ГЕНЕТИКА, 2020, том 56, № 5, с. 602–608

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

УДК 575.17:618

АНАЛИЗ РЕДКОГО ВАРИАНТА c.2395C>T (p.Arg799Trp) ГЕНА *ERCC4* У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В БАШКОРТОСТАНЕ

© 2020 г. М. А. Бермишева[1, *], И. Р. Гилязова[1], Г. Ф. Зиннатуллина[2], Э. К. Хуснутдинова[1]

[1]Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, 450054 Россия

[2]Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа, 450054 Россия

**e-mail: marina_berm@mail.ru*

Поступила в редакцию 16.05.2019 г.
После доработки 28.06.2019 г.
Принята к публикации 24.07.2019 г.

Ген *ERCC4/FANCQ* – потенциальный ген-кандидат наследственного рака молочной железы (РМЖ), и является участником анемия Фанкони (АФ)/BRCA пути, необходимого для репарации ДНК. Ген *ERCC4* кодирует эндонуклеазу XPF, которая функционирует в эксцизионной репарации нуклеотидов (NER), участвует в восстановлении межцепочечных сшивок (ICL). Гетерозиготные мутации в гене *ERCC4* были выявлены при разных онкологических заболеваниях. В данном исследовании в результате NGS-секвенирования у пациентки с наследственным РМЖ обнаружена мутация c.2395C>T (p.Arg799Trp) в гене *ERCC4* в гетерозиготном состоянии. Дальнейший скрининг мутации *ERCC4**p.Arg799Trp у 966 больных РМЖ и 686 контрольных индивидов позволил выявить гетерозиготных носителей мутации в обеих группах, но достоверных различий частоты мутантного аллеля между двумя выборками обнаружено не было. Результаты нашего исследования свидетельствуют в пользу того, что мутация *ERCC4**p.Arg799Trp не связана с высоким риском развития РМЖ, хотя необходимы дальнейшие исследования для оценки клинического значения данной мутации.

Ключевые слова: ген *ERCC4/XPF/FANCQ*, наследственный рак молочной железы, анемия Фанкони, пигментная ксеродерма, мутация c.2395C>T (p.Arg799Trp), генетическая предрасположенность.

DOI: 10.31857/S0016675820050021

Ген *ERCC4* кодирует XPF (Xeroderma Pigmentosum, Complementation Group F), компонент эндонуклеазы ERCC1/XPF, которая расщепляет ДНК в месте перехода дцДНК/оцДНК с 5'-стороны от повреждения и функционирует в эксцизионной репарации нуклеотидов (NER), участвует в восстановлении межцепочечных сшивок (ICLs, interstrandcross-links). Показано, что нарушения как в процессах репарации GG-NER (global genome nucleotide excision repair), так и в TC-NER, сопряженной с транскрипцией (transcription-coupled nucleotide excision repair), являющихся разными вариантами NER и различающихся на уровне начального узнавания повреждения, и репарации ICL были связаны с фенотипами XP (Xeroderma Pigmentosum) [1], CS (CockayneSyndrome) [2] и FA (Fanconi Anemia) [3]. Мутации *ERCC4* по-разному влияют на эти репаративные функции и вызывают различные клинические фенотипы [4, 5].

Многочисленные исследования свидетельствуют в пользу того, что нарушения в *ERCC4* связаны с развитием онкологических заболеваний. Так герминальная мутация c.1536dupA (p.G513Rfs) определена при эндометроидной карциноме тела матки (endometrioid endometrial carcinoma) [6]. Зародышевая мутация c.1853G>T (p.Arg618Leu) в гене *ERCC4* была выявлена у пациентки с раком легкого [7]. При таргетном секвенировании генома была обнаружена нонсенс мутация c.2169C>A (p.Cys723*) в гене *ERCC4* при спорадической саркоме у больных с манифестацией заболевания до 50 лет [8].

Установлено, что биаллельные мутации в гене *ERCC4* приводят к развитию анемии Фанкони типа Q (FANCQ) [2, 3]. Большое число участников АФ-пути ассоциированы с развитием злокачественных опухолей молочной железы. Рак молочной железы (**РМЖ**) является наиболее распространенным злокачественным новообразованием у женщин во всем мире. Генетические факторы, связанные с повышенным риском развития РМЖ, вовлечены в поддержание стабильности генома и являются участниками таких процессов как репликация, репарация, регулирование клеточного цикла, апоптоз. В одной из работ показано, что в возрастной группе женщин (бабушки больных АФ), являю-

щихся гетерозиготными носительницами мутаций в гене *FANCC*, наблюдается повышение частоты заболеваемости РМЖ [9]. Описаны семейные случаи раннего развития РМЖ с мутациями в гене *FANCJ/BRIP1/BACH1* [10]. Одним из участников АФ пути также является ген *FANCS* (*BRCA1*) [11]. У женщины с многочисленными врожденными аномалиями, характерными для АФ, и диагностированным РМЖ в возрасте 23 лет были определены биаллельные нарушения в гене *FANCS*. До недавнего времени не было зарегистрировано ни одного случая РМЖ с биаллельными мутациями в этом гене, хотя в работе S.M. Domchek с соавт. была описана пациентка 28 лет с раком яичников, имеющая множественные врожденные аномалии развития [12].

ERCC4 является универсальным белком, который необходим для различных типов репарации ДНК [13–17]. Дефекты гена *ERCC4* приводят к возникновению таких патологических состояний как пигментная ксеродерма группы комплементации F (XP-F), синдром Коккейна (CS), прогероидный синдром XFE (XFE), для которых характерны повышенная чувствительность к УФ-свету, высокий риск возникновения рака, а также проявление симптомов нейродегенеративных заболеваний [4, 5]. Оценка рисков развития онкологических заболеваний у гетерозиготных носителей патогенных вариантов в генах АФ является важным направлением эпидемиологических исследований поскольку хорошо известно, что у гетерозиготных носителей мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *SLX4*, *XPE*, *PALB2* повышен риск развития РМЖ, рака яичников, пищевода и ряда других.

На сегодняшний день остается открытым вопрос, являются ли изменения в гене *ERCC4* теми факторами, которые определяют генетическую предрасположенность к развитию РМЖ. В представленной работе мы провели поиск мутаций методом NGS-секвенирования у пациенток с семейным РМЖ с последующим генотипированием мутации *ERCC4**p.Arg799Trp в группе больных РМЖ и контроля из Республики Башкортостан (**РБ**) для оценки роли данного варианта в развитии заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены образцы ДНК 966 пациенток с РМЖ, собранные на базе ГБУЗ РКОД МЗ РБ г. Уфы и ГБУЗ РБКБ № 1 г. Стерлитамак РБ за период 2000–2013 гг. Возрастной диапазон исследуемой выборки составил 24–85 лет, а среднее значение возраста пациенток с РМЖ соответствовало 52.2 годам. Около 10% больных сообщили о случаях заболевания РМЖ или РЯ в семье. Большинство женщин с РМЖ из нашей выборки (~90%) принадлежат к трем этническим группам – русские, башкиры и татары. Контрольную группу (n = 686) составили женщины без онкологической патологии в анамнезе на момент опроса и забора крови, у которых средний возраст 46.7 лет (18–84).

ДНК выделена из венозной крови с применением протеиназы К-методом фенольно-хлороформной экстракции.

На первом этапе исследования для клинического экзомного секвенирования были отобраны ДНК пациенток с признаками наследственного РМЖ (n = 9), у которых ранее был проведен скрининг мутаций в генах *BRCA1/2*, *CHEK2*, *BLM, NBN, PALB2*, *ATM* [18]. Поиск патогенных вариантов в генах, ассоциированных с онкологическими заболеваниями, выполнен с применением секвенирования таргетной панели генов: *ABL1, AIP, AKT1, ALK, ANKRD26, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, ATR, AXIN2, BAP1, BARD1, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, BTNL2, BUB1B, CBL, CD82, CDC73, CDH1, CDK4, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CEBPA, CEP57, CHEK1, CHEK2, CTNNA1, CTNNB1, CYLD, DDB2, DDR2, DDX41, DICER1, DIS3L2, DKC1, EGFR, ELAC2, ELANE, EPCAM, ERBB2, ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ETV6, EXT1, EXT2, EZH2, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FLCN, GALNT12, GATA2, GDNF, GNA11, GNAQ, GNAS, GPC3, HNF1A, HNF1B, HRAS, IDH1, IDH2, IKZF1, JAK2, JAK3, KDM6A, KDR, KIF1B, KIT, KITLG, KLLN, KMT2A, KMT2D, KRAS, LIG4, LZTR1, MAP2K1, MAP2K2, MAX, MC1R, MEN1, MET, MITF, MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, MSR1, MTOR, MUTYH, MXI1, MYH11, MYH14, MYH2, MYH3, MYH6, MYH7, MYH8, MYH9, NBN, NF1, NF2, NOTCH1, NRAS, NSD1, NSUN2, NTHL1, NTRK1, PALB2, PALLD, PAX5, PDGFRA, PDGFRB, PHOX2B, PIK3CA, PIK3R1, PMS2, POLD1, POLE, POLH, POT1, PPM1D, PRF1, PRKAR1A, PRSS1, PTCH1, PTEN, PTPN11, RAD50, RAD51, RAD51C, RAD51D, RAF1, RB1, RECQL4, REST, RET, RHBDF2, RIT1, RNASEL, RUNX1, SAMD9L, SBDS, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SHOC2, SLX4, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMARCE1, SMO, SOS1, SOS2, SPINK1, SPRED1, SRP72, STK11, SUFU, TERC, TERT, TINF2, TMEM127, TP53, TSC1, TSC2, TSHR, VHL, WRN, WT1, XPA, XPC, XRCC2, XRCC3, ZFHX3*. Секвенирование экзома у пациентов с наследственным РМЖ осуществлялось на платформе Ilumina HiSeq 2000 (Illumina, США). Фрагментация ДНК, подготовка библиотек и “захват” экзома были выполнены в соответствии с инструкциями фирмы-изготовителя. Секвенирование по Сенгеру было выполнено с использованием BigDye Terminator Cycle v1.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3500 согласно протоколу фирмы производителя.

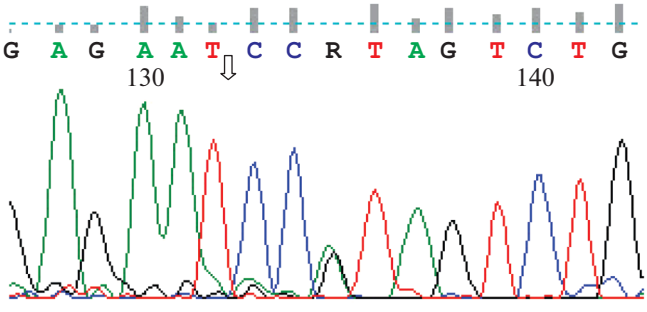

Рис. 1. Фрагмент нуклеотидной последовательности гена *ERCC4* с мутацией c.2395C>T в гетерозиготном состоянии (секвенирование с обратного праймера).

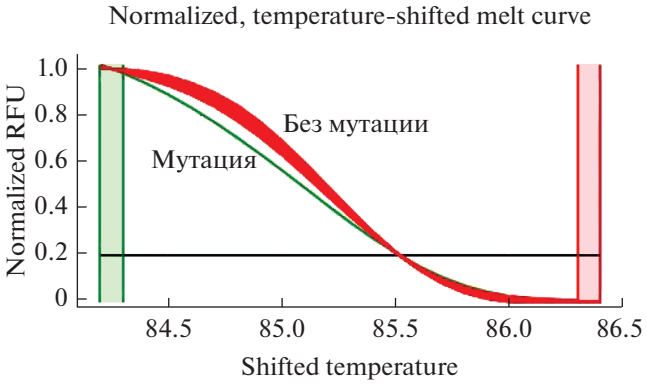

Рис. 2. Детекция мутации c.2395C>T в гене *ERCC4* методом анализа кривых плавления.

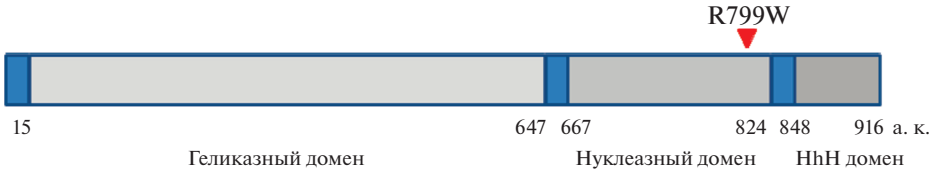

Рис. 3. Схематичное изображение доменной структуры ERCC4/XPF.

На втором этапе работы проведен скрининг выявленного при NGS секвенировании варианта c.2395C>T (p.Arg799Trp) гена *ERCC4* у 957 пациенток с РМЖ и 686 контрольных индивидов с помощью анализа кривых плавления (HRM) на CFX96 Real-Time PCR Analyzer (BioRad) с применением красителя EvaGreen. Положительный и отрицательный контроли были включены в каждый эксперимент, все образцы с изменением в кривых плавления были в дальнейшем ресеквенированы. Результаты ресеквенирования фрагмента гена *ERCC4,* несущего замену c.2395C>T, и HRM-анализа представлены на рис. 1 и 2.

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей между группами больных и здоровых лиц использовали критерий χ^2 (*P*) для таблиц сопряженности 2 × 2. Степень ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов odds ratio, OR.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате секвенирования таргетной панели 155 генов у пациентки с РМЖ с наследственными признаками заболевания выявлен миссенс вариант c.2395C>T в гене *ERCC4* (NM_005236.2), приводящий к замене аминокислоты p.Arg799Trp в белке, и известный как rs121913049. Вариант c.2395C>T в гене *ERCC4* подтвержден референсным секвенированием по Сенгеру (рис. 1).

Мутация расположена в эволюционно высококонсервативной области *ERCC4* (рис. 3) [19]. Согласно разным базам данных нуклеотидной последовательности ДНК человека частота данного аллеля низкая и составляет 0.00051 (ExAC), 0.00013 (gnomAD), 0.00048 (gnomAD (exomes)) и 0.00143 (TOPMed). Клиническое значение в базе данных ClinVar (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar) для варианта *ERCC4**p.Arg799Trp соответствует группе “неопределенного значения” или “патогенный”, согласно Polyphen – вероятно патогенный (probably_damaging), SIFT – патогенный (deleterious).

Мутация в гетерозиготном состоянии обнаружена у пациентки с РМЖ татарской национальности, у которой в возрасте 43 лет был диагностирован скиррозный рак молочной железы. У ее сестры также был выявлен РМЖ. К сожалению, забор биологического материала сестры пробанда оказался невозможным. Мы провели скрининг *ERCC4**p.Arg799Trp у 957 женщин с РМЖ и 686 контрольных индивидов для оценки частоты гетерозиготного носительства данной мутации в нашей популяции и оценки риска развития заболевания. Генотипирование успешно выполнено на всех образцах, в результате которого выявлены две носительницы варианта *ERCC4**p.Arg799Trp у больных РМЖ и одна в контрольной группе. Пациентки не сообщают о случаях заболевания РМЖ или РЯ в семье. Женщины принадлежат к татарской и русской этническим группам. Кли-

Таблица 1. Характеристика пациенток с РМЖ – носительниц мутации c.2395C>T (p.Arg799Trp) гена *ERCC4*

Группа	Возраст диагноза	Семейная история	TNM	Гистология	Этническая принадлежность	Регион России
РМЖ	43	РМЖ	T2N1M0	Скиррозный РМЖ, G3	Татарка	РБ
РМЖ	54	–	T4N1M0	Аденокарцинома, G1	Русская	РБ
РМЖ	53	–	T1N0M0	Инфильтрирующая протоковая карцинома	Татарка	РБ
Контроль	–	–	–	–	Татарка	РБ

Примечание. РМЖ – рак молочной железы, РБ – Республика Башкортостан.

нические характеристики пациенток с РМЖ с мутацией *ERCC4**p.Arg799Trp представлены в табл. 1.

Анализ частоты мутантного аллеля позволил установить, что у больных РМЖ мутация встречается в два раза чаще, чем в контрольной группе (0.31 и 0.15%), но различия не достигают статистической значимости ($p = 0.87$, OR = 2.1, 95% CI: 0.20–52.39).

ОБСУЖДЕНИЕ

Биаллельные мутации гена *ERCC4* являются причиной возникновения анемии Фанкони типа Q и синдрома Кокейна [2, 3]. Анемия Фанкони (АФ) – это редкое наследственное заболевание, проявляющееся аномалиями развития костного мозга и повышенным риском возникновения злокачественных новообразований. Заболевание передается по аутосомно-рецессивному или аутосомно-доминантному типу (*RAD51*), за исключением FANCB, которое является Х-сцепленным заболеванием. На сегодняшний день идентифицированы 22 гена, которые кодируют белки группы комплементации АФ (FANCA-FANCW) [20]. Белки АФ функционируют в общем пути восстановления ДНК, т.н. “путь FA”, который необходим для поддержания целостности генома [21]. Мутации в генах *FANCI, BRIP1/FANCJ, FANCL, FANCM, PALB2/FANCN, RAD51C/FANCO, SLX4/FANCP, ERCC4/FANCQ, BRCA1/FANCS, RAD51/FANCR* и *UBE2T/FANCT* ответственны за развитие менее 5% случаев АФ [22]. Некоторые из этих генов – *BRCA1/FANCS, BRCA2/FANCD1, BRIP1/FANCJ*, *PALB2/FANCN* и *RAD51C/FANCO* – ассоциированы с развитием РМЖ, а также с раком яичников (РЯ). Продукты этих генов непосредственно вовлечены в процесс гомологичной рекомбинации в ходе репарации двухцепочечных разрывов ДНК (АФ/BRCA-путь). Ген *ERCC4* также рассматривают в качестве гена-кандидата предрасположенности к раку молочной железы.

В одной из последних работ японских исследователей представлены данные секвенирования полного экзома у пациентов с наследственной аутосомно-рецессивной церебеллярной атаксией (**ЦА**) [19]. У нескольких пациентов с атаксией была выявлена мутация c.2395C>T (p.Arg799Trp) в гене *ERCC4* как в гомозиготном состоянии, так и в компаунд гетерозиготе. У ЦА пациента с мутацией *ERCC4**p.Arg799Trp в гомозиготе от рака умерли две сестры. Ранее данный вариант был охарактеризован как патогенная мутация при XP-F [23]. Согласно данным исследования H. Doi с соавт. частота мутантного аллеля c.2395C>T составила 0.0052 (3/575) при анализе экзомов “внутреннего” японского контроля, что на порядок выше, чем в базе данных Exome Aggregation Consortium (ExAc) – 0.00051 (62/121398) [19].

Мутация p.Arg799Trp в гене *ERCC4* обнаружена в компаунд гетерозиготе у больного с прогероидным синдромом (Atypical Werner syndrome) [24], клиническими проявлениями которого являются преждевременное старение, развитие злокачественных опухолей, вызванные нестабильностью генома. Молекулярный анализ выявил значительное снижение экспрессии мутантного *ERCC4/XPF,* что согласуется с результатами предыдущих исследований, где показано, что c.2395C>T (p.Arg799Trp) вызывает нестабильность белка и неправильную локализацию мутантного белка [23], также было выявлено нарушение в работе NER [24].

В представленной работе выявлена мутация c.2395C>T (p.Arg799Trp) в гене *ERCC4* в гетерозиготном состоянии у женщины с наследственным РМЖ при NGS секвенировании 202 генов. Вследствие отсутствия данных о частоте распространения *ERCC4**p.Arg799Trp в популяции нашего региона, которые необходимы для правильной интерпретации полученных результатов и оценки риска заболевания, мы провели скрининг мутантного аллеля на расширенной выборке больных РМЖ и контрольной группы. В результате исследования выявлены гетерозиготные носители *ERCC4**p.Arg799Trp как у пациенток с РМЖ (3/966), так и в группе контроля (1/686). У больных РМЖ частота мутантного варианта несколько выше, чем у здоровых женщин (0.31 и 0.15% соответственно), но различия не достигают статистической значимости

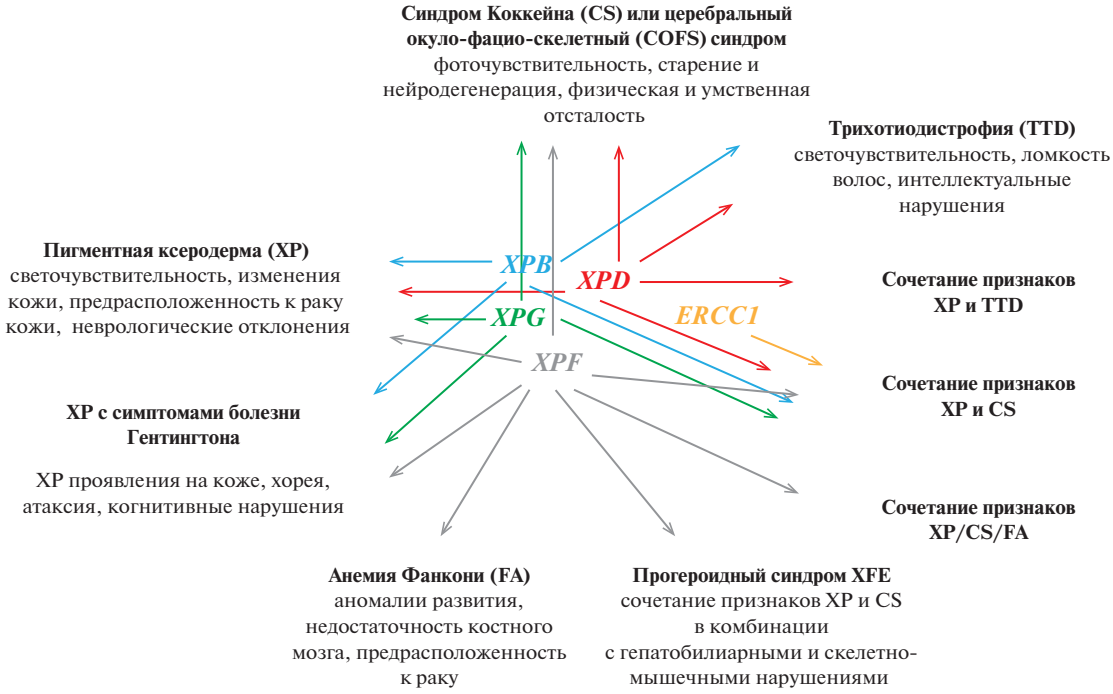

Рис. 4. Заболевания человека, вызванные нарушениями в работе пяти генов *ERCC3/XPB*, *ERCC2/XPD*, *ERCC5/XPG*, *ERCC1* и *ERCC4/XPF*, являющихся основными факторами эксцизионной репарации. На рисунке схематично показано, что каждое заболевание может быть вызвано изменениями в разных генах NER, и наоборот, изменения в одном гене NER могут привести к различным фенотипическим проявлениям, цит. по [4].

($p > 0.05$). Вариант *ERCC4**p.Arg799Trp обнаружен у женщин разной этнической принадлежности, проживающих в Башкортостане, не демонстрируя специфичности для одной конкретной популяции.

Результаты нашего исследования указывают на то, что вариант *ERCC4**p.Arg799Trp не имеет большого значения в развитии РМЖ, что не противоречит результатам других работ. По данным A. Osorio с соавт. показано, что мутации в гене *ERCC4* не связаны с предрасположенностью к развитию семейного РМЖ/РЯ. Частота патогенных вариантов в гене *ERCC4* составила около 0.3% в популяции, и достоверных различий между больными с семейным РМЖ/РЯ и здоровыми индивидами не было выявлено [25]. Согласно исследованию S. Kohlhase с соавт. вклад мутаций гена *ERCC4/FANCQ* в наследственный РМЖ в популяциях Центральной и Восточной Европы также является незначительным [26].

Проведение дальнейших исследований спектра и частот мутаций в гене *ERCC4* при изучении генетической структуры РМЖ поможет оценить роль *ERCC4* в патогенезе заболевания. Возможно, что факторы, не связанные с АФ, или еще не определенные участники АФ, также могут изменять риск заболевания раком. Результаты дальнейших исследований компонентов АФ пути дадут важную информацию для детального понимании молекулярных механизмов, вовлеченных в поддержание стабильности генома.

Принимая во внимание то, что патогенные варианты в гене *ERCC4* могут приводить к широкому спектру расстройств [10, 11], которые включают пигментную ксеродерму, нейродегенеративные заболевания, прогероидный синдром, анемию Фанкони, а также, учитывая отсутствие четкой корреляции генотип-фенотип с вариантами *ERCC4* (рис. 4), мы предполагаем, что в Республике Башкортостан могут проживать лица с наследственными заболеваниями, обусловленными мутацией p.Arg799Trp в гене *ERCC4*. Отсутствие соответствующих наблюдений в медико-генетическом центре Уфы заставляет предположить, что многие случаи этих заболеваний остаются не диагностированными. Повышенная чувствительность к ультрафиолетовому излучению у носителей мутации в гене *ERCC4* указывает на потенциальный риск возникновения рака кожи, что также имеет важное значение в клинической онкологии.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116020350032-1) при поддержке РФФИ № 17-44-020498 р_а, 17-29-06014 офи_м, Программы развития биоресурсных коллекций № 007-030164/2, а также с использованием оборудования ЦКП “Биомика” и УНУ “КОДИНК”.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sijbers A.M., de Laat W.L., Ariza R.R. et al.* Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure-specific DNA repair endonuclease // Cell. 1996. 86. P. 811–822. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80155-5
2. *Kashiyama K., Nakazawa Y., Pilz D.T. et al.* Malfunction of nuclease ERCC1-XPF results in diverse clinical manifestations and causes Cockayne syndrome, xeroderma pigmentosum, and Fanconi anemia // Am. J. Hum. Genet. 2013. V. 92. P. 807–819. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.04.007
3. *Bogliolo M., Schuster B., Stoepker C. et al.* Mutations in ERCC4, encoding the DNA-repair endonuclease XPF, cause Fanconi anemia // Am. J. Hum. Genet. 2013. V. 92. P. 800–806. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.04.002
4. *Ferri D., Orioli D., Botta E.* Heterogeneity and overlaps in nucleotide excision repair disorders // Clin. Genet. 2020. V. 97. P. 12–24. https://doi.org/10.1111/cge.13545
5. *Marín M., Ramírez M.J., Carmona M.A. et al.* Functional comparison of XPF missense mutations associated to multiple DNA repair disorders // Genes. 2019. V. 10. pii. E60. https://doi.org/10.3390/genes10010060
6. *Wang Y., Yu M., Yang J.-X. et al.* Genomic comparison of endometrioid endometrial carcinoma and its precancerous lesions in Chinese patients by high-depth next generation sequencing // Front. Oncol. 2019. V. 9: 123. https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00123
7. *Donner I., Katainen R., Sipilä L.J. et al.* Germline mutations in young non-smoking women with lung adenocarcinoma // Lung. Cancer 2018. V. 122. P. 76–82. https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.05.027
8. *Chan S.H., Lim W.K., Ishak N. et al.* Germline mutations in cancer predisposition genes are frequent in sporadic sarcomas // Sci. Reports. 2017. V. 7: 10660. https://doi.org/10.1038/s41598-017-10333-x
9. *Berwick M., Satagopan J.M., Ben-Porat L. et al.* Genetic heterogeneity among Fanconi anemia heterozygotes and risk of cancer // Cancer Res. 2007. V. 67(19). P. 9591–9596. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1501
10. *Cantor S.B., Bell D.W., Ganesan S. et al.* BACH1, a novel helicase-like protein, interacts directly with BRCA1 and contributes to its DNA repair function // Cell. 2001. V. 105(1). P. 149–160. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00304-X
11. *Sawyer S.L., Tian L., Kähkönen M. et al.* Biallelic mutations in BRCA1 cause a new Fanconi anemia subtype // Cancer Discov. 2015. V. 5(2). P. 135–142. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-1156
12. *Domchek S.M., Tang J., Stopfer J. et al.* Biallelic deleterious BRCA1 mutations in a woman with early-onset ovarian cancer // Cancer Discov. 2013. V. 3. P. 399–405. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0421
13. *Motycka T.A., Bessho T., Post S.M. et al.* Physical and functional interaction between the XPF/ERCC1 endonuclease and hRad52 // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 13634–13639. https://doi.org/10.1074/jbc.M313779200
14. *McDaniel L.D., Schultz R.A.* XPF/ERCC4 and ERCC1: Their products and biological roles // Adv. Exp. Med. Biol. 2008. V. 637. P. 65–82.
15. *Fekairi S., Scaglione S., Chahwan C. et al.* Human SLX4 is a Holliday junction resolvase subunit that binds multiple DNA repair/recombination endonucleases // Cell. 2009. V. 138. P. 78–89. https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.029
16. *Fadda E.* Conformational determinants for the recruitment of ERCC1 by XPA in the nucleotide excision repair (NER) Pathway: structure and dynamics of the XPA binding motif // Biophys. J. 2013. V. 104. P. 2503–2511. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.04.023
17. *Manandhar M., Boulware K.S., Wood R.D.* The ERCC1 and ERCC4 (XPF) genes and gene products // Gene. 2015. V. 569(2). P. 153–161. https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.06.026
18. *Бермишева М.А., Богданова Н.В., Гилязова И.Р. с соавт.* Этнические особенности формирования генетической предрасположенности к развитию рака молочной железы // Генетика. 2018. Т. 54. № 2. С. 233–242. (*Bermisheva M.A., Bogdanova N.V., Gilyazova I.R. et al.* Ethnic Features of Genetic Susceptibility to Breast Cancer // Rus. J. Genetics. 2018. V. 54(2). P. 226–234.) https://doi.org/10.1134/S1022795418020047 https://doi.org/10.7868/S0016675818020042
19. *Doi H., Koyano Sh., Miyatake S. et al.* Cerebellar ataxia-dominant phenotype in patients with ERCC4 mutations // J. Hum. Genet. 2018. V. 63. P. 417–423. https://doi.org/10.1038/s10038-017-0408-5
20. *Niraj J., Färkkilä A., D'Andrea A.D.* The Fanconi anemia pathway in cancer // Annu. Rev. Cancer Biol. 2019. V. 3. P. 457–478. https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-030617-050422
21. *Wang L.C., Gautier J.* The Fanconi anemia pathway and ICL repair: Implications for cancer therapy // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 2010. V. 45(5). P. 424–439. https://doi.org/10.3109/10409238.2010.502166
22. *Dong H., Nebert D.W., Bruford E.A. et al.* Update of the human and mouse Fanconi anemia genes // Hum. Genomics. 2015. V. 9: 32. https://doi.org/10.1186/s40246-015-0054-y
23. *Sijbers A.M., van Voorst Vader P.C., Snoek J.W. et al.* Homozygous R788W point mutation in the XPF gene of a patient with xeroderma pigmentosum and late-onset neurologic disease // J. Invest. Dermatol. 1998. V. 110. P. 832–836. https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1998.00171.x

24. *Mori T., Yousefzadeh M.J., Faridounnia M. et al. ERCC4* variants identified in a cohort of patients with segmental progeroid syndromes // Hum. Mut. 2018. V. 39. P. 255–265. https://doi.org/10.1002/humu.23367
25. *Osorio A., Bogliolo M., Fernandez V. et al.* Evaluation of rare variants in the new Fanconi anemia gene *ERCC4* (*FANCQ*) as familial breast/ovarian cancer susceptibility alleles // Hum. Mut. 2013. V. 34(12). P. 1615–1618. https://doi.org/10.1002/humu.22438
26. *Kohlhase S., Bogdanova N.V., Schurmann P. et al.* Mutation analysis of the *ERCC4/FANCQ* gene in hereditary breast cancer // PLoS One. 2014. V. 9(1): e85334. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085334

Analysis of a Rare Variant c.2395C>T (p.Arg799Trp) in *ERCC4* Gene in Breast Cancer Patients from Bashkortostan

M. A. Bermisheva[a], *, I. R. Gilyazova[a], G. F. Zinnatullina[b], and E. K. Khusnutdinova[a]

[a] *Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia*
[b] *Republic Clinical Oncological Center of Bashkortostan Republic, Ufa, 450054 Russia*
**e-mail: marina_berm@mail.ru*

The *ERCC4/FANCQ* gene is a candidate gene for susceptibility to hereditary breast cancer as a participant of the Fankoni anemia/BRCA pathway required for DNA repair. ERCC4 encodes XPF endonuclease which is mainly involved in nucleotide excision repair (NER) and interstrand crosslink (ICL) repair. Heterozygous mutations in *ERCC4* have been identified in various cancers. The heterozygous mutation c.2395C>T (p.Arg799Trp) in *ERCC4* was found in a hereditary breast cancer patient (1/9) using next-generation sequencing. Subsequent screening detected *ERCC4**p.Arg799Trp mutation in additional 2 out of 957 breast cancer patients and in one of 686 female controls ($p = 0.87$). Our data indicate the *ERCC4**p.Arg799Trp mutation is not a high-risk susceptibility allele for breast cancer and further studies are needed to define the clinical value for this mutation.

Keywords: *ERCC4/XPF/FANCQ* gene, hereditary breast cancer, Fankoni anemia, Xeroderma pigmentosum, mutation c.2395C>T (p.Arg799Trp), genetic susceptibility.