

# Раковый геном: что нового

По материалам 4-й ежегодной конференции участников консорциума ICGC по изучению генома раковых клеток, 1–3 декабря 2010 года, Брисбен, Австралия



Е. Б. Прохорчук,

Центр «Биоинженерия» РАН, 117312, Москва, просп. 60-летия Октября, 7, корп. 1

E-mail: prokhortchouk@biengi.ac.ru

Прошло восемь месяцев с момента объявления о создании консорциума ICGC по изучению генома раковых клеток [1], и прошедшая конференция должна была показать, насколько хорошо стартовали все участники. Напомню, что сам консорциум формально был организован в 2008 году усилиями, в первую очередь, европейских ученых с целью консолидированного и координированного изучения генома раковых клеток. Необходимо отметить, что в США аналогичный проект, названный TCGA – The Cancer Genome Atlas (<http://tcga.cancer.gov/>), запустили на несколько лет раньше, но договорились, что TCGA становится частью ICGC. Это решение безусловно пошло на пользу европейцам, поскольку открыло доступ ко многим американским базам уже накопленных знаний. Создание ICGC стимулировалось, в первую очередь, технологическим прорывом в определении нуклеотидной последовательности ДНК, что позволило перейти от аналогового сигнала на микроматрицах к цифровому – на секвенаторах NGS. Сегодня в консорциуме участвуют 12 стран – Италия, Испания, Франция, Германия, Великобритания, США, Канада, Индия, Китай, Австралия, Япония, к которым, как было объявлено, присоединяется Мексика. Какая страна «отвечает» за тот или иной вид рака, можно посмотреть на сайте консорциума <http://www.icgc.org>.

На конференции в Брисбене объявили объем общего бюджета ICGC, который впечатлил многих участников – 500 миллионов долларов. Именно на такую сумму правительства стран-участниц заключили контракты со своими национальными исследовательскими центрами, институтами и университетами на проведение исследования как минимум 12100 «раковых» геномов. На каком же этапе сегодня находятся отдельные проекты, и что больше всего волнует участников?

Каждый проект, или мини-консорциум по конкретному виду рака, делегировал одного докладчика, который и обрисовывал общее состояние дел. Структура практически всех исследований оказалась одинаковой. Первый шаг – сбор клинического материала. На этом этапе основная роль чаще всего принадлежит клиникам, хирургам и онкологам. Они отвечают за сбор и хранение материала, историю болезни и выбор схемы лечения больного. Далее необходимо получить подробное гистологическое описание клинического материала. К примеру, в финансируемом за счет Седьмой рамочной программы консорциуме по раку почки CAGEKID (Cancer Genomics of Kidney) срезы опухоли, зафиксированной в формалине, должны анонимно оценить три независимых онколога. И только в том случае, если они придут к единому мнению о гомогенности (не менее 90% раковых клеток

на срезе) материала и стадии прогрессии опухоли, а это может быть выражено количественно с погрешностью не более 5%, соседний срез, хранящийся в морозильнике, будет использован для выделения ДНК и РНК. Проблему гетерогенности опухолевого материала отмечали все докладчики. Загрязнение образцов стромальными клетками и попадание в операционный материал нескольких опухолевых очагов – вот основные причины того, что из сотен пар образцов опухоль/контроль до молекулярно-генетического исследования доходит не более 10%. Некоторые лаборатории (John McPherson, Канада) пытаются обогащать клеточный материал при помощи проточного цитофлуориметрического сортирования (все попытки не самые удачные) или используют ксенотрансплантаты в мышах с иммунодефицитом (а вот здесь удается получить достаточно существенное обогащение). Все мини-консорциумы практически едины в методах анализа нуклеиновых кислот на последующих стадиях. Вот что чаще всего секвенируют в паре опухоль/контроль исследователи ICGC: 1) геном с глубиной покрытия  $\times 30$ – $\times 50$ ; 2) транскриптом; 3) экзом; 4) репертуар микроРНК; 5) высокометилированные ДНК. В среднем все мини-консорциумы (быть может, за исключением «продвинутого» TCGA и совсем молодых консорциумов, таких, как немецкий проект «Геномика

рака предстательной железы») достигли приблизительно одинакового уровня. Как правило, по состоянию на декабрь 2010 года с помощью NGS (Illumina или SOLiD) удалось секвенировать геномы не более 10 пар опухоль/контроль и не более нескольких десятков транскриптомов или экзонов. Данные по метилированию ДНК или репертуару микроРНК ни один из мини-консорциумов не привел. Это и неудивительно, поскольку большинство команд стали получать финансирование с начала или середины 2010 года. Однако уже к следующему 5-му съезду ICGC, который состоится в июле 2011 года в Токио, практически все обещают вплотную подойти к 30–50 геномам и нескольким сотням экзонов/транскриптомов. И лишь американская часть консорциума обещает через два года приблизиться к 3000 ре-секвенированным раковым геномам. Справедливости ради стоит отметить, что 3000 геномов в американской программе возникли как совокупное усилие всех институтов по всем изучаемым ими онкопатологиям. Значительное внимание привлекает политика консорциума в отношении подтверждения данных, полученных с помощью NGS. К примеру, в институте Броуда, США (Gad Getz) сначала накапливают данные о 30–40 геномах, находят мутации в раковых геномах и только потом с использованием баркодирования и альтернативных методов секвенирования (по Сэнгеру или 454) доказывают существование мутаций в ампликонах. Наконец, на вершине этих технологических цепочек находится биоинформатический анализ, позволяющий выделить соматические мутации, которые произошли только в опухолевых клетках, но не в нормальной ткани, прилегающей к опухоли /или в клетках крови. Широко упоминались базы данных таких

мутаций, созданные в Сэнгеровском институте (Великобритания) – COSMIC (<http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/>), а также базы TCGA (<http://www.broadinstitute.org/tcga/> пароль: tcga логин: tcga). Ни один из докладчиков не упомянул мутации в межгенных участках или в промоторах. Наоборот, о кодирующих районах, а также о местах экзон-интронной стыковки было сказано предостаточно. По предварительным данным NGS, оказалось, что в опухолевых клетках в среднем возникает около 100 соматических мутаций (при пороге p value, равном  $10^{-5}$ ), причем в опухолях различной этиологии эти величины очень близки. Итак, какие же гены наиболее часто подвергаются мутированию? Абсолютный лидер – TP53 – от 85 до 96% в зависимости от типа опухоли. Упоминали также ген VHL в случае рака почки, MUC17 при раке желудка, CTNБ1 (β-катенин) при раке кишечника и много других. Вполне резонно возникает вопрос, а стоило ли тратить полмиллиарда долларов, чтобы узнать, что уже хорошо известные гены – супрессоры опухолевого роста – мутированы, а онкогены либо амплифицированы, либо имеют повышенный уровень транскрипции? Ответом на это стала лекция проф. Роба Сазерленда (Rob Sutherland), первым предложившим антиэстрогеновую терапию при раке молочной железы. Он совершенно четко сказал, что схема терапии каждого отдельного больного будет выбираться в зависимости от «генотипа» мутаций именно в его опухоли. Ярким примером может служить Herceptin, эффективный только при HER2+–злокачественных новообразованиях молочной железы. Верно и обратное, мутации могут нарушать какой-то метаболический путь в опухолевых клетках, поэтому лекарственное средство, блокирующее это нарушение,

может быть найдено среди препаратов, далеких от применяемых в онкологии. Таким образом, верны обе концепции – и «правильное лекарство для данной опухоли», и «правильная опухоль для данного лекарства». Такая смена парадигмы фармацевтики может существенно ускорить и улучшить результаты клинических испытаний противоопухолевых препаратов. Это означает, что в будущем мы станем свидетелями целой серии экспериментов по нахождению корреляции между полногеномным генотипом мутаций в опухоли и наиболее эффективным методом противоопухолевой терапии. Именно это и является глубинной целью консорциума ICGC, а именно, переход к персонализированной терапии онкобольного. Отдельными темами для обсуждения стали вопросы биоинформатической обработки генетической информации. При значительном снижении стоимости геномного секвенирования увеличивается объем генерируемых данных. Для обработки, хранения и предоставления доступа к полученным результатам требуются все большие и большие компьютерные ресурсы, стоимость которых компенсирует падение цен на секвенирование и приводит даже к удорожанию всего исследования. Как долго продолжится гонка за раковыми геномами, покажет время, а пока темп исследований только возрастает, и консорциум ожидает новых участников с новыми проектами. ●

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hudson T.J., Anderson W., Artez A., Barker A.D., Bell C., Bernabé R.R., Bhan M.K., Calvo F., Eerola I., Gerhard D.S., et al. // Nature. 2010. V. 464(7291). P. 993–998.