

DOI: 10.31116/tsitol.2018.07.02

ЦИТОГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА В ГЕНОМНУЮ И ПОСТГЕНОМНУЮ ЭРУ: ОТ АРХИТЕКТУРЫ ГЕНОМА К НОВЫМ ХРОМОСОМНЫМ БОЛЕЗНЯМ

© *И. Н. Лебедев*

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики,
Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, 634050;
электронный адрес: igor.lebedev@medgenetics.ru*

Прогресс в изучении генома и сопутствующее развитие технологий высокопроизводительного молекулярно-генетического генотипирования и кариотипирования, а также клеточных технологий привели к расширению представлений об этиологии и патогенезе хромосомных болезней человека. В последние годы накоплен ряд фактов, акцентирующих внимание на том, что эволюционно сложившиеся особенности организации генома детерминируют возникновение клинически значимых хромосомных aberrаций. В настоящем обзоре обобщены данные об особенностях возникновения и фенотипического проявления таких новых классов хромосомных болезней, как синдромы реципрокных хромосомных микроделений и микродупликаций, «моногенные» хромосомные микроделения и микродупликации, хромосомные заболевания, связанные с нарушением структуры топологически ассоциированных доменов.

Ключевые слова: синдромы реципрокных хромосомных микроделений и микродупликаций, реципрокные CNV, TAD

Принятые сокращения: CNV (copy number variation) — вариации числа копий ДНК; Hi-C (high-throughput chromosome conformation capture) — высокопроизводительный захват конформации хромосом; OMIM (online Mendelian Inheritance in Man) — Онлайн-версия Каталога генов человека и генетических болезней, omim.org; TAD (topologically associated domains) — топологически ассоциированные домены; WAGR (Wilms tumor, aniridia, genitourinary anomalies, mental retardation syndrome) — наследственный синдром, сопровождающийся опухолью Вильямса, аниридией, аномалиями мочеполовой системы и умственной отсталостью.

Стремительное развитие методов молекулярной цитогенетики и геномики обусловило наступление нового периода в истории цитогенетики, который вполне может быть обозначен как цитогеномный. Более того, взгляд на хромосому как на некоторую последовательность нуклеотидов (сиквенс) определенного участка генома, по мнению самих же цитогенетиков, ознаменовал начало не просто нового периода, а «последней и финальной эры цитогенетики» (Ferguson-Smith et al., 2017). Вместе с тем наблюдаемый прогресс в изучении организации генома человека уже привел к существенному развитию представлений о многообразии, этиологии и патогенезе хромосомных болезней. В настоящем обзоре на примере всего двух явлений — полиморфизма числа копий участков ДНК и топологически ассоциированных доменов — обобщены достижения современной молекулярной и клинической цитогенетики в понимании природы новых классов хромосомных заболеваний.

CNV-полиморфизм и хромосомные болезни

Высокоразрешающее молекулярное кариотипирование позволило открыть в 2004 г. новый вид хромосомного полиморфизма — изменчивость по числу копий крупных блоков повторов ДНК (Copy Number Variations, CNV) (Iafrate et al., 2004), клиническое значение которого до сих пор остается предметом дискуссий. Господствующее представление о том, что CNV, ассоциированные с заболеваниями, могут быть ограничены только микроделениями хромосом, постепенно трансформируется в открытие новых микродупликационных синдромов, а также клинически значимых хромосомных амплификаций более высокого порядка — трипликаций и квадрипликаций (Lebedev et al., 2016). Описаны новые механизмы генерации таких CNV, связанные как с эволюционными особенностями организации генома человека, например с наличием в нем блоков сегментных дупликаций, так и с процессами репарации и репликации ДНК (Carvalho, Lupski, 2016). Выделен новый класс реципрокных микроделенционных и микродупликационных синдромов («genomic

sister-disorders»), объединяющий CNV-ассоциированные хромосомные заболевания, связанные с полярными изменениями копияности одного и того же хромосомного региона (Crespi et al., 2009; Кашеварова, Лебедев, 2016). Число таких уже известных хромосомных регионов составляет свыше 60 и продолжает регулярно увеличиваться. Системный взгляд на природу реципрокных синдромов позволяет в свою очередь приблизиться к более четкому обозначению клинически значимых генофенотипических корреляций при хромосомной патологии, разделяемых на «зеркальные», «общие» и «уникальные» фенотипы (Golzio, Katasanis, 2013; Hammond et al., 2014).

Несомненным вызовом в понимании природы хромосомного дисбаланса остается тканеспецифичность его эффектов. Перспективы в преодолении данного барьера, безусловно, связаны с развитием технологий клеточного репрограммирования, направленной клеточной и тканевой дифференцировки, позволяющими приблизиться к расшифровке молекулярных и клеточных механизмов патогенеза хромосомных заболеваний. В частности, в проведенных нами исследованиях реципрокных микроделеций и микродупликаций 3p26.3 (Kashevarova et al., 2014), затрагивающих единственный ген *CNTN6*, ответственный за формирование межклеточных контактов при развитии определенных слоев коры больших полушарий, в нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с умственной отсталостью, было продемонстрировано существенное снижение уровня экспрессии гена *in vitro*, несмотря на увеличение его копияности при хромосомной микродупликации (Gridina et al., 2018). Такой эффект может объяснить общность некоторых фенотипических признаков, регистрируемых в ряде случаев у пациентов с полярными изменениями в числе копий участков хромосом, и эта гипотеза получила подтверждение по крайней мере еще в одном независимом исследовании на примере другого реципрокного синдрома (Gillentine et al., 2017).

Другим итогом применения высоко разрешающего генотипирования в цитогенетике явилось радикальное снижение размеров детектируемых хромосомных аномалий,

которые могут затрагивать отдельные гены или даже их фрагменты. Намечается расщепление некоторых классических смежных генных синдромов на «моногенные» хромосомные заболевания («single gene chromosomal disorders»), позволяющие выделить отдельные гены, лежащие в основе формирования того или иного фенотипического признака (Kashevarova et al., 2014; Witteveen et al., 2016). Вместе с тем, несмотря на кажущееся стирание физических границ между моногенными и хромосомными мутациями, последние демонстрируют особенности своего фенотипического проявления, сохраняя характерную для хромосомных заболеваний множественность поражений различных систем органов. Предполагается, что одной из причин такого выраженного плейотропного эффекта «моногенных» хромосомных мутаций могут являться повреждения трехмерной организации хромосомного материала, а именно нарушения так называемых регуляторных топологически ассоциированных доменов (TAD) — областей с повышенной плотностью контактов в молекуле ДНК, возникающие при хромосомных перестройках (Dixon et al., 2012).

Топологически ассоциированные домены хромосом и наследственная патология человека

Наличие топологически ассоциированных доменов в геноме привносит новое понимание этиологии некоторых наследственных и хромосомных болезней человека, связанных с повреждением данных структурно-функциональных элементов. Действительно, с развитием технологий высокопроизводительного секвенирования и методов Hi-C в последние годы начал формироваться список наследственных заболеваний, клиническая картина которых во многом зависит от повреждений TAD (см. таблицу). Так, например, хромосомные перестройки в сегменте 2q35, нарушающие топологические пограничные регионы между двумя соседними TAD-элементами, индуцируют изменения в экспрессии группы генов *WNT6-IRH-EPHA4-PAX3*, обеспечивающих формирова-

TAD-ассоциированные наследственные болезни человека (по Ordulu et al., 2016, с модификациями)

Гены	Локализация	Фенотип	OMIM
<i>WNT6-IRH-EPHA4-PAX3</i>	2q35	Пороки развития конечностей	604663; 600726; 602188; 606597
<i>SOX9</i>	17q24.3	Кампомелическая дисплазия	114290
<i>SOX9</i>	17q24.3	Синдром Робена	261800
<i>TWIST1</i>	7p21.1	Синдром Саэтри—Чотзена	101400
<i>PAX6</i>	11p13	Изолированная аниридия	607108
<i>WT1</i>	11p13	Пороки развития мочеполовой системы без аниридии	194070
<i>PAX6-WT1</i>	11p13	WAGR-синдром, включающий в себя и аниридию, и пороки мочеполовой системы	194072
<i>SHH</i>	7q36.3, разрыв за 265 kb до гена	Голопрозэнцефалия, тип 3	142945
<i>SHH</i>	7q36.3, разрыв за 1 Mb до гена	Преаксиальная полидактилия, тип 2	174500
<i>POU3F4</i>	Xq21.1, разрыв за 900 kb до гена	X-сцепленная глухота у мужчин	300039

Примечание. OMIM — номер заболевания в Онлайн-версии Каталога генов человека и генетических болезней (omim.org).

ние конечностей, приводя в итоге к возникновению врожденных пороков развития (Lupianez et al., 2015).

В некоторых случаях регуляторные последовательности генов оказываются локализованными в пределах тех же самых топологически ассоциированных доменов, что и сам ген, соответственно повреждение TAD неизбежно приведет к нарушению экспрессии гена. Такие примеры известны для гена *TWIST1*. Моноаллельный разрыв кодирующей области данного гена и регуляторного участка лежит в основе формирования аутосомно-доминантного синдрома Саэтри — Чотзена, проявляющегося краниосиностозом, акроцефалией, асимметрией черепа и синдактилией пальцев верхних и нижних конечностей (Cai et al., 2003). Еще один ген, демонстрирующий схожие взаимоотношения со своей регуляторной областью в пределах одного TAD, это *SOX9*, который имеет регуляторную последовательность, находящуюся на расстоянии 1.5 Mb от его промотора и попадающую в тот же самый TAD, несколько большей протяженности — 1.88 Mb. Показано, что моноаллельные разрывы последовательности гена и его регуляторного участка оказываются ассоциированными с нарушением развития костной ткани — кампомелической дисплазией (Gordon et al., 2009) или с синдромом Робена — врожденным пороком развития челюстно-лицевой области, характеризующимся микрогнатией, глоссоптозом и наличием расщелины нёба (Benko et al., 2009; Amarillo et al., 2013). Однако причины, по которым в одних случаях развивается одно заболевание, а в других случаях другое, пока остаются неясными.

В другом примере сходные эффекты, а именно разные клинические фенотипы при повреждении той же самой хромосомной области, напротив, уже удалось связать с различиями в точной локализации точек разрывов, в которые попадают разные регуляторные последовательности одного и того же гена. Так, один из ключевых морфогенетических генов *SHH* находится в топологически ассоциированном домене размером 1.6 Mb в хромосомном субсегменте 7q36.3. Если точка разрыва находится на расстоянии 265 kb от промотора гена, развивается голопрозэнцефалия 3-го типа. Если же точка разрыва находится на расстоянии 1 Mb, формируется преаксиальная полидактилия (Fernandez et al., 2005).

С особым вниманием следует относиться к разрывам топологически ассоциированных доменов, затрагивающих импринтированные или X-сцепленные моноаллельно экспрессирующиеся гены, поскольку повреждение единственной активной копии гена неизбежно будет приводить к патологическим последствиям. Известным на сегодняшний день примером является разобщение регуляторной и кодирующей последовательностей X-сцепленного гена транскрипционного фактора *POU3F4*, локализованных в пределах одного TAD. Такая мутация определяет развитие одной из наследственных форм X-сцепленной глухоты у мужчин (de Kok et al., 1996).

Более сложные клинические эффекты разрывов TAD описаны в хромосомном сегменте 11p13, микроделеция в котором приводят к развитию синдрома WAGR, сочетающего в себе опухоль Вильмса (наследственная опухоль почек), аниридию, аномалии мочеполовой системы и умственную отсталость. Оказалось, что разобщение гена *PAX6* и его регуляторного элемента, локализованного в том же самом TAD на 150 kb выше от промотора, приводит только лишь к изолированной аниридии — врожденному отсутствию радужной оболочки глаза (Bhatia et al., 2013). В то же время гаплонедостаточность гена *WT1*, на-

ходящегося уже в следующем TAD, вызывает аномалии мочеполовой системы, но не приводит к аниридии (Lehnhardt et al., 2015). Если же происходит протяженная хромосомная микроделеция, затрагивающая оба TAD с генами *PAX6* и *WT1*, а также пограничную регуляторную область между двумя соседними топологически ассоциированными доменами, то развивается классическая картина аутосомно-доминантного смежного генного WAGR-синдрома, включающего в себя как аниридию, так и аномалии мочеполовой системы.

Таким образом, учет особенностей организации генома человека, в том числе трехмерной, его компартиментализации на структурно-функциональные домены, открывает новую страницу в медицинской генетике. С одной стороны, это привносит новые возможности для объяснения генотипических корреляций при уже известных наследственных синдромах и хромосомных заболеваниях. С другой стороны, это дает дополнительную молекулярную основу для понимания патогенетических эффектов сбалансированных хромосомных перестроек (транслокаций и инверсий), не меняющих количество хромосомного материала, но модифицирующих регуляторные участки генома (Ordulu et al., 2016; Redin et al., 2017).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-15-00772).

Список литературы

- Кашеварова А. А., Лебедев И. Н. 2016. Геномная архитектура хромосомных болезней человека. Генетика. 52 (5) : 511—528 (Kashevarova A. A., Lebedev I. N. 2016. Genomic architecture of human chromosomal diseases. Russ. J. Genet 52 (5) : 447—462.)
- Amarillo I. E., Dipple K. M., Quintero-Rivera F. 2013. Familial microdeletion of 17q24.3 upstream of *SOX9* is associated with isolated Pierre Robin sequence due to position effect. Amer. J. Med. Genet. A. 161A : 1167—1172.
- Benko S., Fantes J. A., Amiel J., Kleinjan D. J., Thomas S., Ramsay J., Jamshidi N., Essafi A., Heaney S., Gordon C. T. et al. 2009. Highly conserved non-coding elements on either side of *SOX9* associated with Pierre Robin sequence. Nat. Genet. 41 : 359—364.
- Bhatia S., Bengani H., Fish M., Brown A., Divizia M. T., de Marco R., Damante G., Grainger R., van Heyningen V., Kleinjan D. A. 2013. Disruption of autoregulatory feedback by a mutation in a remote, ultraconserved *PAX6* enhancer causes aniridia. Amer. J. Hum. Genet. 93 : 1126—1134.
- Cai J., Goodman B. K., Patel A. S., Mulliken J. B., Van Maldergem L., Hoganson G. E., Paznekas W. A., Ben-Neriah Z., Sheffer R., Cunningham M. L., Daentl D. L., Jabs E. W. 2003. Increased risk for developmental delay in Saethre—Chotzen syndrome is associated with *TWIST* deletions: an improved strategy for *TWIST* mutation screening. Hum. Genet. 114 : 68—76.
- Carvalho C. M., Lupski J. R. 2016. Mechanisms underlying structural variant formation in genomic disorders. Nat. Rev. Genet. 17 : 224—238.
- Crespi B., Summers K., Dorus S. 2009. Genomic sister-disorders of neurodevelopment: an evolutionary approach. Evol. Appl. 2 : 81—100.
- De Kok Y. J., Vossenaar E. R., Cremers C. W., Dahl N., Laporte J., Hu L. J., Lacombe D., Fischel-Ghodsian N., Friedman R. A., Parnes L. S. et al. 1996. Identification of a hot spot for microdeletions in patients with X-linked deafness type 3 (DFN3) 900 kb proximal to the DFN3 gene *POU3F4*. Hum. Mol. Genet. 5 : 1229—1235.

- Dixon J. R., Selvaraj S., Yue F., Kim A., Li Y., Shen Y., Hu M., Liu J. S., Ren B. 2012. Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature*. 485 : 376—380.
- Ferguson-Smith M., Pereira J., Kasai F. 2017. Chromosome sequencing: the fifth and final era of cytogenetics. *Mol. Cytogenet.* 10 (Suppl. 1) : 1.
- Fernandez B. A., Siegel-Bartelt J., Herbrick J. A., Teshima I., Scherer S. W. 2005. Holoprosencephaly and cleidocranial dysplasia in a patient due to two position-effect mutations: case report and review of the literature. *Clin. Genet.* 68 : 349—359.
- Gillentine M. A., Yin J., Bajic A., Zhang P., Cummock S., Kim J. J., Schaaf C. P. 2017. Functional consequences of *CHRNA7* copy-number alterations in induced pluripotent stem cells and neural progenitor cells. *Amer. J. Hum. Genet.* 101 : 874—887.
- Golzio C., Katsanis N. 2013. Genetic architecture of reciprocal CNVs. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 23 : 240—248.
- Gordon C. T., Tan T. Y., Benko S., Fitzpatrick D., Lyonnet S., Farlie P. G. 2009. Long-range regulation at the *SOX9* locus in development and disease. *J. Med. Genet.* 46 : 649—656.
- Gridina M. M., Matveeva N. M., Fishman V. S., Menzov A. G., Kizilova H. A., Beregovoy N. A., Kovrigin I. I., Prityazhnyuk I. E., Oskorbin I. P., Filipenko M. L., Kashevarova A. A., Skryabin N. A., Nikitina T. V., Sazhenova E. A., Nazarenko L. P., Lebedev I. N., Serov O. L. 2018. Allele-specific biased expression of the *CNTN6* gene in iPSC cell-derived neurons from a patient with intellectual disability and 3p26.3 microduplication involving the *CNTN6* gene. *Mol. Neurobiol.* doi: 10.1007/s12035-017-0851-5.
- Hammond P., McKee S., Suttie M., Allanson J., Cobben J. M., Maas S. M., Quarrell O., Smith A. C., Lewis S., Tassabehji M., Siodiya S., Mattina T., Hennekam R. 2014. Opposite effects on facial morphology due to gene dosage sensitivity. *Hum. Mut.* 133 : 1117—1125.
- Iafate A. J., Feuk L., Rivera M. N. 2004. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat. Genet.* 36 : 949—951.
- Kashevarova A. A., Nazarenko L. P., Schultz-Pedersen S., Skryabin N. A., Salyukova O. A., Chechetkina N. N., Tolmacheva E. N., Rudko A. A., Magini P., Graciano C., Romeo G., Joss Sh., Tumer Z., Lebedev I. N. 2014. Single gene microdeletions and microduplication of 3p26.3 in three unrelated families: *CNTN6* as a new candidate gene for intellectual disability. *Mol. Cytogenet.* 7 : 97.
- Lebedev I. N., Nazarenko L. P., Skryabin N. A., Babushkina N. P., Kashevarova A. A. 2016. A *de novo* microtriplication at 4q21.21-q21.22 in a patient with a vascular malignant hemangioma, elongated sigmoid colon, developmental delay, and absence of speech. *Amer. J. Med. Genet. Pt A.* 170A : 2089—2096.
- Lehnhardt A., Karnatz C., Ahlenstiel-Grunow T., Benz K., Benz M. R., Budde K., Buscher A. K., Fehr T., Feldkotter M., Graf N. et al. 2015. Clinical and molecular characterization of patients with heterozygous mutations in Wilms tumor suppressor gene 1. *Clin. J. Amer. Soc. Nephrol.* 10 : 825—831.
- Lupiáñez D. G., Kraft K., Heinrich V., Krawitz P., Brancati F., Klopocki E., Horn D., Kayserili H., Opitz J. M., Laxova R. et al. 2015. Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions. *Cell.* 161 : 1012—1025.
- Ordulu Z., Kammin T., Brand H., Pillalamarri V., Redin C. E., Collins R. L., Blumenthal I., Hanscom C., Pereira S., Bradley I. et al. 2016. Structural chromosomal rearrangements require nucleotide-level resolution: lessons from next-generation sequencing in prenatal diagnosis. *Amer. J. Hum. Genet.* 99 : 1015—1033.
- Redin C., Brand H., Collins R. L., Kammin T., Mitchell E., Hodge J. C., Hanscom C., Pillalamarri V., Seabra C. M., Abbott M. A. et al. 2017. The genomic landscape of balanced cytogenetic abnormalities associated with human congenital anomalies. *Nat. Genet.* 49 : 36—45.
- Witteveen J. S., Willemsen M. H., Dombroski T. C., van Bakel N. H., Nillesen W. M., van Hulten J. A., Jansen E. J., Verkik D., Veenstra-Knol H. E., van Ravenswaaij-Arts C. M. et al. 2016. Haploinsufficiency of MeCP2-interacting transcriptional co-repressor *SIN3A* causes mild intellectual disability by affecting the development of cortical integrity. *Nat. Genet.* 48 : 877—887.

Поступила 12 III 2018

HUMAN CYTOGENETICS IN GENOME AND POSTGENOME ERA:
FROM GENOME ARCHITECTURE TO NOVEL CHROMOSOMAL DISEASES

I. N. Lebedev

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Centre RAS, Tomsk, 634050;
e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Current achievements in the genome studies supported by high-end genotyping and molecular karyotyping technologies as well as cell technologies provide an expansion of the concept about etiology and pathogenesis of human chromosomal diseases. In recent years, a raw of data have been accumulated emphasizing the fact that the evolutionary features of the human genome organization determine the origin of clinically significant chromosomal aberrations. This review summarizes new data about origin and phenotypic features of new classes of chromosomal diseases such as genomic sister-disorders, «single gene» chromosomal microdeletions and microduplications, chromosomal diseases associated with disruption of the topologically associated domains.

Key words: genomic sister-disorders, reciprocal CNV, TAD