOI: 10.2217/cns-2016-0024.
  14. Seminog O.O., Goldacre M.J. Risk of benign tumours of nervous system, and of malignant neoplasms, in people with neurofibromatosis: population-based record-linkage study. *Br J Cancer* 2013;108(1):193–8. DOI: 10.1038/bjc.2012.535.
  15. Holzel M., Huang S., Kostel J. et al. NF1 is a tumor suppressor in neuroblastoma that determines retinoic acid response and disease outcome. *Cell* 2010;142(2): 218–29. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.004.
  16. Beauchamp E.M., Woods B.A., Dulak A.M. et al. Acquired resistance to dasatinib in lung cancer cell lines conferred by DDR2 gatekeeper mutation and NF1 loss. *Mol Cancer Ther* 2014;13(2):475–82. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0817.
  17. Patch A.M., Christie E.L., Etemadmoghadam D. et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature* 2015;521(7553): 489–94. DOI: 10.1038/nature14410.
  18. Sokol E.S., Feng Y.X., Jin D.X. et al. Loss of function of NF1 is a mechanism of acquired resistance to endocrine therapy in lobular breast cancer. *Ann Oncol* 2019;30(1):115–23. DOI: 10.1093/annonc/mdy497.
  19. Georgiou A., Stewart A., Cunningham D. et al. Inactivation of NF1 promotes resistance to EGFR inhibition in KRAS/NRAS/BRAFV600-wild-type colorectal cancer. *Mol Cancer Res* 2020;18(6):835–46. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-19-1201.
  20. Zheng Z.Y., Anurag M., Lei J.T. et al. Neurofibromin is an estrogen receptor- $\alpha$  transcriptional co-repressor in breast cancer. *Cancer Cell* 2020;37(3):387–402.e.7. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.02.003.
  21. Shain A.H., Garrido M., Botton T. et al. Exome sequencing of desmoplastic melanoma identifies recurrent NFKBIE promoter mutations and diverse activating mutations in the MAPK pathway. *Nat Genet* 2015;47(10):1194–9. DOI: 10.1038/ng.3382.
  22. Wiesner T., Kiuru M., Scott S.N. et al. NF1 mutations are common in desmoplastic melanoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39(10):1357–62. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000451.
  23. Krauthammer M., Kong Y., Bacchicocchi A. et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations in NF1 and RASopathy genes in sun-exposed melanomas. *Nat Genet* 2015;47(9):996–1002. DOI: 10.1038/ng.3361.
  24. Kandath C., McLellan M.D., Vandin F. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature* 2013;502(7471):333–9. DOI: 10.1038/nature12634.
  25. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature* 2014;511(7511): 543–50. DOI: 10.1038/nature13385.
  26. Alves Junior S.F., Zanetti G., de Melo A.S. et al. Neurofibromatosis type 1: state-of-the-art review with emphasis on pulmonary involvement. *Respir Med* 2019;149:9–15. DOI: 10.1016/j.rmed.2019.01.002.
  27. Stiller C.A., Chessells J.M., Fitchett M. Neurofibromatosis and childhood leukaemia/lymphoma: a population-based UKCCSG study. *Br J Cancer* 1994;70(5): 969–72. DOI: 10.1038/bjc.1994.431.
  28. Boudry-Labis E., Roche-Lestienne C., Nibourel O. et al. Neurofibromatosis-1 gene deletions and mutations in *de novo* adult acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2013;88(4):306–11. DOI: 10.1002/ajh.23403.
  29. Suarez-Kelly L.P., Yu L., Kline D. et al. Increased breast cancer risk in women with neurofibromatosis type 1: a meta-analysis and systematic review of the literature. *Hered Cancer Clin Pract* 2019;17:12. DOI: 10.1186/s13053-019-0110-z.
  30. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2012;490:61–70. DOI: 10.1038/nature11412.
  31. Huang R.S., Haberberger J., McGregor K. et al. Clinicopathologic and genomic landscape of breast carcinoma brain metastases. Available at: <https://theoncologist.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/onco.13855>. DOI: 10.1002/onco.13855.
  32. Kanchi K.L., Johnson K.J., Lu C. et al. Integrated analysis of germline and somatic variants in ovarian cancer. *Nat Commun* 2014;5:3156. DOI: 10.1038/ncomms4156.
  33. Sangha N., Wu R., Kuick R. et al. Neurofibromin 1 (NF1) defects are common in human ovarian serous carcinomas and co-occur with TP53 mutations. *Neoplasia* 2008;10(12):1362–72. DOI: 10.1593/neo.08784.
  34. Qiao G., Jia X., Zhang Y., Chen B. Neurofibromin 1 expression is negatively correlated with malignancy and prognosis of epithelial ovarian cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2019;12(5):1702–12.
  35. Welander J., Larsson C., Backdahl M. et al. Integrative genomics reveals frequent somatic NF1 mutations in sporadic pheochromocytomas. *Hum Mol Genet* 2012;21:5406–16. DOI: 10.1093/hmg/dd5402.
  36. Dombi E., Baldwin A., Marcus L. et al. Activity of selumetinib in neurofibromatosis type 1-related plexiform neurofibromas. *N Engl J Med* 2016;375(26):2550–60. DOI: 10.1056/NEJMoa1605943.
  37. Baldo F., Grasso A.G., Wiel L.C. et al. Selumetinib in the treatment of symptomatic intractable plexiform neurofibromas in neurofibromatosis type 1: a prospective case series with emphasis on side effects. *Paediatr Drugs* 2020;22(4):417–23. DOI: 10.1007/s40272-020-00399-y.
  38. Gross A.M., Wolters P.L., Dombi E. et al. Selumetinib in children with inoperable plexiform neurofibromas. *N Engl J Med* 2020;382(15):1430–42. DOI: 10.1056/NEJMoa1912735.
  39. Santo V.E., Passos J., Nzwalo H. et al. Selumetinib for plexiform neurofibromas in neurofibromatosis type 1: a single-institution experience. *J Neurooncol* 2020;147(2):459–63. DOI: 10.1007/s11060-020-03443-6.
  40. Maertens O., Johnson B., Hollstein P. et al. Elucidating distinct roles for NF1 in melanomagenesis. *Cancer Discov* 2013;3(3):338–49. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0313.

41. Whittaker S.R., Theurillat J.P., Allen E.V. et al. A genome-scale RNA interference screen implicates NF1 loss in resistance to RAF inhibition. *Cancer Discov* 2013;3(3):350–62. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0470.
42. Pearson A., Proszek P., Pascual J. et al. Inactivating *NF1* Mutations are enriched in advanced breast cancer and contribute to endocrine therapy resistance. *Clin Cancer Res* 2020;26(3):608–22. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-4044.
43. De Bruin E.C., Cowell C., Warne P.H. et al. Reduced NF1 expression confers resistance to EGFR inhibition in lung cancer. *Cancer Discov* 2014;4(5):606–19. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0741.
44. Paschou M., Doxakis E. Neurofibromin 1 is a miRNA target in neurons. *PLoS One* 2012;7(10):346773. DOI: 10.1371/journal.pone.0046773.
45. Stark M.S., Bonazzi V.F., Boyle G.M. et al. MiR-514a regulates the tumour suppressor NF1 and modulates BRAFi sensitivity in melanoma. *Oncotarget* 2015;6(19):17753–63. DOI: 10.18632/oncotarget.3924.
46. Wang S., Ma G., Zhu H. et al. MiR-107 regulates tumor progression by targeting NF1 in gastric cancer. *Sci Rep* 2016;6:36531. DOI: 10.1038/srep36531.
47. Guo L., Li B., Yang J. et al. Fibroblast-derived exosomal microRNA-369 potentiates migration and invasion of lung squamous cell carcinoma cells via NF1-mediated MAPK signaling pathway. *Int J Mol Med* 2020;46(2):595–608. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4614.
48. Chen J., Cui J., Guo X. et al. Increased expression of miR-641 contributes to erlotinib resistance in non-small-cell lung cancer cells by targeting NF1. *Cancer Med* 2018;7(4):1394–1403. DOI: 10.1002/cam4.1326.
49. Zhu H., Yang J., Yang S. MicroRNA-103a-3p potentiates chemoresistance to cisplatin in non-small cell lung carcinoma by targeting neurofibromatosis 1. *Exp Ther Med* 2020;19(3):1797–805. DOI: 10.3892/etm.2020.8418.
50. Li S., Li W., Chen G. et al. MiRNA-27a-3p induces temozolomide resistance in gliomas by inhibiting NF1 level. *Am J Transl Res* 2020;12(8):4749–56.
51. Garcia-Orti L., Crostobal I., Cirauqui C. et al. Integration of SNP and mRNA arrays with microRNA profiling reveals that MiR-370 is upregulated and targets NF1 in acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2012;7(10):e47717. DOI: 10.1371/journal.pone.0047717.
52. Su J., Ruan S., Dai S. et al. NF1 regulates apoptosis in ovarian cancer cells by targeting MCL1 via miR-142-5p. *Pharmacogenomics* 2019;20(3):155–65. DOI: 10.2217/pgs-2018-0161.
53. Chai G., Liu N., Ma J. et al. MicroRNA-10b regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1. *Cancer Sci* 2010;101(9):1997–2004. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01616.x.
54. Lu H., Liu P., Pang Q. MiR-27a-3p/miR-27b-3p promotes neurofibromatosis type 1 via targeting of NF1. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12031-020-01779-2>. DOI: 10.1007/s12031-020-01779-2.
55. Wang M., Wang Z., Zhu X. et al. NFKB1-miR-612-FAIM2 pathway regulates tumorigenesis in neurofibromatosis type 1. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2019;55(7):491–500. DOI: 10.1007/s11626-019-00370-3.
56. Na Y., Hall A., Choi K. et al. MicroRNA-155 contributes to plexiform neurofibroma growth downstream of MEK. *Oncogene* 2021;40:951–63. DOI: 10.1038/s41388-020-01581-9.
57. Hong A., Piva M., Liu S. et al. Durable suppression of acquired MEK inhibitor resistance in cancer by sequestering MEK from ERK and promoting antitumor T-cell immunity. *Cancer Discov* 2021;11(3):714–35. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0873.
58. Wang S., Liechty B., Patel S. et al. Programmed death ligand 1 expression and tumor infiltrating lymphocytes in neurofibromatosis type 1 and 2 associated tumors. *J Neurooncol* 2018;138(1):183–90. DOI: 10.1007/s11060-018-2788-6.
59. Kawachi Y., Maruyama H., Kshitsuka Y. et al. NF1 gene silencing induces upregulation of vascular endothelial growth factor expression in both Schwann and non-Schwann cells. *Exp Dermatol* 2013;22(4):262–5. DOI: 10.1111/exd.12115.
60. Theeler B.J., Ellezam B., Yust-Katz S. et al. Prolonged survival in adult neurofibromatosis type 1 patients with recurrent high-grade gliomas treated with bevacizumab. *J Neurol* 2014;261(8):1559–64. DOI: 10.1007/s00415-014-7292-0.
61. Walker J.A., Upadhyaya M. Emerging therapeutic targeting for neurofibromatosis. *Expert Opin Ther Targets* 2018;22(5):419–37. DOI: 10.1080/14728222.2018.1465931.
62. Cui X.W., Ren J.Y., Gu Y.H. et al. NF1, neurofibromin and gene therapy: Prospects of next-generation therapy. *Curr Gene Ther* 2020;20(2):100–8. DOI: 10.2174/1566523220066200806111451.
63. Keeling K.M., Xue X., Gunn G., Bedwell D.M. Therapeutics based on stop codon readthrough. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2014;15:371–94. DOI: 10.1146/annurev-genom-091212-153527.
64. Lee M.J., Hung S.H., Huang M.C. et al. Doxycycline potentiates antitumor effect of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy in malignant peripheral nerve sheath tumor cells. *PLoS One* 2017;12(5):e0178493. DOI: 10.1371/journal.pone.0178493.
65. Pros E., Fernandez-Rodriguez J., Canet B. et al. Antisense therapeutics for neurofibromatosis type 1 caused by deep intronic mutations. *Hum Mutat* 2009;30(3):454–62. DOI: 10.1002/humu.20933.
66. Choi G., Huang B., Pinarbasi E. et al. Genetically mediated Nf1 loss in mice promotes diverse radiation-induced tumors modeling second malignant neoplasms. *Cancer Res* 2012;72(24):6425–34. DOI: 10.1158/0008-5472.

**ORCID автора / ORCID of author**

P.H. Мустафин / R.N. Mustafin: <https://orcid.org/0000-0002-4091-382X>

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The author declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Статья поступила:** 04.05.2021. **Принята к публикации:** 09.09.2021.

**Article submitted:** 04.05.2021. **Accepted for publication:** 09.09.2021.