

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-3-8-23>

Герминативные и соматические нарушения гена *NBN* и их возможная роль в патогенезе злокачественных новообразований

О.М. Кривцова¹, Д.Д. Озерова¹, Н.Л. Лазаревич^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115552 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

Контакты: Ольга Михайловна Кривцова o.krivtsova@ronc.ru

Нарушение механизмов поддержания стабильности генома является важным условием опухолевой прогрессии. По этой причине предрасположенность к развитию новообразований нередко связана с носительством герминативных мутаций в генах систем детекции и репарации повреждений ДНК. Вместе с тем нарушение систем репарации может служить фактором прогноза эффективности противоопухолевой терапии, а гиперэкспрессия отвечающих за репарацию ДНК генов является частым событием в различных типах новообразований, которое может приводить к приобретению опухолевыми клетками устойчивости к химио- и радиотерапии. Ген *NBN* (нибрин) кодирует субъединицу MRN-комплекса, являющегося сенсором двуниевых разрывов ДНК и участвующего в их репарации путем гомологичной рекомбинации. Ассоциированные с повышенным риском развития опухолей герминативные мутации *NBN*, представленные в первую очередь инделами, приводящими к сдвигу рамки считывания и синтезу укороченных форм белка, а также нонсенс- и некоторыми миссенс-мутациями в функционально значимых доменах, обуславливают частичную утрату нибрином своих функций и увеличение числа спонтанных и индуцированных хромосомных аберраций в клетках носителей. Среди соматических мутаций, затрагивающих *NBN* в опухолевых клетках, преобладают амплификации локуса этого гена, что указывает на двойственную роль белка *NBN* в опухолевой прогрессии. Результаты немногочисленных исследований влияния уровня экспрессии *NBN* и его мутационного статуса на устойчивость конкретных типов опухолевых клеток к применяемым в терапии злокачественных новообразований препаратам и выживаемость пациентов указывают на необходимость углубленного исследования функциональной значимости различных вариантов, поскольку статус *NBN* может иметь значение при выборе тактики лечения некоторых типов опухолей.

Ключевые слова: нибрин, репарация двуниевых разрывов ДНК, устойчивость к противоопухолевой терапии

Для цитирования: Кривцова О.М., Озерова Д.Д., Лазаревич Н.Л. Герминативные и соматические нарушения гена *NBN* и их возможная роль. Успехи молекулярной онкологии 2024;11(3):8–23.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-3-8-23>

Germline and somatic alterations in *NBN* and their putative impact on the pathogenesis of malignant neoplasms

O.M. Krivtsova¹, D.D. Ozerova¹, N.L. Lazarevich^{1,2}

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

²Lomonosov Moscow State University; GSP-1, Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia

Contacts: Olga Mikhailovna Krivtsova o.krivtsova@ronc.ru

Disruption of mechanisms that maintain genome stability is an essential factor of tumor progression. Accordingly, predisposition to the development of neoplasms is often associated with germline mutations in genes involved in DNA damage detection and repair. At the same time, impairment of DNA repair systems may be a predictor of antitumor treatment efficacy while overexpression of genes involved in DNA repair is a frequent event in various types of malignancies that can lead to development of tumor cells' resistance to chemo- and radiotherapy. *NBN* (nibrin) gene encodes the subunit

of the MRN complex which acts as a sensor of double-strand DNA breaks and participates in their repair by homologous recombination. Germline variants in *NBN* which are associated with increased risk of tumor development are generally represented by frameshift mutations that lead to the synthesis of truncated protein as well as by nonsense and some missense mutations which occur in functionally significant domains. These germline mutations result in partial loss of nibrin function and in increased frequency of spontaneous and induced chromosomal aberrations in the cells of the carriers. On the contrary, amplification of *NBN* locus is a predominant type of somatic mutations affecting this gene, which indicates a dual role of NBN protein in tumor progression. The results of several studies demonstrate the influence of *NBN* expression level and its mutational status on anti-tumor drug resistance in particular types of tumor cells and on the survival rate of patients. These data indicate that an in-depth study of different variants and their functional significance is necessary since *NBN* status may be essential for the choice of treatment tactics for some types of tumors.

Keywords: nibrin, double-strand break repair, drug resistance in cancer

For citation: Krivtsova O.M., Ozerova D.D., Lazarevich N.L. Germline and somatic alterations in *NBN* and their putative impact on the pathogenesis of malignant neoplasms. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2024;11(3):8–23. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-3-8-23>

ВВЕДЕНИЕ

Нарушение механизмов поддержания стабильности генома является одним из ключевых свойств опухолевой клетки, способствующим инициации и прогрессии опухолей, приводящим к возникновению внутри- и межопухолевой генетической гетерогенности и обеспечивающим возможность клональной эволюции опухоли. Приобретение геномной нестабильности вызывают нарушения в работе систем детекции и репарации повреждений ДНК, а также детоксикации мутагенных соединений [1]. Такие нарушения могут возникать в результате соматических и герминативных мутаций в генах, кодирующих участвующие в этих процессах белки.

В среднем в опухолях различных типов выявляют около 5 драйверных генетических нарушений, преимущественно соматического происхождения, включающих точечные мутации, инделы, изменение копийности генов и хромосомные перестройки [2]. Однако при ослаблении контроля над целостностью генома и нарушении механизмов репарации наряду с драйверными мутациями в ДНК опухолевых клеток накапливаются пассажирские мутации, которые не обеспечивают селективных преимуществ и, напротив, могут замедлять прогрессию заболевания, снижая приспособленность опухолевых клеток к неблагоприятным условиям [3].

При множестве ассоциированных с повышенным риском развития новообразований синдромов предрасположенность к возникновению опухолей обусловлена прежде всего герминативными мутациями в генах систем репарации ДНК [4]. Наиболее изученными являются связанные с синдромом наследственного рака молочной железы и яичников патогенные герминативные варианты в генах *BRCA1* и *BRCA2*, продукты которых контролируют репарацию двунитевых разрывов ДНК по механизму гомологичной рекомбинации. В исследованиях

широкого спектра различных злокачественных опухолей (pan-cancer) патогенные герминативные мутации *BRCA1* и *BRCA2* выявляют в 2–3 % случаев, однако в целом патогенные и потенциально патогенные варианты в генах системы гомологичной рекомбинации ДНК обнаруживают в 17 % опухолей различных типов, в том числе спорадических [5, 6].

Ген *NBN* (нибрин) впервые охарактеризован при обнаружении биаллельной мутации с.675del5, вызывающей синдром Неймегена (СН), одним из проявлений которого является развитие в раннем возрасте преимущественно онкогематологических заболеваний. В составе комплекса MRE11-RAD50-NBN (MRN) нибрин участвует в репарации двунитевых разрывов ДНК по механизму гомологичной рекомбинации, а также в активации ответа на повреждение ДНК. В гетерозиготном состоянии вариант с.675del5 к развитию синдрома не приводит, но ассоциирован с повышенным риском возникновения рака молочной, предстательной желез и онкогематологических заболеваний в некоторых популяциях [5]. Известны герминативные миссенс-варианты в гене *NBN*, носительство которых также связано с повышенным риском развития опухолей, в том числе солидных [7], однако *NBN* редко является мишенью соматических миссенс-мутаций. В то же время амплификация этого гена представляет собой частое событие во многих типах опухолей [8], что указывает на двойственную роль нибрина в патогенезе злокачественных новообразований (ЗНО).

В настоящем обзоре обобщены данные о герминативных вариантах *NBN*, обуславливающих ослабление контроля процессов репарации двунитевых разрывов ДНК, частоте и паттерне соматических мутаций в этом гене, а также о роли NBN в возникновении устойчивости к применяемым в онкологической практике ингибиторам белков, участвующих в репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ БЕЛКА НИБРИН

Ген *NBN* расположен в локусе 8q21, имеет длину 50 000 п.н. и кодирует 2 транскрипта. Канонический транскрипт, включающий 16 экзонов, является преобладающей изоформой в большинстве тканей и кодирует белок нибрин (NBN, NBS1, p95). Неканоническая изоформа, на долю которой приходится менее 10 % транскриптов гена *NBN*, содержит дополнительную 50-нуклеотидную вставку из интрона 2, внутри которой находится стоп-кодон. Показано, что трансляция укороченных вариантов белка нибрин с альтернативных сайтов инициации в этом транскрипте не происходит [8, 9].

Нибрин входит в состав гетерогексамерного комплекса MRN, участвующего в репарации двуцепочечных разрывов ДНК путем гомологичной рекомбинации. Нибрин отвечает за стабилизацию комплекса MRN, его транслокацию в ядро, привлечение комплекса к местам двуцепочечных разрывов ДНК, рекрутирование чекпоинт-киназ ATM, ATR и других белков, необходимых для репарации разрывов [8, 10].

Белок NBN состоит из 754 аминокислот. N-концевая часть нибрина содержит FHA-домен (20–108 аминокислот (а.)), за которым следуют 2 C-концевых BRCA1-домена (BRCT1 (111–197 а.) и BRCT2 (219–327 а.)), разделенные BRCT-линкером, и сигнал ядерной локализации. Ближе к C-концу NBN располагаются 2 домена связывания нуклеазы MRE11 (640–662 и 681–692 а.) и мотив взаимодействия с ATM (734–754 а.) [8]. Доменная структура белка представлена на рис. 1.

Через домен FHA нибрин связывается с белком RBBP8 (CtIP), необходимым для инициации 5'–3'-деградации концов ДНК в местах двуцепочечных разрывов. Кроме того, наличие интактного FHA-домена необходимо для зависимой от ATR, но не от ATM, активации чекпоинта клеточного цикла в фазе G2/M. Посредством FHA и тандема BRCT-доменов NBN связывается с фосфорилированным участком SDT-повторов

белка MDC1, который напрямую взаимодействует с фосфорилированным гистоном H2A.X (γ H2A.X), тем самым привлекая MRN-комплекс в места двуцепочечных разрывов ДНК. Показано, что в клетках, мутантных по FHA- (p.Arg28Ala) или BRCT-домену (p.Lys160Met), NBN не способен связываться с фосфорилированными SDT-повторами MDC1. Таким образом, наличие всех трех доменов NBN необходимо для локализации MRN в местах двуцепочечных разрывов ДНК [8, 11, 12]. Утрата N-концевых доменов нибрина не летальна, но приводит к нарушению 5'–3'-деградации концов в ДНК в местах двуцепочечных разрывов, необходимой для их репарации, а также к нарушению активации чекпоинтов клеточного цикла [13].

Белки MRN-комплекса принимают участие в контроле поддержания длины теломер. Так, экзонуклеазная активность MRE11 необходима для формирования T-петли на концах теломер после репликации ДНК. В то же время белки MRN-комплекса способны инициировать ATM- и ATR-зависимую репарацию укороченных теломер, утративших способность связывать белки комплекса шелтерина TRF2 и POT1, по механизму негомологичного соединения концов, которое повышает вероятность слияния хромосом. В отличие от MRE11 и RAD50, которые связаны с теломерами в течение всего клеточного цикла, NBN, способный взаимодействовать с субъединицей шелтерина TRF2 через свой мотив, состоящий из аминокислотных остатков 419–449, локализуется в теломерных областях в зависимости от статуса фосфорилирования по серину 512. Нибрин, дефосфорилированный фосфатазой PP1 в фазе G1, взаимодействует с TRF2, в то время как фосфорилирование Ser512 киназой CDK2 в фазе S/G2 приводит к диссоциации NBN и делает возможным связывание TRF2 с комплексом Apollo/SNM1B, необходимым для защиты лидирующей цепи синтезируемой теломерной ДНК от репарации путем негомологичного соединения концов. При репарации укороченных теломер фосфорилирование TRF2-связывающего домена

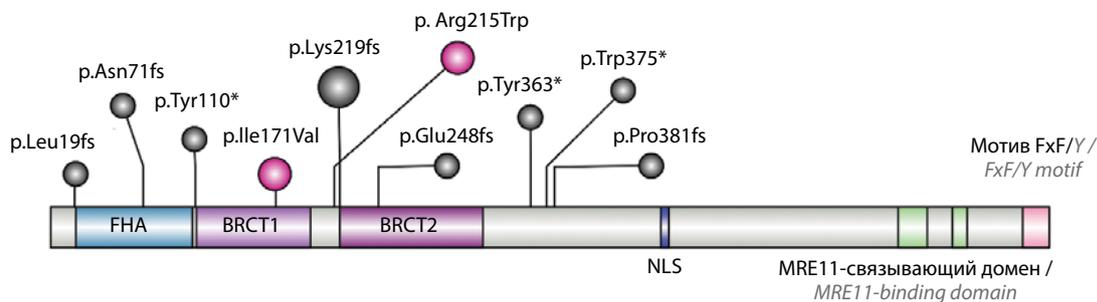


Рис. 1. Доменная структура белка *NBN* и герминативные варианты, приводящие к аминокислотным заменам и синтезу укороченного белка, функциональная значимость которых подтверждена исследованиями *in vitro*. Серыми маркерами обозначено расположение инделов и nonsense-мутаций, розовыми – миссенс-вариантов. NLS – сигнал ядерной локализации, мотив FxF/Y – мотив взаимодействия с киназой ATM
Fig. 1. Domain organization of *NBN* protein and its missense and protein-truncating germline variants, for which their functional significance has been demonstrated *in vitro*. Gray markers indicate the location of indels and nonsense mutations, pink markers – of missense variants. NLS – nuclear localization signal, FxF/Y motif – ATM kinase interaction motif

NBN по Ser512 определяет выбор между каноническим и альтернативным путями негомологичного соединения концов ДНК [14].

Сигнал ядерной локализации NBN состоит из 7 аминокислотных остатков (461–467 а.). При возникновении двунитевых разрывов в ДНК киназа ATM фосфорилирует NBN, который взаимодействует с импортином KPNA2, обеспечивая транслокацию комплекса MRN в клеточное ядро [15].

Участок связывания NBN с партнером по MRN-комплексу нуклеазой MRE11 состоит из двух консервативных доменов. MRE11 обладает 3'-5'-экзонуклеазной и 5'-3'-эндонуклеазной активностями, необходимыми для образования выступающих 3'-концов ДНК в сайтах двунитевых разрывов и их последующей репарации путем гомологичной рекомбинации. Мутации, приводящие к утрате этих доменов белка NBN или к невозможности связывания MRE11, летальны. Частичное нарушение связывания NBN с MRE11 снижает эффективность репарации, что выражается в увеличении количества хромосомных aberrаций в клетках, экспрессирующих мутантные по этому участку варианты *NBN*, а также в снижении активации чекпоинт-киназы ATM, мотив связывания с которой расположен на С-конце вблизи MRE11-связывающих доменов, и, как следствие, в нарушении G2/M-чекпоинта [10, 13].

АССОЦИАЦИЯ СИНДРОМА НЕЙМЕГЕНА С ВЫСОКИМ РИСКОМ РАЗВИТИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Важность сохранения функции белка NBN для поддержания генетической стабильности в клетках подтверждается существованием наследственных заболеваний, характерных для носителей функционально значимых герминативных мутаций в кодирующем его гене. Синдром Неймегена, который вызывают гипоморфные мутации в гене *NBN*, является аутосомно-рецессивным заболеванием, характеризующимся микроцефалией и комбинированным иммунодефицитом. Пациенты с СН также имеют высокий риск развития новообразований; к 20 годам у 48 % из них развиваются опухоли, преимущественно лимфоидного происхождения [16].

В 90 % случаев данная патология связана с редкой герминативной биаллельной делецией с.657_del5 (с.657_661del) в гене *NBN*, которая наиболее распространена среди западных и восточных славян. В Чехии и Польше заболеваемость СН, обусловленная носительством этой мутации в гомозиготном состоянии, составляет 3,1 случая на 100 тыс. населения, в Беларуси — 2,3 случая, в России — 0,7 случая [17]. Клиническое проявление СН описано у гомозигот по другим уникальным патогенным вариантам, приводящим к сдвигу рамки считывания, а также у носителей однонуклеотидных замен, вызывающих появление стоп-кодона. В редких случаях пациенты с признаками СН являются сложными гетерозиготами по гену *NBN*, один из аллелей которого имеет делецию с.657del5 [16].

Делеция с.657del5 приводит к сдвигу рамки считывания в 6-м экзоне и синтезу двух укороченных белков: p26, который содержит N-концевые домены FHA и BRCT1, и p70, образующегося в результате трансляции с альтернативного сайта инициации, который сохраняет домены BRCT2, сигнал ядерной локализации, MRE11- и ATM-связывающие сайты. Оба фрагмента частично сохраняют способность к связыванию с белками-партнерами полноразмерного нибрина. Так, белок p70 может связываться с MRE11 и образовывать MRN-комплекс, активирующий ATM [13, 18, 19].

В связи с сохранением остаточной функции у укороченного белка p70 высокие уровни его синтеза коррелируют с низким риском развития лимфом у пациентов с СН [20]. У гетерозиготных носителей аллеля с.657del5 наблюдаются высокий риск развития солидных опухолей (отношение шансов (ОШ) 2,22; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,3–3,6), а также предрасположенность к раку молочной, предстательной желез, меланоме, медуллобластоме и лимфомам [7, 16, 21]. Несмотря на то что мутантный нибрин может активировать чекпоинт-киназу ATM, эта способность снижена, что подтверждается низким уровнем фосфорилирования ее мишени KAP1 в иммортализованных фибробластах, полученных от пациентов с СН. Частота спонтанных и индуцированных хромосомных aberrаций высока в В-лимфоцитах, гетерозиготных по с.657del5, и максимальна в В-лимфоцитах и фибробластах, полученных от гомозигот по рассматриваемой делеции. Динамика изменения количества фокусов γ H2A.X после индукции повреждений в В-лимфоцитах с *NBN* с.657del5 по сравнению с контрольными культурами более медленная, что указывает на снижение скорости репарации двунитевых разрывов ДНК. Кроме того, В-лимфоциты, экспрессирующие *NBN* с.657del5, продолжают синтезировать ДНК после индукции в ней повреждений. В результате жизнеспособность подвергнутых облучению В-лимфоцитов и фибробластов, гомозиготных по с.657del5, значительно снижена по сравнению с клетками, экспрессирующими *NBN* дикого типа (*NBN*wt). Фибробласты, полученные от пациентов с СН, чувствительны и к другим ДНК-повреждающим агентам, например к митомицину С и ингибитору поли(АДФ-рибоза)полимеразы-1 (PARP1) AZD2281 [21–24].

ГЕРМИНАТИВНЫЕ МИССЕНС-МУТАЦИИ В ГЕНЕ NBN

Согласно данным базы герминативных вариантов dbSNP [25], для гена *NBN* известно 260 сайтов однонуклеотидных полиморфизмов, встречающихся в популяции с частотой аллеля не менее 1 %. Из них лишь 6 полиморфизмов приходится на экзоны гена и только 1 является миссенс-вариантом (p.Glu185Gln), который, однако, не имеет доказанной клинической и функциональной значимости [7, 21, 25].

Большинство герминативных вариантов в гене *NBN* являются редкими и чаще всего, если их носительство не сопряжено с синтезом укороченных

изоформ белка NBN, аннотированы в базах данных как доброкачественные (benign), вероятно доброкачественные (likely benign) или варианты с неопределенной значимостью (uncertain significance), даже в том случае, если они затрагивают функциональные домены NBN [25, 26]. Примером редкого доброкачественного герминативного миссенс-варианта является аллель rs61754520, встречающийся в общемировой популяции с частотой около 0,2 % случаев и приводящий к аминокислотной замене р.Asp95Asn в FHA-домеине NBN. Носительство rs61754520 не вызывает предрасположенности к развитию опухолей в целом [26] и не повышает риск возникновения рака молочной, предстательной желез, гортани или лимфом [7]. В клетках линии иммортализованных фибробластов ILB1 от пациента с СН, экспрессирующих аллель rs61754520, нибрин способен транслоцироваться в ядро, где при индуцированных облучением повреждениях ДНК фосфорилируется по Ser439 так же, как и нибрин дикого типа, и образует фокусы в местах повреждений, колокализующиеся с фокусами MRE11 [27].

В то же время описаны несколько редких миссенс-вариантов в BRCT-доменах NBN, носительство которых, вероятно, повышает риск развития новообразований.

Вариант rs61754966, приводящий к аминокислотной замене р.Ile171Val, встречается в глобальной популяции с частотой 0,15 % случаев и, согласно базе данных фенотипических проявлений генетических полиморфизмов ClinVar, характеризуется неоднозначной функциональной значимостью [25, 26]. По данным метаанализа, проведенного Р. Гао и соавт., в 7 из 10 исследований популяций славян наличие rs61754966 ассоциировано с высоким риском развития опухолей (ОШ 3,93; 95 % ДИ 1,68–9,20), в том числе острого лимфобластного лейкоза, но не рака молочной железы [7]. В то же время в когорте, включавшей 42 846 американских пациентов с 20 различными типами опухолей, повышение риска новообразований среди носителей rs61754966 выявлено не было [21]. Иммортализованные В-лимфоциты, полученные от гетерозиготных носителей rs61754966, не отличаются от контрольных клеток, экспрессирующих *NBNwt*, по количеству спонтанных или индуцированных ионизирующим излучением хромосомных aberrаций, а также при дозе облучения >0,75 Гр, по количеству образующихся фокусов γ H2A.X и динамике снижения их количества. Высокая жизнеспособность таких клеток и снижение уровня ДНК-синтетической активности после повреждения ДНК облучением сопоставимы с наблюдаемыми в контроле [22, 23]. В связи с нарушением связывания NBN р.Ile171Val с белком MDC1, необходимым для привлечения MRN-комплекса к γ H2A.X в места двуниевых разрывов, в подвергнутых ионизирующему излучению фибробластах, полученных от пациентов с СН, при экспрессии аллеля rs61754966 нарушается образование фокусов NBN, MRE11 и других белков, отвечающих за репарацию ДНК,

по сравнению с клетками, трансфицированными векторами, кодирующими *NBNwt*. Кроме того, по сравнению с контрольной культурой в фибробластах с *NBN* р.Ile171Val в 3 раза снижается частота репарации путем гомологичной рекомбинации, сокращается выживаемость клеток после облучения и обработки алкилирующим ДНК агентом митомицином С, возрастает чувствительность к ингибитору PARP1 AZD2281, процесс репликации ДНК становится радиоустойчивым. При экзогенной экспрессии *NBN* р.Ile171Val в клетках культуры рака шейки матки HeLa формирования фокусов NBN и MRE11 в результате повреждения ДНК также не происходит, а число хромосомных aberrаций по сравнению с контрольной культурой возрастает, что, как предполагают Y. Yamamoto и соавт., указывает на доминантно-негативное влияние NBN р.Ile171Val на функционирование NBN дикого типа [24]. В геномно отредактированных клетках культуры колоректального рака HCT116, гомозиготных по rs61754966, частота индуцированных ионизирующим излучением хромосомных aberrаций выше, чем в контрольных клетках, но ниже, чем в клетках, нокаутных по *NBN*. Выживаемость гомозигот по *NBN* р.Ile171Val после внесения повреждений в ДНК также принимает промежуточные значения между контролем и нокаутом по *NBN*. По результатам кариотипирования и микроядерных тестов с блоком цитокинеза на эмбриональных фибробластах мыши, гетеро- и гомозиготных по rs61754966, частота хромосомных aberrаций может также варьировать в зависимости от числа копий *NBN* р.Ile171Val [28]. Таким образом, аллель, кодирующий NBN р.Ile171Val, в связи с неспособностью привлечь MRN-комплекс к сайтам двуниевых разрывов является гипоморфным, однако нарушение репарации ДНК и контроля над продвижением по клеточному циклу является менее выраженным, чем в клетках, гомо- или гетерозиготных по NBN с.657del5.

Еще одним хорошо изученным однонуклеотидным герминативным вариантом *NBN*, который обнаруживают в 0,21 % случаев, является rs42767444, приводящий к аминокислотной замене р.Arg215Trp. Сообщения о патогенности варианта, по данным ClinVar и литературы, различаются. Так, по результатам метаанализа 9 исследований, включавших 6728 пациентов с опухолями и 9588 здоровых индивидов, риск развития новообразований у носителей rs42767444 оказался высоким (ОШ 1,77; 95 % ДИ 1,07–2,91). В то же время в исследовании на крупной выборке больных с различными типами опухолей с использованием панели MSK-impact наличие ассоциации между рассматриваемым генотипом и предрасположенностью к ЗНО не подтвердилось [7, 21, 25, 26]. По его результатам различий в частоте хромосомных aberrаций и жизнеспособности подвергшихся облучению иммортализованных В-лимфоцитов, экспрессирующих *NBN* р.Arg215Trp, а также способности таких клеток

Таблица 1. Клинические и функциональные характеристики наиболее исследованных герминативных инделов и однонуклеотидных вариантов в гене *NBN*
 Table 1. Clinical and functional characteristics of the most studied germline indels and single nucleotide variants in *NBN*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Мутация, нуклеотид в ДНК (NM_002485.5) Mutation, cDNA nucleotide (NM_002485.5)	Мутация, белок (NP_002476.2) Mutation, protein (NP_002476.2)	Идентификатор dbSNP dbSNP ID	Тип мутации Mutation type	Результат Consequence	Аллельная частота (ГлобAD genomes) Allele frequency (GlobalAD genomes)	Классификация по ClinVar (ассоциативные состояния) ClinVar classification (associated conditions)	Ассоциированные состояния (по данным литературы) Associated conditions (according to the literature)	Функциональный эффект <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> functional evidence	Источники Source
Варианты, приводящие к синтезу укороченного белка Protein truncating variants									
c.55_56del	p.Leu19fs	rs876659305	Fs	PTV	Н/д N/a	П (СНП) P (HCPS)	Обнаружен у пациента с первичными множественными опухолями (предстательной железы, легкого, крови) Found in a patient with multiple primary cancers (prostate, lung, and blood)	Экспрессия этих аллелей в фибробластах ILB1 приводит к синтезу белка ~45 кДа, способного к импорту в ядро, связыванию MRE11, активации ATM, а также к снижению жизнеспособности клеток после ИИ Expression of these alleles in ILB1 fibroblasts leads to synthesis of ~45 kDa protein, which is able to enter the nucleus, bind MRE11, activate ATM and confers reduced viability after IR	[21]
c.211_212insGA	p.Asn71fs	rs762664474	Fs	PTV	0,000014	П (СН) P (NBS)	Острый лимфобластный лейкоз, рак мочевого пузыря, молочной железы Acute lymphoblastic leukemia, bladder cancer, breast cancer	Лимфобластные клетки со сложной гетерозиготностью по аллелям p.Tyr110Ter и p.Trp375Ter синтезируют ~74 кДа нибрин и демонстрируют ХН, радиоустойчивый синтез ДНК, гиперчувствительность к ИИ Lymphoblastoid cells compound heterozygous for p.Tyr110Ter and p.Trp375Ter produce ~74 kDa protein, demonstrate CI, radioresistant DNA synthesis and hypersensitivity to IR	[16, 29]
c.330T>G	p.Tyr110Ter	rs1057519585	SNV	PTV	Н/д N/a	П (СН) P (NBS)	Нет клинических проявлений (СН, предрасположенность к опухолям) No clinical presentation (NBS, cancer predisposition)		

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
c.657_661del	p.Lys219fs	rs587776650	Fs	PTV	0,000207	П (СН, СНПР, различные опухоли) P (NBS, HCPS, different cancers)	Лимфома, рак молочной, предстательной железы, меланома, медуллобластома Lymphoma, breast cancer, prostate cancer, melanoma, medulloblastoma	В-лимфоциты, экспрессирующие этот аллель, демонстрируют замедленную репарацию ДНК, ХН, радиоустойчивый синтез ДНК, сниженную выживаемость после ИИ. Фибробласты ИВ1, экспрессирующие этот аллель, имеют сниженную выживаемость после ИИ, но способны активировать АТМ B-lymphocytes expressing this allele demonstrate slower DNA repair, CI, radioresistant DNA synthesis, reduced viability after IR. ILB1 fibroblasts which express this variant have reduced viability after IR but can activate ATM	[7, 16, 21–24]
c.698_701del	p.Lys233fs	rs587780100	Fs	PTV	0,000021	П (СН, СНПР, различные опухоли) P (NBS, HCPS, different cancers)	СН (обнаружен у пациента с новообразованиями молочной железы, легкого, предстательной железы, яичника, кожи) NBS (found in patients with breast, lung, prostate, ovarian cancers, skin malignancies)	Н/д N/a	[30–34]
c.741_742dup	p.Glu248fs	rs864309670	Fs	PTV	Н/д N/a	П (СН), ВП (СНПР) P (NBS), LP (HCPS)	Мягкий фенотип СН Milder NBS phenotype	Лимфобластоидные клетки гомозиготного носителя Lymphoblastoid cells of a homozygous carrier demonstrate CI	[16]
c.842dup	p.Leu281fs	rs864309669	Fs	PTV	Н/д N/a	П (СН, СНПР, различные опухоли) P (NBS, HCPS, different cancers)	СН (NBS)	Н/д N/a	[30]
c.976C>T	p.Gln326Ter	rs121908973	SNV	PTV	Н/д N/a	П (СН, СНПР, различные опухоли) P (NBS, HCPS, different cancers)	СН (NBS)	Н/д N/a	[30]

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
c.1089C>A	p.Tyr363Ter	rs121908974	SNV	PTV	0,000043	П (СН, апластическая анемия) P (NBS, aplastic anemia)	СН, анемия Фанкони NBS, Fanconi anemia	Гомозиготные по этому аллелю лимфобласты не синтезируют нибрин и демонстрируют чувствительность к митомичину C Lymphoblasts homozygous for this allele do not produce nibrin. These cells are hypersensitive to mitomycin C	[16, 35]
c.1124G>A	p.Trp375Ter	rs1394437421	SNV	PTV	0,000007	П (СН, СНПР) P (NBS, HCPS)	Нет клинических проявлений (СН, предрасположенность к опухолям) No clinical presentation (NBS, cancer predisposition)	См. описание rs1057519585 See rs1057519585	[16, 29]
c.1142del	p.Pro381fs	rs587781969	Fs	PTV	0,000021	П/ВП (СН), П (СНПР) P/LP (NBS), P (HCPS)	СН (обнаружен у пациентов с новообразованиями яичника и молочной железы) NBS (found in a patients with ovarian and breast cancers)	В клетках со сложной гетерозиготностью по этому аллелю и с.657_661 del белок нибрин не определяется Nibrin is undetectable in cells which are compound heterozygous for this allele and c.657_661del	[30, 32, 36]
Миссенс-варианты Missense variants									
c.283G>A	p.Asp95Asn	rs61753720	SNV	Миссенс Mis-sense	0,001883	Противореч. (СН), Д/ВД (СНПР) Conflict (NBS), B/LB (HCPS)	Не ассоциирован с предрасположенностью к развитию опухолей Not associated with cancer predisposition	В экспрессирующих этот аллель фибробластах ILB1 фокусы нибрина кокализуются с фокусами MRE11 в местах двунигетивных разрывов ДНК Nibrin foci co-localize with MRE11 foci at the sites of DSBs in ILB1 fibroblasts which express this allele	[7, 27]

Окончание табл. 1
End of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
c.511A>G	p.Ile171Val	rs61754966	SNV	Мис-сенс Mis-sense	0,001455	П (апластическая анемия), ФР (острый лимфобластный лейкоз), противореч. (СН, СНПР), неясн. (острый лимфобластный лейкоз, рак молочной железы, синдром наследственного рака яичника и молочной железы, рак толстой кишки) P (aplastic anemia), RF (acute lymphoblastic leukemia), conflict (NBS, HCPS), uncertain (acute lymphoblastic leukemia, breast carcinoma, hereditary breast and ovarian cancer syndrome, carcinoma of colon)	Неоднозначные сообщения о влиянии на предрасположенность к развитию опухолей Conflicting reports on increased cancer risk	В СН-фибробластах, экспрессирующих этот аллель, нарушено рекрутирование MRN-комплекса к сайтам двунитевых разрывов. Мышечные эмбриональные фибробласты, клетки HeLa и HCT116, экспрессирующие NBN p.I171V, характеризуются повышенной ХН. Гетерозиготные по нему В-лимфоциты не отличаются от клеток дикого типа Recruitment of MRN-complex to the sites of DBSs is abrogated in NBS fibroblasts expressing this allele. Mouse embryonic fibroblasts, HeLa and HCT116 cells harbouring NBN p.I171V demonstrate higher CI. B-lymphocytes heterozygous for this allele demonstrate the wild-type phenotype	[7, 21–24, 27, 28]
c.553G>C	p.Glu185Gln	rs1805794	SNV	Мис-сенс Mis-sense	0,303285	Д (СН, СНПР, различные опухоли) В (NBS, HCPS, different cancers)	Не ассоциирован с предрасположенностью к развитию опухолей Not associated with cancer predisposition	Жизнеспособность гетерозиготных по этому аллелю фибробластов ILB1 после ИИ сопоставима с таковой у клеток дикого типа The viability of ILB1 fibroblasts which express this allele after IR is comparable to wild-type cells	[21]
c.643C>T	p.Arg215Trp	rs34767364	SNV	Мис-сенс Mis-sense	0,002063	Противореч. (СН, СНПР) Conflict (NBS, HCPS)	Неоднозначные сообщения о влиянии на предрасположенность к развитию опухолей Conflicting reports on increased cancer risk	Гетерозиготные по этому аллелю В-лимфоциты не отличаются от клеток дикого типа B-lymphocytes heterozygous for this allele demonstrate the wild-type phenotype	[7, 21–23]

Примечание. Координаты в комплементарной ДНК (к.ДНК) указаны для транскрипционного варианта 1 NBN (NM_002485.5), координаты белка — по последовательности NP_002476.2. Частоты минорных аллелей, основанные на данных gnomAD Genomes для общевойсковых популяций, получены из базы данных dbSNP (версия 156). Fs — связь рамки считывания; PTV — укороченный вариант белка; SNV — однонуклеотидный вариант; н/д — нет данных; СН — синдром Неймеггена; СНПР — синдром наследственной предрасположенности к раку; ИИ — ионизирующее излучение; ХН — хромосомная нестабильность. Аллели: П — патогенный; ВП — вероятно патогенный; Д — доброкачественный; ВД — вероятно доброкачественный; ФР — фактор риска; неясн. — неясное значение; противореч. — противоречия в классификациях патогенности.
Note. cDNA coordinates are given for NBN, transcript variant 1 (NM_002485.5), protein coordinates are based on NP_002476.2. Minor allele frequencies based on gnomAD Genomes global population data were obtained through dbSNP database (build 156). Fs — frameshift, PTV — protein truncating variant; SNV — single nucleotide variant; n/a — not available; NBS — nijmegen breakage syndrome; HCPS — hereditary cancer predisposing syndrome IR — ionizing radiation; CI — chromosome instability; DBSs — double-strand DNA breaks. Alleles: P — pathogenic; L/P — likely pathogenic; B — benign; LB — likely benign; RF — risk factor; uncertain — uncertain significance; conflict — conflicting classifications of pathogenicity.

синтезировать ДНК при внесении в нее повреждений, как и в случае с *NBN* p.Ile171Val, по сравнению с контролем не наблюдалось [22, 23].

Информация об упомянутых в настоящем обзоре, а также некоторых других ассоциированных с СН и предрасположенностью к ЗНО герминативных вариантах *NBN*, в отношении которых существуют данные исследований *in vitro*, приведена в табл. 1. Расположение мутаций относительно функциональных доменов белка представлено на рис. 1.

СОМАТИЧЕСКИЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ *NBN*

Несмотря на то что при СН, в основе которого лежит нарушение функции нибрина, возрастает риск развития лимфом [16], ген *NBN* редко является мишенью соматических мутаций при гематологических заболеваниях [37].

По данным исследования MSK-impact, в первичных солидных опухолях 62 различных типа соматических мутаций в гене *NBN* обнаружены в 3 % из 10 945 случаев. Точечные мутации *NBN* и инделы выявлены лишь в 0,9 % опухолей, в то время как самым частым соматическим нарушением оказалась амплификация локуса этого гена. Чаще всего амплификация *NBN* регистрировалась при раке молочной железы, меланоме и раке предстательной железы (5,09; 4,46 и 3,77 % случаев соответственно), тогда как среди пациентов с раком поджелудочной железы и колоректальным раком она была выявлена в 0,6–0,7 % опухолей, а в некоторых когортах больных отсутствовала [37, 38].

По данным консорциума Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes, в рамках которого исследованы полные геномы 46 типов опухолей и прилежащих нормальных тканей, полученные для 2658 случаев, точечные мутации и инделы в гене *NBN* встречались в 0,7 % случаев, однако частота всех типов соматических нарушений, включая амплификацию, достигала 14 % [2, 37]. В то же время среди 10 245 случаев 41 различных типов опухолей, исследованных в рамках проекта «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas, TCGA), доля опухолей, в которых выявлена амплификация локуса нибрина, составила около 49 % [39]. Увеличение числа копий гена *NBN* описано и при высококодифференцированном серозном (около 50 % случаев) и светлоклеточном (82 % случаев) раке яичника, а также в 11–14 % случаев рака предстательной железы [40, 41].

Анализ баз данных и литературы указывает на то, что делеции *NBN per se* не являются частым событием при канцерогенезе [21, 37, 42]. В то же время в опухолях носителей герминативных вариантов, приводящих к продукции укороченного белка *NBN*, а также вариантов, аннотированных как патогенные или потенциально патогенные, утрата *NBNwt* происходит чаще, чем в опухолях у носителей нейтральных герминативных вариантов. Тенденция к утрате гетерозиготности носит тканеспецифический характер и в большей степени характерна для

рака легкого и поджелудочной железы, нежели для рака молочной железы или колоректального рака [21].

Таким образом, несмотря на неоднозначность результатов приведенных исследований относительно общей частоты соматических нарушений, способных влиять на экспрессию и функцию *NBN*, вероятно, обусловленную использованием различных методов и платформ для проведения экспериментов или подходов к анализу данных в различных когортах пациентов, амплификация является преобладающим соматическим нарушением, затрагивающим этот ген при ЗНО.

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ГЕНЕ *NBN* НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

В зависимости от типа опухоли способность ее клеток к репарации путем гомологичной рекомбинации может быть ассоциирована с изменениями показателей общей (ОВ) или безрецидивной выживаемости. Например, дефицит гомологичной рекомбинации, который может быть вызван герминативными и соматическими мутациями или эпигенетической инактивацией генов, кодирующих белки, участвующие в этом пути репарации, связан с более благоприятным прогнозом для пациентов с раком яичника, трижды негативным раком молочной железы и глиобластомой, тогда как при раке надпочечника, хромофобной почечно-клеточной карциноме и тимоме прогноз является неблагоприятным [42]. Напротив, амплификация и гиперэкспрессия генов, определяющих ответ на повреждения ДНК, ассоциированы со снижением показателей выживаемости при многих онкологических заболеваниях [39].

Так, амплификация *NBN* коррелирует со снижением показателей ОВ пациентов с раком яичника, а также является значимым фактором для предсказания 5-летней биохимической безрецидивной выживаемости больных раком предстательной железы, прошедших лучевую терапию с визуальным контролем по изображению [39, 41]. Проведенный нами анализ ОВ пациентов из когорт TCGA по методу Каплана–Майера с использованием платформы Xenabrowser [43, 44] подтверждает наличие ассоциации между снижением показателей ОВ и увеличением числа копий гена *NBN* по результатам pan-cancer-исследования, а также для когорт пациентов с раком яичника, эндометрия, светлоклеточной карциномой почки, аденокарциномой поджелудочной железы и острым миелоидным лейкозом. Кроме того, тенденция к снижению показателей ОВ при амплификации *NBN* наблюдается среди больных раком молочной железы без разделения на подтипы и мезотелиомой. Наличие однонуклеотидных соматических мутаций и инделов ассоциировано с улучшением показателей ОВ пациентов с раком эндометрия, а также пациентов из когорты pan-cancer (табл. 2).

Таблица 2. Общая выживаемость пациентов с различными типами опухолей по данным проекта «Атлас ракового генома» (*The Cancer Genome Atlas*) в зависимости от копийности и мутационного статуса гена *NBN*

Table 2. Overall survival time in patients from *The Cancer Genome Atlas* cohorts depends on copy number variation of *NBN* gene and its mutational status

Идентификатор проекта «Атлас ракового генома» The Cancer Genome Atlas ID	Тип опухоли Tumor type	Копийность <i>NBN</i> и <i>OB</i> NBN copy number and OS			Соматические мутации <i>NBN</i> (SNV, инделы) и <i>OB</i> Somatic NBN mutations (SNV, indels) and OS		
		Число случаев, <i>n</i> Number of cases, <i>n</i>	Высокая копийность и снижение показателей <i>OB</i> High copy number and decrease in OS	<i>p</i>	Число случаев (мутантный <i>NBN</i> / <i>NBN</i> дикого типа), <i>n</i> Number of cases (mutant NBN/wild type NBN), <i>n</i>	Наличие мутаций и снижение показателей <i>OB</i> Presence of somatic mutations and decrease in OS	<i>p</i>
1	2	3	4	5	6	7	8
PAN-CAN	Все типы опухолей All tumor types	10966	Да Yes	1,46E-10	9921 (162/9759)	Да Yes	3,26E-02
BLCA	Уротелиальная карцинома мочевого пузыря Bladder urothelial carcinoma	410	Н/р N/d	6,20E-01	407 (12/395)	Н/р N/d	3,54E-01
BRCA	Рак молочной железы Breast invasive carcinoma	1089	Тренд Trend	5,58E-02	967 (8/959)	Н/р N/d	8,58E-01
CESC	Плоскоклеточный рак шейки матки и эндоцервикальная аденокарцинома Cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma	284	Н/р N/d	3,19E-01	276 (4/272)	Н/р N/d	7,88E-01
COAD	Аденокарцинома толстой кишки Colon adenocarcinoma	442	Н/р N/d	3,12E-01	378 (12/366)	Н/р N/d	6,26E-01
DBCL	Крупноклеточная В-клеточная лимфома Lymphoid neoplasm diffuse large B-cell lymphoma	47	Н/р N/d	5,23E-01	Н/д N/a	Н/р N/d	Н/д N/a
ESCA	Рак пищевода Esophageal carcinoma	184	Н/р N/d	4,25E-01	183 (4/179)	Н/р N/d	3,31E-01
GBM	Глиобластома Glioblastoma multiforme	606	Обратная зависимость Inverse dependence	4,30E-02	389 (2/387)	Н/р N/d	5,75E-01
HNSC	Плоскоклеточный рак головы и шеи Head and neck squamous cell carcinoma	523	Н/р N/d	4,75E-01	508 (5/503)	Н/р N/d	6,20E-01
KIRC	Светлоклеточная карцинома почки Kidney renal clear cell carcinoma	532	Да Yes	9,65E-03	332 (2/330)	Н/р N/d	6,20E-01
LAML	Острый миелоидный лейкоз Acute myeloid leukemia	175	Да Yes	3,58E-02	Н/д N/a	Н/р N/d	Н/д N/a
LGG	Глиома мозга низкой степени злокачественности Brain lower grade glioma	528	Н/р N/d	3,86E-01	503 (3/500)	н.р. n.d.	1,26E-01
LHC	Гепатоцеллюлярная карцинома Liver hepatocellular carcinoma	372	Н/р N/d	8,45E-01	358 (3/355)	Н/р N/d	6,43E-01

Окончание табл. 2

End of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8
LUAD	Аденокарцинома легкого Lung adenocarcinoma	519	H/p N/d	4,81E-01	502 (11/491)	H/p N/d	3,86E-01
LUSC	Плоскоклеточная карцинома легкого Lung squamous cell carcinoma	495	H/p N/d	6,16E-01	484 (5/479)	H/p N/d	3,47E-01
MESO	Мезотелиома Mesothelioma	85	Тренд Trend	5,10E-02	н.д. (н.а.)	H/p N/d	H/d N/a
OV	Серозная цистаденокарцинома яичников Ovarian serous cystadenocarcinoma	592	Да Yes	1,10E-02	432 (4/428)	H/p N/d	3,32E-01
PAAD	Аденокарцинома поджелудочной железы Pancreatic adenocarcinoma	184	Да Yes	2,32E-02	H/d N/a	H/p N/d	H/d N/a
PRAD	Аденокарцинома предстательной железы Prostate adenocarcinoma	502	H/p N/d	6,84E-01	495 (3/492)	H/p N/d	8,01E-01
SARC	Саркома Sarcoma	261	H/p N/d	8,10E-01	н.д. (н.а.)	H/p N/d	H/d N/a
SKCM	Меланома кожи Skin cutaneous melanoma	458	H/p N/d	5,08E-01	453 (8/445)	H/p N/d	1,98E-01
STAD	Аденокарцинома желудка Stomach adenocarcinoma	413	H/p N/d	3,10E-01	409 (19/390)	H/p N/d	3,81E-01
TGCT	Герминогенные опухоли яичка Testicular germ cell tumors	139	H/p N/d	9,25E-01	H/d N/a	H/p N/d	H/d N/a.
THCA	Рак щитовидной железы Thyroid carcinoma	511	H/p N/d	6,33E-01	H/d N/a	H/p N/d	H/d N/a
UCEC	Эндометриоидная карцинома тела матки Uterine corpus endometrial carcinoma	541	Да Yes	5,25E-03	526 (46/480)	Да Yes	4,64E-02

Примечание. Анализ общей выживаемости по методу Каплана–Майера проведен с использованием платформы Xenabrowser. В качестве параметров для анализа выбрано число копий гена NBN или наличие соматических мутаций и общая выживаемость пациентов каждой когорты. Когорту для анализа делили на 2 группы по медианному значению копийности NBN или в зависимости от наличия в нем мутаций. «Да» – выявлена статистически значимая прямая зависимость между рассматриваемым параметром (высокая копийность, наличие соматических мутаций) и снижением показателей общей выживаемости пациентов; «тренд» – зависимость просматривается, но p-value находится в промежутке от 0,05 до 0,10; н/р – нет различий; н/д – нет данных. Жирным шрифтом выделены данные по когортам пациентов, для которых изменение копийности NBN или наличие в нем соматических мутаций ассоциировано с изменением показателей общей выживаемости.

Note. Kaplan–Meier overall survival analysis was performed using the Xenabrowser platform. The number of NBN copies, the presence of somatic mutations and the overall survival time in patients of each cohort were selected as parameters. Each cohort was divided into two groups according to the median NBN copy number or its mutational status. “Yes” – significant direct linear correlation between the parameter under consideration (high copy number, presence of somatic mutations) and reduction in patients’ overall survival time has been revealed; “trend” – correlation is weaker with p-value between 0.05 and 0.10; n/d – no difference; n/a – not available. Data on cohorts of patients for which a change in NBN copy number or the presence of somatic mutations is associated with a change in overall survival rates are shown in bold

РОЛЬ *NBN* В ПРИОБРЕТЕНИИ ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ УСТОЙЧИВОСТИ К ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ И ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Одним из подходов к противоопухолевой терапии является индукция повреждений ДНК с помощью лучевой терапии или терапии цитотоксическими препаратами, направленная на накопление таких повреждений и приводящая к сенесценции или программируемой клеточной гибели опухолевых клеток. В связи с тем что опухолевые клетки способны приобретать устойчивость как к ионизирующему излучению, так и к химиотерапевтическим препаратам, перспективным направлением в разработке подходов к противоопухолевой терапии является применение ингибиторов, вызывающих нарушение ответа на повреждения ДНК [45]. Так, ингибиторы PARP1, распознающей различные повреждения ДНК и рекрутирующей к ним белки, необходимые для репарации, уже применяются в качестве монотерапии или в сочетании с химиотерапевтическими препаратами в лечении рака яичников, предстательной, молочной и поджелудочной желез. Помимо этого, на разных стадиях клинических испытаний находятся ингибиторы чекпоинт-киназ, в частности WEE1, ATR, CHK1, PLK1, а также белков, участвующих в репарации двунитевых разрывов ДНК, например POLQ и RAD51 [4].

Исследование генетических детерминант, ассоциированных с дефицитом репарации ДНК, и других факторов, влияющих на эффективность репарации повреждений, может иметь практическое значение для выбора схем противоопухолевой терапии. Например, эффективность лечения ингибиторами PARP1 обусловлена наличием в ДНК опухолевых клеток мутаций, приводящих к дефициту гомологичной рекомбинации. Дефицит гомологичной рекомбинации также является прогностическим фактором, позволяющим предсказать эффективность терапии препаратами платины, а герминативные варианты в генах системы эксцизионной репарации оснований при назофарингеальной карциноме или инфекция вирусом папилломы человека 16-го типа при плоскоклеточной карциноме головы и шеи могут влиять на ответ опухолевых клеток на лучевую терапию [4, 45, 46].

Увеличение числа копий гена *NBN*, которое является частым событием при некоторых типах злокачественных опухолей, может приводить к повышению уровня транскрипции этого гена и продукции белка нибрин. Патогенные герминативные и соматические мутации *NBN*, например с.657del5, напротив, обуславливают частичную утрату белком функции и вследствие этого могут вызывать дефицит гомологичной рекомбинации.

Повышенная продукция белков MRN-комплекса, включая нибрин, предположительно может определять устойчивость опухолей прямой кишки к лучевой терапии, а также быть ассоциирована со снижением показателей как ОВ, так и безрецидивной выживаемости

пациентов [47]. В панели культур клеток рака предстательной железы PrEC, LNCaP, 22RV1, PC-3 и DU-145 при повышении уровня экспрессии *NBN* также наблюдается тенденция к снижению радиочувствительности клеток [41].

По результатам клоногенных и МТТ-тестов гиперэкспрессия *NBN* в клетках культуры высокодифференцированной серозной карциномы яичника OVCAR4 и протоковой аденокарциномы молочной железы MCF-7 повышает устойчивость клеток к препарату платины цисплатину и ингибитору PARP олапарибу. Повышенный уровень экспрессии *NBN* в обеих культурах также ассоциирован со сниженным уровнем γ H2A.X после инкубации клеток с олапарибом и увеличением количества фокусов RAD51, свидетельствующих о репарации путем гомологичной рекомбинации после инкубации клеток с ингибитором топоизомеразы I камптотецином [40]. Нокадаун *NBN* в клетках культур рака яичника A2780 и SKOV3 приводит к снижению количества жизнеспособных клеток и сокращению их клоногенного потенциала после инкубации с олапарибом по сравнению с контрольными культурами. Опухоли, полученные в результате подкожной инъекции мышам BALB/c культур с подавленной экспрессией *NBN*, достигают меньшего размера при введении олапариба, чем в контрольной группе [48]. Кроме того, в MCF-7 гиперэкспрессия *NBN* приводит к фосфорилированию чекпоинт-киназы ATM по S1981, которое необходимо для активации других белков, участвующих в репарации путем гомологичной рекомбинации, а также к возникновению устойчивости к AZD7762 — ингибитору чекпоинт-киназы CHK1/2, активируемых ATM [39].

Данные о влиянии патогенных мутаций в гене *NBN* на эффективность терапии ингибиторами PARP в настоящее время крайне ограничены. Например, сообщается, что во II фазе клинических испытаний олапариба и препарата для иммунотерапии дурвалумаба при кастрационно-резистентном раке предстательной железы в группе, продемонстрировавшей ответ на препараты, выявлен 1 носитель патогенного герминативного варианта *NBN* [49]. Кроме того, отмечено, что иммортализованные фибробласты, полученные от пациента с СН, характеризуются более высокой чувствительностью к ингибитору PARP KU0058948 по сравнению с фибробластами с экзогенной экспрессией *NBNwt* [50].

ДНК-алкилирующие агенты (например, темозоломид, применяемый при терапии глиобластом) индуцируют образование цитотоксического производного гуанина Об-метилгуанина, который в случае невозможности деметилирования Об-метилгуанина ферментом MGMT или репарации неспаренных оснований способствует образованию двунитевых разрывов ДНК. Экспрессия *NBNwt* также повышает устойчивость иммортализованных линий лимфобластоидных клеток и фибробластов человека к ДНК-алкилирующим агентам (например, темозоломиду) по сравнению с клетками, полученными от

пациентов с СН, а нокдаун *NBN* в клетках культуры меланомы D03, напротив, повышает их чувствительность к этому препарату [51].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что в литературе описано немало герминативных инделов и точечных мутаций *NBN*, которые ассоциированы с проявлениями геномной нестабильности и могут рассматриваться как потенциальные факторы риска развития ЗНО, оценка патогенности большинства герминативных вариантов *NBN* осложнена в связи с их огромным разнообразием и крайне низкой частотой встречаемости. Поскольку информация о таких вариантах может иметь значение для оценки наличия дефицита гомологичной рекомбинации, необходим полногеномный поиск ассо-

циаций на расширенных выборках пациентов с ЗНО и контрольных групп здоровых индивидов для статистической оценки предрасположенности носителей наиболее распространенных вариантов *NBN* к развитию опухолей, а для подтвержденных ассоциаций — экспериментов по определению функциональной значимости этих полиморфизмов *in vitro*. Еще более актуальным представляется вопрос о необходимости проведения исследований, направленных на оценку влияния амплификации *NBN*, являющейся частым событием при таких опухолях, как рак молочной, предстательной желез и яичника, на устойчивость опухолевых клеток к применяемым в терапии препаратам, поскольку существующие данные указывают на то, что оценка копийности *NBN* может иметь значение при выборе оптимальных схем лекарственного лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5):646–74. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013
- The ICGC/TCGA pan-cancer analysis of whole genomes consortium. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature* 2020;578(7793):82–93. DOI: 10.1038/s41586-020-1969-6
- McFarland C.D., Yaglom J.A., Wojtkowiak J.W. et al. The damaging effect of passenger mutations on cancer progression. *Cancer Res* 2017;77(18):4763–72. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3283-T
- Li Q., Qian W., Zhang Y. et al. A new wave of innovations within the DNA damage response. *Signal Transduct Target Ther* 2023;8(1):338. DOI: 10.1038/s41392-023-01548-8
- Toh M., Ngeow J. Homologous recombination deficiency: cancer predispositions and treatment implications. *Oncologist* 2021;26(9):e1526–37. DOI: 10.1002/onco.13829
- Bertelsen B., Tuxen I.V., Yde C.W. et al. High frequency of pathogenic germline variants within homologous recombination repair in patients with advanced cancer. *NPJ Genom Med* 2019;4:13. DOI: 10.1038/s41525-019-0087-6
- Gao P., Ma N., Li M. et al. Functional variants in NBS1 and cancer risk: evidence from a meta-analysis of 60 publications with 111 individual studies. *Mutagenesis* 2013;28(6):683–97. DOI: 10.1093/mutage/get048
- Otahalova B., Volkova Z., Soukupova J. et al. Importance of germline and somatic alterations in human MRE11, RAD50, and NBN genes coding for MRN complex. *Int J Mol Sci* 2023;24(6):5612. DOI: 10.3390/ijms24065612
- Takai K., Sakamoto S., Sakai T. et al. A potential link between alternative splicing of the NBS1 gene and DNA damage/environmental stress. *Radiat Res* 2008;170(1):33–40. DOI: 10.1667/RR1191.1
- Bian L., Meng Y., Zhang M., Li D. MRE11-RAD50-NBS1 complex alterations and DNA damage response: implications for cancer treatment. *Mol Cancer* 2019;18(1):169. DOI: 10.1186/s12943-019-1100-5
- Hari F.J., Spycher C., Jungmichel S. et al. A divalent FHA/BRCT-binding mechanism couples the MRE11-RAD50-NBS1 complex to damaged chromatin. *EMBO Rep* 2010;11(5):387–92. DOI: 10.1038/embor.2010.30
- Stiff T., Cerosaletti K., Concannon P. et al. Replication independent ATR signalling leads to G2/M arrest requiring Nbs1, 53BP1 and MDC1. *Hum Mol Genet* 2008;17(20):3247–53. DOI: 10.1093/hmg/ddn220
- Kim J.H., Grosbart M., Anand R. et al. The Mre11-Nbs1 interface is essential for viability and tumor suppression. *Cell Rep* 2017;18(2):496–507. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.035
- Rai R., Hu C., Broton C. et al. NBS1 phosphorylation status dictates repair choice of dysfunctional telomeres. *Mol Cell* 2017;65(5):801–17.e4. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.01.016
- Tseng S.F., Chang C.Y., Wu K.J., Teng S.C. Importin KPNA2 is required for proper nuclear localization and multiple functions of NBS1. *J Biol Chem* 2005;280(47):39594–600. DOI: 10.1074/jbc.M508425200
- Varon R., Demuth I., Chrzanowska K.H. Nijmegen breakage syndrome. In: *GeneReviews*. Ed. by M.P. Adam, J. Feldman, G.M. Mirzaa et al. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1999. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1176/>.
- Sharapova S.O., Pashchenko O.E., Bondarenko A.V. et al. Geographical distribution, incidence, malignancies, and outcome of 136 Eastern slavic patients with Nijmegen Breakage Syndrome and NBN founder variant c.657_661del5. *Front Immunol* 2021;11:602482. DOI: 10.3389/fimmu.2020.602482
- Cilli D., Mirasole C., Pennisi R. et al. Identification of the interactors of human nibrin (NBN) and of its 26 kDa and 70 kDa fragments arising from the NBN 657del5 founder mutation. *PLoS One* 2014;9(12):e114651. DOI: 10.1371/journal.pone.0114651
- Maser R.S., Zinkel R., Petrini J.H. An alternative mode of translation permits production of a variant NBS1 protein from the common Nijmegen breakage syndrome allele. *Nat Genet* 2001;27(4):417–21. DOI: 10.1038/86920
- Lins S., Kim R., Krüger L. et al. Clinical variability and expression of the NBN c.657del5 allele in Nijmegen Breakage Syndrome. *Gene* 2009;447(1):12–7. DOI: 10.1016/j.gene.2009.07.013
- Belhadji S., Khurram A., Bandlamudi C. et al. NBN pathogenic germline variants are associated with pan-cancer susceptibility and *in vitro* DNA damage response defects. *Clin Cancer Res* 2023;29(2):422–31. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-1703
- Dzikiewicz-Krawczyk A., Mosor M., Januszkiewicz D., Nowak J. Impact of heterozygous c.657-661del, p.I171V and p.R215W mutations in NBN on nibrin functions. *Mutagenesis* 2012;27(3):337–43. DOI: 10.1093/mutage/ger084
- Nowak J., Świątek-Kościelna B., Kałużna E.M. et al. Effect of irradiation on DNA synthesis, NBN gene expression and chromosomal stability in cells with NBN mutations. *Arch Med Sci* 2017;13(2):283–92. DOI: 10.5114/aoms.2017.65452

24. Yamamoto Y., Miyamoto M., Tatsuda D. et al. A rare polymorphic variant of NBS1 reduces DNA repair activity and elevates chromosomal instability. *Cancer Res* 2014;74(14):3707–15. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3037
25. Sherry S.T., Ward M.H., Kholodov M. et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* 2001;29(1):308–11. DOI: 10.1093/nar/29.1.308
26. Landrum M.J., Lee J.M., Riley G.R. et al. ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D980–5. DOI: 10.1093/nar/gkt1113
27. Cerosaletti K.M., Concannon P. Nibrin forkhead-associated domain and breast cancer C-terminal domain are both required for nuclear focus formation and phosphorylation. *J Biol Chem* 2003;278(24):21944–51. DOI: 10.1074/jbc.M211689200
28. Tomioka K., Miyamoto T., Akutsu S.N. et al. NBS1 I171V variant underlies individual differences in chromosomal radiosensitivity within human populations. *Sci Rep* 2021;11(1):19661. DOI: 10.1038/s41598-021-98673-7
29. Warcoin M., Lespinasse J., Despouy G. et al. Fertility defects revealing germline biallelic nonsense NBN mutations. *Hum Mutat* 2009;30(3):424–30. DOI: 10.1002/humu.20904
30. Varon R., Vissinga C., Platzer M. et al. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen breakage syndrome. *Cell* 1998;93(3):467–76. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81174-5
31. Gass J., Jackson J., Macklin S. et al. A case of contralateral breast cancer and skin cancer associated with NBN heterozygous pathogenic variant c.698_701delAACA. *Fam Cancer* 2017;16(4):551–3. DOI: 10.1007/s10689-017-9982-0
32. Ramus S.J., Song H., Dicks E. et al. Germline mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN genes in women with ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015;107(11):djv214. DOI: 10.1093/jnci/djv214
33. Wu Y., Yu H., Li S. et al. Rare germline pathogenic mutations of DNA repair genes are most strongly associated with grade group 5 prostate cancer. *Eur Urol Oncol* 2020;3(2):224–30. DOI: 10.1016/j.euo.2019.12.003
34. Susswein L.R., Marshall M.L., Nusbaum R. et al. Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing. *Genet Med* 2016;18(8):823–32. DOI: 10.1038/gim.2015.166
35. Nakanishi K., Taniguchi T., Ranganathan V. et al. Interaction of FANCD2 and NBS1 in the DNA damage response. *Nat Cell Biol* 2002;4(12):913–20. DOI: 10.1038/ncb879
36. Desmond A., Kurian A.W., Gabree M. et al. Clinical actionability of multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer risk assessment. *JAMA Oncol* 2015;1(7):943–51. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.2690
37. Gao J., Aksoy B.A., Dogrusoz U. et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal* 2013;6(269):pl1. DOI: 10.1126/scisignal.2004088
38. Zehir A., Benayed R., Shah R.H. et al. Mutational landscape of meta-static cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med* 2017;23(6):703–13. DOI: 10.1038/nm.4333
39. Wu Z., Li S., Tang X. et al. Copy number amplification of DNA damage repair pathways potentiates therapeutic resistance in cancer. *Theranostics* 2020;10(9):3939–51. DOI: 10.7150/thno.39341
40. Gan M., Tai Z., Yu Y. et al. Next-generation sequencing shows the genomic features of ovarian clear cell cancer and compares the genetic architectures of high-grade serous ovarian cancer and clear cell carcinoma in ovarian and endometrial tissues. *Peer J* 2023;11:e14653. DOI: 10.7717/peerj.14653
41. Berlin A., Lalonde E., Sykes J. et al. NBN gain is predictive for adverse outcome following image-guided radiotherapy for localized prostate cancer. *Oncotarget* 2014;5(22):11081–90. DOI: 10.18632/oncotarget.2404
42. Shi Z., Chen B., Han X. et al. Genomic and molecular landscape of homologous recombination deficiency across multiple cancer types. *Sci Rep* 2023;13(1):8899. DOI: 10.1038/s41598-023-35092-w
43. Goldman M.J., Craft B., Hastie M. et al. Visualizing and interpreting cancer genomics data via the Xena platform. *Nat Biotechnol* 2020;38(6):675–8. DOI: 10.1038/s41587-020-0546-8
44. Cancer Genome Atlas Research Network, Weinstein J.N., Collisson E.A. et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. *Nat Genet* 2013;45(10):1113–20. DOI: 10.1038/ng.2764
45. Wang M., Chen S., Ao D. Targeting DNA repair pathway in cancer: mechanisms and clinical application. *MedComm* (2020) 2021;2(4):654–91. DOI: 10.1002/mco2.103
46. Stewart M.D., Merino Vega D., Arend R.C. et al. Homologous recombination deficiency: concepts, definitions, and assays. *Oncologist* 2022;27(3):167–74. DOI: 10.1093/oncolo/oyab053
47. Huang R.X., Zhou P.K. DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer. *Signal Transduct Target Ther* 2020;5(1):60. DOI: 10.1038/s41392-020-0150-x
48. Zhong A., Cheng C.S., Lu R.Q., Guo L. Suppression of NBS1 upregulates cyclinB to induce olaparib sensitivity in ovarian cancer. *Technol Cancer Res Treat* 2024;23:15330338231212085. DOI: 10.1177/15330338231212085
49. Risdon E.N., Chau C.H., Price D.K. et al. PARP inhibitors and prostate cancer: to infinity and beyond BRCA. *Oncologist* 2021;26(1):e115–29. DOI: 10.1634/theoncologist.2020-0697
50. McCabe N., Turner N.C., Lord C.J. et al. Deficiency in the repair of DNA damage by homologous recombination and sensitivity to poly(ADP-ribose) polymerase inhibition. *Cancer Res* 2006;66(16):8109–15. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0140
51. Eich M., Roos W.P., Dianov G.L. et al. Nijmegen breakage syndrome protein (NBN) causes resistance to methylating anticancer drugs such as temozolomide. *Mol Pharmacol* 2010;78(5):943–51. DOI: 10.1124/mol.110.066076

Благодарность. Представленные в этом обзоре сведения частично основаны на данных, полученных в рамках проекта TCGA (<https://www.cancer.gov/tcga>).

Acknowledgment. The information presented in this review is partially based on data obtained within the framework of the TCGA project (<https://www.cancer.gov/tcga>).

Вклад авторов

О.М. Кривцова: написание текста статьи, проведение системного и биоинформатического анализов, анализ данных, редактирование;

Д.Д. Озерова: обзор литературы по теме статьи, проведение системного анализа, написание текста статьи;

Н.Л. Лазаревич: написание текста статьи, проведение системного анализа, анализ данных, редактирование.

Authors' contributions

O.M. Krivtsova: article writing, conducting systematic and bioinformatic analyses, data analysis, editing;

D.D. Ozerova: review of the literature on the topic of the article, conducting a system analysis, article writing;

N.L. Lazarevich: article writing, conducting system analysis, data analysis, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.М. Кривцова / O.M. Krivtsova: <https://orcid.org/0000-0002-0207-2724>

Д.Д. Озерова / D.D. Ozerova: <https://orcid.org/0009-0005-2450-8452>

Н.Л. Лазаревич / N.L. Lazarevich: <https://orcid.org/0000-0001-9560-1383>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа проведена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.