

КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА
И ЛЕЧЕНИЕ ЛИМФОИДНЫХ
ОПУХОЛЕЙ

LYMPHOID
MALIGNANCIES

Роль полиморфизма гена *TGF-β1* в развитии множественной миеломы

А.А. Павлова¹, Л.Н. Бубнова¹, Ю.В. Соколова¹,
Е.В. Карягина², С.С. Бессмельцев¹, И.Е. Павлова¹

¹ ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», 2-я Советская ул., д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

² ГБУЗ «Городская больница № 15», ул. Авангардная, д. 4, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 198205

Role of *TGF-β1* Gene Polymorphism in Development of Multiple Myeloma

A.A. Pavlova¹, L.N. Bubnova¹, Yu.V. Sokolova¹,
E.V. Karyagina², S.S. Bessmel'tsev¹, I.E. Pavlova¹

¹ Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology under the Federal Medico-Biological Agency, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

² Municipal Hospital No. 15, 4 Avangardnaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 198205

РЕФЕРАТ

Актуальность и цели. Множественная миелома (ММ) — опухолевое заболевание системы крови, характеризующееся неконтролируемой пролиферацией клональных плазматических клеток. В ряде исследований показано, что цитокин *TGF-β1* индуцирует рост опухолевого клона при ММ. Цель исследования — определить однонуклеотидные полиморфные варианты гена *TGF-β* (codon 10, codon 25), связанные с развитием ММ и влияющие на изменения в костях у жителей Северо-Западного региона России.

Методы. Обследовано 43 больных ММ (средний возраст $69,2 \pm 9,0$ года). Пациенты были разделены на две группы: 1-я — с выраженными остеолитическими поражениями костной ткани; 2-я — с проявлениями остеопороза и единичными очагами лизиса. Контрольную группу составили 40 здоровых доноров (средний возраст $49,8 \pm 10,1$ года).

Результаты. Установлено, что развитие ММ связано с генотипом *TGF-β1* codon 25 CC и гаплотипом *TGF-β1* codon 10/codon 25 T/C. Генотип *TGF-β1* codon 25 GG, наоборот, может рассматриваться как маркер устойчивости к развитию ММ. С остеопорозом ассоциирован генотип *TGF-β1* codon 25 GG. У больных с выраженными остеолитическими поражениями чаще выявлялся *TGF-β1* codon 25 GC.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об участии отдельных генотипов и гаплотипов *TGF-β1* в формировании предрасположенности к развитию ММ.

Ключевые слова: множественная миелома, цитокины, *TGF-β1*, однонуклеотидные полиморфные варианты.

Получено: 9 февраля 2015 г.

Принято в печать: 30 мая 2015 г.

ABSTRACT

Background & Aims. Multiple myeloma (MM) is a hematological malignancy characterized by uncontrolled proliferation of the clonal plasma cells. Studies showed that the *TGF-β1* cytokine induces growth of the tumor clone in MM. The aim of this study was to detect single nucleotide polymorphisms (SNP) of the *TGF-β* gene (codon 10, codon 25) associated with the development of MM and to determine risks of the bone disease development in residents of the Northwest Russia.

Methods. 43 patients with MM were examined (mean age: 69.2 ± 9.0 years). Patients were divided into two groups: the 1st group with severe osteolytic bone lesions and the 2nd one with signs of osteoporosis and solitary foci of lysis. The control group consisted of 40 healthy donors (mean age: 49.8 ± 10.1 years).

Results. The study demonstrated that MM was associated with *TGF-β1* codon 25 CC genotype and *TGF-β1* codon 10/codon 25 T/C haplotype. However, the *TGF-β1* codon 25 GG genotype can be considered a marker of resistance to development of MM. Osteoporosis was associated with the *TGF-β1* codon 25 GG genotype, whereas the *TGF-β1* codon 25 GC was detected more frequently in patients with severe osteolytic bone lesions.

Conclusion. The obtained results indicate that individual genotypes and haplotypes of *TGF-β1* are involved in the formation of predisposition to development of multiple myeloma.

Keywords: multiple myeloma, cytokines, *TGF-β1*, single nucleotide polymorphisms.

Received: February 9, 2015

Accepted: May 30, 2015

Для переписки: Анастасия Александровна Павлова, 2-я Советская ул., д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024; тел.: +7(812)717-08-90; e-mail: nas-pavlova@yandex.ru

Для цитирования: Павлова А.А., Бубнова Л.Н., Соколова Ю.В., Карягина Е.В., Бессмельцев С.С., Павлова И.Е. Роль полиморфизма гена *TGF-β1* в развитии множественной миеломы. Клиникогематол. 2015; 8(3): 274–280.

For correspondence: Anastasiya Aleksandrovna Pavlova, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024; Tel.: +7(812)717-08-90; e-mail: nas-pavlova@yandex.ru

For citation: Pavlova A.A., Bubnova L.N., Sokolova Yu.V., Karyagina E.V., Bessmel'tsev S.S., Pavlova I.E. Role of *TGF-β1* Gene Polymorphism in Development of Multiple Myeloma. *Klin. Onkogematol.* 2015; 8(3): 274–280. (In Russ.)

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) — опухолевое заболевание системы крови, характеризующееся неконтролируемой пролиферацией клональных плазматических клеток, которая обусловлена хромосомными нарушениями и патологией стромального микроокружения [1]. Около 25–30 % больных ММ относятся к группе высокого риска. Это пациенты с агрессивным течением опухоли и лекарственной резистентностью, которая представляет собой серьезное препятствие на пути успешного лечения [2–4].

Важную роль в контроле развития опухолевого клона играет иммунная система организма. Молекулярные и клеточные механизмы, лежащие в основе нарушения противоопухолевой защиты, в большинстве случаев в настоящее время остаются невыясненными. Это связано с недостатком фундаментальных знаний о многих звеньях иммунного ответа, а также о процессах инициации и развития реакций иммунной системы, направленных против опухолевого клона. Для некоторых злокачественных опухолей (например, ММ, рака молочной железы, шейки матки, различных лимфом) показана связь наличия в генотипе ряда определенных аллельных вариантов генов. Их продукты участвуют в презентации и распознавании пептидов и антигенов (МНС-I, МНС-II, ERAP1, KIR3D) организма клетками иммунной системы, а также ряда аллелей генов цитокинов (IL-1β, IL-10, IL-18, TNF) и их рецепторов [5–7].

Исследования последних лет показали, что цитокины являются медиаторами сложных взаимоотношений между иммунной системой организма и опухолью. С одной стороны, цитокины принимают участие в активации противоопухолевой защиты, направленной на лизис злокачественных клеток, с другой — они синтезируются опухолевыми клетками и способствуют прогрессии и метастазированию опухолей [8, 9]. Показано, что выраженность продукции цитокинов и уровень экспрессии их рецепторов определяются наследуемым человеком набором аллельных вариантов [10]. Цитокины, регулирующие рост опухолевого клона при ММ, условно делят на две группы: индуцирующие (IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α, TGF-β1) и ингибирующие (IL-2, IL-4, IFN-γ) [11]. Установлено, что при взаимодействии миеломных клеток с клетками стромального микроокружения костного мозга происходит активация продукции таких цитокинов, как IL-1β, TGF-β, TNF-α (рис. 1).

Трансформирующий фактор роста β1 (TGF-β1) индуцирует рост опухолевого клона при ММ путем повышения уровня интерлейкина (IL-6) и эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF), а также ингибирования пролиферации нормальных В-клеток и секреции иммуноглобулинов [13].

Одним из характерных симптомов ММ является боль в костях скелета, обусловленная процессами деструкции. Степень деструкции костной ткани может быть различной — от остеопороза до выраженных остеолитических поражений. При более агрессивном течении заболевания наблюдается выраженная резорбция костей. Она осуществляется остеокластами, происходящими из клеток-предшественниц линии дифференцировки моноцит-макрофаг с образованием неактивных остеокластов. Цитокины и гормоны регулируют образование и активность остеокластов. Активированные остеокласты, в свою очередь, вызывают резорбцию костной ткани и затем подвергаются апоптозу.

В усилении активности остеокластов участвует ряд остеокластогенных факторов, например, IL-1, IL-6, макрофагальный воспалительный белок-1α (MIP-1α) и RANKL — мембранный белок, цитокин семейства факторов некроза опухоли (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) [14]. Установлено, что при деструктивных костных поражениях резорбция костной ткани усиливается, в то время как дифференцировка остеобластов из клеток-предшественниц нарушается (рис. 2).

Это обусловлено секрецией белков-ингибиторов Wnt-сигнального пути, таких как SFRP-2 и SFRP-3 (secreted frizzled-related protein) и DKK1 (dickopf1). Кроме этих хорошо известных механизмов поражения костной ткани в резорбции костей при ММ принимает участие активированный TGF-β1, который ингибирует поздние этапы дифференцировки остеобластов и минерализацию матрицы [16]. Ген, кодирующий TGF-β1, локализован у человека на хромосоме 19p13.1–13.3, содержит 7 экзонов и 6 интронов, их экспрессия зависит от наличия однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP — single nucleotide polymorphism) [17]. К настоящему времени наиболее изученными из описанных SNP являются rs1800469 (T1347C или C-509T) в промоторной области, rs1800470 (rs1982073, codon 10, +10T/C, T869C или Leu10Pro) и rs1800471 (codon 25, G915C или Arg25Pro) в сигнальной последовательности (экзон 1). Известно, что продукция цитокинов находится под генетическим контролем. Полиморфизм регуляторных областей генов отдельных цитокинов коррелирует с изменениями их секреции. Codon 10 T/C и codon 25 G/C вместе дают гаплотипы, которые могут быть разделены на три группы в зависимости от уровня секреции TGF-β1: высокие продуценты (TG), средние продуценты (CG, TC) и низкие продуценты (CC) [18].

Исследования, посвященные изучению генов цитокинов при ММ, проводились в Румынии, Турции, США [11, 19, 20]. Результаты этих исследований показали, что в Турции у больных ММ чаще встречались генотипы *TGF-β1* codon 10 CC и *TGF-β1* codon 25 GC, тогда как в контрольной группе преобладали генотипы *TGF-β1* codon 10 CT и *TGF-β1* codon

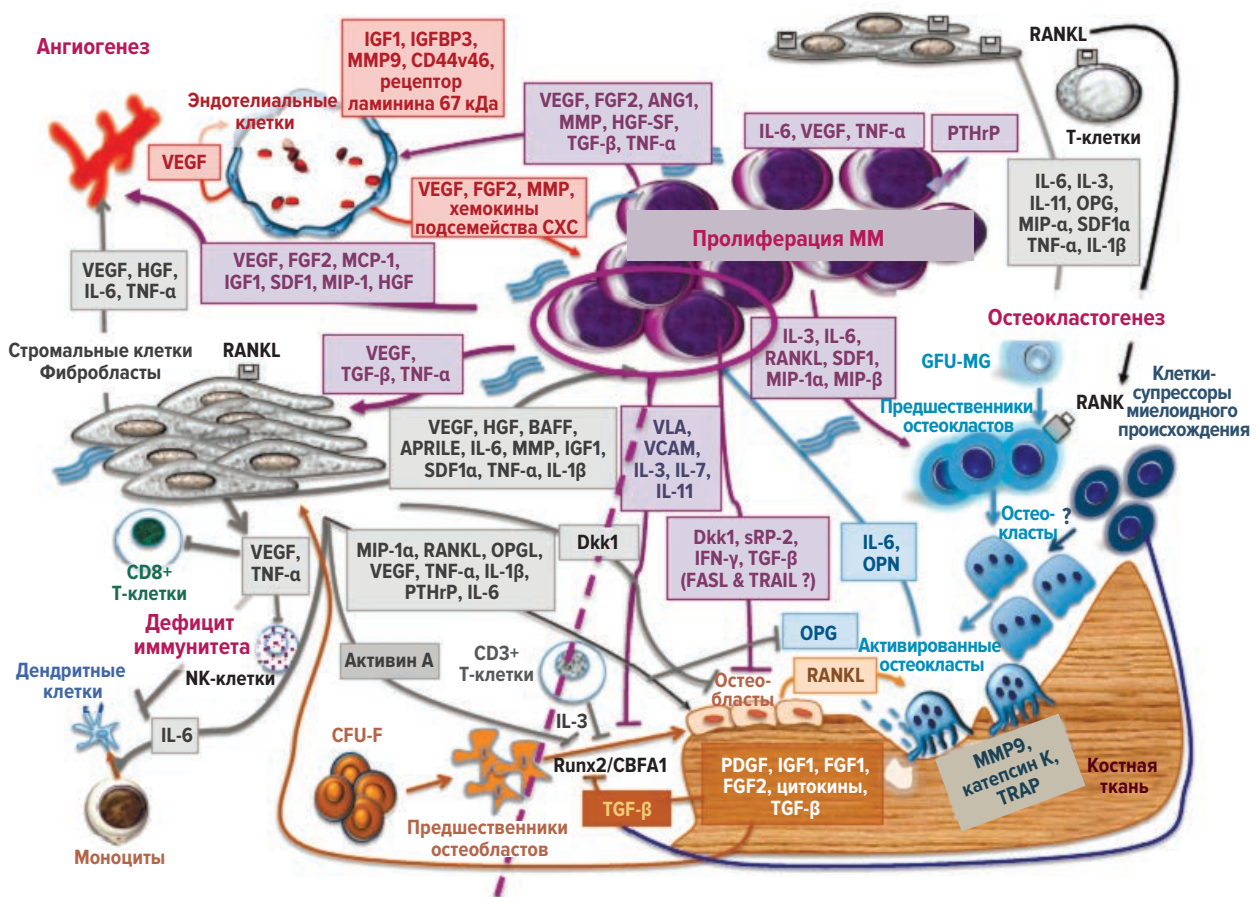


Рис. 1. Взаимодействие между клетками множественной миеломы и микроокружением костного мозга (цит. по [12])
 ANG1 — ангиопоэтин 1-го типа; BAFF — фактор активации В-клеток семейства TNF; CBFA1 — связывающий фактор ядра $\alpha 1$; CFU-F — колониеобразующие единицы фибробластов; CFU-MG — колониеобразующие единицы макрофагов и гранулоцитов; Dkk-1 — белок Dickkopf-1; FASL — Fas-лиганд; FGF — фактор роста фибробластов; HGF — фактор роста гепатоцитов; HGF-SF — фактор роста гепатоцитов рассеивающий; IFN — интерферон; IGF1 — инсулиноподобный фактор роста 1; IGF1R — рецептор IGF1; IGF1R3 — белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста; IL — интерлейкин; MCP-1 — моноцитарный хемоаттрактант белок 1; MIP — макрофагальный белок воспаления; MMP — матриксная металлопротеиназа; NK — естественные киллеры; OPG — остеопротегерин; OPL — лиганд OPG; OPN — остеопонтин; PDGF — тромбоцитарный фактор роста; PTHrP — паратгормон-связанный белок; RANK — рецептор активатора ядерного фактора каппа; RANKL — лиганд RANK; Runx2 — фактор транскрипции 2; SDF — фактор стромальных клеток; sRP-2 — частица, распознающая сигнал 2; TGF — трансформирующий фактор роста; TNF — фактор некроза опухоли; TRAIL — индуцирующий апоптоз лиганд, родственник TNF; TRAP — PHK-связывающий белок; VCAM — молекула соудисто-клеточной адгезии; VEGF — эндотелиальный фактор роста сосудов; VLA — очень поздний антиген.

Fig. 1. Interaction between cells of multiple myeloma and bone marrow microenvironment (cited according to [12])
 ANG1 — angiopoietin 1; BAFF — B-cell activating factor of TNF superfamily; CBFA1 — core-binding factor $\alpha 1$; CFU-F — fibroblast colony-forming unit; CFU-MG — granulocyte/macrophage colony-forming unit; Dkk — Dickkopf-related protein; FASL — Fas ligand; FGF — fibroblast growth factor; HGF — hepatocyte growth factor; HGF-SF — hepatocyte growth factor/scatter factor; IFN — interferon; IGF1 — insulin-like growth factor 1; IGF1R — insulin-like growth factor receptor 1; IGF1R3 — insulin-like growth factor receptor 3; IL — interleukin; MCP-1 — monocyte chemoattractant protein-1; MIP — macrophage inflammatory protein; MMP — matrix metalloproteinase; NK — natural killers; OPG — osteoprotegerin; OPL — OPG-ligand; OPN — osteopontin; PDGF — platelet-derived growth factor; PTHrP — parathyroid hormone-related protein; RANK — receptor activator of nuclear factor kappa; RANKL — RANK ligand; Runx2 — Runt-related transcription factor 2; SDF — stromal cell-derived factor; sRP-2 — signal recognition particle 2; TGF — transforming growth factor; TNF — tumor necrosis factor; TRAIL — TNF-related apoptosis-inducing ligand; TRAP — RNA-binding attenuation protein; VCAM — vascular cell adhesion molecule; VEGF — vascular endothelial growth factor; VLA — very late antigen.

25 GG [11]. В 2011 г. были представлены данные о том, что в Румынии в группе больных ММ чаще встречался генотип *TGF-β1* codon 10 TT с частотой 36 vs 13 % в контрольной группе [19]. В России связь SNP гена *TGF-β1* (codon 10 C/T, codon 25 G/C) с развитием ММ до настоящего времени не исследовали ни в одном регионе. Доказано, что отличия в модели аллельной ассоциации гена с тем или иным заболеванием объясняются генетической гетерогенностью разных этнических групп, поэтому определение ассоциативных связей между иммуногенетическими маркерами и развитием заболевания необходимо проводить в этнически гомогенных популяциях [10, 21].

Цель настоящего пилотного исследования — определить SNP гена *TGF-β1*, связанные с развитием ММ и влияющие на костные проявления заболевания у жителей Северо-Западного региона России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 43 больных ММ. Средний возраст пациентов составил $69,2 \pm 9,0$ года, было 29 женщин ($70,7 \pm 9,2$ года) и 14 мужчин ($66,1 \pm 8,2$ года). Диагноз ММ устанавливался при обнаружении в пунктате костного мозга более 10 % опухолевых плазматических

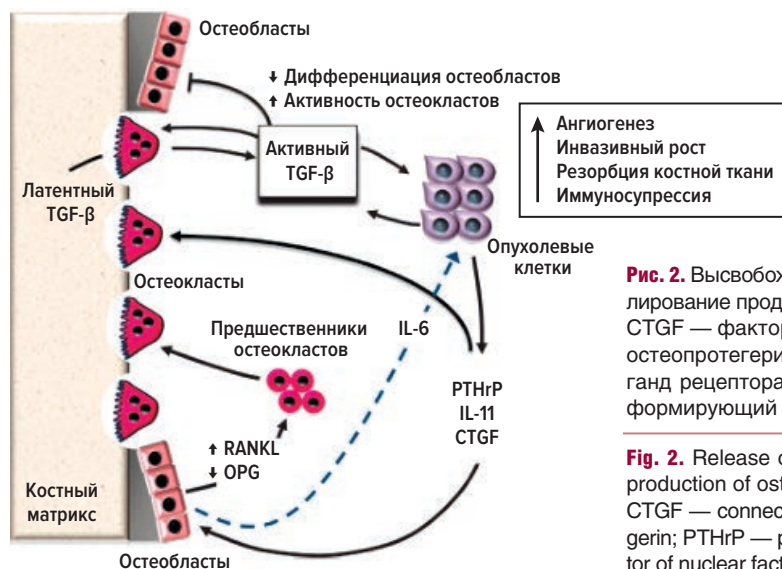


Рис. 2. Высвобождение TGF-β остеокластами из костного матрикса и стимулирование продукции остеолитических факторов [15]
 CTGF — фактор роста соединительной ткани; IL — интерлейкин; OPG — остеопротегерин; PTHrP — паратгормон-связанный белок; RANKL — лиганд рецептора активатора ядерного фактора каппаβ; TGF-β — трансформирующий фактор роста β.

Fig. 2. Release of TGF-β from bone matrix by osteoclasts and stimulation of production of osteolytic factors [15]
 CTGF — connective tissue growth factor; IL — interleukin; OPG — osteoprotegerin; PTHrP — parathyroid hormone-related protein; RANKL — receptor activator of nuclear factor kappaβ ligand; TGF-β — transforming growth factor β.

клеток, моноклонального иммуноглобулина (парапротеина) в сыворотке и/или моче и выявлении признаков поражения органов и тканей, связанных с плазмоклеточной пролиферацией (гиперкальциемия, почечная недостаточность, анемия и поражение костей скелета) [1]. Для диагностики костных повреждений выполняли рентгенографию черепа, всех отделов позвоночника, грудной клетки с проксимальными отделами плечевых костей, таза с проксимальными отделами бедренных костей. В зависимости от выявленных изменений пациенты были разделены на две группы: 1-я ($n = 19$) — с выраженными остеолитическими поражениями костной ткани (III стадия по классификации V.G.M. Durie и S.E. Salmon 1975 г.); 2-я ($n = 24$) — с картиной остеопороза и единичными очагами лизиса в костях (II стадия по классификации V.G.M. Durie и S.E. Salmon).

Пациенты получали различные программы терапии: VD (бортезомиб + дексаметазон), CVD (циклофосфамид + бортезомиб + дексаметазон), PAD (бортезомиб + доксорубин + дексаметазон), RVD (леналидомид + бортезомиб + дексаметазон). Результаты лечения оценивали с использованием критериев, разработанных European Group for Blood and Bone Marrow Transplant/International Bone Marrow Transplant Registry/American Bone Marrow Transplant Registry (EBMT/IBMTR/ABMTR) [22], дополненных экспертами Международной рабочей группы по миеломе (International Myeloma Working Group — IMWG) [23]. Поскольку выделение двух групп пациентов в зависимости от степени тяжести остеолитических поражений основано на состоянии костной ткани ко времени установления диагноза, а SNP гена *TGF-β1* не зависит от ответа на лечение, то в данной работе мы не анализировали результаты лечения больных ММ.

Контрольную группу составили 40 здоровых доноров (средний возраст $49,8 \pm 10,1$ года): 24 женщины ($50,4 \pm 5,3$ года) и 16 мужчин ($48,3 \pm 7,6$ года). Все обследованные лица контрольной группы — жители Северо-Западного региона (г. Санкт-Петербург), считающие себя и своих родителей русскими.

Геномную ДНК выделяли из ядросодержащих клеток периферической крови с использованием набора реагентов DNA BOX 500 (Protrans, Германия). Определение SNP промоторного региона гена *TGF-β1* (codon 10 C/T,

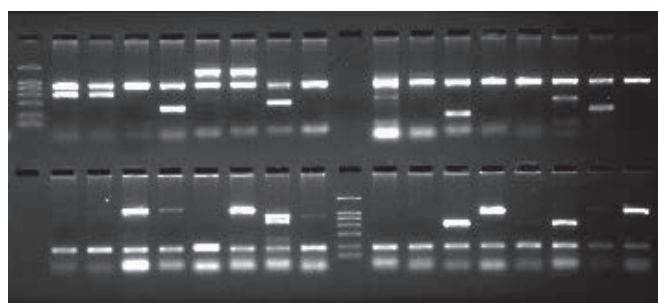


Рис. 3. Электрофорез в агарозном геле с добавлением бромистого этидия

Fig. 3. Agarose gel electrophoresis with addition of ethidium bromide

codon 25 G/C) проводили с помощью стандартного набора реагентов Cytokine Genotyping Kit (Invitrogen, США) посредством полимеразной цепной реакции (PCR-SSP). Визуализацию результатов PCR-SSP осуществляли посредством горизонтального электрофореза в агарозном геле (рис. 3).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью GraphPad QuickCalcs. Отклонения от распределения закона Харди—Вайнберга рассчитывали методом χ^2 с поправкой Йетса, значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании результатов типирования полиморфных участков гена *TGF-β1* (codon 10 C/T, codon 25 G/C) у больных ММ и здоровых лиц установлено, что частота генотипов и аллельных вариантов в общей когорте обследованных отличалась от результатов, полученных в контрольной группе (табл. 1).

Обращает на себя внимание тот факт, что все аллельные варианты и генотипы *TGF-β1* codon 10 C/T у больных ММ и в контрольной группе представлены практически с одинаковой частотой. Однако аллель С *TGF-β1* codon 25 G/C у больных выявлялся статистически значимо чаще, чем у здоровых лиц (0,186 и 0,088 соответственно; $p < 0,05$). Генотип *TGF-β1* codon 25 GG был наиболее распространен в контрольной группе и реже определялся у больных (0,825 и 0,674 соответственно;

Таблица 1. Частота аллелей и генотипов полиморфных участков гена *TGF-β1* у больных множественной миеломой

Полиморфный участок	Аллель/генотип	Пациенты (n = 43)	Контрольная группа (n = 40)
Codon 10 C/T	C	41 (0,477)	35 (0,438)
	T	45 (0,523)	45 (0,562)
	Генотип, число (частота)		
	CC	8 (0,186)	5 (0,125)
	CT	25 (0,581)	25 (0,625)
	TT	10 (0,233)	10 (0,250)
Codon 25 G/C	Аллель, число (частота)		
	G	70 (0,814)	73 (0,912)
	C	16 (0,186)*	7 (0,088)
	Генотип, число (частота)		
	GG	29 (0,674)*	33 (0,825)
	GC	12 (0,279)*	7 (0,175)
	CC	2 (0,047)*	0

* Различия статистически значимы.

Таблица 2. Частота гаплотипов гена *TGF-β1* codon 10/codon 25 у больных множественной миеломой

<i>TGF-β1</i>	Продуценты	Гаплотип, n (%)	
		ММ	Контроль
Codon 10/codon 25 C/G	Средние	29 (21,8)	25 (20,0)
Codon 10/codon 25 C/C	Низкие	10 (7,5)	7 (5,6)
Codon 10/codon 25 T/G	Высокие	33 (24,8)	34 (27,2)
Codon 10/codon 25 T/C	Средние	4 (3,0)*	0
Codon 10 C (del)		25 (18,8)	24 (19,2)
Codon 10 T (del)		32 (24,1)	35 (28,0)

* Различия статистически значимы.

$p < 0,05$). Кроме того, генотип *TGF-β1* codon 25 CC, выявленный в группе больных ММ с частотой 0,047, отсутствовал у здоровых лиц ($p < 0,05$).

Гаплотип *TGF-β1* codon 10/codon 25 T/C был выявлен только в группе больных ММ и отсутствовал в контрольной группе ($p < 0,05$). Других различий в частоте гаплотипов *TGF-β1* codon 10/codon 25 между общей группой больных ММ и группой здоровых лиц нами не выявлено (табл. 2).

Принимая во внимание данные литературы о том, что гаплотипы гена *TGF-β1* codon 10/codon 25 могут быть разделены на три группы в зависимости от уровня секреции *TGF-β1* (TG — высокие продуценты, CG и TC — средние продуценты, CC — низкие продуценты), представилось актуальным проанализировать полученные нами результаты с этой точки зрения. Было установлено, что среди обследованных больных ММ, так же как и в контрольной группе здоровых лиц, высокие и средние продуценты встречались чаще, чем низкие (см. табл. 2). Следует отметить, что среди средних продуцентов из числа больных ММ преобладали лица с гаплотипом *TGF-β1* codon 10/codon 25 CG и значительно реже выявлялись средние продуценты с гаплотипом *TGF-β1* codon 10/codon 25 TC (21,8 и 3,0 % соответственно; $p < 0,05$). В контрольной группе все выявленные средние продуценты имели одинаковый гаплотип *TGF-β1* codon 10/codon 25 CG (см. табл. 2).

Анализ частоты генотипов и аллельных вариантов *TGF-β1* codon 10 C/T у больных ММ в зависимости от наличия или отсутствия выраженных остеолитических поражений выявил несколько статистически значимых различий как между больными и здоровыми лицами, так и в различных группах пациентов (табл. 3). Наиболее выраженные различия наблюдались между пациентами с выраженными остеолитическими поражениями (III стадия) и контрольной группой: у больных чаще, чем у здоровых лиц, выявлялся аллель C и реже — аллель T (0,526 к 0,438 — для C; 0,474 к 0,562 — для T; $p < 0,05$). Частота генотипа *TGF-β1* codon 10 TT в группе больных с остеопорозом (II стадия) и в контрольной группе была практически одинаковой (0,292 и 0,250). В то же время у больных с выраженными остеолитическими поражениями этот генотип встречался значительно реже (0,158; $p < 0,05$).

При сравнении аллельных вариантов *TGF-β1* codon 25 G/C установлено, что у больных ММ с выраженными остеолитическими поражениями по сравнению со здоровыми лицами значительно чаще выявлялся аллель C (0,263 и 0,088 соответственно; $p < 0,05$) и несколько реже — аллель G (0,737 и 0,912; $p < 0,05$). При этом генотип *TGF-β1* codon 25 GG, наиболее распространенный

Таблица 3. Частота аллелей и генотипов полиморфных участков гена *TGF-β1* у больных множественной миеломой в зависимости от наличия или отсутствия выраженных остеолитических поражений

Полиморфный участок	Аллель/генотип	¹ Больные ММ (остеопороз), n = 24	² Больные ММ (выраженные остеолитические поражения), n = 19	³ Контрольная группа, n = 40	p
Codon 10 C/T	C	21 (0,438)	20 (0,526)*	35 (0,438)	* $p^{2,3}$
	T	27 (0,562)	18 (0,474)*	45 (0,562)	* $p^{2,3}$
	Генотип, число (частота)				
	CC	4 (0,166)	4 (0,210)	5 (0,125)	$p^{1,2,3}$
	CT	13 (0,542)*	12 (0,632)	25 (0,625)	* $p^{1,2,3}$
	TT	7 (0,292)*	3 (0,158)	10 (0,250)	* $p^{1,2}$
Codon 25 G/C	Аллель, число (частота)				
	G	42 (0,875)	28 (0,737)*	73 (0,912)	* $p^{2,3}$
	C	6 (0,125)	10 (0,263)*	7 (0,088)	* $p^{2,3}$
	Генотип, число (частота)				
	GG	19 (0,792)	10 (0,526)*	33 (0,825)	* $p^{2,3}$
	GC	4 (0,167)	8 (0,421)*	7 (0,175)	* $p^{1,2,3}$
	CC	1 (0,041)*	1 (0,053)*	0	* $p^{1,2,3}$

Цифра в верхнем индексе обозначает группу.

* Различия статистически значимы.

у здоровых лиц (0,825), значительно реже встречался в группе больных с выраженными остеолитическими поражениями (0,526; $p < 0,05$). Следует отметить, что генотип *TGF-β1* codon 25 CC, отсутствующий в контрольной группе, был выявлен как в группе больных с остеопорозом, так и с выраженными остеолитическими поражениями (0,041 и 0,053; $p < 0,05$) (см. табл. 3).

В обеих группах больных ММ, так же как и в контрольной группе, высокие и средние продуценты с гаплотипами *TGF-β1* codon 10/codon 25 TG и *TGF-β1* codon 10/codon 25 CG встречались чаще, чем низкие с гаплотипом *TGF-β1* codon 10/codon 25 CC (табл. 4). Число средних продуцентов с гаплотипом *TGF-β1* codon 10/codon 25 CG во всех обследованных группах было практически одинаковым и составило 20–23 %. Доля высоких продуцентов с гаплотипом codon 10/codon 25 T/G во всех группах находилась в диапазоне 21,5–27 %. Следует отметить, что среди больных ММ с выраженными остеолитическими поражениями были выявлены средние продуценты с гаплотипом с *TGF-β1* codon 10/codon 25 TC (4,6 %), а в группе с остеопорозом этот гаплотип был обнаружен только у 1 пациента, тогда как у здоровых лиц гаплотип *TGF-β1* codon 10/codon 25 TC отсутствовал.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, несмотря на то что ММ к настоящему времени является одним из наиболее хорошо изученных онкогематологических заболеваний, разнообразие клинических проявлений, различная степень выраженности плазмоклеточной инфильтрации в костном мозге, парапротеинемии, оссалгии зачастую усложняют своевременную диагностику этой злокачественной опухоли и прогнозирование ее течения. Во многом это обусловлено особенностями клеток опухолевого клона и спецификой их взаимодействия с другими клетками, опосредованного в значительной мере цитокинами [12].

В связи с этим поиск дополнительных критериев развития и прогноза течения ММ среди как характеристик опухолевого клона, так и индивидуальных особенностей противоопухолевой защиты организма является актуальной задачей современной онкогематологии.

К числу наиболее перспективных маркеров развития опухолевого клона относится *TGF-β1*, поскольку он вовлечен в регуляцию процессов клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Полиморфные варианты гена *TGF-β1* рассматриваются в качестве потенциальных молекулярных маркеров опухолевой прогрессии [17, 24, 25].

Результаты нашего исследования SNP гена *TGF-β1* в группе больных ММ, проживающих в Северо-Западном регионе России, позволили установить, что наибольшие различия между здоровыми лицами и больными касаются генотипов и аллельных вариантов полиморфного участка гена *TGF-β1* codon 25 G/C. Развитие ММ связано с генотипом *TGF-β1* codon 25 CC и гаплотипом *TGF-β1* codon 10/codon 25 T/C, обуславливающим средний уровень продукции *TGF-β1*.

Генотип *TGF-β1* codon 25 GG, выявленный у больных ММ со значительно меньшей частотой, чем у здоровых лиц, вероятно, может рассматриваться, напротив, как маркер устойчивости к развитию этого заболевания. При этом нам не удалось установить гаплотип *TGF-β1* codon 10/codon 25, обладающий протективными свойствами.

Анализ полученных результатов в двух группах больных ММ в зависимости от характера и тяжести поражения костной ткани показал, что генотип *TGF-β1* codon 25 GG связан с развитием остеопороза. Генотип *TGF-β1* codon 25 GC и гаплотип *TGF-β1* codon 10/codon 25 TC выявлялись в более поздних стадиях ММ и ассоциированы с развитием тяжелых остеолитических поражений костей.

Полученные результаты позволяют предположить, что именно аллель С гена *TGF-β1* codon 25, а также генотип *TGF-β1* codon 25 GC и гаплотип *TGF-β1* codon 10/codon 25 TC являются определяющими факторами активации латентной формы *TGF-β1* в матриксе костной ткани. Это приводит к образованию активной формы *TGF-β1*, способного подавлять дифференцировку остеобластов и стимулировать активность остеокластов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совокупность полученных результатов свидетельствует о значении отдельных генотипов *TGF-β1* (codon 25 G/C) и гаплотипов *TGF-β1* (codon 10/codon 25 G/C) в развитии ММ. Проведенное нами исследование доказывает необходимость продолжать изучение роли иммуногенетических факторов в развитии опухолей системы крови, в частности ММ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Таблица 4. Частота гаплотипов гена *TGF-β1* codon 10/codon 25 у больных множественной миеломой (с наличием или отсутствием выраженных остеолитических поражений)

<i>TGF-β1</i>	Продуценты	Гаплотип, n (%)			p
		¹ Контрольная группа, n = 40	² Больные ММ (остеопороз), n = 24	³ Больные ММ (выраженные остеолитические поражения), n = 19	
Codon 10/codon 25 C/G	Средние	25 (20,0)	14 (20,59)	15 (23,08)*	*p ^{1,3}
Codon 10/codon 25 C/C	Низкие	7 (5,6)	4 (5,88)	6 (9,23)*	*p ^{1,3}
Codon 10/codon 25 T/G	Высокие	34 (27,2)	19 (27,94)	14 (21,54)*	*p ^{1,3} *p ^{2,3}
Codon 10/codon 25 T/C	Средние	0	1 (1,47)	3 (4,63)*	*p ^{1,3}
Codon 10 C (del)		24 (19,2)	12 (17,65)	13 (20,0)*	*p ^{2,3}
Codon 10 T (del)		35 (28,0)	18 (26,47)	14 (21,54)*	*p ^{1,3}

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: А.А. Павлова, И.Е. Павлова.

Сбор и обработка данных: А.А. Павлова, И.Е. Павлова, Ю.В. Соколова.

Предоставление материалов исследования: С.С. Бессмельцев, Е.В. Карягина.

Анализ и интерпретация данных: А.А. Павлова, И.Е. Павлова, С.С. Бессмельцев.

Подготовка рукописи: А.А. Павлова, И.Е. Павлова, С.С. Бессмельцев.

Окончательное одобрение рукописи: И.Е. Павлова, С.С. Бессмельцев.

Административная поддержка: Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Бессмельцев С.С. Множественная миелома (патогенез, клиника, диагностика, дифференциальный диагноз). Часть I, II. Клиническая онкогематология. 2013; 6(3, 4): 237–257, 379–414.
[Bessmel'tsev S.S. Multiple myeloma (pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, differential diagnosis). Part I, II. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2013; 6(3, 4): 237–257, 379–414. (In Russ.)]
2. Черныш Н.Ю., Бессмельцев С.С., Козлов А.В. и др. Апоптотическая активность клеток костного мозга больных множественной миеломой. Вестник гематологии. 2009; 5(3): 5–11.
[Chernysh N.Yu., Bessmel'tsev S.S., Kozlov A.V. et al. Apoptotic activity of bone marrow cells of patients with multiple myeloma. *Vestnik gematologii*. 2009; 5(3): 5–11. (In Russ.)]
3. Badros A. In the age of novel therapies, what defines high-risk multiple myeloma. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 2010; 8: 28–34.
4. Сvirnovskii A.I., Grigorovich S.A. Плейотропная резистентность опухолевых клеток к терапевтическим воздействиям при В-клеточных лимфопрлиферативных заболеваниях. Медицинские новости. 2005; 9: 5–16.
[Svirnovskii A.I., Grigorovich S.A. Pleiotropic resistance of tumor cells to therapeutic actions in B-cell lymphoproliferative disorders. *Meditsinskie novosti*. 2005; 9: 5–16. (In Russ.)]
5. Zheng C., Huang D.R., Bergenbrant S. et al. Interleukin 6, tumour necrosis factor α , interleukin 1 β and interleukin 1 receptor antagonist promoter or coding gene polymorphisms in multiple myeloma. *Br. J. Haematol.* 2000; 109: 39–45.
6. Atoum M.F., Tanashat R.Q., Mahmoud S.A. Negative association of the HLA-DQB1*02 allele with breast cancer development among Jordanians. *Asian Pacif. J. Cancer Prev.* 2013; 14(11): 7007–10.
7. Stern M., Opelz G., Dohler B. et al. Natural killer-cell receptor polymorphisms and posttransplantation non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2010; 115(19): 3960–5.
8. Lin W.W., Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation and cancer. *J. Clin. Invest.* 2007; 117(5): 1175–83.
9. Landskron G., De la Fuente M., Thuwajit P. et al. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J. Immunol. Res.* 2014; 2014: 1–19.
10. Коненков В.И., Смольникова М.В. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов. Медицинская иммунология. 2003; 5(1–2): 11–28.
[Konenkov V.I., Smol'nikova M.V. Structural matrix and functional significance of allelic polymorphism of human cytokine genes and their receptors. *Meditsinskaya immunologiya*. 2003; 5(1–2): 11–28. (In Russ.)]
11. Kekik C., Besik S., Oguz F.S. et al. Determination of cytokine gene polymorphisms in Turkish patients with multiple myeloma. *Adv. Mol. Med.* 2007; 3(4): 189–95.
12. Ferrarini M., Mazzoleni G., Steimberg N. et al. Innovative models to assess multiple myeloma biology and the impact of drugs. In: Multiple myeloma — a quick reflection on the fast progress. Ed. by R. Hajek. InTech, 2013.
13. Yasui H., Hideshima T., Anderson K.C. Inhibition of TGF- β Signaling in Multiple Myeloma and Its Bone Marrow Microenvironment. In: Transforming Growth Factor- β in Cancer Therapy. Vol. II. Ed. by S.B. Jakowlew. Springer, 2008: 219–27.
14. Павлова А.А., Павлова И.Е., Бессмельцев С.С. Цитокины и их роль в патогенезе множественной миеломы (Обзор литературы). Medline.ru. 2013; 14: 313–35.
[Pavlova A.A., Pavlova I.E., Bessmel'tsev S.S. Cytokines and their role in pathogenesis of multiple myeloma (Literature review). *Medline.ru*. 2013; 14: 313–35. (In Russ.)]
15. Buijs J.T., Stayrook K.R., Guise T.A. The role of TGF- β in bone metastasis: novel therapeutic perspectives. *BoneKey Rep.* 2012; 1: 96. doi: 10.1038/bonekey.2012.96.
16. Matsumoto T., Abe M. TGF- β -related mechanisms of bone destruction in multiple myeloma. *Bone.* 2011; 48(1): 129–34.
17. Chen D., Zhao M., Mundy G.R. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors.* 2004; 22(4): 233–41.
18. Mytilineos J., Laux G., Opelz G. Relevance of IL-10, TGF- β 1, TNF- α and IL-4R α gene polymorphisms in kidney transplantation: a collaborative transplant study report. *Am. J. Transplant.* 2004; 4: 1684–90.
19. Banu C., Moise A., Arion C.V. et al. Cytokine gene polymorphisms support diagnostic monitoring of Romanian multiple myeloma patients. *J. Med. Life.* 2011; 4(3): 264–8.
20. Brown E.E., Lan Q., Zheng T. et al. Common variants in genes that mediate immunity and risk of multiple myeloma. *Int. J. Cancer.* 2007; 120: 2715–22.
21. Барсова Р.М., Титов Б.В., Матвеева Н.А. и др. Участие гена TGFB1 в формировании предрасположенности к инфаркту миокарда. *Acta Nat.* 2012; 4(2): 76–82.
[Barsova R.M., Titov B.V., Matveeva N.A. et al. Involvement of the TGFB1 gene in predisposition to myocardial infarction. *Acta Nat.* 2012; 4(2): 76–82. (In Russ.)]
22. Blade J., Samson D., Reece D. et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br. J. Haematol.* 1998; 102(5): 1115–23.
23. Durie B.G.M., Harousseau J.-L., San-Miguel J. et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 2006; 20(9): 1467–73.
24. Бабышклина Н.Н., Малиновская Е.А., Стахеева М.Н. и др. Роль трансформирующего ростового фактора TGF- β 1 в патогенезе рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2010; 6(42): 63–70.
[Babyschkina N.N., Malinovskaya E.A., Stakheeva M.N. et al. Role of transforming growth factor TGF- β 1 in pathogenesis of breast cancer. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal*. 2010; 6(42): 63–70. (In Russ.)]
25. Wrzesinnski S.H., Wan Y.Y., Flavell R.A. Transforming growth factor- β and the immune response: implications for anticancer therapy. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13(18): 5262–70.