



Основы генетики опухолей мягких тканей

Генетика рабдомиосаркомы

Друй А.Е.



Научно-практическая конференция «Опухоли костей и мягких тканей»
Российского общества онкопатологов
6-7 октября 2017

Хромосомные транслокации при саркомах

TABLE 1. Different Chromosomal Translocations Found in Sarcomas and the Molecular Findings of Diagnostic Interest Associated With Them

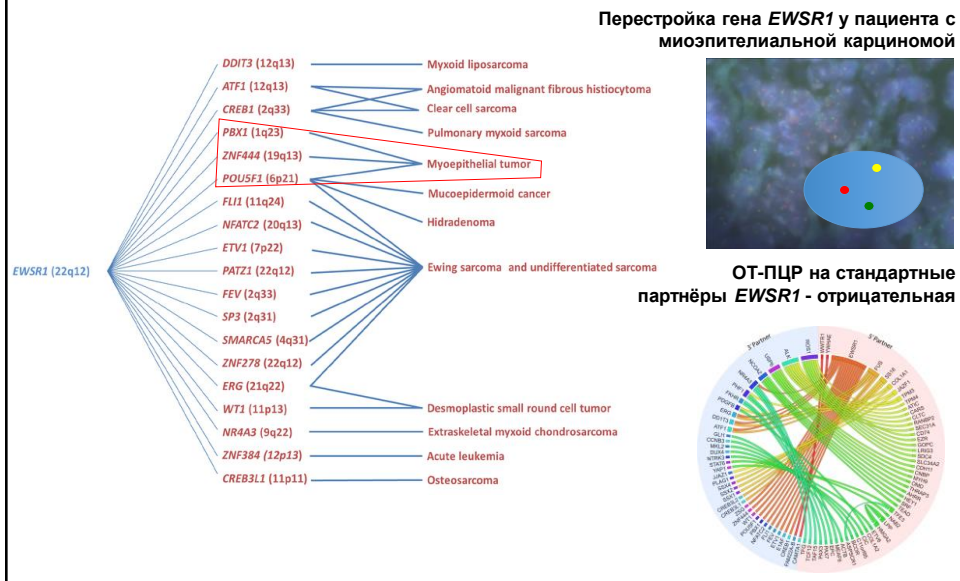
Tumor Type	Cytogenetic Finding	Molecular Trace	Reference
Ewing sarcoma family tumors	t(11;22)(q24;q12)	EWSR1-FLI1	Delattre et al ¹⁰
	t(21;22)(q22;q12)	EWSR1-ERG	Sorensen et al ¹¹
	t(19;der(19)t(11;22))	EWSR1-ERG	Maire et al ¹²
	t(16;21)(p11;q23)	FUS-ERG*	Shing et al ¹³
	t(7;22)(p22;q12)	EWSR1-ETV1	Jeon et al ¹⁴
	t(17;22)(q12;q12)	EWSR1-ETV4	Kaneko et al ¹⁵
	t(2;22)(q33;q12)	EWSR1-FEV	Peter et al ¹⁶
	t(6;22)(p21;q12)	EWSR1-POU5F1	Yamaguchi et al ¹⁷
	t(1;22)(q36.1;q12)	EWSR1-PATZ1	Mastrangelo et al ¹⁸
	t(2;22)(q31;q12)	EWSR1-SP3	Wang et al ¹⁹
	t(20;22)(q13;q12)	EWSR1-NFATc2	Snaklani et al ²⁰
	t(2;16)(q35;p11)	FUS-FEV	Ng et al ²¹
	t(15;19)(q14;p13.1)	BRD4-NUT*	Mertens et al ²²
	t(4;19)(q35;q13)	CIC-DUX4	Kawamura-Saito et al ²³
	Desmoplastic small round cell tumor	t(11;22)(p13;q12)	EWSR1-WT1
t(12;16)(q13;p11)		FUS-DDIT3	Crozat et al ²⁵
t(12;22)(q13;q12)		EWSR1-DDIT3	Panagopoulos et al ²⁶
Epithelioid pleomorphic liposarcoma	t(12;16)(q13;p11)	FUS-DDIT3 (CHOP)	Cecco et al ²⁷
	t(9;22)(q22;q12)	EWSR1-CHN	Clark et al ²⁸
Extraskeletal myxoid chondrosarcoma	t(9;17)(q22;q11)	tTAF1H6-CHN	Attwooll et al ²⁹
	t(9;15)(q22;q21)	TCF12-CHN	Sjogren et al ³⁰
	t(5;9)(q12;q22)	TFG-CHN	Haseoka et al ³¹
Clear cell sarcoma	t(12;22)(q13;q21)	EWS-ATF1	Zucman et al ³²
	t(2;22)(q33;q12)	EWS-CREB1	Antonescu et al ³³
Angiomatoid fibrous histiocytoma	t(12;22)(q13;q21)	EWS-ATF1	Hallor et al ³⁴
	t(2;22)(q33;q12)	EWS-CREB1	Rossi et al ³⁵
Synovial sarcoma	t(X;18)(p11.23;q11)	SSI8-SSX1	Crew et al ³⁶
	t(X;18)(p11.21;q11)	SSI8-SSX2	Clark et al ³⁷
	t(X;18)(p11;q11)	SSI8-SSX4	Skittinge et al ³⁸
	t(X;20)(p11;q13.3)	SSI8L1-SSX1	Storlazzi et al ³⁹
Alveolar rhabdomyosarcoma	t(2;13)(q35;q14)	PAX3-FOXO1	Galli et al ⁴⁰
	t(1;13)(p36;q14)	PAX7-FOXO1	Davis et al ⁴¹
	t(2;26)(q35;p25)	PAX3-NCOA1	Wachtel et al ⁴²
	t(2;8)(q35;q13)	PAX3-NCOA2	Sumegi et al ⁴³
Embryonal rhabdomyosarcoma	t(2;12)(q31;q12)	PAX3-7	Hosoi et al ⁴⁴
Dermatofibrosarcoma protuberans	t(17;22)(q22;q13)	COL1A1-PDGFB	Simon et al ⁴⁵
Infantile fibrosarcoma/cellular mesoblastic nephroma	t(12;15)(p13;q25)	ETV6-NTRK3*	Knezevich et al ⁴⁶
Alveolar soft part sarcoma	t(X;17)(p11;q25)	TTF3-ASPL1*	Ladanyi et al ⁴⁷
Dermatofibrosarcoma protuberans	t(7;17)(p15;q21)	JAZF1-JAZF1	Krontz et al ⁴⁸
Low grade endometrial stromal sarcoma	t(1;2)(q45;p25)	TPM3-ALK*	Lawrence et al ⁴⁹
Inflammatory myofibroblastic tumor	t(2;19)(p23;p13)	TMP4-ALK	Lawrence et al ⁴⁹
Low-grade fibromyxoid sarcoma	t(2;17)(p23;q23)	CLTC2-ALK	Bridge et al ⁵⁰
	t(2;26)(p23;q13)	RANBP2-ALK	Ma et al ⁵¹
	t(7;16)(q32;p11)	FUS-CREB3L2	Storlazzi et al ⁵²
	t(11;16)(p11;p11)	FUS-CREB3L1	Mertens et al ⁵³

(EWSR1 is also named as EWS); (FLI-1 is also named as EWSR2, SIC-1); ETV4 is also known as EIAF, EIA-F, PEA3, PEAS3); (DDIT3 is also named as CHOP, C/EBP β , CHOP β ; GADD153; MGC4154); (NR4A3 is also named as CHN, TEC, CSMF, MINOR, NOR1); (FOXO1 is also named as FKHR, FKHI y FOXO1A); (SSI8 is also named as SYT, SSX1, MGC116875).

*These fusions are also present in other tumors (carcinomas, leukemias, or lymphomas) (Reviewed in Ref. 3).

Ordonez, 2010

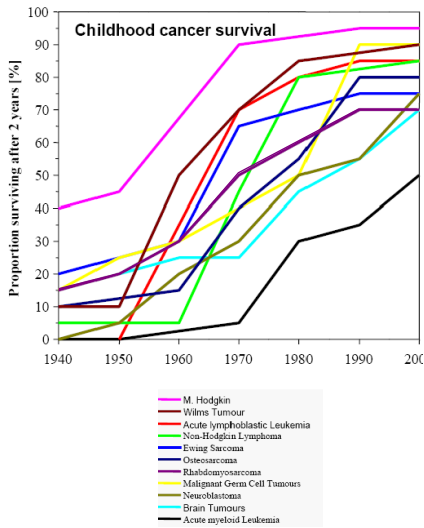
Перестройки гена *EWSR1* при различных опухолях



Рабдомиосаркома

- ✓ Злокачественная эмбриональная опухоль, развивающаяся из предшественников поперечнополосатых скелетных миоцитов
- ✓ Наиболее частая опухоль мягких тканей в педиатрической практике (4-5% в структуре солидных опухолей у детей до 14 лет)
- ✓ Заболеваемость 4,5 случаев на 1М детского населения
- ✓ В редких случаях ассоциация с наследственными синдромами предрасположенности к опухолям: Ли-Фраумени, Беквита-Видеманна, NF-1; герминальными мутациями в компонентах сигнального пути RAS/MAPK (кардиофациокутаный синдром, синдромы Костелло и Нунана)
- ✓ У взрослых случаи РМС исключительно редки

Выживаемость пациентов с РМС

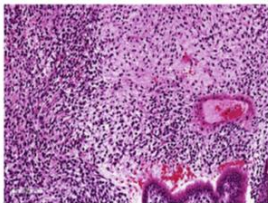


← Причины неудач терапии и факторы риска:

- ✓ Резистентность к химиотерапии / неоптимальный ответ на терапию первой линии
- ✓ Метастатическая диссеминация
- ✓ Альвеолярная РМС

Гистологические варианты РМС у детей

Эмбриональная



70%

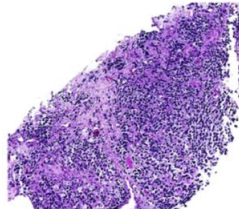
Дети раннего возраста



Мышечная ткань 7-10 нед. гестации

Промежуточный прогноз

Альвеолярная



30%

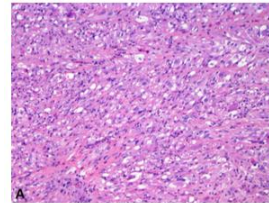
Подростки



Мышечная ткань 10-12 нед. гестации

Неблагоприятный прогноз

Веретенноклеточная / склерозирующая



<1%

Неблагоприятный прогноз

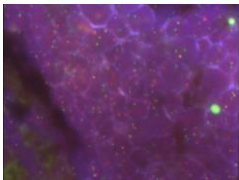
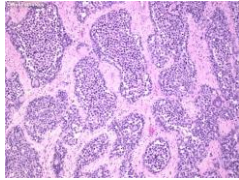
El Demellawy, 2017; The endowment for human development, 2017

Перестройки гена *FOXO1* при альвеолярной РМС

VOLUME 28 · NUMBER 13 · MAY 1 2010

JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

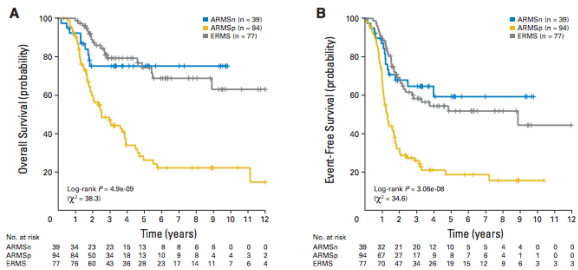
ORIGINAL REPORT



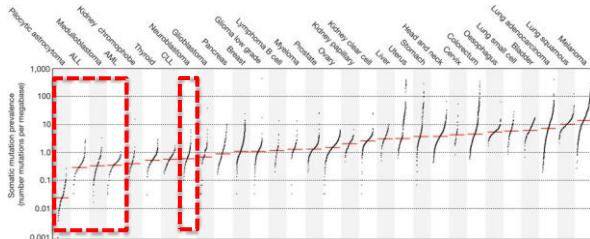
FOXO1 Break-apart

Fusion Gene–Negative Alveolar Rhabdomyosarcoma Is Clinically and Molecularly Indistinguishable From Embryonal Rhabdomyosarcoma

Daniel Williamson, Edoardo Missiaglia, Aurélien de Reyniès, Gaëlle Pierron, Benedicte Thuille, Gilles Palenzuela, Khin Thway, Daniel Orbach, Marick Lalé, Paul Fréneau, Kathy Pritchard-Jones, Odile Oberlin, Janet Shipley, and Olivier Delattre

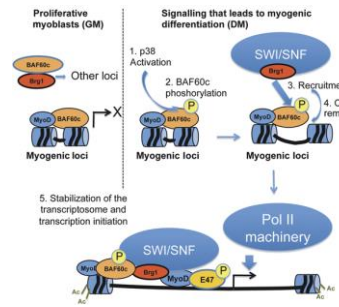


Мутации в транскрипционных факторах



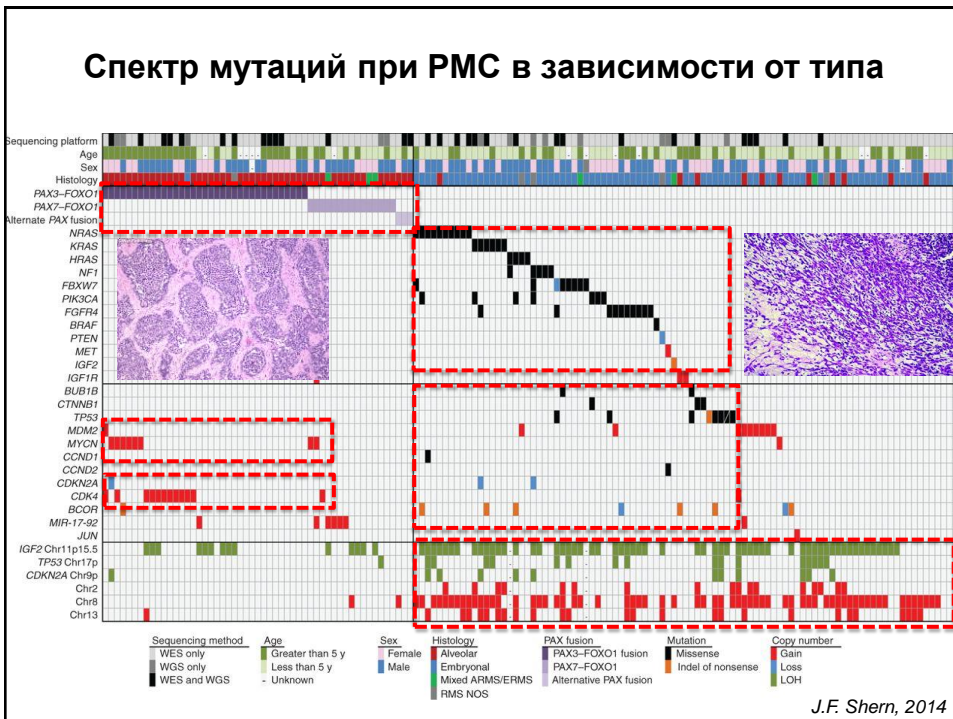
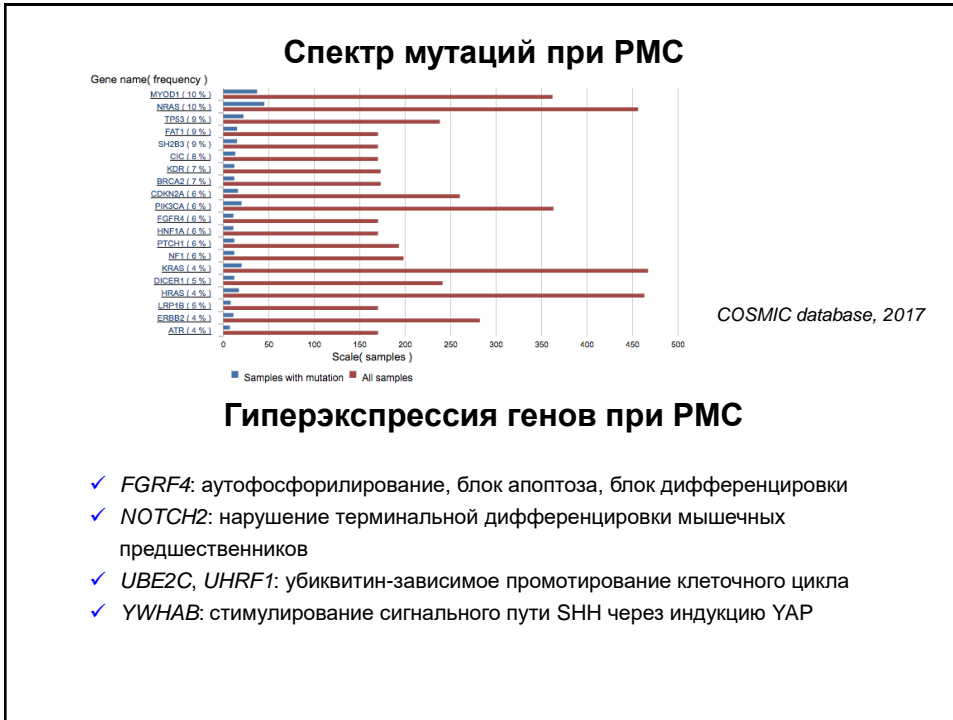
L.B. Alexandrov, 2013

Блок дифференцировки вследствие мутаций в транскрипционных факторах (*MYO1*, *NOTCH2*) – ключевой фактор инициации РМС



S.V. Forcales, 2012





Молекулярные механизмы патогенеза РМС

Ген	эРМС	аРМС
Семейство <i>RAS</i>	Миссенс мутации до 42%	
<i>TP53</i>	Миссенс мутации	
<i>FOXO1</i>		Транслокации t(2;13)(q35,q14) <i>PAX3-FOXO1</i> ; t(1;13)(p36,q14) <i>PAX3-FOXO1</i>
<i>NCOA1</i>		Транслокация t(2;2)(q35,p23) <i>PAX3-NCOA1</i>
<i>NCOA2</i>	Транслокация t(2;8)(q35,q13) <i>PAX3-NCOA2</i>	
<i>MYCN, MET</i>		Амплификация
<i>IGF1H19</i>		Потеря импринтинга
<i>ALK</i>	Миссенс мутации	
<i>NF1</i>	Делеции	
<i>PIK3CA</i>	Миссенс мутации	
<i>CTNNB1</i>	Миссенс мутации	
<i>SUFU</i>	Гиперэкспрессия	
<i>SMO</i>	Миссенс мутации	
Семейство <i>NOTCH</i>	Гиперэкспрессия, миссенс мутации	

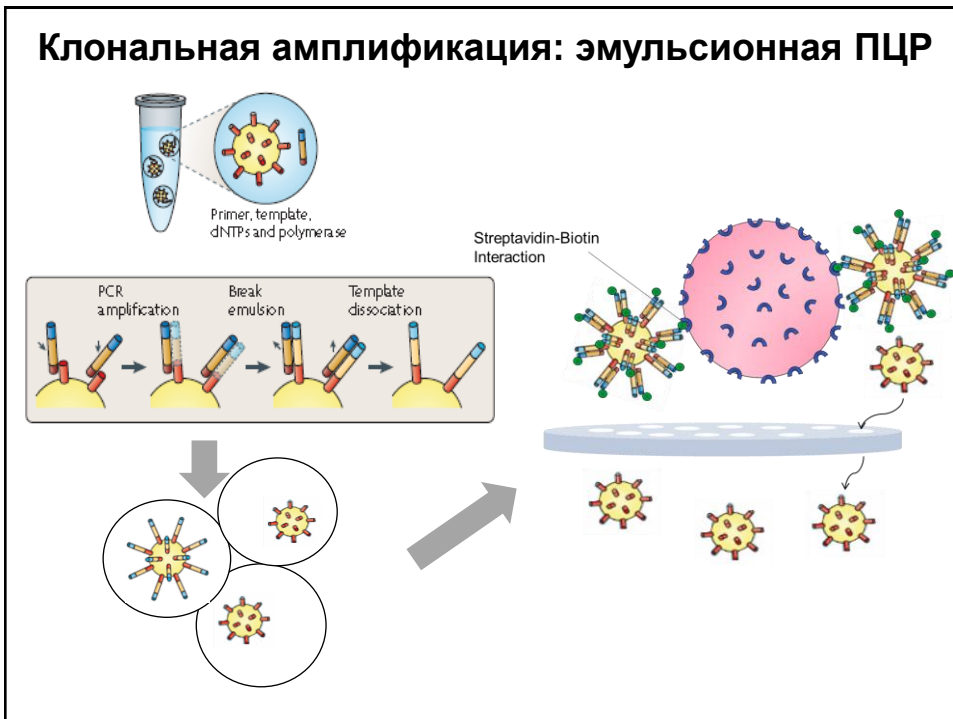
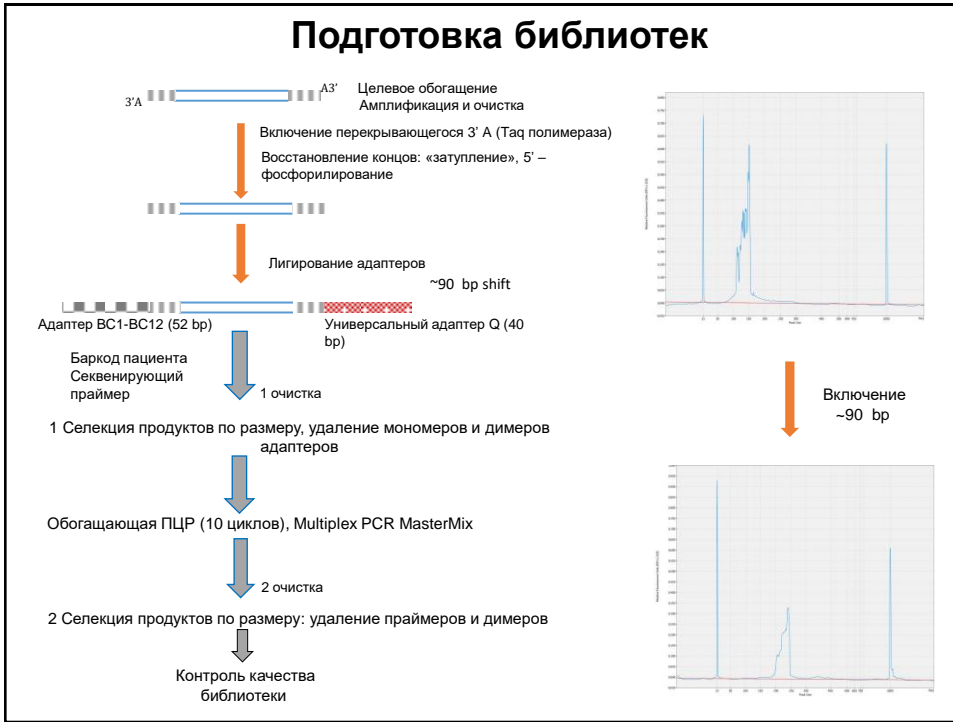


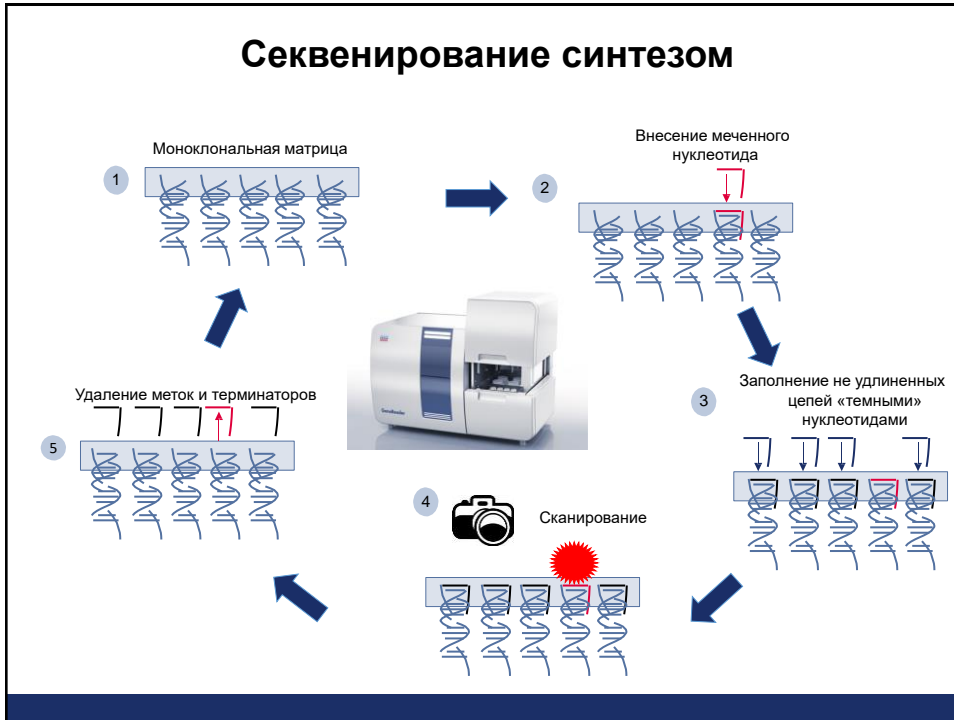
Система секвенирования GeneReader



GeneReader Actionable Insights Tumor Panel:

- ✓ 12 генов / 16.7 kb: *KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1*
- ✓ Количество ампликонов: 330
- ✓ Размер ампликона: 134 п.о.





Первичный анализ данных – QCI Analyze

The screenshot shows the QCI Analyze software interface with the following components:

- Navigation Bar:** Includes buttons for Start, Status, Review, Interpret, Comparison, Administration, and User.
- 1 Connector: GeneReader:** Shows a linked sample with ID 123123.
- 3 Samples in Analysis:** Lists three samples (sample4, sample2, sample1) with their status (ATPp STARTED) and a Review button.
- Samples Overview:** A bar chart showing the number of samples in various stages (Incoming, Queue, Running, Failed, Ready, Signed off) across weeks 14 to 18. A legend indicates the number of samples per bar.
- Summary Table:**

Workflow	ATPp v1: Actionable Insight Tumor Panel on plasma
Analyst	root
Analysis	Pass
Reported variants	59
Variant status	Review
- Variant Summary Table:**

Variants outside Regions of Interest	84
Variants in Regions of Interest	77
- Non-synonymous	62 (80.52%)
- T>Tv ratio	2.48

Анализ данных – QCI Analyze

The screenshot displays the QCI Analyze interface with the following sections:

- Sample summary:** Patient ID: 01_2015001021608_RAS-027_OR_BCC_AD308_SAMPLE01; Report ID: 201511314254_H1300012345678910121314_W55-NA_3_BCC_01V2_W55.
- 3.1 Valid variants:** A table listing variants with columns for Gene, Type, C, RefSeq, P, LabRef, IMPACT, % Q, and FIB TEST.

Gene	Type	C	RefSeq	P	LabRef	IMPACT	% Q	FIB TEST
AKT	SNV	c.4823G>A	p.G148R	ENSG00000183966	ENSG00000183966	Missense	45.50	200 0.00
AKT	SNV	c.4845G>A	p.L148V	ENSG00000183966	ENSG00000183966	Missense	33.31	200 0.00
AKT	SNV	c.4821A>G	p.R147H	ENSG00000183966	ENSG00000183966	Missense	35.39	200 1.00
AKT	SNV	c.2357T>C		ENSG00000183966	ENSG00000183966	Missense	69.60	200 1.00
PIK3CA	SNV	c.2744A>G>T		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	62.76	200 0.00
PIK3CA	SNV	c.26-2385A>G		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	42.27	200 1.00
PIK3CA	SNV	c.35-1884A>A		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	48.40	200 0.10
PIK3CA	SNV	c.1985T>A>G		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	60.60	200 1.00
PIK3CA	SNV	c.1148A>A>G		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	100.00	200 1.00
PIK3CA	SNV	c.1146G>T>C		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	40.79	200 0.00
POF1A	SNV	c.1427T>C		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	44.41	200 0.00
POF1A	SNV	c.1397A>G		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	50.19	200 1.00
POF1A	SNV	c.1427T>C		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	40.96	200 1.00
FPL1	SNV	c.1820A>A		ENSG00000133963	ENSG00000133963	Missense	01.61	200 0.02
- Track viewer:** A genomic track showing the location of variants on chromosome 12, with a zoomed-in view of the PIK3CA gene region.
- Track Viewer (bottom):** A bar chart showing the distribution of variants across chromosomes 1 through 22, X, Y, and MT.

Анализ данных – QCI Interpret

The screenshot displays the QCI Interpret interface with the following sections:

- Accession ID (Test Product Code):** 02 (123)
- Phenotype:** cancer
- Gene:** NRAS
- Variant:** c.35G>A p.G12D
- Somatic Frequency:** 3.34%
- Population Frequency:** <0.001% ExAC
- Allele Fraction:** 13% (of 1248 reads)
- Impact:** Missense
- Classification:** Pathogenic cancer
- Sort By:** Classification
- Variant Summary:**
 - NRAS c.35G>A p.G12D (Pathogenic)
 - EGFR c.2327A>G p.E746G
 - PIK3CA c.1370A>C p.N457T
 - PIK3CA c.3147T>G p.G1049G
- Somatic frequency:** Variant Somatic Frequency 3.34%. This variant is found in cancer (706 of 21150 cases). Gene Prevalence 30%. NRAS is found in cancer (8408 of 21150 cases).
- Variant Somatic Frequency (Log Scale):** A bar chart showing the distribution of variant somatic frequencies from 0.01% to 100%.
- Variant Details:**
 - Chromosome: 1
 - Position: 115258747 [IGV]
 - Gene region: Exonic
 - Cytoband: p13.2
 - Variant: c.35G>A
 - Protein variant: p.G12D
 - Variation: SNV
 - Activity: Gain
 - dbSNP: 121913237
 - Call quality: 200
 - Read depth: 12848
 - Gene-specific links: Gene Reviews, Genetics Home Reference
- Missense effect on protein:** A diagram showing the effect of the p.G12D variant on the NRAS protein structure, indicating a gain of function.

Результаты пилотного исследования

Пациент	Гистологический вариант	Выявленный вариант	Частота мутантного аллеля
1. Б.М.	Альвеолярный, FOXO1+	-	-
2. Г.А.	Эмбриональный	-	-
3. П.Е.	Эмбриональный	<i>NRAS</i> с.35G>A	13.15%
4. Р.К.	Веретеночлечный	-	-
5. М.Х.	Эмбриональный	<i>ERBB2</i> с.2033G>A	74.17%

Благодарности



Лаборатория цитогенетики и молекулярной генетики
НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева:
Ю.В. Ольшанская
А.В. Панферова



Высшая школа молекулярной и экспериментальной
медицины:
М.А. Масчан

Отделение патологической анатомии
НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева:
В.Ю. Рощин
Д.М. Коновалов