




ГЕНЕТИКА
GENETICS

DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-1

УДК 616.24-006

Роль метилирования ДНК
при раке легкого (обзор)А.Р. Низамова¹ , Г.Ф. Гималова^{1,2,3} , Э.К. Хуснутдинова^{1,2,3} ¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждениеУфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
пр-т. Октября, д. 71, г. Уфа, 450054, Российская Федерация² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,

Университетская набережная, д. 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Уфимский университет науки и технологий»,
ул. Заки Валиди, д. 32, г. Уфа, 450076, Российская Федерация

Автор для переписки: А.Р. Низамова (nizamova_aigool@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Рак легкого на протяжении десятилетий остается трудно поддающимся лечению заболеванием, несмотря на усилия онкологов и фармацевтических компаний. Одной из причин этого является неоднородность генетических профилей опухолей. В последние годы интерес исследователей привлекают эпигенетические изменения внутри опухоли, в частности, метилирование ДНК. В данной работе рассматриваются отличительные особенности основных подтипов рака легкого, обсуждается роль метилирования ДНК при немелкоклеточном и мелкоклеточном раке легкого, а также его роль в ответе опухоли на терапию. **Цель исследования:** Обобщение результатов анализа метилирования ДНК при раке легкого для лучшего понимания биологической природы онкогенеза данного заболевания, использования выявленных биомаркеров для ранней диагностики патологии и оценки прогноза пациента. **Материалы и методы:** Анализ литературы проводился в базах данных PubMed, Google Scholar за период с 1995 по 2022 гг. **Результаты:** Показано, что паттерн метилирования ДНК меняется под воздействием курения, причем изменения сохраняются даже после его прекращения. Выявлены aberrантно метилированные гены, которые могут служить биомаркерами для скрининга рака легкого на ранних или поздних стадиях. К числу таких генов относятся: *H19*, *HOXA3/HOXA4*, *RUNX3*, *BRICD5*, *PLXNB2*, *RP13*, *DIABLO*, *RASSF1A*, *SHOX2*, *EZH2*, *NEUROD1* и другие. Более того, обнаружено, что статус метилирования отдельных областей ДНК при мелкоклеточном раке легкого коррелирует с ответом опухоли на химиотерапию и лучевую терапию. **Заключение:** Изменения в профилях метилирования ДНК индивидов могут служить маркерами для ранней диагностики заболевания, использоваться в качестве мишеней для терапевтического воздействия, а также для оценки прогноза пациента.

Ключевые слова: рак легкого; эпигенетика; метилирование ДНК; CpG-островки; курение

Для цитирования: Низамова АР, Гималова ГФ, Хуснутдинова ЭК. Роль метилирования ДНК при раке легкого (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2023;9(3): 293-311. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-1

The role of DNA methylation in lung cancer (review)

Aigul R. Nizamova¹ , Galiya F. Gimalova^{1,2,3} , Elza K. Khusnutdinova^{1,2,3} 

¹ Ufa Scientific Center, RAS,

71 Oktyabrya Ave., Ufa, 450054, Russia

² Saint Petersburg State University,

7/9 Universitetskaya Emb., St. Petersburg, 199034, Russia

³ Ufa University of Science and Technology,

32 Zaki Validi St., Ufa, 450076, Russia

Corresponding author: Aigul R. Nizamova (nizamova_aigool@mail.ru)

Abstract

Background: Lung cancer has been a difficult-to-treat disease for decades, despite the efforts of oncologists and pharmaceutical companies. One of the reasons for this is the heterogeneity of the genetic profiles of tumors. In recent years, the interest of researchers has been attracted by epigenetic changes within the tumor, in particular, DNA methylation. This paper reviews the distinctive features of the main subtypes of lung cancer, discusses the role of DNA methylation in non-small cell and small cell lung cancer, as well as its role in tumor response to therapy. **The aim of the study:** To summarize the results of DNA methylation analysis in lung cancer for a better understanding of the biological nature of the oncogenesis of this disease in order to use the identified biomarkers for early diagnosis of pathology and assessing the patient's prognosis. **Materials and methods:** The literature analysis was carried out in the PubMed, Google Scholar databases for the period from 1995 to 2022. **Results:** It was shown that the pattern of DNA methylation changes under the influence of smoking, and the changes persist even after smoking is stopped. Aberrantly methylated genes have been identified that can serve as biomarkers for lung cancer screening at early or late stages. These genes include: *H19*, *HOXA3/HOXA4*, *RUNX3*, *BRICD5*, *PLXNB2*, *RP13*, *DIABLO*, *RASSF1A*, *SHOX2*, *EZH2*, *NEUROD1* and others. Moreover, it has been found that the methylation status of certain regions of DNA in small cell lung cancer correlates with tumor response to chemotherapy and radiotherapy. **Conclusion:** Changes in the DNA methylation profiles of individuals can serve as markers for early diagnosis of the disease, and can be used as targets for therapeutic intervention, as well as to assess the patient's prognosis.

Keywords: lung cancer; epigenetics; DNA methylation; CpG-islands; smoking

For citation: Nizamova AR, Gimalova GF, Khusnutdinova EK. The role of DNA methylation in lung cancer (review). Research Results in Biomedicine. 2023;9(3):293-311. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-3-0-1

Введение. Рак легкого (РЛ) является одним из самых распространенных онкозаболеваний и ведущей причиной смертности от них во всем мире: по оценкам Международного агентства по изучению рака, в 2020 г. было зарегистрировано

2,2 миллиона новых случаев заболевания и 1,8 миллиона случаев смерти [1]. Основываясь на гистологии опухоли, выделяют два основных подтипа РЛ – немелкоклеточный (НМРЛ) и мелкоклеточный (МРЛ).

НМРЛ составляет приблизительно 85% всех случаев РЛ и представлен несколькими типами, в том числе аденокарциномой легкого (наиболее распространенный тип РЛ), плоскоклеточным раком и крупноклеточной карциномой.

В ходе геномных исследований, проведенных в рамках проекта Clinical Lung Cancer Genome Project, было выявлено, что для различных типов НМРЛ характерны специфические изменения драйверных генов. В частности, при аденокарциноме легкого часто обнаруживаются активирующие мутации в гене рецептора эпидермального фактора роста *EGFR* и перестройки *EML4-ALK*.

Кроме того, при данном типе РЛ идентифицированы мутации в генах *LKB1/STK11*, *CDKN2A*, *NF1*, *KEAP1*, *KRAS*, амплификация *MET* и перестройки *ROS1* и *RET* [2]. При плоскоклеточном РЛ, напротив, мутации *EGFR* или перестройки *EML4-ALK* наблюдаются редко. Для этого типа РЛ характерны изменения в генах рецепторных тирозинкиназ, *DDR2* и генах рецепторов фактора роста фибробластов, а также инактивирующие мутации в *CDKN2A*, *PTEN*, *KEAP1*, *NFE2L2* и *RB1* [3]. Перечень генов, мутации в которых свойственны для аденокарциномы легкого и плоскоклеточного РЛ, представлен на рисунке.

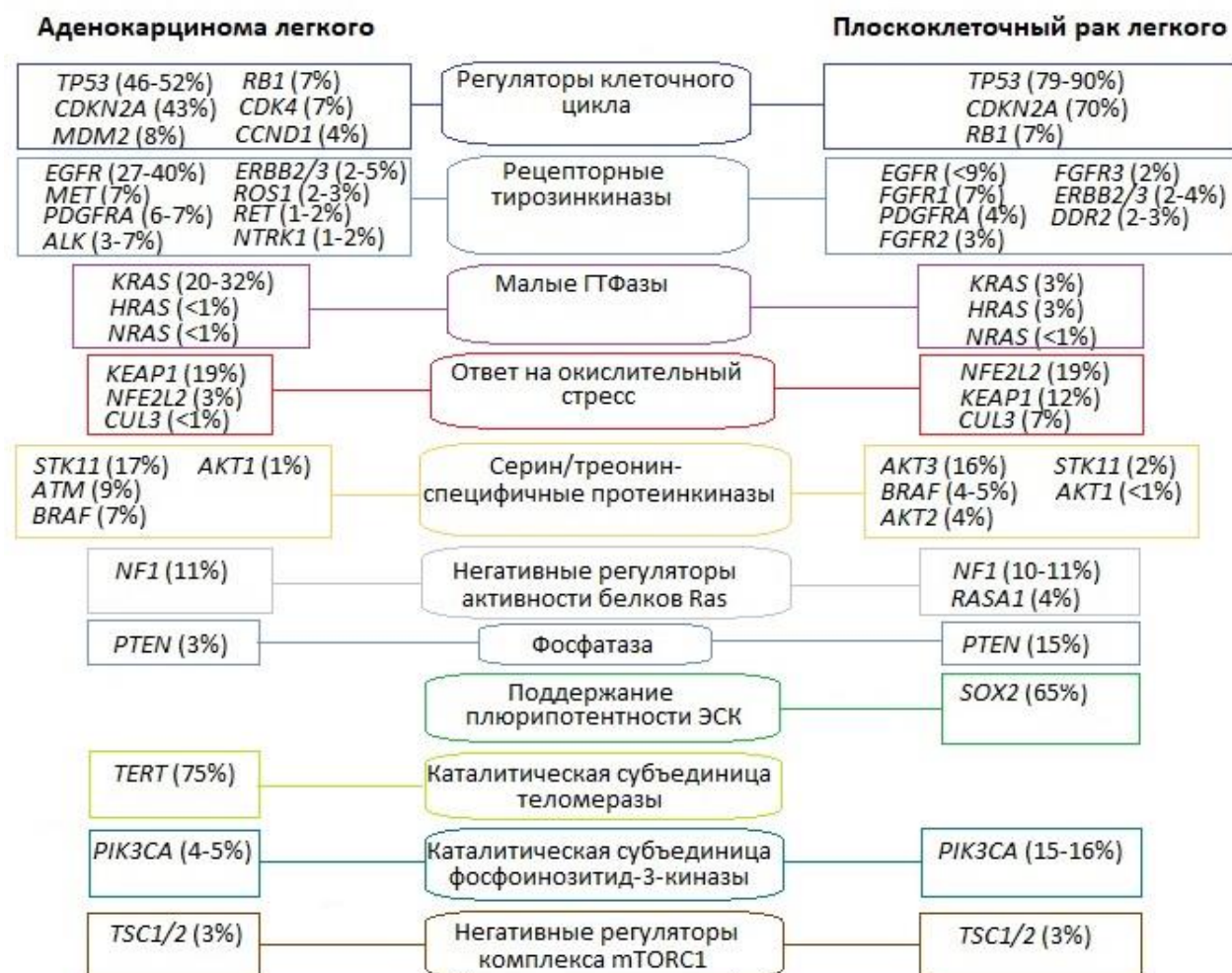


Рис. Молекулярный ландшафт аденокарциномы легкого и плоскоклеточного рака легкого. В скобках указана частота встречаемости мутаций для каждого гена. ЭСК – эмбриональные стволовые клетки. Данные собраны из источников [4], [5].

Fig. Molecular landscape of lung adenocarcinoma and lung squamous cell carcinoma. The mutation frequency for each gene is given in parentheses. ESCs – embryonic stem cells. Data compiled from references [4], [5].

На долю МРЛ в глобальном масштабе приходится около 15% всех случаев РЛ, причем ежегодно диагностируется около 250000 новых случаев [6]. МРЛ представляет собой агрессивную нейроэндокринную опухоль высокой степени злокачественности, которая отличается исключительно высокой скоростью пролиферации и склонностью к раннему метастазированию. На момент постановки диагноза лишь у трети пациентов заболевание будет выявляться на ограниченной стадии. Для остальных пятилетняя выживаемость составляет менее 1%. Стоит отметить, что наиболее часто метастазы наблюдаются в контралатеральном легком, мозге, печени, надпочечниках и костях [7].

Для МРЛ показана выраженная связь с курением – только в 2% случаев МРЛ воз-

никает у никогда не куривших [6]. Значительную роль в развитии МРЛ канцерогенов табачного дыма подтверждает мутационный профиль данного типа опухолей, характеризующийся множеством нуклеотидных перестроек. [7, 8]. Наиболее распространенным генетическим изменением при МРЛ является биаллельная инактивация генов-супрессоров опухолевого роста *TP53* и *RB1*. Также часто выявляется увеличение числа копий генов, кодирующих члены семейства *MYC* (протоонкогены *MYC*, *MYCL* и *MYCN*), генов ферментов, участвующих в ремоделировании хроматина, рецепторных тирозинкиназ и их нижестоящих эффекторов, повышенный уровень экспрессии ингибиторных белков семейства Notch [6]. В таблице 1 отображены результаты масштабного исследования генома МРЛ.

Таблица 1

Генетический профиль мелкоклеточного рака легкого

Table 1

Genetic profile of small cell lung cancer

Ген	Частота встречаемости мутаций гена (%)	Функция белкового продукта гена	Литература
<i>TP53</i>	79-98	Регуляция клеточного цикла и апоптоза	[8-12]
<i>RB1</i>	35-91		[8-12]
<i>RBL1</i>	3-4		[8, 9, 11, 12]
<i>RBL2</i>	5-7		[8, 9, 12]
<i>TP73</i>	2-7		[8-12]
<i>CHD7</i>	10	Участие в эпигенетической регуляции экспрессии генов	[8, 11, 12]
<i>EP300</i>	7-12		[8-12]
<i>CREBBP</i>	4-14		[8-12]
<i>KMT2A</i>	5-10		[8, 9, 11, 12]
<i>KMT2B</i>	8		[8, 12]
<i>KMT2C</i>	7-11		[8, 9, 11, 12]
<i>KMT2D</i>	6-27		[8, 10, 11, 12]
<i>KDM6A</i>	2,7-4		[8-12]
<i>SETD2</i>	2,7-7		[8, 11, 12]
<i>PBRM1</i>	0,9-7		[8, 10, 11, 12]
<i>ARID1A</i>	3-4		[8, 10, 11, 12]
<i>ARID1B</i>	4-10		[8, 9, 11, 12]
<i>COL4A2</i>	10		Регуляция цитоскелета и клеточной адгезии
<i>COL22A1</i>	18-21	[8-11]	
<i>ALMS1</i>	8-17	[8-12]	
<i>FMN2</i>	7-18	[8-12]	
<i>ASPM</i>	6-14	[8-12]	
<i>PDE4DIP</i>	6-8	[8-12]	
<i>COBL</i>	5-10	[8-12]	
<i>SLIT2</i>	4-17	[8-12]	
<i>KIAA1211</i>	3-17	[8-12]	
<i>PTEN</i>	4-14	Передача молекулярных сигналов посредством киназ	
<i>EPHA7</i>	4-10		[8-12]
<i>PIK3CA</i>	2,7-6		[8, 10, 11, 12]
<i>NOTCH1</i>	2-15	Участие в сигнальном пути NOTCH	[8-12]
<i>NOTCH2</i>	4-5		[8, 10, 11, 12]
<i>NOTCH3</i>	4-9		[8-12]
<i>NOTCH4</i>	2,7-10		[8, 9, 11, 12]

Помимо этого, исследования последних лет позволили выделить четыре подтипа МРЛ, основываясь на различиях в экспрессии регуляторов транскрипции ASCL1 (achaete-scute homologue 1), NEUROD1 (neurogenic differentiation factor 1), YAP1 (yes-associated protein 1) и POU2F3 (POU class 2 homeobox 3) [13]. Впоследствии подтип МРЛ, определяемый экспрессией YAP1, не подтвердился [14]. Однако Gay с соавторами предложили ввести четвертый подтип МРЛ и назвать его воспалительным, поскольку для данной группы опухолей была характерна экспрессия генов многочисленных иммунных контрольных точек и человеческих лейкоцитарных антигенов (HLA) [15].

Значение генетических изменений в злокачественной трансформации опухоли не вызывает сомнений. Тем не менее, в настоящее время признается существенной роль в канцерогенезе и эпигенетических механизмов контроля работы генома, которые включают в том числе специфические изменения метилирования ДНК, посттрансляционную модификацию гистоновых белков и изменения профиля экспрессии микроРНК.

Цель исследования. Обобщение результатов анализа метилирования ДНК при РЛ для лучшего понимания биологической природы онкогенеза данного заболевания, использования выявленных биомаркеров в ранней диагностике патологии и оценке прогноза пациента.

Метилирование ДНК у больных РЛ

Одной из наиболее изученных эпигенетических модификаций геномной ДНК является метилирование. Считается, что изменение профиля метилирования ДНК является одним из самых ранних молекулярных маркеров онкологических заболеваний человека [16, 17, 18]. Геном опухолевых клеток обнаруживает глобальное гипометилирование и региональное гиперметилирование, особенно в промоторных CpG-островках генов-супрессоров опухолевого роста [16]. Метилирование промоторных CpG-островков влияет на связывание транскрипционных факторов и таким образом

может подавлять экспрессию совместно действующих генов, большинство из которых являются генами-супрессорами опухолевого роста, что отражает значение данного процесса в онкогенезе [19].

Очень часто исследования, посвященные метилированию ДНК у больных РЛ, проводятся на образцах периферической крови, ввиду значительно большей доступности материала. Несмотря на то, что паттерн метилирования ДНК в крови может и не отражать метилирование в ткани, он может быть показателем серьезных иммунологических изменений или изменений эпигенетической программы, значимых в процессе развития заболевания.

Значительное количество работ по анализу метилирования при РЛ показало прямую связь этого явления с курением [20, 21, 22]. Так, в метаанализе, включавшем около 16000 образцов ДНК курящих и некурящих индивидов, было выявлено 2623 дифференциально метилированных CpG сайта, связанных с курением табака. Для генов, в которых локализованы данные CpG, ранее в полногеномных исследованиях были показаны ассоциации с развитием вызванных курением патологий легких, сердца, воспалительных и онкологических заболеваний [23]. Кроме того, сравнение профилей экспрессии у никогда не куривших и бросивших курить обнаружило 185 дифференциально метилированных CpG сайтов, что отражает устойчивое изменение паттерна метилирования у индивидов, сохраняющееся даже после прекращения воздействия курения.

Связь метилирования ДНК и статуса курения была показана и в других работах. Baglietto с соавт. в результате полногеномного эпигенетического исследования (EWAS) обнаружили 6 CpG сайтов, гипометилирование которых ассоциировано с развитием РЛ, в том числе описанные ранее сайты в генах *AHRH* (репрессор арилгидрокарбонового рецептора) и *F2RL3* (белок 3, подобный рецептору фактора коагуляции II (тромбина)) [20, 22]. Интересно, что уровень метилирования в изученных образцах

изменялся градиентно от курящих на момент забора материала к прекратившим курить и никогда не курившим, и был тем выше, чем раньше пациент прекращал курить [22].

В более поздней работе Sandanger с соавторами выявили 25 CpG сайтов, ассоциированных с развитием РЛ, причем после введения поправки на воздействие курения статистически значимая ассоциация сохранилась лишь для двух сайтов, таким образом, они рассматриваются как несвязанные с курением, тогда как остальные 23 CpG сайта связаны с развитием РЛ у курящих. В целом, показано, что ассоциация для 23 CpG сайтов была выше в гистологических типах РЛ, наиболее коррелирующих с курением. Сравнение экспрессионных профилей показало различные пути обогащения таких сайтов, т.е. CpG сайты, связанные и не связанные с курением, вовлечены в различные биологические процессы. Нужно отметить, что в данном исследовании выявленные ранее CpG сайты в генах *AHRR* и *F2RL3* оказались в числе тех, что были ассоциированы с курением [24].

В исследовании Vatram с соавторами также было выявлено 16 CpG сайтов, ассоциированных с риском развития РЛ, однако после менделевской рандомизации данная ассоциация существенно снизилась [25]. В частности, полученные ими результаты не согласуются с предыдущими данными, свидетельствующими о том, что CpG сайты в генах *AHRR* и *F2RL3* опосредуют более 30% эффекта курения на развитие РЛ [20]. Можно предположить, что наблюдаемая ранее ассоциация изменений метилирования ДНК с риском развития РЛ возникает как результат внесения поправок на сведения о курении, полученные от пациентов [26, 27]. К таким сведениям относятся количество выкуренных сигарет в течение жизни (более или менее 100 сигарет), статус курения на момент исследования, регулярность курения. При применении в EWAS-исследованиях более строгих поправок, данные ассоциации также пропадают.

Курение значительно изменяет паттерн метилирования ДНК, который сохраняется даже после его прекращения, и, по-видимому, это является одним из механизмов, объясняющих негативное воздействие его на здоровье человека. Тем не менее, наблюдаемая ассоциация между метилированием ДНК и развитием РЛ может отражать независимые влияния курения на метилирование и на развитие РЛ.

Выявление изменений метилирования ДНК, не связанных с активным курением, позволит обнаружить новые биологические пути, функционирование которых значимо в контексте развития РЛ. Тем не менее, на сегодняшний день таких исследований очень мало.

В одном из них выявлены 151 CpG сайт, связанный с курением, и 3806 CpG сайтов, не связанных с курением, и далее проведен анализ ассоциации их со смертностью от РЛ. CpG сайты, связанные с курением, оказались ассоциированы со смертностью от РЛ с большей значимостью [28]. Результаты подобных исследований могут способствовать более точному отбору популяции для скрининга РЛ.

При изучении роли в развитии РЛ сайленсинга генов посредством их метилирования выявляется множество ассоциированных CpG сайтов в различных локусах, и анализ такого объема данных требует значительных ресурсов, в связи с чем целесообразнее было бы определять основные драйверные гены, изменение профиля метилирования которых вовлечено в онкогенез. Для выявления таких ключевых генов Zhang с соавторами при исследовании образцов опухолевой и прилежащей к ней нормальной ткани легкого проводили сопоставление данных по метилированию с экспрессионными данными. В результате данного анализа ими было установлено 30 драйверных генов с измененным профилем метилирования, ассоциированных с развитием РЛ у некурящих индивидов [29].

В другом недавнем исследовании, проведенном на когорте CLUE II (образцы крови пресимптоматических индивидов, за-

бранные в 1989 г. в США), авторы проводили поиск отдельных CpG сайтов и дифференциально метилированных регионов (ДМР), ассоциированных с развитием РЛ независимо от курения [30]. Выборка включала две группы индивидов: тех, кто позднее заболел РЛ, и тех, у кого данное заболевание выявлено не было. Оценку роли участков метилирования ДНК в развитии РЛ проводили, опираясь на данные об известных изменениях паттерна метилирования, связанных с курением, с использованием индекса пачка/лет.

Авторами выявлено 16 CpG сайтов и 40 ДМР, ассоциированных с развитием РЛ, причем значение OR было выше для бывших курильщиков и для пациентов с МРЛ, по сравнению с пациентами с НМРЛ. Данные участки с измененным метилированием локализованы в генах *H19*, *HOXA3/HOXA4*, *RUNX3*, *BRICD5*, *PLXNB2*, *RP13* и *DIABLO*, для которых ранее показана ассоциация с РЛ [31, 32, 33].

Продукты генов гомеобоксных белков HOXA являются факторами транскрипции, регулирующими экспрессию генов, морфогенез и дифференцировку тканей. Известно, что экспрессия фактора транскрипции HOXA3 снижена при аденокарциноме и плоскоклеточном РЛ. Кроме того, показано, что у курящих индивидов уровень HOXA3 заметно ниже, чем у некурящих [34]. Сравнение паттерна метилирования в опухоли и прилегающей нормальной ткани при аденокарциноме выявило ассоциацию с ДМР в области гена *HOXA3* [35]. Ген другого фактора транскрипции *RUNX3* также является опухолевым супрессором. Гиперметилирование промотора данного гена ассоциировано со снижением выживаемости при РЛ [36]. Кодированный геном *DIABLO* митохондриальный белок является проапоптотическим белком и обеспечивает активацию каспаз путем связывания с белками-ингибиторами апоптоза. Различные исследования свидетельствуют об участии данного белка в онкогенезе. Одними авторами предполагается, что повышенная экспрессия его повышает чувствительность

опухолевых клеток к апоптозу, предотвращая таким образом опухолевую прогрессию [37]. Другие исследователи рассматривают гиперэкспрессию *DIABLO* необходимым звеном в запуске опухолевой метаплазии [38].

Также известна роль длинной некодирующей РНК H19 в развитии РЛ. Угнетение экспрессии H19 приводит к подавлению роста, миграции и инвазии при НМРЛ. Подавление её импринтинга коррелирует с тотальным деметилированием и ассоциировано с трансформацией нормальной ткани в НМРЛ [39, 40].

В вышеописанной работе Zhao с соавторами была выявлена ассоциация гиперметилирования многих CpG сайтов в области гена *H19* с развитием РЛ. Ранее же в других исследованиях была показана гиперэкспрессия *H19* в опухоли РЛ, которая коррелирует с гипометилированием промоторных CpG [41].

Интересно, что метилирование региона H19 подвержено воздействию разнообразных модифицирующих влияний, начиная с внутриутробного периода и раннего детства, что может говорить о возможной роли в данном процессе внешних факторов. Это может иметь значение при изучении различных механизмов онкогенеза, его этапов и ключевых элементов.

Результаты многих исследований РЛ в последнее время демонстрируют снижение экспрессии вследствие гиперметилирования ряда генов супрессоров опухолей, в т.ч. *CDKN2A*, *APC*, *RARβ*, *MGMT*, *DAPK*, *F2RL3* и *RASSF1A* [42, 43, 44]. Ген *RASSF1A*, кодирующий белок семейства 1A, содержащий Ras-ассоциированный домен, является одним из наиболее тщательно изученных супрессоров опухолевого роста, функционально он участвует в пролиферации клеток, миграции и онкогенезе [45]. Онкоген *SHOX2* (гомеобокс содержащий ген низкорослости 2) является регулятором клеточной пролиферации и апоптоза и индуктором эпителиально-мезенхимального перехода [46]. Помимо онкогенных функций *SHOX2* также играет значительную

роль в процессах эмбрионального развития и дифференцировки клеток сердечно-сосудистой системы и в развитии скелета [47, 48]. Важно отметить, что часто в ткани РЛ выявляется метилирование как гена *RASSF1A*, так и *SHOX2* [49, 50, 51]. Ряд исследований показали, что сочетанное метилирование генов *RASSF1A* и *SHOX2*, выявленное в различных типах образцов, включая бронхоальвеолярный лаваж, сыворотку, жидкость из плевральной полости, образцы асцитической жидкости, клетки и лимфатические узлы, продемонстрировало чрезвычайно высокую чувствительность и специфичность при РЛ [49-53]. Имеющиеся данные убедительно свидетельствуют о том, что метилирование *RASSF1A* и *SHOX2* является критическим событием в онкогенезе и прогрессировании РЛ, и эти модифицированные гены могут служить потенциальной парой биомаркеров для скрининга РЛ на ранних или поздних стадиях [42, 48, 51, 54, 55].

Метилирование ДНК при МРЛ

Глобальных исследований метилирования ДНК, посвященных исключительно МРЛ, существенно меньше, чем для НМРЛ, и они проведены на ограниченном числе образцов [56, 57]. В одном из первых анализов профиля метилирования при МРЛ [56] было идентифицировано 73 гена, абберантно метилированных в более чем 77% первичных опухолей. Анализ генных онтологий показал значительное обогащение метилированных генов, функционирующих как транскрипционные факторы и участвующих в процессах нейрональной дифференциации. Анализ опухоль-специфических метилированных областей выявил обогащение сайтов связывания нескольких транскрипционных факторов нейрональных клеток, включая *NEUROD1*, *HAND1*, *ZNF423* и *REST*. Авторы предполагают два вероятных механизма нарушения дифференцировки нейроэндокринных клеток, что стимулирует клетки-предшественники опухоли к трансформации в МРЛ. Первый – инактивация путем метили-

рования транскрипционных факторов, необходимых для правильной дифференцировки клеток, второй – функциональная инактивация путем метилирования соответствующих ДНК-связывающих участков [56].

Авторы другого исследования, в ходе которого был проведен полногеномный анализ метилирования ДНК в легочной ткани больных МРЛ, обнаружили повышенную экспрессию при МРЛ гистоновой метилтрансферазы *EZH2*, которая коррелирует с метилированием промоторов множества генов при различных типах опухолей и ассоциирована с плохим прогнозом. В экспериментах на клеточных линиях показано, что ингибирование *EZH2* приводит к подавлению роста клеток опухоли, что делает данный белок потенциальной терапевтической мишенью при МРЛ [57]. Кроме того, выявлен сайленсинг других генов, в т.ч. транскрипционных факторов *NEUROD1*, *TCF2* (*HNF1B*), *REST*, бета-рецептора ретиноевой кислоты *RARB*, *BCL2* и *RASSF1A*.

Также результаты данной работы продемонстрировали гипометилирование большинства CpG в первичных опухолях МРЛ по сравнению с образцами здорового легкого. Было показано, что гиперметилированные CpG сайты локализованы преимущественно в области 500 пн выше сайта старта транскрипции, тогда как гипометилированные распределены по всей промоторной области. Причем, обнаружилось неоднородное распределение и самих наиболее гипометилированных CpG сайтов в зависимости от их влияния на экспрессию гена: CpG, ассоциированные с повышенной экспрессией гена, локализованы ниже, а CpG, ассоциированные с сайленсингом гена, – выше старта транскрипции [57].

У многих форм злокачественных новообразований у человека описан так называемый CIMP-фенотип (CpG-island methylator phenotype), который характеризуется одновременным метилированием

многих CpG островков промоторной области генов, в нормальной ткани никогда не метилированных. В исследовании Saito с соавторами проведена стратификация образцов МРЛ в соответствии со статусом СІМР. Оказалось, что пациенты с СІМР-положительными опухолями имели худший прогноз, чем пациенты с СІМР-отрицательным заболеванием [58]. Эти данные предполагают, что клинически значимые подтипы МРЛ определяются паттернами метилирования ДНК, что согласуется с наблюдениями среди других эпителиев карциномы легких [6, 59].

Роль метилирования ДНК при МРЛ в ответе опухоли на химиотерапию и лучевую терапию

Одна из особенностей МРЛ состоит в том, что у большинства пациентов наблюдается хороший первоначальный ответ на химиотерапию и лучевую терапию, однако в течение 6-12 месяцев почти у всех больных развивается рецидив с переходом заболевания в резистентную форму [60]. Несмотря на все большее количество доказательств роли эпигенетических факторов в развитии МРЛ, понимание их влияния на ответ опухоли на лечение остается ограниченным. Чтобы получить представление о том, как метилирование ДНК может влиять на ответ опухоли на лечение при МРЛ, Krushkal с соавторами провели полногеномный анализ метилирования ДНК на 66 линиях клеток МРЛ человека [61]. Ими были изучены корреляции метилирования ДНК при МРЛ с чувствительностью к противоопухолевым препаратам.

Потенциально важная ассоциация наблюдалась для гена экзонуклеазы TREX1. Повышенное метилирование и сниженная экспрессия TREX1 были ассоциированы с чувствительностью к некоторым ингибиторам киназы Aurora и ряду других препаратов. По сравнению с клеточными линиями других типов рака, TREX1 характеризовался сниженной экспрессией мРНК и повышенным метилированием вышележащей области при МРЛ, что предполагает

наличие возможной связи с чувствительностью МРЛ к ингибиторам киназы Aurora. Krushkal с коллегами также идентифицировали несколько дополнительных корреляций, указывающих на потенциальные механизмы химиочувствительности. Ассоциация ответа на ингибиторы киназы Aurora и другие химиотерапевтические агенты обнаружена также с метилированием генов *CEP350*, *MLPH*, *EPAS1*, *KDM1A*, *EZH2* и *EPHA2* [61] (Табл. 2).

В недавнем исследовании Zhai с соавторами продемонстрировали роль гена каталитической субъединицы теломеразы человека (*hTERT*) в развитии МРЛ. Ими было показано, что метилирование промотора данного гена способствовало прогрессированию МРЛ и резистентности клеток опухоли к лучевой терапии [62]. Сверхэкспрессия *hTERT* приводила к увеличению транскрипции ряда маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, в том числе *OCLN*, *JUP* и *ZEB*, и, таким образом, способствовала миграции клеток МРЛ. Также было выявлено, что повышение экспрессии *hTERT* влекло повышение экспрессии *EZH2*, за счет чего усиливалась пролиферация клеток МРЛ.

Другой эпигенетический терапевтический подход к лечению МРЛ открывают исследования по ингибированию лизин-специфической деметилазы 1 (*LSD1*) [63, 64]. *LSD1* представляет собой белок, содержащий флаavin и функционирующий как гистондеметилаза и корепрессор транскрипции [65]. Данный белок является широко изученным членом семейства *LSD*, и повышенная экспрессия его показана при многих видах рака, включая подтипы МРЛ. Белок *LSD1* деметилирует гистон H3 по четвертому лизину, что приводит к подавлению транскрипции, или деметилирует данный гистон по девятому лизину, что имеет противоположный эффект [66].

Augert с соавторами показали, что ингибирование *LSD1*, опосредованное его селективным ингибитором *ORY-1001*, приводит к активации сигнального пути *NOTCH*

и подавляет экспрессию транскрипционного фактора ASCL1, что тормозит прогрессирование МРЛ [64]. Активация NOTCH, наряду с ингибированием ASCL1, имеет терапевтический потенциал при МРЛ, поскольку высокий уровень

экспрессии NOTCH и низкий уровень ASCL1 также подавляет дифференцировку нейроэндокринных клеток. Ингибитор ORY-1001 продемонстрировал эффективность на хемотрезистентных моделях ксенотрансплантатов, полученных от пациентов с МРЛ.

Таблица 2

Гены с наиболее значимой ассоциацией повышенного метилирования ДНК с ответом опухоли на химиотерапию

Table 2

Genes with the most significant association of increased DNA methylation with tumor response to chemotherapy

Ген	Функция белкового продукта гена	Терапевтический агент	Категория ингибитора	Реакция на агент
TRES1	Репарация ДНК	AZD-1152 SCH-1473759 SNS-314 TAK-901	Ингибиторы киназы Aurora	Химиочувствительность
		R-547	Ингибитор циклин-зависимых киназ (CDK)	Химиочувствительность
		Vertex ATR inhibitor Cpd 45	Ингибитор серин/треониновой протеинкиназы ATR	Химиочувствительность
		Винорелбин (Vinorelbine)	Разрушитель митотического веретена	Химиочувствительность
CEP350	Связывание микротрубочек клеточного центра	ABT-348 SNS-314	Ингибиторы киназы Aurora	Химиочувствительность
MLPH	Транспорт меланосом	AZD-1152	Ингибитор киназы Aurora	Химиочувствительность
		BI-2536	Ингибитор Polo-подобной киназы 1 (PLK-1)	Химиочувствительность
EPAS1	Транскрипционный фактор, который активируется при падении уровня кислорода	ABT-348 AMG-900 MLN-8237 SNS-314	Ингибиторы киназы Aurora	Химиорезистентность
		ABT-737	Ингибитор Bcl-2	Химиочувствительность
		GSK-461364	Ингибитор PLK-1	Химиорезистентность
KDM1A	Деметилаза гистонов	TAK-960	Ингибитор PLK-1	Повышенная лекарственная устойчивость
EZH2	Метилтрансфераза гистонов	CYC-116 SNS-314	Ингибиторы киназы Aurora	Химиорезистентность
EPHA2	Рецепторная тирозинкиназа	ENMD-2076	Ингибитор киназы Aurora	Химиорезистентность

Mohammad с коллегами сообщили о другом селективном, биодоступном при пероральном введении сильнодействующем ингибиторе LSD1 (GSK2879552), который проявляет противоопухолевые свойства на клеточных линиях МРЛ и моделях опухо-

лей [63]. Эффективность GSK2879552 зависела от статуса метилирования ДНК. Авторами был подобран набор из 45 дифференциально метилированных зондов, способных предсказывать чувствительность МРЛ к данному препарату. Статус гипометили-

рования этого набора зондов позволяет стратифицировать пациентов с МРЛ, которые могут реагировать на ингибирование LSD1 с помощью GSK2879552 [63, 67].

Заключение. В целом, исследования метилирования при МРЛ призваны прояснить биологическую природу онкогенеза при данном заболевании. Различия в профилях метилирования ДНК, выявляемые у разных индивидов, могут отражать различную генетическую предрасположенность к РЛ. Это может быть обусловлено некоторыми индивидуальными различиями в системе детоксикации ксенобиотиков, в том числе канцерогенов, либо различиями в функционировании систем репарации, которые должны восстанавливать возникающие вследствие стрессовых влияний нарушения. С другой стороны, различия в метилировании могут отражать и эффект от воздействия различных факторов, поступающих из внешней среды.

С учетом того, что для эпигенетических маркеров характерна достаточная пластичность, любые изменения в метилировании ДНК, ассоциированные с развитием РЛ, могли бы быть использованы в качестве мишеней для терапевтического воздействия. Полученные в результате множества исследований результаты дают надежды на расширение арсенала химиотерапевтических препаратов. Помимо этого, немаловажным аспектом является потенциальное применение выявляемых маркеров для ранней диагностики заболевания и оценки прогноза пациента.

Тем не менее, возникают определенные трудности с правильным определением и точным анализом эпигенетических маркеров. Данные маркеры чувствительны к различным, в том числе обратным воздействиям в процессе онкогенеза. Кроме того, иногда затруднительно их отделить от влияния социо-экономических факторов. Таким образом, для дальнейшего анализа требуется детальное изучение биологических путей и определение всех ключевых их компонентов.

Информация о финансировании

Работа проведена при финансовой поддержке Санкт-Петербургского государственного университета (проект № 93025749) и мегагранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2021-595.

Financial support

This work was carried out with the financial support of St. Petersburg State University (project No 93025749) and the megagrant from the Government of Russian Federation No. 075-15-2021-595.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. GLOBOCAN [Электронный ресурс] [дата обращения 07.07.2022]. URL: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-fact-sheet.pdf>
2. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-50. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature13385>
3. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 2012;489(7417):519-25. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature11404>
4. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018;553(7689):446-454. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature25183>
5. Marino FZ, Bianco R, Accardo M, et al. Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *International Journal of Medical Sciences*. 2019;16(7):981-989. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijms.34739>
6. Sabari JK, Lok BH, Laird JH, et al. Unravelling the biology of SCLC: implications for therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2017;14(9):549-561. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.71>
7. Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, et al. Small-cell lung cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2021;7:3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00235-0>

8. George J, Lim JS, Jang SJ, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*. 2015;524(7563):47-53. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14664>
9. Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sos ML, et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1104-1110. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2396>
10. Rudin CM, Durinck S, Stawiski EW, et al. Comprehensive genomic analysis identifies SOX2 as a frequently amplified gene in small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1111-1116. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2405>
11. Augert A, Zhang Q, Bates B, et al. Small Cell Lung Cancer Exhibits Frequent Inactivating Mutations in the Histone Methyltransferase KMT2D/MLL2: CALGB 151111 (Alliance). *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(4):704-713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.12.011>
12. Kim KB, Dunn CT, Park KS. Recent progress in mapping the emerging landscape of the small-cell lung cancer genome. *Experimental and Molecular Medicine*. 2019;51(12):1-13. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0349-5>
13. Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nature Reviews Cancer*. 2019;19(5):289-297. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0133-9>
14. Baine MK, Hsieh MS, Lai WV, et al. SCLC Subtypes Defined by ASCL1, NEUROD1, POU2F3, and YAP1: A Comprehensive Immunohistochemical and Histopathologic Characterization. *Journal of Thoracic Oncology*. 2020;15(12):1823-1835. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.09.009>
15. Gay CM, Stewart CA, Park EM, et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer Cell*. 2021;39(3):346-360.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.12.014>
16. Heyn H, Esteller M. DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(10):679-692. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3270>
17. Timp W, Feinberg AP. Cancer as a dysregulated epigenome allowing cellular growth advantage at the expense of the host. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(7):497-510. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc3486>
18. Abu-Remaileh M, Bender S, Raddatz G, et al. Chronic inflammation induces a novel epigenetic program that is conserved in intestinal adenomas and in colorectal cancer. *Cancer Research*. 2015;75(10):2120-2130. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3295>
19. Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3(4):253-266. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc1045>
20. Fasanelli F, Baglietto L, Ponzi E, et al. Hypomethylation of smoking-related genes is associated with future lung cancer in four prospective cohorts. *Nature Communications*. 2015;6:10192. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms10192>
21. Zhang Y, Elgizouli M, Schöttker B, et al. Smoking-associated DNA methylation markers predict lung cancer incidence. *Clinical Epigenetics*. 2016;8:127. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0292-4>
22. Baglietto L, Ponzi E, Haycock P, et al. DNA methylation changes measured in pre-diagnostic peripheral blood samples are associated with smoking and lung cancer risk. *International Journal of Cancer*. 2017;140(1):50-61. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30431>
23. Joehanes R, Just AC, Marioni RE, et al. Epigenetic Signatures of Cigarette Smoking. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2016;9(5):436-447. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCGENET-ICS.116.001506>
24. Sandanger TM, Nøst TH, Guida F, et al. DNA methylation and associated gene expression in blood prior to lung cancer diagnosis in the Norwegian Women and Cancer cohort. *Scientific Reports*. 2018;8(1):16714. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34334-6>
25. Battram T, Richmond RC, Baglietto L, et al. Appraising the causal relevance of DNA methylation for risk of lung cancer. *International Journal of Epidemiology*. 2019;48(5):1493-1504. DOI: <https://doi.org/10.1093/ije/dyz190>
26. Fewell Z, Davey Smith G, Sterne JA. The impact of residual and unmeasured confounding in epidemiologic studies: a simulation study. *American Journal of Epidemiology*. 2007;166(6):646-655. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/kwm165>
27. Munafò MR, Timofeeva MN, Morris RW, et al. Association between genetic variants on chromosome 15q25 locus and objective measures of tobacco exposure. *Journal of the National Cancer Institute*. 2012;104(10):740-748. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djs191>

28. Zhang Y, Breitling LP, Balavarca Y, et al. Comparison and combination of blood DNA methylation at smoking-associated genes and at lung cancer-related genes in prediction of lung cancer mortality. *International Journal of Cancer*. 2016;139(11):2482-92. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30374>
29. Zhang X, Gao L, Liu ZP, et al. Uncovering Driver DNA Methylation Events in Nonsmoking Early Stage Lung Adenocarcinoma. *BioMed Research International*. 2016;2016:2090286. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2090286>
30. Zhao N, Ruan M, Koestler DC, et al. Epigenome-wide scan identifies differentially methylated regions for lung cancer using pre-diagnostic peripheral blood. *Epigenetics*. 2022;17(4):460-472. DOI: <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1923615>
31. Sato K, Tomizawa Y, Iijima H, et al. Epigenetic inactivation of the RUNX3 gene in lung cancer. *Oncology Reports*. 2006;15(1):129-35. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.15.1.129>
32. Huang Z, Lei W, Hu HB, et al. H19 promotes non-small-cell lung cancer (NSCLC) development through STAT3 signaling via sponging miR-17. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233(10):6768-6776. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26530>
33. Liu H, Zhao H. Prognosis related miRNAs, DNA methylation, and epigenetic interactions in lung adenocarcinoma. *Neoplasma*. 2019;66(3):487-493. DOI: https://doi.org/10.4149/neo_2018_181029N805
34. Gan BL, He RQ, Zhang Y, et al. Downregulation of HOXA3 in lung adenocarcinoma and its relevant molecular mechanism analysed by RT-qPCR, TCGA and in silico analysis. *International Journal of Oncology*. 2018;53(4):1557-1579. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4508>
35. Daugaard I, Dominguez D, Kjeldsen TE, et al. Identification and validation of candidate epigenetic biomarkers in lung adenocarcinoma. *Scientific Reports*. 2016;6:35807. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep35807>
36. Yanagawa N, Tamura G, Oizumi H, et al. Promoter hypermethylation of RASSF1A and RUNX3 genes as an independent prognostic prediction marker in surgically resected non-small cell lung cancers. *Lung Cancer*. 2007;58(1):131-138. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.05.011>
37. Mizutani Y, Nakanishi H, Yamamoto K, et al. Downregulation of Smac/DIABLO expression in renal cell carcinoma and its prognostic significance. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(3):448-454. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.191>
38. Paul A, Krelin Y, Arif T, et al. A New Role for the Mitochondrial Pro-apoptotic Protein SMAC/Diablo in Phospholipid Synthesis Associated with Tumorigenesis. *Molecular Therapy*. 2018;26(3):680-694. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.12.020>
39. Anisowicz A, Huang H, Braunschweiger KI, et al. A high-throughput and sensitive method to measure global DNA methylation: application in lung cancer. *BMC Cancer*. 2008;8:222. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-222>
40. Langevin SM, Kratzke RA, Kelsey KT. Epigenetics of lung cancer. *Translational Research*. 2015;165(1):74-90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.03.001>
41. Kondo M, Suzuki H, Ueda R, et al. Frequent loss of imprinting of the H19 gene is often associated with its overexpression in human lung cancers. *Oncogene*. 1995;10(6):1193-1198.
42. Niklinska W, Naumnik W, Sulewska A, et al. Prognostic significance of DAPK and RASSF1A promoter hypermethylation in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2009;47(2):275-80. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10042-009-0091-2>
43. Feng H, Zhang Z, Qing X, et al. Promoter methylation of APC and RAR- β genes as prognostic markers in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Experimental and Molecular Pathology*. 2016;100(1):109-113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.12.005>
44. Duruisseau M, Esteller M. Lung cancer epigenetics: From knowledge to applications. *Seminars in Cancer Biology*. 2018;51:116-128. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.09.005>
45. Malpeli G, Innamorati G, Decimo I, et al. Methylation Dynamics of RASSF1A and Its Impact on Cancer. *Cancers*. 2019;11(7):959. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers11070959>
46. Marchini A, Ogata T, Rappold GA. A Track Record on SHOX: From Basic Research to Complex Models and Therapy. *Endocrine Reviews*. 2016;37(4):417-448. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2016-1036>
47. Yi J, Jin L, Chen J, et al. MiR-375 suppresses invasion and metastasis by direct targeting of SHOX2 in esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2017;49(2):159-169. DOI: <https://doi.org/10.1093/abbs/gmw131>

48. Peng X, Liu X, Xu L, et al. The mSHOX2 is capable of assessing the therapeutic effect and predicting the prognosis of stage IV lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*. 2019;11(6):2458-2469. DOI: <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.05.81>
49. Kneip C, Schmidt B, Seegebarth A, et al. SHOX2 DNA methylation is a biomarker for the diagnosis of lung cancer in plasma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(10):1632-1638. DOI: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318220ef9a>
50. Darwiche K, Zarogoulidis P, Baehner K, et al. Assessment of SHOX2 methylation in EBUS-TBNA specimen improves accuracy in lung cancer staging. *Annals of Oncology*. 2013;24(11):2866-2870. DOI: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt365>
51. Zhang C, Yu W, Wang L, et al. DNA Methylation Analysis of the SHOX2 and RASSF1A Panel in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Lung Cancer Diagnosis. *Journal of Cancer*. 2017;8(17):3585-3591. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.21368>
52. Ooki A, Maleki Z, Tsay JJ, et al. A Panel of Novel Detection and Prognostic Methylated DNA Markers in Primary Non-Small Cell Lung Cancer and Serum DNA. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(22):7141-7152. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1222>
53. Ren M, Wang C, Sheng D, et al. Methylation analysis of SHOX2 and RASSF1A in bronchoalveolar lavage fluid for early lung cancer diagnosis. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2017;27:57-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2017.01.007>
54. Alanazi IO, AlYahya SA, Ebrahimie E, et al. Computational systems biology analysis of biomarkers in lung cancer; unravelling genomic regions which frequently encode biomarkers, enriched pathways, and new candidates. *Gene*. 2018;659:29-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.03.038>
55. Li N, Zeng Y, Huang J. Signaling pathways and clinical application of RASSF1A and SHOX2 in lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2020;146(6):1379-1393. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03188-9>
56. Kalari S, Jung M, Kernstine KH, et al. The DNA methylation landscape of small cell lung cancer suggests a differentiation defect of neuroendocrine cells. *Oncogene*. 2013;32(30):3559-3568. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2012.362>
57. Poirier JT, Gardner EE, Connis N, et al. DNA methylation in small cell lung cancer defines distinct disease subtypes and correlates with high expression of EZH2. *Oncogene*. 2015;34(48):5869-5878. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2015.38>
58. Saito Y, Nagae G, Motoi N, et al. Prognostic significance of CpG island methylator phenotype in surgically resected small cell lung carcinoma. *Cancer Science*. 2016;107(3):320-325. DOI: <https://doi.org/10.1111/cas.12876>
59. Karlsson A, Jönsson M, Lauss M, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of lung carcinoma reveals one neuroendocrine and four adenocarcinoma epitypes associated with patient outcome. *Clinical Cancer Research*. 2014;20(23):6127-6140. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1087>
60. Semenova EA, Nagel R, Berns A. Origins, genetic landscape, and emerging therapies of small cell lung cancer. *Genes and Development*. 2015;29(14):1447-62. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.263145.115>
61. Krushkal J, Silvers T, Reinhold WC, et al. Epigenome-wide DNA methylation analysis of small cell lung cancer cell lines suggests potential chemotherapy targets. *Clinical Epigenetics*. 2020;12:93. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00876-8>
62. Zhai G, Li J, Zheng J, et al. hTERT promoter methylation promotes small cell lung cancer progression and radiotherapy resistance. *Journal of Radiation Research*. 2020;61(5):674-683. DOI: <https://doi.org/10.1093/jrr/rraa052>
63. Mohammad HP, Smitheman KN, Kamat CD, et al. A DNA Hypomethylation Signature Predicts Antitumor Activity of LSD1 Inhibitors in SCLC. *Cancer Cell*. 2015;28(1):57-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.002>
64. Augert A, Eastwood E, Ibrahim AH, et al. Targeting NOTCH activation in small cell lung cancer through LSD1 inhibition. *Science Signaling*. 2019;12(567):eaau2922. DOI: <https://doi.org/10.1126/scisignal.aau2922>
65. Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*. 2004;119(7):941-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.012>
66. Khan P, Siddiqui JA, Maurya SK, et al. Epigenetic landscape of small cell lung cancer: small image of a giant recalcitrant disease. *Seminars in Cancer Biology*. 2022;83:57-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.11.006>
67. Stewart CA, Byers LA. Altering the Course of Small Cell Lung Cancer: Targeting Cancer Stem Cells via LSD1 Inhibition. *Cancer Cell*.

2015;28(1):4-6. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.011>

References

1. GLOBOCAN [Internet] [cited 2022 July 7]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-factsheet.pdf>
2. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-50. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature13385>
3. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 2012;489(7417):519-25. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature11404>
4. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018;553(7689):446-454. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature25183>
5. Marino FZ, Bianco R, Accardo M, et al. Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *International Journal of Medical Sciences*. 2019;16(7):981-989. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijms.34739>
6. Sabari JK, Lok BH, Laird JH, et al. Unravelling the biology of SCLC: implications for therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2017;14(9):549-561. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.71>
7. Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, et al. Small-cell lung cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2021;7:3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00235-0>
8. George J, Lim JS, Jang SJ, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*. 2015;524(7563):47-53. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14664>
9. Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sos ML, et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1104-1110. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2396>
10. Rudin CM, Durinck S, Stawiski EW, et al. Comprehensive genomic analysis identifies SOX2 as a frequently amplified gene in small-cell lung cancer. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1111-1116. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng.2405>
11. Augert A, Zhang Q, Bates B, et al. Small Cell Lung Cancer Exhibits Frequent Inactivating Mutations in the Histone Methyltransferase KMT2D/MLL2: CALGB 151111 (Alliance). *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(4):704-713. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.12.011>
12. Kim KB, Dunn CT, Park KS. Recent progress in mapping the emerging landscape of the small-cell lung cancer genome. *Experimental and Molecular Medicine*. 2019;51(12):1-13. DOI: <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0349-5>
13. Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nature Reviews Cancer*. 2019;19(5):289-297. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0133-9>
14. Baine MK, Hsieh MS, Lai WV, et al. SCLC Subtypes Defined by ASCL1, NEUROD1, POU2F3, and YAP1: A Comprehensive Immunohistochemical and Histopathologic Characterization. *Journal of Thoracic Oncology*. 2020;15(12):1823-1835. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.09.009>
15. Gay CM, Stewart CA, Park EM, et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer Cell*. 2021;39(3):346-360.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.12.014>
16. Heyn H, Esteller M. DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(10):679-692. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg3270>
17. Timp W, Feinberg AP. Cancer as a dysregulated epigenome allowing cellular growth advantage at the expense of the host. *Nature Reviews Cancer*. 2013;13(7):497-510. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc3486>
18. Abu-Remaileh M, Bender S, Raddatz G, et al. Chronic inflammation induces a novel epigenetic program that is conserved in intestinal adenomas and in colorectal cancer. *Cancer Research*. 2015;75(10):2120-2130. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3295>
19. Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3(4):253-266. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc1045>
20. Fasanelli F, Baglietto L, Ponzi E, et al. Hypomethylation of smoking-related genes is associated with future lung cancer in four prospective cohorts. *Nature Communications*. 2015;6:10192. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms10192>
21. Zhang Y, Elgizouli M, Schöttker B, et al. Smoking-associated DNA methylation markers predict lung cancer incidence. *Clinical Epigenetics*.

2016;8:127. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0292-4>

22. Baglietto L, Ponzi E, Haycock P, et al. DNA methylation changes measured in pre-diagnostic peripheral blood samples are associated with smoking and lung cancer risk. *International Journal of Cancer*. 2017;140(1):50-61. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30431>

23. Joehanes R, Just AC, Marioni RE, et al. Epigenetic Signatures of Cigarette Smoking. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2016;9(5):436-447. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.116.001506>

24. Sandanger TM, Nøst TH, Guida F, et al. DNA methylation and associated gene expression in blood prior to lung cancer diagnosis in the Norwegian Women and Cancer cohort. *Scientific Reports*. 2018;8(1):16714. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34334-6>

25. Battram T, Richmond RC, Baglietto L, et al. Appraising the causal relevance of DNA methylation for risk of lung cancer. *International Journal of Epidemiology*. 2019;48(5):1493-1504. DOI: <https://doi.org/10.1093/ije/dyz190>

26. Fewell Z, Davey Smith G, Sterne JA. The impact of residual and unmeasured confounding in epidemiologic studies: a simulation study. *American Journal of Epidemiology*. 2007;166(6):646-655. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/kwm165>

27. Munafò MR, Timofeeva MN, Morris RW, et al. Association between genetic variants on chromosome 15q25 locus and objective measures of tobacco exposure. *Journal of the National Cancer Institute*. 2012;104(10):740-748. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djs191>

28. Zhang Y, Breitling LP, Balavarca Y, et al. Comparison and combination of blood DNA methylation at smoking-associated genes and at lung cancer-related genes in prediction of lung cancer mortality. *International Journal of Cancer*. 2016;139(11):2482-92. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.30374>

29. Zhang X, Gao L, Liu ZP, et al. Uncovering Driver DNA Methylation Events in Nonsmoking Early Stage Lung Adenocarcinoma. *BioMed Research International*. 2016;2016:2090286. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2090286>

30. Zhao N, Ruan M, Koestler DC, et al. Epigenome-wide scan identifies differentially methylated regions for lung cancer using pre-diagnostic peripheral blood. *Epigenetics*. 2022;17(4):460-472. DOI: <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1923615>

31. Sato K, Tomizawa Y, Iijima H, et al. Epigenetic inactivation of the RUNX3 gene in lung cancer. *Oncology Reports*. 2006;15(1):129-35. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.15.1.129>

32. Huang Z, Lei W, Hu HB, et al. H19 promotes non-small-cell lung cancer (NSCLC) development through STAT3 signaling via sponging miR-17. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233(10):6768-6776. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.26530>

33. Liu H, Zhao H. Prognosis related miRNAs, DNA methylation, and epigenetic interactions in lung adenocarcinoma. *Neoplasma*. 2019;66(3):487-493. DOI: https://doi.org/10.4149/neo_2018_181029N805

34. Gan BL, He RQ, Zhang Y, et al. Downregulation of HOXA3 in lung adenocarcinoma and its relevant molecular mechanism analysed by RT-qPCR, TCGA and in silico analysis. *International Journal of Oncology*. 2018;53(4):1557-1579. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4508>

35. Daugaard I, Dominguez D, Kjeldsen TE, et al. Identification and validation of candidate epigenetic biomarkers in lung adenocarcinoma. *Scientific Reports*. 2016;6:35807. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep35807>

36. Yanagawa N, Tamura G, Oizumi H, et al. Promoter hypermethylation of RASSF1A and RUNX3 genes as an independent prognostic prediction marker in surgically resected non-small cell lung cancers. *Lung Cancer*. 2007;58(1):131-138. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.05.011>

37. Mizutani Y, Nakanishi H, Yamamoto K, et al. Downregulation of Smac/DIABLO expression in renal cell carcinoma and its prognostic significance. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(3):448-454. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.191>

38. Paul A, Krelin Y, Arif T, et al. A New Role for the Mitochondrial Pro-apoptotic Protein SMAC/Diablo in Phospholipid Synthesis Associated with Tumorigenesis. *Molecular Therapy*. 2018;26(3):680-694. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.12.020>

39. Anisowicz A, Huang H, Braunschweiger KI, et al. A high-throughput and sensitive method to measure global DNA methylation: application in lung cancer. *BMC Cancer*. 2008;8:222. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-222>

40. Langevin SM, Kratzke RA, Kelsey KT. Epigenetics of lung cancer. *Translational Research*. 2015;165(1):74-90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.03.001>

41. Kondo M, Suzuki H, Ueda R, et al. Frequent loss of imprinting of the H19 gene is often associated with its overexpression in human lung cancers. *Oncogene*. 1995;10(6):1193-1198.
42. Niklinska W, Naumnik W, Sulewska A, et al. Prognostic significance of DAPK and RASSF1A promoter hypermethylation in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2009;47(2):275-80. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10042-009-0091-2>
43. Feng H, Zhang Z, Qing X, et al. Promoter methylation of APC and RAR- β genes as prognostic markers in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Experimental and Molecular Pathology*. 2016;100(1):109-113. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.12.005>
44. Duruisseaux M, Esteller M. Lung cancer epigenetics: From knowledge to applications. *Seminars in Cancer Biology*. 2018;51:116-128. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.09.005>
45. Malpeli G, Innamorati G, Decimo I, et al. Methylation Dynamics of RASSF1A and Its Impact on Cancer. *Cancers*. 2019;11(7):959. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers11070959>
46. Marchini A, Ogata T, Rappold GA. A Track Record on SHOX: From Basic Research to Complex Models and Therapy. *Endocrine Reviews*. 2016;37(4):417-448. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2016-1036>
47. Yi J, Jin L, Chen J, et al. MiR-375 suppresses invasion and metastasis by direct targeting of SHOX2 in esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2017;49(2):159-169. DOI: <https://doi.org/10.1093/abbs/gmw131>
48. Peng X, Liu X, Xu L, et al. The mSHOX2 is capable of assessing the therapeutic effect and predicting the prognosis of stage IV lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*. 2019;11(6):2458-2469. DOI: <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.05.81>
49. Kneip C, Schmidt B, Seegebarth A, et al. SHOX2 DNA methylation is a biomarker for the diagnosis of lung cancer in plasma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(10):1632-1638. DOI: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318220ef9a>
50. Darwiche K, Zarogoulidis P, Baehner K, et al. Assessment of SHOX2 methylation in EBUS-TBNA specimen improves accuracy in lung cancer staging. *Annals of Oncology*. 2013;24(11):2866-2870. DOI: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt365>
51. Zhang C, Yu W, Wang L, et al. DNA Methylation Analysis of the SHOX2 and RASSF1A Panel in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Lung Cancer Diagnosis. *Journal of Cancer*. 2017;8(17):3585-3591. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.21368>
52. Ooki A, Maleki Z, Tsay JJ, et al. A Panel of Novel Detection and Prognostic Methylated DNA Markers in Primary Non-Small Cell Lung Cancer and Serum DNA. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(22):7141-7152. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1222>
53. Ren M, Wang C, Sheng D, et al. Methylation analysis of SHOX2 and RASSF1A in bronchoalveolar lavage fluid for early lung cancer diagnosis. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2017;27:57-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2017.01.007>
54. Alanazi IO, AlYahya SA, Ebrahimie E, et al. Computational systems biology analysis of biomarkers in lung cancer; unravelling genomic regions which frequently encode biomarkers, enriched pathways, and new candidates. *Gene*. 2018;659:29-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.03.038>
55. Li N, Zeng Y, Huang J. Signaling pathways and clinical application of RASSF1A and SHOX2 in lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2020;146(6):1379-1393. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03188-9>
56. Kalari S, Jung M, Kernstine KH, et al. The DNA methylation landscape of small cell lung cancer suggests a differentiation defect of neuroendocrine cells. *Oncogene*. 2013;32(30):3559-3568. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2012.362>
57. Poirier JT, Gardner EE, Connis N, et al. DNA methylation in small cell lung cancer defines distinct disease subtypes and correlates with high expression of EZH2. *Oncogene*. 2015;34(48):5869-5878. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2015.38>
58. Saito Y, Nagae G, Motoi N, et al. Prognostic significance of CpG island methylator phenotype in surgically resected small cell lung carcinoma. *Cancer Science*. 2016;107(3):320-325. DOI: <https://doi.org/10.1111/cas.12876>
59. Karlsson A, Jönsson M, Lauss M, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of lung carcinoma reveals one neuroendocrine and four adenocarcinoma epitypes associated with patient outcome. *Clinical Cancer Research*.

2014;20(23):6127-6140. DOI:
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1087>

60.Semenova EA, Nagel R, Berns A. Origins, genetic landscape, and emerging therapies of small cell lung cancer. *Genes and Development*. 2015;29(14):1447-62. DOI:
<https://doi.org/10.1101/gad.263145.115>

61.Krushkal J, Silvers T, Reinhold WC, et al. Epigenome-wide DNA methylation analysis of small cell lung cancer cell lines suggests potential chemotherapy targets. *Clinical Epigenetics*. 2020;12:93. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00876-8>

62.Zhai G, Li J, Zheng J, et al. hTERT promoter methylation promotes small cell lung cancer progression and radiotherapy resistance. *Journal of Radiation Research*. 2020;61(5):674-683. DOI:
<https://doi.org/10.1093/jrr/rraa052>

63.Mohammad HP, Smitheman KN, Kamat CD, et al. A DNA Hypomethylation Signature Predicts Antitumor Activity of LSD1 Inhibitors in SCLC. *Cancer Cell*. 2015;28(1):57-69. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.002>

64.Augert A, Eastwood E, Ibrahim AH, et al. Targeting NOTCH activation in small cell lung cancer through LSD1 inhibition. *Science Signaling*. 2019;12(567):eaau2922. DOI:
<https://doi.org/10.1126/scisignal.aau2922>

65.Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*. 2004;119(7):941-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.012>

66.Khan P, Siddiqui JA, Maurya SK, et al. Epigenetic landscape of small cell lung cancer: small image of a giant recalcitrant disease. *Seminars in Cancer Biology*. 2022;83:57-76. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.11.006>

67.Stewart CA, Byers LA. Altering the Course of Small Cell Lung Cancer: Targeting Cancer Stem Cells via LSD1 Inhibition. *Cancer Cell*. 2015;28(1):4-6. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.06.011>

Статья поступила в редакцию 31 августа 2022 г.

Поступила после доработки 3 октября 2022 г.

Принята к печати 1 декабря 2022 г.

Received 31 August 2022

Revised 3 October 2022

Accepted 1 December 2022

Информация об авторах

Айгуль Ринатовна Низамова, аспирант по научной специальности 1.5.7 – Генетика, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа, Российская Федерация, E-mail nizamova_aigool@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8065-8942>.

Галия Фуатовна Гималова, кандидат биологических наук, научный сотрудник Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа; научный сотрудник ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург; доцент кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: galiyagimalova@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0779-4678>.

Эльза Камилевна Хуснутдинова, доктор биологических наук, профессор, директор Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа; главный научный сотрудник ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург; заведующий кафедры генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: elzakh@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>.

Information about the authors

Aigul R. Nizamova, Post-graduate Student in Scientific Specialty 1.5.7 – Genetics, Junior Researcher at the Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia, E-mail: nizamova_aigool@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8065-8942>.

Galiya F. Gimalova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa; Researcher, Saint Petersburg State University, Saint Peters-

burg; Associate Professor at the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: galiyagimalova@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0779-4678>.

Elza K. Khusnutdinova, Doct. Sci. (Biology), Professor, Director of the Institute of Biochemistry

and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa; Chief Researcher, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg; Head of the Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, E-mail: elzakh@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>.