

# Экспрессия $\beta 2$ -микроглобулина на злокачественных плазматических клетках множественной миеломы

Н.Н. Тупицын, Е.Э. Толстых

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Елена Эдуардовна Толстых [elenatolstyk1@gmail.com](mailto:elenatolstyk1@gmail.com)

**Введение.**  $\beta 2$ -микроглобулин – низкомолекулярный гликопротеин, который входит в состав главного комплекса гистосовместимости. Концентрация  $\beta 2$ -микроглобулина в сыворотке крови больных увеличивается при различных онкогематологических патологиях, в том числе при множественной миеломе. Одним из методов обнаружения мембранного  $\beta 2$ -микроглобулина является проточная цитофлуориметрия. В данной статье рассмотрена экспрессия  $\beta 2$ -микроглобулина и ключевых маркеров на мембране злокачественных клеток у больных множественной миеломой в дебюте заболевания.

**Цель исследования** – изучение экспрессии  $\beta 2$ -микроглобулина и маркеров CD45, CD56 и CD19 на мембране опухолевых плазматических клеток при первичной диагностике множественной миеломы.

**Материалы и методы.** Исследование экспрессии  $\beta 2$ -микроглобулина и CD45, CD56 и CD19 проведено у 37 больных множественной миеломой методом 8-цветной проточной цитометрии с использованием панели моноклональных антител для диагностики плазмноклеточных опухолей (EuroFlow, 2012).

**Результаты.** Оценена экспрессия  $\beta 2$ -микроглобулина в сочетании с маркерами CD45, CD56 и CD19 на опухолевых плазматических клетках, представлены иллюстрации экспрессии этих маркеров. Из 37 больных множественной миеломой гиперэкспрессия  $\beta 2$ -микроглобулина выявлена у 23 (62,2 %), в остальных случаях отмечены нормальные или сниженные уровни данного белка.

**Заключение.** Опухолевые плазматические клетки гиперэкспрессируют  $\beta 2$ -микроглобулин в значительном числе случаев (62,2 %). Это позволяет в дальнейшем оценить клиническое значение подобной aberrантной экспрессии и ее соотношение с сывороточными уровнями  $\beta 2$ -микроглобулина.

**Ключевые слова:**  $\beta 2$ -микроглобулин, множественная миелома, плазматические клетки, костный мозг, многоцветная проточная цитометрия

**Для цитирования:** Тупицын Н.Н., Толстых Е.Э. Экспрессия  $\beta 2$ -микроглобулина на злокачественных клетках множественной миеломы. Российский биотерапевтический журнал 2023;22(2):60–4. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-2-60-64

## Expression of $\beta 2$ microglobulin on malignant multiple myeloma plasma cells

Nikolay N. Tupitsyn, Elena E. Tolstyk

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

**Contacts:** Elena Eduardovna Tolstyk [Elenatolstyk1@gmail.com](mailto:Elenatolstyk1@gmail.com)

**Background.**  $\beta 2$ -microglobulin is a low molecular weight glycoprotein that is part of the major histocompatibility complex. The concentration of  $\beta 2$ -microglobulin in the blood serum of patients increases with various oncohematological pathologies, including multiple myeloma. One of the methods for detecting membrane  $\beta 2$ -microglobulin is flow cytometry. This article discusses the expression of  $\beta 2$ -microglobulin and key markers on the membrane of malignant cells in patients with multiple myeloma at the onset of the disease.

**Aim.** To study the expression of  $\beta 2$ -microglobulin and markers CD45, CD56 and CD19 on the membrane of tumor plasma cells in the primary diagnosis of multiple myeloma.

**Materials and methods.** The study of  $\beta 2$ -microglobulin and CD45, CD56 and CD19 was carried out in 37 patients with multiple myeloma by 8-color flow cytometry using a panel of monoclonal antibodies for the diagnosis of plasma cell tumors (EuroFlow, 2012).

**Results.** The expression of  $\beta 2$ -microglobulin in combination with markers CD45, CD56 and CD19 on tumor plasma cells was assessed, illustrations of the expression of these markers are presented. Out of 37 patients with multiple myeloma, hyperexpression of  $\beta 2$ -microglobulin was noted in 23 (62.2 %), in other cases there were normal or reduced levels of this protein in other cases.

**Conclusion.** Tumor plasma cells overexpress  $\beta 2$ -microglobulin in a significant percentage of cases (62.2 %). This allows further assessment of the clinical significance of such aberrant expression and its relationship with serum levels of  $\beta 2$ -microglobulin.

**Keywords:**  $\beta 2$ -microglobulin, multiple myeloma, plasma cells, bone marrow, multicolor flow cytometry

**For citation:** Tupitsyn N.N., Tolstykh E.E. Expression of  $\beta 2$  microglobulin on multiple myeloma malignant cells. Russian Journal of Biotherapy 2023;22(2):60–4. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-2-60-64

## Введение

В 1968 г. И. Беггард и А. Берн впервые выделили  $\beta 2$ -микроглобулин из мочи пациентов с нарушениями проксимальных канальцев почек [1].

$\beta 2$ -микроглобулин — низкомолекулярный белок, присутствующий на поверхности ядросодержащих клеток в качестве легкой цепи антигена главного комплекса гистосовместимости (HLA). Молекулы МНС I находятся на каждой ядросодержащей клетке организма, и их функция заключается в представлении коротких эндогенных или экзогенных пептидов (обеспечение процесса антигенной презентации) [2].

Выживание опухоли может обеспечиваться за счет механизмов подавления синтеза  $\beta 2$ -микроглобулина или нарушения его связывания в комплексе МНС I. Снижение функциональной активности  $\beta 2$ -микроглобулина при этом ведет к трем основным эффектам: снижению уровня активации  $CD8^+$ -Т-лимфоцитов в ходе антигенной презентации, подавлению функции NK-клеток, повышению интенсивности катаболизма иммуноглобулинов класса G. Посредством этих эффектов реализуется подавление клеточного и гуморального иммунного ответа, что обеспечивает избегание опухолью иммунного надзора [3].

$\beta 2$ -микроглобулин является значимым сывороточным маркером опухолевой нагрузки при гематологических злокачественных новообразованиях, особенно при множественной миеломе (ММ) [4–6]. Его концентрация увеличивается при различных патологиях. Основной функцией  $\beta 2$ -микроглобулина является обеспечение процесса антигенной презентации, кроме того,  $\beta 2$ -микроглобулин вовлечен в механизмы пролиферации, апоптоза и способен индуцировать экспрессию интерлейкинов 6, 8 и 10 [4–7].

M. Perez-Andres и соавт. провели исследовательскую работу по изучению клинического значения как растворимых, так и поверхностных уровней молекул, участвующих во взаимодействии между aberrантными плазматическими клетками (ПК) и иммунологическим окружением костного мозга. Впервые

у пациентов с ММ исследовали потенциальную связь между сывороточным и мембранным уровнями молекул  $\beta 2$ -микроглобулина, а также их влияние на прогноз заболевания. Общая выживаемость больных ММ была взаимосвязана с уровнями поверхностных (мембранных) и растворимых (сывороточных) молекул  $\beta 2$ -микроглобулина [8]. Более высокие уровни  $\beta 2$ -микроглобулина в сыворотке крови были связаны с более короткой выживаемостью, а также с неблагоприятными клиническими и биологическими характеристиками заболевания. Однако хорошая выживаемость отмечена при высоких уровнях  $\beta 2$ -микроглобулина на мембране опухолевых ПК костного мозга. Обратную корреляцию между  $\beta 2$ -микроглобулином в сыворотке крови и  $\beta 2$ -микроглобулином на мембране миеломных ПК можно использовать как прогностический фактор у пациентов с ММ [8].

**Цель исследования** — изучение экспрессии  $\beta 2$ -микроглобулина и маркеров CD45, CD56 и CD19 на мембране опухолевых ПК при первичной диагностике ММ.

## Материалы и методы

Исследование костного мозга пациентов с ММ проведено в лаборатории иммунологии гемопоэза Научно-исследовательского института клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Экспрессия  $\beta 2$ -микроглобулина на ПК была изучена у 37 больных ММ.

Методом диагностики была 8-цветная проточная цитофлуориметрия на приборе FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с использованием панели моноклональных антител (Becton Dickinson, США) для плазмоклеточных опухолей, предложенной европейским консорциумом EuroFlow в 2012 г. [9] (см. таблицу).

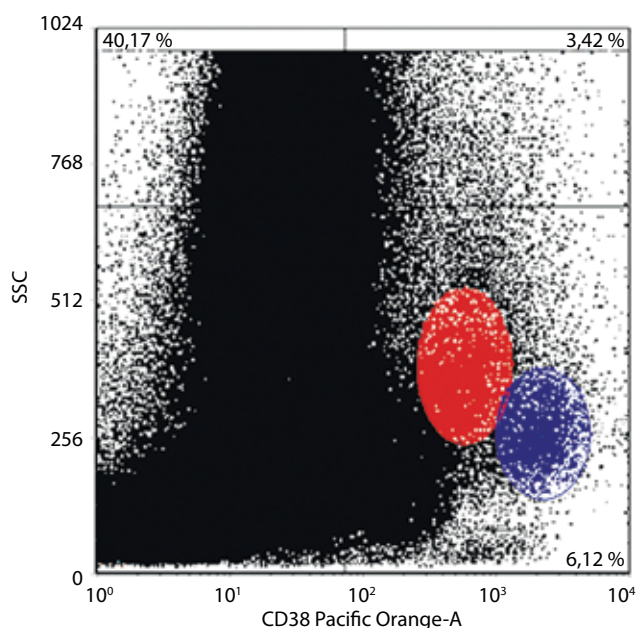
Важно отметить, что при применении панели EuroFlow были выявлены проблемы, связанные с высокими уровнями экспрессии CD38 и  $\beta 2$ -микроглобулина

Панель моноклональных антител для диагностики плазмноклеточных опухолей [9]

Panel of monoclonal antibodies for the diagnosis of plasma cell tumors [9]

PacBlue\V450	PacOr\V500	FITC	PE	PE-cy5	PE-cy7	APC	APC-H7
CD45	CD138	CD38	CD56	$\beta$ 2-micro	CD19	cyIg-kappa	cyIg-lambda
CD45	CD138	CD38	CD28	CD27	CD19	CD117	CD81

на нормальных ПК при использовании флуорохром-конъюгированных антител FITC и PerCP-cy5.5 соответственно. Нами были учтены и применены рекомендации EuroFlow (разведение антител согласно рекомендациям) при использовании панели антител для улучшения полученных результатов [9]. Для снижения интенсивности флуоресценции (рекомендации EuroFlow) каждого маркера (CD38 и  $\beta$ 2-микроглобулина) использовали неконъюгированные реагенты тех же клонов путем их смешивания. Смесь неконъюгированного и конъюгированного реагентов позволила улучшить результаты. Оптимальное окрашивание CD38 (клон LD38) было получено с использованием смеси 3/2 конъюгированного и неконъюгированного антител и  $\beta$ 2-микроглобулина (клон TU99), 19/1 конъюгированного и неконъюгированного антител.



**Рис. 1.** Нормальная (синий цвет) и неопластическая (красный цвет) популяции плазматических клеток. По оси абсцисс — экспрессия CD38 (PacOr), по оси ординат — уровни бокового светорассеяния SSC. Экспрессия CD38 на нормальных плазматических клетках яркая, положительная, на опухолевых — слабая, отрицательная

**Fig. 1.** Normal (blue) and neoplastic (red) plasma cell populations. Abscissa, CD38 (PacOr) expression; ordinate, SSC side scatter levels. Expression of CD38 on normal plasma cells is bright and positive, while on tumor cells it is weak and negative

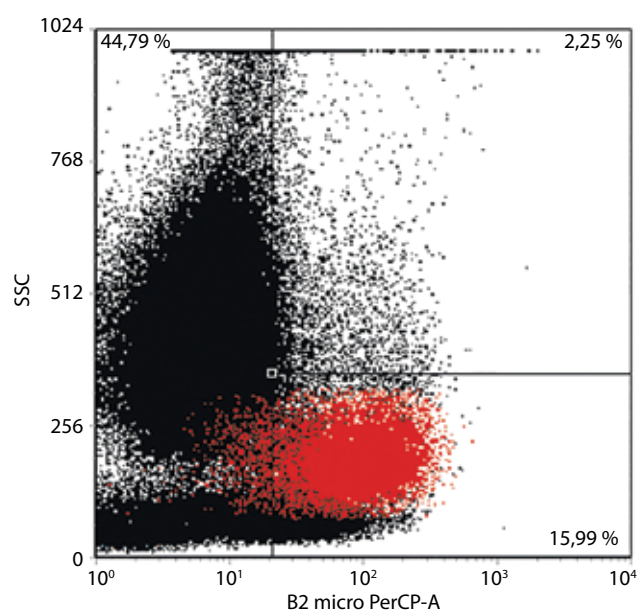
На первом этапе иммунофенотипического анализа исключали дуплеты клеток и дебрис. Анализ данных начинали с выявления популяции ПК из общего количества миелокариоцитов костного мозга (гейт CD38<sup>+</sup> и CD138<sup>+</sup>). Антиген CD38 считается маркером ПК и используется для оценки количества как нормальных, так и миеломных ПК. Гейтирование по двум маркерам — CD38<sup>+</sup> и CD138<sup>+</sup> — повышает специфичность выделения ПК.

### Результаты

У 37 больных ММ был оценен уровень экспрессии  $\beta$ 2-микроглобулина на ПК в дебюте заболевания.

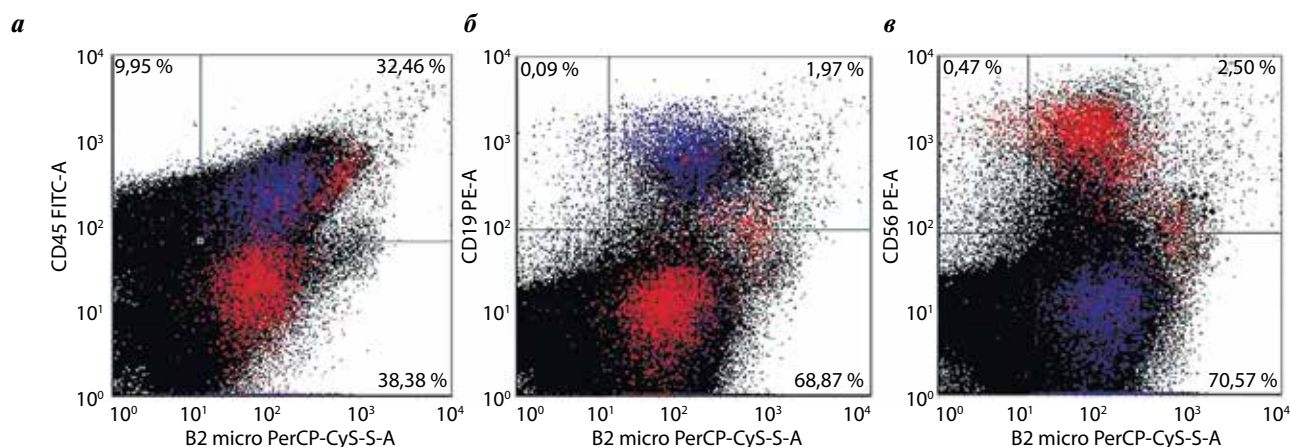
На первом этапе, не во всех случаях диагностики, можно сразу увидеть четкое разделение на 2 популяции ПК — неопластическую и нормальную, определить количество этих клеток и проанализировать эти популяции.

На рис. 1 отражены 2 популяции, одна из них представлена нормальными ПК (популяция синего цвета, с более выраженной экспрессией антигена),



**Рис. 2.** Экспрессия  $\beta$ 2-микроглобулина на плазматических клетках. По оси абсцисс — экспрессия  $\beta$ 2-микроглобулина (PerCP), по оси ординат — уровни бокового светорассеяния SSC

**Fig. 2.** Expression of  $\beta$ 2-microglobulin on plasma cells. Abscissa,  $\beta$ 2-microglobulin (PerCP) expression; ordinate, SSC side scatter levels



**Рис. 3.** Нормальная (синий цвет) и неопластическая (красный цвет) популяции плазматических клеток по экспрессии маркеров  $\beta$ 2-микроглобулина (PerCP-Cy5.5) и CD45 (FITC) (а),  $\beta$ 2-микроглобулина (PerCP-Cy5.5) и CD19 (PE) (б),  $\beta$ 2-микроглобулина (PerCP-Cy5.5) и CD56 (PE) (в)

**Fig. 3.** Normal (blue) and neoplastic (red) population of plasma cells by expression of  $\beta$ 2-microglobulin (PerCP-Cy5.5) and CD45 (FITC) (a),  $\beta$ 2-microglobulin and CD19 (PE) (б),  $\beta$ 2-microglobulin and CD56 (PE) (в) markers

другая — опухолевыми (неопластическими) ПК (популяция красного цвета).

На рис. 2 представлен пример гиперэкспрессии  $\beta$ 2-микроглобулина на плазматических злокачественных клетках ММ.

Пример отсутствия гиперэкспрессии  $\beta$ 2-микроглобулина на CD45-негативных, CD19-негативных и CD56-позитивных злокачественных клетках ММ представлен на рис. 3.

В исследуемой группе больных ММ распределение выявленных вариантов экспрессии мембранного  $\beta$ 2-микроглобулина было следующим: гиперэкспрессия — у 23 (62,2 %) из 37 пациентов, нормальная экспрессия — у 10 (27,0 %) и сниженная — у 4 (10,8 %). Таким образом, в дебюте заболевания более чем у половины пациентов наблюдается гиперэкспрессия  $\beta$ 2-микроглобулина на ПК.

### Заключение

В работе представлены данные об экспрессии  $\beta$ 2-микроглобулина на опухолевых ПК ММ. Частота мембранной гиперэкспрессии составила 62,2 %. Продемонстрирована возможность оценки уровней  $\beta$ 2-микроглобулина в сочетании с ключевыми маркерами aberrантности ПК CD45, CD19, CD56. Учитывая тот факт, что aberrантность (гиперэкспрессия)  $\beta$ 2-микроглобулина на злокачественных клетках ММ при диагностике ниже, чем aberrантность маркеров CD45, CD19, CD56, становится возможным сформировать группы сравнения показателей выживаемости в зависимости от уровней мембранного  $\beta$ 2-микроглобулина и сопоставить эти данные с соответствующими показателями для сывороточного  $\beta$ 2-микроглобулина.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Berggård I., Bearn A.G. Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem* 1968;243(15):4095–103.
2. Esposito G., Ricagno S., Corazza A. et al. The controlling roles of Trp60 and Trp95 in  $\beta$ 2-microglobulin function, folding and amyloid aggregation properties. *J Mol Biol* 2008;378(4):887–97. DOI: 10.1016/j.jmb.2008.03.002
3. Ardeniz O., Unger S., Onay H. et al.  $\beta$ 2-microglobulin deficiency causes a complex immunodeficiency of the innate and adaptive immune system. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(2):392–401. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.12.1937
4. Becker J.W., Reeke G.N. Jr. Three-dimensional structure of beta2-microglobulin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82(12):4225–9. DOI: 10.1073/pnas.82.12.4225
5. Bicknell D.C., Rowan A., Bodmer W.F. Beta2 -microglobulin gene mutations: A study of established colorectal cell lines and fresh tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1994;91(11):4751–5. DOI: 10.1073/pnas.91.11.4751
6. Vivian J.P., Duncan R.C., Berry R. et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor 3DL1-mediated recognition of human leukocyte antigen B. *Nature* 2011;479(7373):401–5. DOI: 10.1038/nature10517
7. Palumbo A., Avet-Loiseau H., Oliva S. et al. Revised International Staging System for multiple myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2015;33(26):2863–9. DOI: 10.1200/JCO.2015.61.2267
8. Perez-Andres M., Almeida J., Martin-Ayuso M. et al. Soluble and membrane levels of molecules involved in the interaction between clonal plasma cells and the immunological microenvironment in multiple myeloma and their association with the characteristics of the disease. *Cancer* 2009;124(2):367–75. DOI: 10.1002/ijc.23941
9. Van Dongen J.J., Lhermitte L., Bottcher S. et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012;26(9):1908–75. DOI: 10.1038/leu.2012.120



**Вклад авторов**

Н.Н. Тупицын: руководство проведением исследования, анализ данных, написание и редактирование текста статьи;

Е.Э. Толстых: разработка дизайна исследования, получение и анализ данных, написание и оформление текста статьи, перевод на английский язык.

**Authors' contribution**

N.N. Tupitsyn: management of the research, data analysis, writing and editing of the article;

E.E. Tolstykh: research design development, data acquisition and analysis, writing and formatting of the text of the article, translation into English.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

Н.Н. Тупицын / N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

Е.Э. Толстых / E.E. Tolstykh: <https://orcid.org/0000-0003-0593-6900>

**Конфликт интересов.** Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Funding.** The study was performed without external funding.

Статья поступила: 30.10.2022. Принята к публикации: 24.04.2023.

Article received: 30.10.2022. Accepted for publication: 24.04.2023.