

ГИПЕРЭКСПРЕССИЯ *IGF-1* – НЕБЛАГОПРИЯТНЫЙ ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

С.С. Шушанов¹, Т.А. Кравцова¹, А.В. Вайман¹, Н.П. Акентьева², Ю.Б. Черных³

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²ФГБУН «Институт проблем химической физики РАН»; Россия, 142432 Московская обл.,
Черноголовка, пр-т Академика Семенова, 1;

³ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»;
Россия, 129110 Москва, ул. Щепкина, 61/2

Контакты: Саин Сакенович Шушанов sainHershy@yandex.ru

Введение. Инсулиноподобные факторы роста (IGF) являются одними из широко изучаемых факторов в онкологии. Для опухолей с высоким уровнем экспрессии IGF характерен послеоперационный рецидив, они являются инвазивными и дают отдаленные метастазы. Также имеются данные об участии IGF в возникновении резистентности к противоопухолевым препаратам. Механизмы, определяющие влияние IGF на прогрессию ряда злокачественных новообразований, остаются нераскрытыми, и проведение фундаментальных исследований в этом направлении является актуальным.

Цель исследования – изучить роль IGF 1-го типа (IGF-1) при множественной миеломе (ММ) человека.

Материалы и методы. Исследовано 26 образцов костномозговых аспиратов, полученных от 26 больных – 14 мужчин и 12 женщин. У всех пациентов была диагностирована ММ III стадии. Возраст пациентов составлял от 52 до 72 лет. Из образцов костномозговых аспиратов с помощью центрифугирования в градиенте Ficoll получали мононуклеарную фракцию клеток костного мозга, содержащую плазматические клетки. Далее проводили процедуру выделения РНК и с использованием полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией исследовали экспрессию мРНК генов IGF-1 и MDR1/ABCB1.

Результаты. Проведен анализ общей выживаемости (ОВ) пациентов с ММ в зависимости от экспрессии гена IGF-1. Показано, что для пациентов с ММ, у которых наблюдается высокий уровень экспрессии IGF-1, характерно уменьшение показателя ОВ и, наоборот, при слабой экспрессии IGF-1 или при отсутствии его экспрессии наблюдается увеличение ОВ. Исследования экспрессии гена IGF-1 и гена MDR1/ABCB1, ответственного за возникновение множественной лекарственной устойчивости, показали, что у больных ММ эти гены коэкспрессируются.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что высокий уровень экспрессии гена IGF-1 может являться неблагоприятным прогностическим фактором при ММ. IGF-1 может участвовать в регуляции механизмов возникновения множественной лекарственной устойчивости у больных ММ.

Ключевые слова: множественная миелома, общая выживаемость, IGF-1, MDR1/ABCB1

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-42-49

THE OVEREXPRESSION OF *IGF-1* IS A POOR PROGNOSTIC FACTOR IN MULTIPLE MYELOMA

S.S. Shushanov¹, T.A. Kravtsova¹, A.V. Vaiman¹, N.P. Akentieva², Yu.B. Chernykh³

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences;

1 Prospect Akademika Semenova, Chernogolovka, Moscow region 142432, Russia;

³M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute; 61/2 Shchepkina St., Moscow 129110, Russia

Introduction. Insulin-like growth factors (IGF) are one of the widely studied factors in oncology. For tumors with a high expression level of IGF typical postoperative relapse, they are invasive and give distant metastases. There are also data on the participation of IGF in the emergence of resistance to anticancer drugs. The mechanisms that determine the influence of insulin-like growth factors on the progression of a number of malignant neoplasms remain undisclosed and carrying out fundamental research in this direction is relevant.

Objective: to study the role of IGF type 1 (IGF-1) in multiple myeloma (MM).

Materials and methods. 26 samples of bone marrow aspirates received from 26 patients – 14 men and 12 women – were studied in the work. All patients were diagnosed with stage III MM. The age of patients ranged from 52 to 72 years. From the obtained bone marrow aspirates, using centrifugation in the Ficoll gradient, a mononuclear fraction of bone marrow cells containing plasma cells was obtained. Then we carried out the procedure of extracting RNA and using polymerase chain reaction with reverse transcription, we studied the expression of mRNA of the genes of IGF-1 and MDR1/ABCB1.

Results. The paper analyzes the overall survival (OS) of patients with MM depending on the expression of the gene *IGF-1*. It is shown that for patients with MM who have a high level of *IGF-1* expression, a decrease in OS is characteristic and, conversely, with a weak expression of *IGF-1* or in the absence of its expression, an increase in OS is observed. Studies of expression of *IGF-1* gene and *MDR1/ABCB1* gene responsible for the occurrence of multiple drug resistance showed that these genes are co-expressed in patients with MM.

Conclusion. The obtained results indicate that the high level of *IGF-1* gene expression may be a poor prognostic factor in MM. *IGF-1* may participate in regulation of the mechanisms of emergence of multiple drug resistance in patients with MM.

Key words: multiple myeloma, overall survival, *IGF-1*, *MDR1/ABCB1*

Введение

Множественная миелома (ММ) относится к В-лимфоплазмочитарным злокачественным заболеваниям с сохраненной функцией синтеза опухолевой клеткой моноклонального иммуноглобулина парапротеина. Она составляет 1 % от всех онкологических заболеваний и немногим более 10 % среди всех гемобластозов [1]. Одним из свойств клеток ММ является их способность мигрировать и локализоваться в костном мозге [1, 2]. В микроокружении костного мозга клетки ММ взаимодействуют с клетками стромы костного мозга и активируют в них транскрипцию и секрецию различных цитокинов и факторов роста [3–5]. Воздействие этих факторов на миеломные клетки может придать им более агрессивные свойства — стимулировать размножение, усилить выживаемость, активировать механизмы возникновения лекарственной устойчивости и др. Поэтому исследование роли цитокинов и факторов роста в злокачественной прогрессии ММ является актуальным и ему посвящено немало работ.

Одним из активно исследуемых факторов роста при ММ является инсулиноподобный фактор роста 1 (*IGF-1*). *IGF-1* в большом количестве присутствует в сыворотке крови пациентов с ММ, а также в микроокружении костного мозга, где он продуцируется различными типами клеток, в том числе фибробластами и остеобластами. Предполагается, что клетки ММ получают от *IGF-1* дополнительную паракринную стимуляцию. Подтверждением этого сценария был выявленный факт, что для выживания клеток ММ, полученных от больных, необходима экзогенная активация *IGF-1*-зависимого сигнального пути [1]. В литературе имеются данные о том, что активация *IGF-1*-зависимого сигнального пути может придать клеткам ММ более агрессивные свойства — стимулировать пролиферацию и усилить их выживаемость [6, 7].

Мы обнаружили, что для пациентов с ММ, у которых наблюдается высокий уровень экспрессии гена *IGF-1*, характерна низкая общая выживаемость (ОВ) и, наоборот, когда уровень экспрессии гена *IGF-1* низкий, наблюдается высокая ОВ. Молекулярные механизмы, объясняющие взаимосвязь между экспрессией *IGF-1* и показателем ОВ, не изучены. Мы предположили, что одним из механизмов,

объясняющих низкую ОВ пациентов с ММ, может являться *IGF-1*-зависимая гиперэкспрессия гена ABC-транспортера *MDR1/ABCB1*. Известно, что этот ген у многих больных ММ гиперэкспрессируется и приводит к развитию множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), которая становится основной причиной потери ответа на лечение и, как следствие, причиной смертности [8–10]. Для проверки этого предположения в образцах костномозговых пунктатов, полученных от больных ММ, нами была исследована экспрессия генов *IGF-1* и *MDR1/ABCB1*. В ходе исследования мы установили, что у больных ММ эти гены коэкспрессируются.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что *IGF-1* может участвовать в регуляции возникновения МЛУ у больных ММ и что высокая экспрессия гена *IGF-1* может являться неблагоприятным прогностическим фактором при ММ.

Материалы и методы

В работе было исследовано 26 образцов, полученных от 26 больных — 14 мужчин и 12 женщин. У всех пациентов была диагностирована ММ III стадии. Возраст пациентов составлял от 52 до 72 лет. Диагноз ММ устанавливался на основании плазмоклеточной инфильтрации костного мозга, иммунохимического исследования сыворотки крови и мочи, рентгенологических данных. Стадирование на момент диагностики проводили по общепринятой системе B.G.M. Durie и S.E. Salmon [11]. Мононуклеарная фракция костного мозга содержала более 70 % опухолевых плазматических клеток. Иммунохимическим исследованием установлено, что у 8 пациентов плазматические клетки секретируют PIg (патологический иммуноглобулин) G kappa (Gκ), у 3 — PIg G lambda (Gλ), у 5 — PIg G kappa + Bj kappa (Gκ + BJκ), у 1 — PIg Bj + A lambda (BJ/Aλ), у 4 — PIg A kappa (Aκ), у 2 больных была определена секреция PIg M kappa (Mκ), у 1 пациента BJ и у 2 пациентов PIg не определяли. На момент исследования у всех больных была зарегистрирована клиническая резистентность к схемам химиотерапии, содержащим алкилирующие агенты: схема CSVP (циклофосфан, сарколизин, винкристин, преднизолон) и схема M2 (мелфалан, циклофосфан, ломустин, винкристин, преднизолон).

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности специфичных праймеров к исследуемым генам, размер продукта, температура отжига праймеров и количество циклов, используемых в ПЦР

Ген	Название праймера	Нуклеотидная последовательность	Размер продукта, п. о.	Температура отжига праймера, °С	Количество циклов
<i>MDR1</i>	MDR1-F MDR1-R	5'-CCCATCATTGCAATAGCAGG-3' 5'-GTTCAAACCTCTGCTCCTGA-3'	167	60	34
<i>IGF-1</i>	IGF-1-F IGF-1-R	5'-GGACCGGAGACGCTCTGCGG-3' 5'-TCTACTTGCGTTCTTCAAAT-3'	284	60	36
<i>GAPDH</i>	GAPDH-F GAPDH-R	5'-CCCCTGGCCAAGGTCATCCATGACAACCTTT-3' 5'-GGCCATGAGGTCCACCACCTGTTGCTGTA-3'	513	60	23

Выделение РНК из клеток костного мозга и электрофорез. Для исследования экспрессии генов от больных получали костномозговой пунктат (аспират), из которого в дальнейшем выделяли РНК. С этой целью клетки костного мозга наслаивали на 3 мл Ficoll и центрифугировали при 1500 об/мин 30 мин, после чего на границе раздела фаз отбирали моонуклеарную фракцию клеток костного мозга, содержащую плазматические клетки. Далее отобранные клетки переносили в пробирку с 8 мл раствора Эрла, пересаживали центрифугированием при 1500 об/мин 10 мин и отмывали в 2–3 мл раствора Эрла. К осадку клеток добавляли 1 мл тризола (Trizol, Sigma, США). Процедура выделения РНК проводили согласно стандартному протоколу. Электрофорез выделенной РНК выполняли в 1 % агарозном геле при напряжении 100 В в течение 30–40 мин. Качество выделенной РНК оценивали по наличию полос рибосомальной РНК. Концентрацию РНК определяли по оптическому поглощению при длине волны 260 нм.

Полуколичественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Экспрессию мРНК исследуемых генов определяли полуколичественным методом ОТ-ПЦР. Реакционная смесь для синтеза кДНК содержала: 2 мкг тотальной клеточной РНК; 4 мкл «случайных» праймеров (гексануклеотиды) («Литех», Россия); 2 мМ смеси dNTP (MBI Fermentas); 2–4 ед. ингибитора РНКаз (MBI Fermentas); 100 ед. обратной транскриптазы М-MuLV (MBI Fermentas). Объем смеси составлял 25 мкл. Синтез кДНК с матрицы РНК проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) со следующими параметрами: обратная транскрипция –42 °С, 50 мин; денатурация –94 °С, 5 с. Для наработки продуктов ПЦР составляли реакционную смесь, содержащую: 1 мкл раствора кДНК; 20 пкмоль каждого из праймеров; 2 мМ смеси dNTP (MBI Fermentas); 2,5 мкл 10-кратного буфера с (NH₄)₂SO₄ (MBI Fermentas), 25 мМ MgCl₂; 1 ед. Taq-ДНК полимеразы; H₂O до конечного объема 25 мкл; минерального масла – 30 мкл. Реакцию амплификации проводили

на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) по следующей схеме: денатурация –94 °С, 10 с; отжиг – T_m , 10 с; синтез –72 °С, 20 с. Нами подобраны оптимальные условия ОТ-ПЦР для достижения линейной зависимости между числом циклов и количеством продуктов ПЦР. Значения температуры T_m , число циклов ПЦР для каждого из генов, а также нуклеотидные последовательности использованных специфических праймеров приведены в табл. 1. В качестве внутреннего контроля для оценки количества взятой в реакцию РНК определяли экспрессию мРНК гена *GAPDH* (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа). Продукты реакции ОТ-ПЦР анализировали с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле с добавлением 0,5 мкг/мл бромистого этидия. Гель фотографировали при ультрафиолетовом возбуждении с помощью цифровой камеры Samsung CCTV LENZ. Размеры фрагментов оценивали в соответствии с расположением полос маркерной ДНК, а числовое значение интенсивности свечения продуктов ПЦР оценивали денситометрированием с использованием компьютерной программы Scion Image-Release Alpha 4.0.3.2. Приведенные в табл. 2 и 3 цифры соответствуют нормализованным значениям показателей экспрессии *IGF-1/GAPDH* и *MDR1/GAPDH*. Для удобства нами использованы знаки «+» и «–». При этом «–» означает, что экспрессия гена отсутствует; «+/-» – экспрессия гена в цифровом значении в интервале 0,5 < d ; «+» – экспрессия гена в цифровом значении в интервале (0,5 ≤ d < 1,5); «++» – экспрессия гена в интервале (1,5 ≤ d < 2,5); «+++» – экспрессия гена в интервале (2,5 ≤ d < 3,5) и т. д., где d – нормализованное значение экспрессии мРНК исследуемого гена.

Статистическая обработка данных. Для статистического анализа полученных данных использовалась программа GraphPad Prizm 5.02 (GraphPad Software Inc). Для определения значимых различий применяли t-критерий Стьюдента при сравнении 2 групп. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для оценки корреляционной зависимости между экспрессией исследуемых генов использовали метод

Таблица 2. Уровень экспрессии мРНК *IGF-1* у больных ММ

Уровень экспрессии мРНК	№ образца, полученного от больного ММ	<i>IGF-1/GAPDH</i> , «+» и «-»	<i>IGF-1/GAPDH</i> , значения в цифрах
Группа А. Уровень экспрессии мРНК <i>IGF-1</i> высокий	26	+++++	4,54
	7	+++	3,11
	17	++	1,60
	20	++	1,50
	13	++	1,50
	2	++	1,50
	12	+	1,36
	1	+	1,31
	3	+	1,30
	11	+	1,23
	14	+	1,11
	5	+	1,00
	10	+	0,80
Группа В. Уровень экспрессии мРНК <i>IGF-1</i> низкий	18	+	0,52
	19	+	0,53
	25	+/-	0,32
	22	+/-	0,32
	15	+/-	0,20
	16	+/-	0,16
	4	-	0,00
	6	-	0,00
	8	-	0,00
	9	-	0,00
	21	-	0,00
	23	-	0,00
	24	-	0,00

линейной корреляции Пирсона (r). Для определения ОВ пациентов с ММ использовали тест Каплана–Майера. При распределении, отличном от нормального, для оценки значимых различий между 2 выборками применяли U-критерий Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Методом полуколичественной ОТ-ПЦР мы исследовали экспрессию мРНК *IGF-1* и *GAPDH* в 26 образцах костномозговых пунктатов, полученных от 26 больных ММ (рис. 1, 2). Нормализованные значения экспрессии *IGF-1/GAPDH* приведены в табл. 2. Экспрессия *IGF-1* гетерогенная и выявлена в 19 (73 %) из 26 образцов ММ. В 7 (27 %) образцах мРНК *IGF-1* не экспрессировалась. Нами были определены 2 группы образцов: А и В (см. табл. 2). В группу А вошли образцы с высокой экспрессией мРНК гена *IGF-1* ($\geq 0,8$), а в группу В – образцы с низкой экспрессией мРНК гена *IGF-1* ($< 0,8$). Средние значения экспрессии мРНК гена *IGF-1* в группах А и В представлены на рис. 3. Разница в экспрессии мРНК *IGF-1* в этих группах является статистически значимой ($p < 0,001$).

Данные, полученные по экспрессии мРНК гена *IGF-1* в группах А и В, мы сопоставили с показателем ОВ больных ММ в этих группах (рис. 4). К 60 мес наблюдения в группе с высокой экспрессией гена *IGF-1* остаются в живых немногим более 20 % пациентов, тогда как в группе, где экспрессия этого гена низкая, за это же время в живых остаются 60 % пациентов. Тем не менее к 100 мес наблюдения все исследованные пациенты погибают. Медиана ОВ в группе пациентов с низкой экспрессией гена *IGF-1* составляет более 5 лет (62 мес), а в группе с высокой экспрессией гена *IGF-1* – менее 3 лет (34 мес). Расчет U-критерия Манна–Уитни показал, что разница между медианами ОВ в группах А и В является статистически значимой ($p < 0,05$). Таким образом, если оценивать выживаемость по медианам ОВ, то можно утверждать, что чем выше экспрессия гена *IGF-1*, тем ниже показатель ОВ пациентов с ММ. Вместе с тем тест Каплана–Майера не показал достоверных различий между группами ($p = 0,2$). Отсутствие достоверных отличий между ОВ больных в группах А и В может быть связано с тем, что все пациенты к 100 мес погибают и кривые на графике после 60 мес начинают сходиться. Другая причина отсутствия

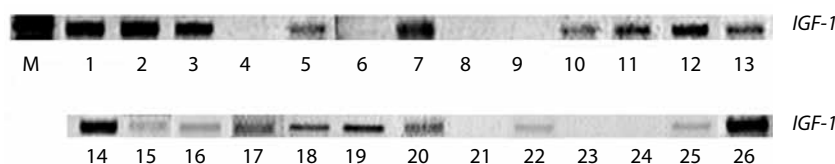
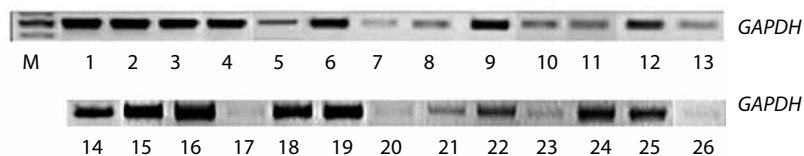
Рис. 1. Экспрессия мРНК гена *IGF-1* в образцах костномозговых пунктатов больных ММ

Таблица 3. Коэкспрессия мРНК *IGF-1* и мРНК *MDR1* у больных ММ

Уровень экспрессии мРНК	№ образца, полученного от больного ММ	<i>IGF-1/GAPDH</i> , «+» и «-»	<i>IGF-1/GAPDH</i> , значения в цифрах	<i>MDR1/GAPDH</i> , «+» и «-»	<i>MDR1/GAPDH</i> , значения в цифрах
Группа А. Уровень экспрессии мРНК <i>IGF-1</i> высокий	26	+++++	4,54	+++	3,31
	7	+++	3,11	+++	3,34
	17	++	1,60	++++	3,54
	20	++	1,50	++	1,51
	13	++	1,50	++++	4,43
	2	++	1,50	++	1,81
	12	+	1,36	++	2,42
	1	+	1,31	++	1,85
	3	+	1,30	++	1,86
	11	+	1,23	+++	2,63
	14	+	1,11	++	1,85
	5	+	1,00	+	1,00
	10	+	0,80	+++	3,16
Группа В. Уровень экспрессии мРНК <i>IGF-1</i> низкий	18	+	0,52	+	0,83
	19	+	0,53	+	0,74
	25	+/-	0,32	+	0,89
	22	+/-	0,32	+	0,91
	15	+/-	0,20	+	0,96
	16	+/-	0,16	+	0,85
	4	-	0,00	+	1,40
	6	-	0,00	+	1,38
	8	-	0,00	++	1,73
	9	-	0,00	+	1,41
	21	-	0,00	+	1,23
	23	-	0,00	+	1,32
	24	-	0,00	+	0,75

Рис. 2. Экспрессия мРНК гена *GAPDH* в образцах костномозговых пунктатов больных ММ

достоверных отличий может быть связана с небольшим количеством пациентов в выборке.

Таким образом, в ходе исследования нами выявлена обратная корреляция между уровнем экспрессии гена *IGF-1* и показателем ОБ пациентов с ММ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что высокая экспрессия гена *IGF-1* может являться неблагоприятным прогностическим фактором при ММ.

Однозначно объяснить механизм причинно-следственной взаимосвязи между уровнем экспрессии

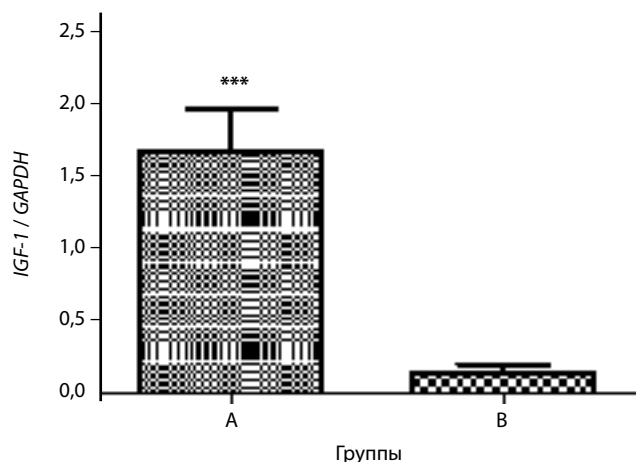


Рис. 3. Средние значения экспрессии мРНК *IGF-1* в группах А и В. *** $p < 0,0001$

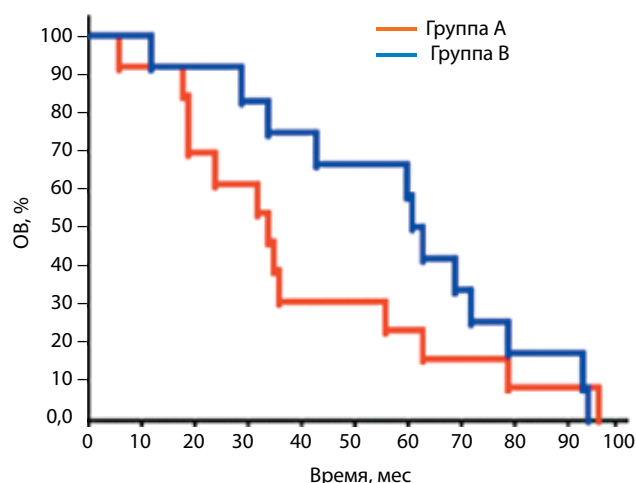


Рис. 4. ОВ пациентов с ММ в группе А (уровень экспрессии мРНК *IGF-1* высокий) и в группе В (уровень экспрессии мРНК *IGF-1* низкий)

гена *IGF-1* и показателем ОВ больных ММ сложно. Известно, что при повторном и/или длительном лечении онкобольных цитостатиками может произойти отбор и последующее размножение тех опухолевых клеток, в которых гиперэкспрессируются гены, определяющие возникновение МЛУ. Одним из таких генов является ген АВС-транспортера *MDR1/ABCB1*. В ряде работ было показано, что при длительном лечении у пациентов с ММ этот ген гиперэкспрессируется и это ассоциируется с рецидивом и возникновением резистентности [8–10]. Поскольку

у исследованных нами пациентов с высоким уровнем экспрессии гена *IGF-1* была зарегистрирована клиническая резистентность к химиотерапии, мы предположили, что одной из причин низкой ОВ больных ММ может быть возникновение *IGF-1*-зависимой МЛУ. Для проверки этой гипотезы в указанных образцах ММ методом полуколичественной ОТ-ПЦР мы исследовали экспрессию мРНК гена *MDR1/ABCB1* (рис. 5). Нормализованные значения экспрессии *MDR1/GAPDH* приведены в табл. 3.

С использованием метода линейной корреляции Пирсона (r) мы провели оценку корреляционной зависимости между экспрессией мРНК *IGF-1* и мРНК *MDR1/ABCB1*. Проведенный анализ показал, что экспрессия мРНК *IGF-1* достоверно коррелирует с экспрессией мРНК *MDR1/ABCB1* ($r = 0,67$; $p < 0,0002$). Далее мы провели оценку средних значений экспрессии мРНК *MDR1/ABCB1* в группах А и В (рис. 6). Разница в экспрессии мРНК *MDR1/ABCB1* в этих группах является статистически значимой ($p < 0,001$). При сравнении экспрессии генов *IGF-1* и *MDR1/ABCB1* мы обнаружили, что в группе А, где отмечается высокая экспрессия гена *IGF-1* (см. рис. 3), также наблюдается высокая экспрессия гена *MDR1/ABCB1* (см. рис. 6). И наоборот, в группе В, где отмечается низкий уровень экспрессии гена *IGF-1*, также наблюдается низкий уровень экспрессии гена *MDR1/ABCB1*. Полученные данные показывают, что показатели экспрессии гена *IGF-1* и гена *MDR1* при ММ коррелируют.

Таким образом, при исследовании клинического материала нами установлено, что для пациентов с ММ, у которых наблюдается высокий уровень экспрессии гена *IGF-1*, характерна низкая ОВ. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что высокая экспрессия гена *IGF-1* может являться неблагоприятным прогностическим фактором при ММ. Возможно, что одной из причин низкой ОВ больных ММ является активация *IGF-1*-зависимого сигнального пути, которая придает клеткам ММ более агрессивные свойства – активирует механизмы возникновения МЛУ. Это предположение подтверждается тем, что в образцах, полученных от больных ММ, наблюдается корреляция экспрессии мРНК *IGF-1* и экспрессии мРНК *MDR1/ABCB1*. Такая корреляция установлена впервые и предполагает, что фактор роста *IGF-1* участвует в регуляции экспрессии гена *MDR1/ABCB1*.

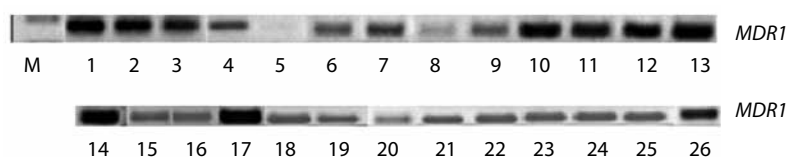


Рис. 5. Экспрессия мРНК гена *MDR1* в образцах костномозговых пунктатов больных ММ

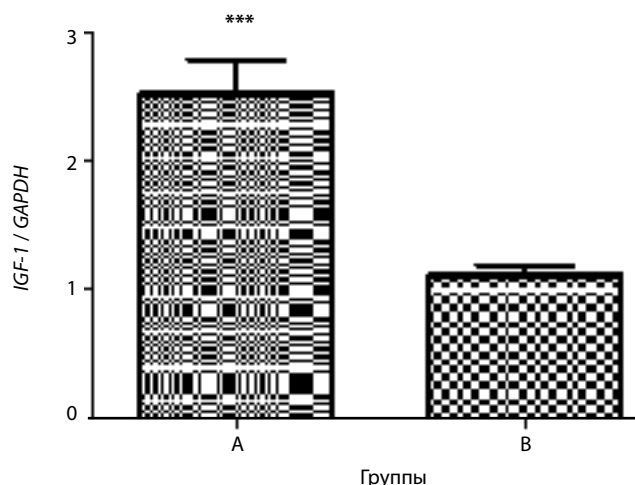


Рис. 6. Средние значения экспрессии мРНК гена *MDR1* в группах А и В. *** $p < 0,001$

В пользу такого предположения свидетельствует тот факт, что в промоторной области гена *MDR1/ABCB1* имеется сайт связывания с транскрипционным фактором NF-κB, экспрессия которого регулируется IGF-1 [12–14]. Не исключено, что в микроокружении костного мозга IGF-1, продуцируемый фибробластами и остеобластами, воздействует на клетки ММ паракринным образом и активирует в них экспрессию транскрипционного фактора NF-κB, который, в свою очередь, активирует в клетках ММ экспрессию *MDR1/ABCB1*.

В литературе имеется несколько работ, посвященных изучению взаимосвязи между IGF-1 и возникновением лекарственной устойчивости к некоторым химиопрепаратам при ММ. Так, например, в работе Р. Maiso и соавт. показано, что ингибирование тирозинкиназной активности рецептора IGF-1 (IGF-1R) усиливает действие леналидомида, дексаметазона, мелфалана и бортезомиба, а использование ингибитора тирозинкиназной активности IGF-1R совместно с дексаметазоном и бортезомибом подавляет рост клеток ММ *in vitro* [15]. Также показано, что в линиях клеток ММ, резистентных к бортезомибу, и в клинических образцах, полученных от боль-

ных ММ, которые были нечувствительны к бортезомибу, обнаруживается высокий уровень IGF-1 и активирован IGF-1/IGF-1R-зависимый сигнальный путь. Блокирование этого сигнального пути усилило гибель клеток ММ от воздействия бортезомиба [16, 17]. Также имеется и наша более ранняя работа, в которой мы исследовали небольшое количество больных ММ [18]. Таким образом, в литературе накапливаются данные, свидетельствующие в пользу того, что IGF-1, присутствующий в микроокружении костного мозга, действительно может участвовать в возникновении лекарственной устойчивости.

Наше предположение о том, что фактор роста IGF-1 регулирует экспрессию гена *MDR1/ABCB1*, основано на корреляционных данных, поэтому дальнейшие исследования в этом направлении мы продолжим на культурах клеток ММ.

Заключение

В аспиратах костного мозга, полученных от больных ММ, исследована экспрессия мРНК гена *IGF-1* и проведен анализ ОБ пациентов с ММ. Исследования показали, что для больных с высоким уровнем экспрессии гена *IGF-1* характерен низкий показатель ОБ. Эти данные получены впервые и свидетельствуют о том, что высокая экспрессия гена *IGF-1* может являться неблагоприятным прогностическим фактором при ММ.

Поскольку у больных ММ с высоким уровнем экспрессии гена *IGF-1* была зарегистрирована клиническая резистентность к химиотерапии, мы предположили, что одним из механизмов, объясняющих низкую ОБ при гиперэкспрессии гена *IGF-1*, может являться IGF-1-опосредованное возникновение МЛУ. Исследования экспрессии гена *MDR1/ABCB1*, ответственного за возникновение МЛУ, показали, что ген *IGF-1* и ген *MDR1/ABCB1* у больных ММ коэкспрессируются. Полученные данные позволяют предположить, что *IGF-1* может участвовать в механизмах возникновения МЛУ при ММ посредством активации экспрессии гена *MDR1/ABCB1*.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Вотякова О.М., Демина Е.А. Множественная миелома. В кн.: Клиническая онкогематология. Руководство для врачей. Под ред. М.А. Волковой. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2007. С. 847–73. [Votyakova O.M., Demina E.A. Multiple myeloma. In: Clinical oncohematology. A guide for physicians. Ed. by M.A. Volkova. 2nd edn, revised and updated. Moscow: Medicine, 2007. Pp. 847–73. (In Russ.).]
2. Шушанов С.С. Роль инсулиноподобного фактора роста 1 типа (IGF-1) и некоторых других членов системы IGF/инсулин в прогрессии множественной миеломы. Российский биотерапевтический журнал 2012;11(3):71–80. [Shushanov S.S. The role of insulin-like growth factor 1 type (IGF-1) and some other members of the IGF/insulin system in the progression of multiple myeloma. Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2012;11(3):71–80. (In Russ.).]
3. Yang W.C., Lin S.F., Su Y.C. Multiple Myeloma: Personalised Medicine Based on Pathogenesis. EMJ 2018;3(2):78–89.

4. Lohit K.K., Bhubaneswar S. Recent advances in molecular pathogenesis of multiple myeloma — Role of cytokine: Review of literature. *Int J Med Health Res* 2016;2(3):43–5.
5. Jurczyszyn A., Czepiel J., Gdula-Argasińska J. et al. The analysis of the relationship between multiple myeloma cells and their micro-environment. *J Cancer* 2015;6(2):160–8. DOI: 10.7150/jca.10873. PMID: 25561981.
6. Bieghs L., Brohus M., Kristensen I.B. et al. Abnormal IGF-binding protein profile in the bone marrow of multiple myeloma patients. *PLoS One* 2016;11(4):e0154256. DOI: 10.1371/journal.pone.0154256. PMID: 27111220.
7. Bieghs L., Johnsen H.E., Maes K. et al. The insulin-like growth factor system in multiple myeloma: diagnostic and therapeutic potential. *Oncotarget* 2016;7(30):48732–52. DOI: 10.18632/oncotarget.8982. PMID: 27129151.
8. Nass J., Efferth T. Drug targets and resistance mechanisms in multiple myeloma. *Cancer Drug Resist* 2018;1:87–117. DOI: 10.20517/cdr.2018.04.
9. Krishnan S.R., Jaiswal R., Brown R.D. et al. Multiple myeloma and persistence of drug resistance in the age of novel drugs. *Int J Oncol* 2016;49(1):33–50. DOI: 10.3892/ijo.2016.3516. PMID: 27175906.
10. Черных Ю.Б., Голеньков А.К., Шушанов С.С. и др. Влияние экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости при множественной миеломе на клиническое течение заболевания. *Альманах клинической медицины* 2016;44(5):624–30. [Chernykh Yu.B., Golenkov A.K., Shushanov S.S. et al. The effect of gene expression of multidrug resistance in multiple myeloma on the clinical course of the disease. *Almanakh klinicheskoy meditsiny* = *Almanac of Clinical Medicine* 2016;44(5):624–30. (In Russ.)].
11. Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer* 1975;36(3):842–54. PMID: 1182674.
12. Demchenko Y.N., Kuehl W.M. A critical role for the NFκB pathway in multiple myeloma. *Oncotarget* 2010;1(1):58–69. DOI: 10.18632/oncotarget.109. PMID: 20890394.
13. Mitsiades C.S., Mitsiades N., Poulaki V. et al. Activation of NF-κB and upregulation of intracellular anti-apoptotic proteins via the IGF-1/Akt signaling in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Oncogene* 2002;21(37):5673–83. DOI: 10.1038/sj.onc.1205664. PMID: 12173037.
14. Bentires-Alj M., Barbu V., Fillet M. et al. NF-κB transcription factor induces drug resistance through MDR1 expression in cancer cells. *Oncogene* 2003;22(1):90–7. DOI: 10.1038/sj.onc.1206056. PMID: 12527911.
15. Maiso P., Ocio E.M., Garayoa M. et al. The insulin-like growth factor-I receptor inhibitor NVP-AEW541 provokes cell cycle arrest and apoptosis in multiple myeloma cells. *Br J Haematol* 2008;141(4):470–82. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07049.x. PMID: 18341634.
16. Kuhn D.J., Berkova Z., Jones R.J. et al. Targeting the insulin-like growth factor-1 receptor to overcome bortezomib resistance in preclinical models of multiple myeloma. *Blood* 2012;120(16):3260–70. DOI: 10.1182/blood-2011-10-386789. PMID: 22932796.
17. Abdi J., Chen G., Chang H. Drug resistance in multiple myeloma: latest findings and new concepts on molecular mechanisms. *Oncotarget* 2013;4(12):2186–207. DOI: 10.18632/oncotarget.1497. PMID: 24327604.
18. Шушанов С.С., Марьяна Л.Г., Черных Ю.Б., Какпакова Е.С. Коэкспрессия мРНК генов систем IGF/инсулин и множественной лекарственной устойчивости у больных множественной миеломой. *Клиническая онкогематология* 2010;3(2):105–13. [Shushanov S.S., Maryina L.G., Chernykh Yu.B., Kakpakova E.S. Coexpression of IGF/insulin gene mRNA and multidrug resistance in patients with multiple myeloma. *Klinicheskaya onkogematologiya* = *Clinical Oncohematology* 2010;3(2):105–13. (In Russ.)].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.