Бүдүүн, шулуун гэдэсний хорт хавдрын эдэд олон генийн цэгэн мутацийг NGS аргаар тодорхойлсон үр дүн

Э.Цэнд-Аюуш[1], Ж.Амарсанаа[2], Ч.Бат-Оргил[3], Б.Ганбаяр[1], Б.Урангоо[5], Д.Энхтуяа[2], А.Шийрэвнямба[4]

[1]АШУҮИС, Ахисан түвшний сургууль, Салбар дундын сургалтын төв
[2]Монгол Угсаатны Ген Судлалын Хүрээлэн, Хаппи Веритас эмнэлэг
[3]ХСҮТ, Ерөнхий мэс заслын тасаг
[4]АШУҮИС, АУС, Мэс заслын тэнхим
[5]АШУҮИС, Био-АС
Цахим шуудан: amd18e322@gt.mnums.edu.mn, Утас: 95820613

Түлхүүр үг:

Цэгэн мутаци
Хавдар–эрүүл эдийн хос сорьц
Зорилтот NGS
APC
TP53
KRAS

Товч утга:

Үндэслэл: Бүдүүн, шулуун гэдэсний хорт хавдар (БШГХХ) нь дэлхий дахинд өвчлөл, нас баралтын тэргүүлэх шалтгаануудын нэг бөгөөд олон генийн өөрчлөлт хуримтлагдах замаар үүсэж, хөгждөг эмгэг юм. Монгол Улсад уг хавдрын тохиолдол, нас баралт өндөр, боломжит эмчилгээний сонголт дутмаг мөн молекул-генетикийн онцлогийг тодорхойлсон судалгаа хязгаарлагдмал, оношлогоо, хувь хүнд тохирсон, эмчилгээний сонголтыг өргөжүүлэх шаардлагатайг байгаа зэрэг нь энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо. **Зорилго:** БШГХХ-ын эд дэх олон генийн хувилбарыг тодорхойлж ойролцоох эрүүл эдийн гентэй харьцуулж судлах. **Арга, аргачлал:** Судалгааг агшингийн загвараар ХСҮТ, Монгол Угсаатны Ген Судлалын Хүрээлэн, Хаппи Веритас эмнэлгийг түшиглэн 2023 оны 8-р сараас 2024 оны 5-р сарын хооронд гүйцэтгэв. Судалгаанд БШГХХ-ын оношоор Ерөнхий мэс заслын тасагт эмчилгээ хийлгэсэн 11 хүнийг хамруулсан. MGISEQ-200 аппаратыг ашиглан хавдрын болон ойролцоох эрүүл эдэд 53 генийн 2881 локуст нуклеотидын дараалал тогтоов. Хавдрын болон эрүүл эдэд тодорхойлогдсон генийн дарааллыг BWA-MEM, GATK Mutect2, Variant Effect Predictor (VEP) программыг ашиглан генийн үйл ажиллагаа, эмнэлзүйн ач холбогдлыг харьцуулан тооцлоо. **Үр дүн:** БШГХХ-тай 11 хүний хавдрын болон эрүүл эдэд нийт 60 генийн өөрчлөлт тодорхойлсноос нэг нуклеотидын полиморфизм 56 (93.3%), делеци болон инверси 4 (6.7%) тус тус эзэлж байв. Генийн өөрчлөлтийн 36 (60.0%) хавдрын эдэд, 24 (40.0%) эрүүл эдэд илэрсэн бөгөөд хавдрын эдэд 11 цэгэн мутаци тодорхойлогдов. Хавдрын эдэд цэгэн мутацийн дамтамж PDGFRA (90.9%), TP53 (54.5%), APC (36.4%), PTEN (27.3%), KIT (18.2%), KRAS (9.1%) байв. Хавдрын эдэд PDGFRA, TP53, PTEN генийн мутацийн давтамж эрүүл эдээс статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай ($p>0.05$, FDR$\geq$0.75) байлаа. Хавдрын эдэд мутаци илэрсэн APC, KRAS, TP53, PTEN, MLH1 генүүд нь Wnt/β-catenin, MAPK, p53, PI3K–AKT–mTOR болон ДНХ-ийн алдаа засварлах механизмтай холбоотой генүүд юм. **Дүгнэлт:** БШГХХ-ын эдэд PDGFRA, TP53, PTEN генийн хувилбар хамгийн их тодорхойлогдож, KRAS, KIT, CDKN2A хавдрын үүсэх механизмд оролцдог генийн мутациуд зөвхөн хавдрын эдэд тодорхойлогдож байна. KRAS p.Gly13Asp хувилбар нь EGFR-ийн эсрэг бай эмчилгээний сонголтыг үнэлэхэд чухал ач холбогдолтой байна.

Үндэслэл: БШГХХ нь дэлхий дахинд төдийгүй Монгол Улсад өвчлөл, нас баралтын тэргүүлэх шалтгааны нэг болж байна. Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллагын 2024 оны статистик мэдээллээр БШГХХ-ын 2 сая шинэ тохиолдол, 917 мянган нас баралт бүртгэгдсэн нь түгээмэл тохиолдох хорт хавдрын гуравдугаарт, нас баралтаар хоёрдугаарт эрэмбэлэгдэж байна.[1] Монгол Улсад 2018–2022 онд 1316 шинэ тохиолдол, 782 нас баралт бүртгэгдэж, өвчлөлийн түвшин 100,000 хүн амд 6.8-аас 8.8, нас

баралтын түвшин 4.3-аас 5.0 болж нэмэгдсэн байна.[2]

БШГХХ нь генетик, эпигенетик болон эсийн дохиоллын өөрчлөлтөөр тодорхойлогдох генийн олон янзын хэв шинжтэй өвчин юм. Үндсэн механизмд хромосомын тогтворгүй байдал (*CIN*), микросателлитийн тогтворгүй байдал (*MSI*), *CpG* арлын метилжилтийн хэв шинж (*CIMP*) хамаарна. *CIN* нь хромосомын өөрчлөлт болон *APC*, *KRAS*, *TP53* генийн хувилбартай, MSI нь *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* генүүд оролцдог ДНХ-ийн алдаа засварлах тогтолцооны алдагдалтай холбоотой. *CIMP* нь ДНХ-ийн метилжилт ихсэх эпигенетик өөрчлөлт бөгөөд BRAF мутаци, *MLH1* промоторын метилжилттэй хавсарч болно. Эдгээрийн зохицуулга алдагдсанаар эсийн хяналтгүй өсөлт, апоптозын саатал, геномын тогтворгүй байдал үүсэхэд нөлөөлдөг болохыг цөөнгүй судлаачид онцолсон байна. [3-5,7,8,12,13]

Шинэ үеийн ДНХ нуклеотидын дараалал тогтоох (*NGS*) технологи нь *APC*, *KRAS*, *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN* зэрэг олон генийн хувилбарыг зэрэг илрүүлэх боломжтой. *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* мутаци нь үсэрхийлсэн БШГХХ-ын бай эмчилгээний сонголтод, *MSI-H/dMMR* төлөв нь дархлааны хяналтын цэгийн дарангуйлагч эмчилгээний үр нөлөөг үнэлэхэд чухал ач холбогдолтой [14,15,17].

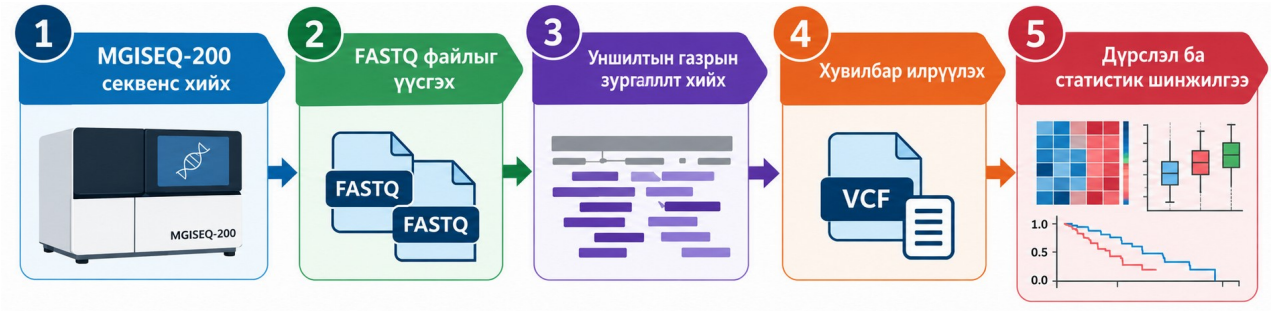
Молекул генетикийн оношлогоо нь эмчилгээний сонголтыг оновчтой болгох, удамшлын хавдрын хам шинжийг сэжиглэх, шаардлагатай баталгаажуулах шинжилгээ, гэр бүлийн удамшлын эрсдэлийн үнэлгээг болон зөвлөгөө төлөвлөхөд дэмжлэг үзүүлдэг [3,9-11,14].

БШГХХ-ын молекул генетикийн хувилбарын тархалтын талаарх үндэсний төлөөлөх мэдээлэл хязгаарлагдмал байна. Иймээс энэхүү судалгаанд БШГХХ-ын болон ойролцоох морфологийн хувьд эрүүл эдийн хосолсон 22 сорьцод 53 генийн 2881 зорилтот байрлалыг *NGS* аргаар шинжилж, цэгэн мутацийн хувилбаруудын тархалт, онцлог, эмнэлзүйн боломжит ач холбогдлыг харьцуулан тодорхойлохыг зорив. Судалгааны үр дүн нь БШГХХ-ын молекул-генетикийн лавлагаа мэдээллийг бүрдүүлэх урьдчилсан суурь болно.

Зорилго: БШГХХ-ын болон эрүүл эдэд генийн дараалыг (*NGS*) аргаар тодорхойлж харьцуулан судлах.

Арга, аргачлал: Энэхүү агшингийн судалгааг агшингын судалгааны загвараар “Монгол Геном” төслийн хүрээнд АШУҮИС-ийн Хавдар судлалын тэнхим, Хавдар Судлалын Үндэсний Төвийн Ерөнхий мэс засал, Эмгэг судлалын тасаг болон Монгол Угсаатны Ген Судлалын Хүрээлэнгийн Молекул генетикийн лабораторийг түшиглэн 2023 оны 8-р сараас 2024 оны 5-р сарын хооронд гүйцэтгэв.

Энэхүү судалгаанд БШГХХ-ын оношлогоо эмгэг судлалын шинжилгээгээр батлагдсан, хими эмчилгээнд хамрагдаагүй, мэс засал эмчилгээ хийлгэсэн, 30-аас дээш насны, молекул генетикийн шинжилгээнд хангалттай эдийн сорьцтой байх шулгууруур 11 эмчлүүлэгчийг сонгож мэс заслын үед хавдрын болон ойролцоох морфологийн хувьд эрүүл эдийн хос сорьц авч, нийт 22 сорьцод шинжилгээ хийв. Эмгэг судлалын үнэлгээнд тулгуурлан хавдрын төлөөлөхүйц хэсэг болон хавдаргүй гэж үнэлэгдсэн ойролцоох эдийг сонгож, сорьцуудыг тусад нь кодлон бүртгэв. Оролцогчдын нас, хүйс, хавдрын анатомийн байрлал, *TNM* үе шат, эд судлалын хэлбэр болон ялгарлын зэргийн мэдээллийг эмнэлгийн бүртгэлээс цуглуулав. (Зураг 1)



Зураг1. Биоинформатик ажлын үе шат

Нийт 53 генийн 2881 зорилтот байрлалыг хамарсан дараалал тогтоох шинжилгээг гүйцэтгэж үүссэн FASTQ өгөгдлийн чанарыг үнэлж, шаардлагатай уншилтын боловсруулалт хийсний дараа GATK, Mutect2 болон Ensembl Variant Effect Predictor (VEP) программаар геномын байрлал, транскрипт, нуклеотид болон уургийн түвшний өөрчлөлтөд нөлөөлж буйг тайлбарлав.

Үр дүнг судалгаанд хамрагдагсадын, сорьц, ген болон геномын байрлалын түвшинд нэгтгэж, хавдрын болон эрүүл эдийн хувилбарын төрөл, давтамж, эсийн дохиоллын замтай холбоотой байдлыг харьцуулав. Өгөгдлийг давтамж, хувь, медиан болон хязгаараар илэрхийлж, онкоплот болон харьцуулсан хүснэгтээр дүрслэв. Генийн хувилбарын давтамжийн урьдчилсан харьцуулалтад *Fisher*-ийн нарийвчилсан сорил, боломжийн харьцаа (OR*), Benjamini–Hochberg* аргаар засварласан FDR үзүүлэлтийг ашиглав. Хос сорьцын хамаарлыг уг сорил бүрэн тооцоогүй тул статистикийн үр дүнг урьдчилсан үнэлгээ гэж үзэв.

Судалгааг АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны зөвшөөрлийн дагуу (№2023/4-20) гүйцэтгэж, оролцогчдоос мэдээлэлд суурилсан сайн дурын зөвшөөрөл авсан. Эмнэлзүйн болон генетикийн мэдээллийн нууцлалыг хадгалав.

Үр дүн: Оролцогчдын дундаж нас 59 (43–76) жил, эмэгтэй 7 (63.6%), эрэгтэй 4 (36.4%) байв. Хавдрын байрлалаар сигмойд бүдүүн гэдэсний 5 (45.5%), шулуун гэдэсний 3 (27.3%), өгсөх, хөндлөн, уруудах бүдүүн гэдэсний тус бүр 1 (9.1%) тохиолдол бүртгэгджээ. Гистологийн хувьд дунд зэрэг ялгаралтай аденокарцинома 8 (72.7%), сайн ялгаралтай 2 (18.2%), муу ялгаралтай 1 (9.1%) тохиолдол байв. Эмнэлзүйн бүртгэлд III үе шат 2, IV үе шат 9 тохоилдол бүртгэгдсэн

Шинжилгээний нэгтгэсэн генийн мэдээллийн өгөгдөлд нийт 60 мутаци бүртгэл илэрснээс 56 (93.3%) нь SNP, 4 (6.7%) нь INDEL байв. Эдгээрээс хавдрын эдэд 36 (32 SNP, 4 INDEL), эрүүл эдэд 24 (бүгд SNP) бүртгэл хамаарчээ. Хавдрын эдийн бүлэгт 11 генийн 15, эрүүл эдийн бүлэгт 7 генийн 12 ялгаатай SNP байрлал байсан. Хоёр бүлгийг нэгтгэхэд 12 генд нийт 20 өвөрмөц SNP байрлал бүртгэгдсэн. Хавдрын эдийн SNP бүртгэлээс 17 нь synonymous, 11 нь missense, 4 нь кодлогдохгүй болон зохицуулгын хэсгийн өөрчлөлт байв.

Хавдрын эдэд *PDGFRA* (90.9%), *TP53* (54.5%), *APC* (36.4%), *PTEN* (27.3%) генийн цэгэн мутацийн хувилбарууд харьцангуй түгээмэл илэрч, *KRAS* p.*Gly13Asp*, *TP53* p.*Val173Ala*, *PTEN* p.*Lys6Glu* зэрэг цэгэн мутацийн хувилбарууд бүртгэгдэв. Илэрсэн генүүд нь Wnt/β-катенин, *MAPK*, *PI3K–AKT* болон эсийн мөчлөг, ДНХ-ийн гэмтлийн хяналтын замналуудтай холбоотой байлаа.

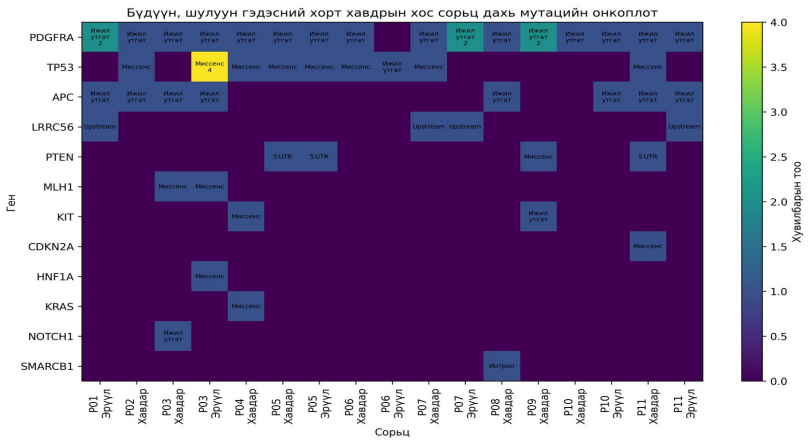
Генийн түвшинд *PDGFRA*, *TP53*, *PTEN* хувилбар хавдрын эдэд эрүүл эдээс олон сорьцод бүртгэгдсэн; *APC* хоёр бүлэгт ижил давтамжтай байв (Хүснэгт 1). *PDGFRA*-д OR=8.33, p=0.0743; *TP53*-д OR=3.20, p=0.1935; *PTEN*-д OR=3.75, p=0.2932 байсан бөгөөд шинжилсэн 12 генд олон харьцуулалтын дараах статистикийн ач холбогдол тогтоогдоогүй (хамгийн бага FDR=0.75).

Хүснэгт 1. Хавдрын болон ойролцоох эрүүл эд дэх генийн түвшний өөрчлөлтийн тархалт (давхардалгүй байрлалаар)

Ген	Эрүүл эд	Хавдрын эд	Нийт байрлал	Өөрчлөлтийн хэв шинж
TP53	5	2	7	миссенс, ижил утгат
PDGFRA	2	2	4	ижил утгат
PTEN	1	2	3	5′-UTR, миссенс
KIT	0	2	2	миссенс, ижил утгат
APC	1	1	2	ижил утгат
LRRC56	1	1	2	upstream gene
MLH1	1	1	2	миссенс
CDKN2A	0	1	1	миссенс
KRAS	0	1	1	миссенс
NOTCH1	0	1	1	ижил утгат
SMARCB1	0	1	1	интрон
HNF1A	1	0	1	миссенс

Тайлбар: Тоонууд нь судалгааны нийт сорьцод илэрсэн давхардалгүй байрлалыг генийн түвшинд нэгтгэн харуулсан болно.

Онкоплотын үнэлгээнд *PDGFRA* p.*Pro567=*, *APC* p.*Thr1493=* зэрэг амин хүчлийн дарааллыг өөрчлөхгүй хувилбарууд хоёр эдэд давтан ажиглагдсан. TP53-ийн p.*Pro72Arg* таван хавдрын сорьцод бүртгэгдсэн; p.*Val173Ala* нэг хавдрын сорьцод тодорхойлогдов. сорьц_08 хавдрын эдэд *KRAS* p.*Gly13Asp* (G13D), TP53 p.*Val173Ala* хувилбар бүртгэгдсэн бол *MLH1* p.*Val384Asp* нь хавдрын болон харгалзах эрүүл эдэд давхар бүртгэгдсэн. *KRAS*, *KIT, CDKN2A*, *NOTCH1*, *SMARCB1* генүүдийн м хувилбар судалгааны нэгтгэсэн жагсаалтад зөвхөн хавдрын эдийн бүлэгт илэрсэн. (Зураг 2)



Зураг 2. Бүдүүн, шулуун гэдэсний хорт хавдрын хос сорьц дахь мутацийн онкоплот.

Онкоплот нь судалгаанд хамрагдагсадын хос сорьцод генийн хувилбарын тархалтыг харуулна. Баганад сорьц, мөрөнд ген, өнгөний эрчим нь илэрсэн хувилбарын тоо, нүд доторх тэмдэглэгээ нь функциональ үр дагаврын төрлийг илэрхийлнэ.

Эмгэг жамын ангиллаар рецепторын тирозин киназын дохиололтой холбоотой бүртгэл хавдрын эдэд 13, эрүүл эдэд 8; эсийн мөчлөг ба *ДНХ*-ийн гэмтлийн хариу урвалтай холбоотой бүртгэл 7 ба 6; *PI3K*/*AKT* замналд 3 ба 1; *Wnt*/β-катенины замналд тус бүр 4 байв. *MAPK* замтай холбоотой *KRAS G13D* нь *EGFR*-ийн эсрэг эмчилгээний сонголтод ач холбогдолтой биомаркер юм.

Хүснэгт 2. Хавдрын болон ойролцоох эрүүл эдэд генийн хувилбар бүртгэгдсэн сорьцын тоо.

Ген	Хавдрын эд, n,%	Эрүүл эд, n,%	Төлөөлөх хувилбар / тэмдэглэл
PDGFRA	10 (90.9%)	6 (54.5%)	p.Pro567=; synonymous
TP53	6 (54.5%)	3 (27.3%)	p.Pro72Arg; p.Val173Ala
APC	4 (36.4%)	4 (36.4%)	p.Thr1493=; synonymous
PTEN	3 (27.3%)	1 (9.1%)	p.Lys6Glu; c.-9C>G
KIT	2 (18.2%)	0	p.Val569Ala; мөн synonymous
KRAS	1 (9.1%)	0	p.Gly13Asp; MAPK
MLH1	1 (9.1%)	1 (9.1%)	p.Val384Asp; MMR
CDKN2A	1 (9.1%)	0	p.Pro114Leu
NOTCH1	1 (9.1%)	0	synonymous
SMARCB1	1 (9.1%)	0	интрон
LRRC56	1 (9.1%)	3 (27.3%)	upstream
HNF1A	0	1 (9.1%)	missense

Тайлбар: Давтамж нь тухайн генд дор хаяж нэг хувилбар илэрсэн сорьцыг тоолсон; бүх хувилбар баталгаажсан соматик эсвэл эмгэг төрүүлэгч мутаци биш. Хүснэгт дэх 0 нь өгөгдсөн хувилбарын жагсаалтад бүртгэлгүй гэсэн утгыг илэрхийлнэ.

Хэлцэмж: Энэхүү судалгаанд БШГХХ-ын болон эрүүл эдэд *NGS* аргаар генетикийн хувилбарыг тодорхойлоход *PDGFRA*, *TP53*, *PTEN* генийн хувилбарын давтамж харьцангуй өндөр байв. Эдгээр ген нь хавдрын болон эрүүл эдийн молекул механизмын ялгааг тодорхойлох, гүнзгийрүүлэх судлах боломжийг бүрдүүлж байна.

Fearon, Vogelstein нарын судалгаанд *APC*, *KRAS*, *TP53* генийн бүдүүн, шулуун гэдэсний хорт хавдар үүсэх, ялгаран хөгжих үйл ажиллагаанд чухал үүрэгтэй болохыг тогтоосон бөгөөд бидний судалнааны үр дүнтэй нийцэж байна.[5,6] Түүнчлэн *PDGFRA*, *PTEN*, *KIT* генийн хувилбарууд бүртгэгдсэн нь рецепторын тирозин киназ болон *PI3K–AKT* дохиолол дамжуулах замыг хорт хавдрын молекулын онцлогтой уялдуулан судлах шаардлагатайг харуулж байна.[7-11]

Al-Shamsi нарын судалгаагаар *KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA, TP53, APC* генийн өөрчлөлтийг тодорхойлж, бүдүүн, шулуун гэдэсний хорт хавдрын эдийн молекулын механизмыг үнэлсэн нь бидний судалгааны KRAS p.Gly13Asp хувилбар хавдрын эдэд илэрсэн үр дүнтэй нийцсэн бөгөөд эмчилгээний сонголтод ач холбогдолтой молекул биомаркерыг болохыг тодорхойлж байна.[16] Уг хувилбар нь үсэрхийлсэн хавдрын үед *EGFR*-ийн эсрэг бай эмчилгээний үр нөлөөг үнэлэхэд хэрэглэгддэг *RAS* мутацийн бүлэгт хамаарна. [15]

Бидний судалгаагаар *MLH1* генийн цэгэн мутацийн хувилбар хоёр эдийн бүлэгт бүртгэгдсэн нь *ДНХ*-ийн алдаа засварлах үйл ажиллагаатай холбоотой өөрчлөлтийг судлах шаардлагатайг харуулж байна. *KEYNOTE*-177 үр дүнгээр *MSI-H/dMMR* хэв шинжтэй үсэрхийлсэн бүдүүн, шулуун гэдэсний хорт хавдарын үед pembrolizumab эмчилгээ үр дүнтэй болохыг тогтоогджээ.[17] Иймд *MLH1* зэрэг генийн мутацийн хувилбарыг тодорхойлох нь *MSI*/*MMR* хэлбэрийг үнэлэх нь хувь хүнд тохирсон хавдрын эмчилгээг сонгох ач холбогдолтой юм.[12,13]

Монгол улсад хийгдсэн энэхүү судалгаа нь хавдрын, эрүүл эдийг харьцуулан, 53 генийн 2881 зорилтот байрлал дахь мутаци хувилбарын тархалт, функциональ шинж чанар, эсийн дохиолол дамжих замын үйл ажиллаагатай холбон үр дүнг тооцоолсон нь БШГХХ-ын генетикийн хувилбарын лавлагаа мэдээлэл бүрдүүлэх, генийн оношлогоог хөгжүүлэх, хувь хүнд тохирсон эмчилгээг хөгжүүлэхэд чухал ач холбогдолтой байна.

Дүгнэлт: БШГХХ-ын эдэд *PDGFRA, TP53, PTEN* генийн хувилбар олон бүртгэгдсэн ба *KRAS, KIT, CDKN2A* генийн мутаци зөвхөн хавдрын эдэд тодорхойлогдлоо. *KRAS p.Gly13Asp* хувилбар нь *EGFR*-ийн эсрэг бай эмчилгээний сонголтыг үнэлэхэд чухал ач холбогдолтой байна.

Ном зүй:

1. *Sung H, Filho AM, Laversanne M, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2024: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 34 cancers in 186 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2026;76(4):e70090. https://doi.org/10.3322/caac.70090.*
2. *Tsedendorj Y, Zorigtbaatar S, Davaasuren NE, et al. Incidence and mortality due to colorectal cancer in Mongolia, 2018–2022. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. Vol. 25, No. 7, 2024, pp. 2305–2310. https://doi.org/10.31557/APJCP.2024.25.7.2305.*

3. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. The Lancet. Vol. 394, No. 10207, 2019, pp. 1467–1480. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
4. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, et al. Colorectal cancer. Nature Reviews Disease Primers. Vol. 1, 2015, Article 15065. https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.65.
5. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell. Vol. 61, No. 5, 1990, pp. 759–767. https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90186-I
6. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. Nature. Vol. 487, No. 7407, 2012, pp. 330–337. https://doi.org/10.1038/nature11252.
7. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M, Warusavitarne J. Molecular pathways in colorectal cancer. Journal of Gastroenterology and Hepatology. Vol. 27, No. 9, 2012, pp. 1423–1431. https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2012.07200.x.
8. Li Q, Geng S, Luo H, et al. Signaling pathways involved in colorectal cancer: pathogenesis and targeted therapy. Signal Transduction and Targeted Therapy. Vol. 9, 2024, Article 266. https://doi.org/10.1038/s41392-024-01953-7.
9. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Nature Medicine. Vol. 21, No. 11, 2015, pp. 1350–1356. Available: https://doi.org/10.1038/nm.3967.
10. Dienstmann R, Vermeulen L, Guinney J, Kopetz S, Tejpar S, Tabernero J. Consensus molecular subtypes and the evolution of precision medicine in colorectal cancer. Nature Reviews Cancer. Vol. 17, No. 2, 2017, pp. 79–92. https://doi.org/10.1038/nrc.2016.126.
11. Cornish AJ, Gruber AJ, Kinnersley B, et al. The genomic landscape of 2,023 colorectal cancers. Nature. Vol. 633, No. 8028, 2024, pp. 127–136. https://doi.org/10.1038/s41586-024-07747-9.
12. Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. Nature Reviews Clinical Oncology. Vol. 7, No. 3, 2010, pp. 153–162. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.237.
13. Richman S. Deficient mismatch repair: Read all about it. International Journal of Oncology. Vol. 47, No. 4, 2015, pp. 1189–1202. https://doi.org/10.3892/ijo.2015.3119.
14. Louie BH, Kato S, Kim KH, et al. Precision medicine-based therapies in advanced colorectal cancer: The University of California San Diego Molecular Tumor Board experience. Molecular Oncology. Vol. 16, No. 13, 2022, pp. 2575–2588. https://doi.org/10.1002/1878-0261.13190.
15. Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. Journal of Clinical Oncology. Vol. 26, No. 10, 2008, pp. 1626–1634. https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.7116.
16. Al-Shamsi HO, Jones J, Fahmawi Y, et al. Molecular spectrum of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA, TP53, and APC somatic gene mutations in Arab patients with colorectal cancer: determination of frequency and distribution pattern. Journal of Gastrointestinal Oncology. Vol. 7, No. 6, 2016, pp. 882–902. https://doi.org/10.21037/jgo.2016.11.02.
17. André T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability Highly Advanced Colorectal Cancer.The New England Journal of Medicine. Vol. 383, No. 23, 2020, pp. 2207–2218. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2017699.

Results of NGS analysis of multiple genetic variants in colorectal cancer tissues

Tsend-Ayush E[1], Amarsanaa J[2], Bat-Orgil Ch[3], Ganbayar B[1], Urangoo B[5], Enkhtuya D[2], Shiirevnyamba A[4]

[1]Center of Interdisciplinary Education, Graduate School, MNUMS
[2]Institute of Mongolian Ethnic Genomics, Happy Veritas Hospital
[3]Department of General Surgery, National Cancer Center of Mongolia
[4]Department of Surgery, School of Medicine, MNUMS
[5]School of Biomedicine, MNUMS
E-mail: amd18e322@gt.mnums.edu.mn, Tel: +976-95820613

Abstract:

Background: Colorectal cancer (CRC) is one of the leading causes of cancer-related morbidity and mortality worldwide and develops through the accumulation of genetic alterations involving multiple genes. In Mongolia, the substantial burden of CRC, limited treatment options, and scarcity of studies investigating its molecular genetic characteristics highlight the need to improve molecular diagnostics and expand personalized treatment options.

Aim: To identify genetic variants in tumor tissues from patients with CRC and compare them with variants detected in matched adjacent normal tissues.

Materials and Methods: This cross-sectional study was conducted between August 2023 and May 2024 in collaboration with the National Cancer Center of Mongolia, the Mongolian Institute of Human Genetics, and Happy Veritas Hospital. Eleven patients who underwent surgical treatment for CRC at the Department of General Surgery were enrolled. Paired tumor and adjacent normal tissue samples were collected from each patient and analyzed. Targeted next-generation sequencing (NGS) was performed using the MGISEQ-200 platform, covering 2,881 targeted positions across 53 cancer-associated genes. Sequencing data were processed through a bioinformatics pipeline involving quality control, alignment to the reference genome, variant calling, and filtering. BWA-MEM, GATK Mutect2, and Variant Effect Predictor (VEP) were used to identify and annotate genetic variants. Variants were comparatively evaluated according to their occurrence in tumor and adjacent normal tissues, potential functional consequences, and clinical significance.

Results: A total of 60 genetic variant observations were identified across 11 paired CRC and adjacent normal tissue samples, including 56 single-nucleotide variants (SNVs; 93.3%) and four insertions or deletions (INDELs; 6.7%). Of these, 36 observations (60.0%) were recorded in tumor tissues and 24 (40.0%) in adjacent normal tissues. Eleven amino acid-altering variants were identified in tumor tissues. Variants in PDGFRA (90.9%), TP53 (54.5%), APC (36.4%), PTEN (27.3%), KIT (18.2%), and KRAS (9.1%) were detected in tumor tissues. The frequencies of variants in PDGFRA, TP53, and PTEN were higher in tumor tissues than in adjacent normal tissues, although the differences were not statistically significant ($p > 0.05$; FDR ≥ 0.75). Variants detected in APC, KRAS, TP53, PTEN, and MLH1 were associated with molecular pathways involved in colorectal carcinogenesis, including Wnt/β-catenin, MAPK, p53, PI3K–AKT–mTOR, and DNA mismatch repair pathways. The KRAS p.Gly13Asp (G13D) variant was identified as a clinically relevant alteration for evaluating response to anti-EGFR targeted therapy.

Conclusion: Variants in PDGFRA, TP53, and PTEN were more frequently observed in CRC tissues than in adjacent normal tissues; however, the differences were not statistically significant. Variants in KRAS, KIT, and CDKN2A were detected exclusively in tumor tissues. The KRAS p.Gly13Asp variant may have clinical relevance in evaluating the selection of anti-EGFR targeted therapy.

Keywords: Single-nucleotide variants; paired tumor–normal tissues; targeted NGS; APC; TP53; KRAS.