

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

Прогностическое значение генетических маркеров в оценке эффективности индукционной терапии, включающей аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, у больных множественной миеломой

Е.Л. Назарова, Н.В. Минаева, М.Н. Хоробрых, Э.Е. Сухорукова, В.И. Шардаков, И.В. Парамонов, Н.А. Зорина

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА», Красноармейская ул., д. 72, Киров, Российская Федерация, 610027

Prognostic Value of Genetic Markers for Efficacy Estimation of Induction Treatment Including Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma Patients

EL Nazarova, NV Minaeva, MN Khorobrykh, EE Sukhorukova, VI Shardakov, IV Paramonov, NA Zorina

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, 72 Krasnoarmeiskaya str., Kirov, Russian Federation, 610027

РЕФЕРАТ

Цель. Установить значение полиморфизма генов иммунного ответа в оценке результатов лечения больных множественной миеломой (ММ) с использованием высокодозной химиотерапии (ВДХТ) и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК).

Методы. В исследование включено 20 больных ММ: 8 мужчин и 12 женщин с медианой возраста 51,5 года (диапазон 32–67 лет). Клинико-лабораторное обследование проводилось до начала режима кондиционирования высокими дозами мелфалана (200 мг/м²). В соответствии с достигнутым противоопухолевым ответом на индукционную терапию выделено три группы больных: 1-я — с частичной ремиссией ($n = 7$); 2-я — с очень хорошей частичной ремиссией ($n = 9$); 3-я — с полной ремиссией ($n = 4$). Генотипирование 20 полиморфных локусов 14 генов иммунного ответа выполняли методом ПЦР.

Результаты. Группу пациентов с очень хорошей частичной ремиссией отличало от группы пациентов с полным ответом на индукционную терапию отсутствие мутантных гомозигот AA гена *IL10* в полиморфном локусе G-1082A, а от группы с частичным ответом на индукционную терапию — мутантных гомозигот TT гена *TLR6* (Ser249Pro). У пациентов с более выраженным мукозитом (II–III) в отличие от больных с мукозитом более легкой степени тяжести (0–I) характеризовали недостаток мутантных гомозигот CC гена *IL1β* в позиции G-1473C и меньшее число носителей гетеро- и гомозиготных гаплотипов (CT+TT) гена *IL10* с мутантным аллелем T в точке мутации C-819T. При многофакторном анализе генетическим маркером, статистически значимо влияющим на показатели общей выживаемости у больных ММ после ВДХТ и аутоТГСК, является полиморфный статус генов *IL10* (G-1082A), *TNF* (G-308A), *TLR4* (Thr399Ile) и *TLR9* в полиморфных локусах T-1237C и A2848. На показатели вы-

ABSTRACT

Aim. To determine the value of polymorphisms of the immune response genes for the treatment efficacy in MM patients receiving high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation (autoHSCT).

Methods. The overall of 20 MM patients (8 men and 12 women) were included in the study. The median age was 51.5 years (range 32–67). Clinical laboratory tests had been performed before melphalan high-dose (200 mg/m²) conditioning therapy. In accordance with the achieved anticancer response to induction treatment the patients were divided into 3 groups: patients with partial remission (group 1; $n = 7$); patients with very good partial remission (group 2; $n = 9$); patients with complete remission (group 3; $n = 4$). Genotyping of 20 polymorphic loci of 14 immune response genes was performed using PCR.

Results. The study showed that group 2 had no AA mutant homozygotes of *IL10* in the G-1082A polymorphic locus compared to group 3 and no TT mutant homozygotes of *TLR6* (Ser249Pro) compared to group 1. The patients with more pronounced mucositis (grade 2/3) compared to patients with minor mucositis (grade 0/1) had no CC mutant homozygotes of *IL1β* in the G-1473C position and a smaller number of (CT+TT) heterozygous and homozygous haplotype carriers of *IL10* with the T mutant allele in the C-819T mutation point. The multivariate analysis showed that the genetic marker statistically effecting the progression-free survival rates in MM patients after high-dose chemotherapy and autoHSCT was the polymorphous status of the *IL10* (G-1082A), *TNF* (G-308A), *TLR4* (Thr399Ile), and *TLR9* in the T-1237C and A2848 polymorphic loci. Progression-free survival rates correlated with the mutation status of *IL1β* (T-511C), *IL2* (T-330G), *IL6* (C-174G), *CD14* (C-159T), *TLR3* (Phe421Leu), and *TLR4* (Asp299Gly).

Conclusion. The obtained data show the correlation of 14 polymorphisms of 10 immune response genes with the im-

живаемости без прогрессирования дополнительно воздействовал мутационный статус генов *IL1 β* (T-511C), *IL2* (T-330G), *IL6* (C-174G), *CD14* (C-159T), *TLR3* (Phe421Leu) и *TLR4* (Asp299Gly).

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о взаимосвязи 14 полиморфизмов 10 генов иммунного ответа с непосредственными результатами индукционной терапии, а также со степенью тяжести мукозита в ранний посттрансплантационный период, показателями общей и выживаемости без прогрессирования у больных ММ. Небольшой объем выборки требует дальнейших исследований для подтверждения выявленных тенденций. Предложенная гипотеза о влиянии полиморфизма генов иммунного ответа на прогноз заболевания может служить важным звеном при формировании индивидуализированных подходов к терапии ММ.

Ключевые слова: множественная миелома, полиморфизм генов, иммунный ответ, цитокины, Toll-подобные рецепторы, высокодозная химиотерапия, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Получено: 18 августа 2017 г.

Принято в печать: 7 ноября 2017 г.

Для переписки: Елена Львовна Назарова, канд. мед. наук, Красноармейская ул., д. 72, Киров, Российская Федерация, 610027; e-mail: nazarova@niigpk.ru

Для цитирования: Назарова Е.Л., Минаева Н.В., Хоробрых М.Н. и др. Прогностическое значение генетических маркеров в оценке эффективности индукционной терапии, включающей аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, у больных множественной миеломой. Клиническая онкогематология. 2018;11(1):54–69.

DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-54-69

mediate results of the induction treatment, and also with the severity of mucositis during the early post-transplant period, as well as overall and progression-free survival rates in MM patients. Due to a small sample volume further studies will be planned with the aim to verify the identified trends. The suggested hypothesis for immune response gene polymorphism effecting a disease prognosis can substantially contribute to developing of individualized approach to MM treatment.

Keywords: multiple myeloma, gene polymorphisms, immune response, cytokine, Toll-like receptor, high-dose chemotherapy, autologous hematopoietic stem cell transplantation.

Received: August 18, 2017

Accepted: November 7, 2017

For correspondence: Elena L'vovna Nazarova, PhD, 72 Krasnoarmeiskaya str., Kirov, Russian Federation, 610027; e-mail: nazarova@niigpk.ru

For citation: Nazarova EL, Minaeva NV, Khorobrykh MN, et al. Prognostic Value of Genetic Markers for Efficacy Estimation of Induction Treatment Including Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma Patients. Clinical oncohematology. 2018;11(1):54–69.

DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-54-69

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) является вторым по распространенности онкогематологическим заболеванием, на долю которого приходится 10 % всех случаев злокачественных опухолей системы крови и 1 % — онкологических заболеваний [1].

Общая 5-летняя выживаемость при ММ составляет около 35 %. Этот показатель выше у молодых и ниже у пожилых пациентов [2]. Хотя этиология ММ еще недостаточно изучена, существует множество факторов риска, которые связывают с развитием этой злокачественной опухоли. Они включают в себя генетические критерии, влияние факторов окружающей среды, моноклональную гаммапатию неясного значения, хронические воспалительные процессы, облучение и инфекции [3].

ММ возникает в результате иммортализации плазматических клеток, которые впоследствии накапливают дополнительные генетические аномалии, что приводит к формированию фенотипически более агрессивного клона [4, 5]. Хотя терапия данного заболевания неуклонно совершенствуется и сопровождается улучшением показателей общей выжи-

ваемости (ОВ), тем не менее существует довольно многочисленная группа больных с весьма неудовлетворительной выживаемостью без прогрессирования (ВБП) [6–8]. В связи с этим при ММ чрезвычайно актуальна разработка риск-адаптированных подходов к определению тактики терапии у пациентов с высоким риском неблагоприятных событий. Традиционно прогноз ММ оценивают на основании международных систем стадирования [9]. Однако у ряда пациентов этих критериев бывает недостаточно для выбора оптимального способа лечения. Информативность существующих критериев прогноза может быть усилена результатами молекулярно-генетического анализа [5–7]. Основные клинически значимые молекулярные подгруппы при ММ определяются на основании сбалансированных транслокаций в локусе тяжелых цепей иммуноглобулинов [10–12] и aberrаций числа копий (CNA). Подгруппы пациентов с транслокациями включают t(4;14) примерно в 13 % случаев и t(14;16)/t(14;20) — в 5 %, которые связаны с неблагоприятным прогнозом и медианой ОВ в диапазоне 22–60 и 16–30 мес. соответственно. Выявляемые у 13 % пациентов хромосомные транслокации t(11;14) ассоциируются с более благоприятным прогнозом

[6, 12–14]. Сравнительно недавно описан характер транслокаций *MYC* у больных ММ с медианой ОВ 24 мес., частота их составляет 20 % [15, 16]. Определен набор аномалий, имеющих прогностическое значение и опосредуемых рекуррентными CNA, полный спектр которых описан в исследованиях по картированию генома [17]. Клинически значимые CNA включали в себя гипердиплоидию, связанную с благоприятным прогнозом у больных ММ. Напротив, увеличение частоты копийности материала плеча q хромосомы 1 (1q), а также делеции *del(1p)*, *del(17p)* и *del(12p)* ассоциируются с неблагоприятным исходом заболевания в 38, 8,4, 9,5 и 8,9 % случаев соответственно [6, 13].

Наблюдаемая в определенной степени семейная агрегация подтверждает участие генетических факторов в патогенезе и течении ММ [18]. Было показано, что пролиферация нормальных и опухолевых плазматических клеток находится под контролем сложной цитокиновой системы, а также паттерн-распознающих рецепторов [19]. Следовательно, определена связь между генетической изменчивостью иммунорегуляторных генов, риском развития ММ и результатами лечения данного заболевания, в частности высокодозной химиотерапии (ВДХТ) с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) [20–23]. Тем не менее полученные к настоящему времени результаты часто противоречивы и не воспроизведены в других исследованиях ввиду этнически неоднородных выборок, особенностей климатических, географических и социально-экономических условий проживания пациентов [24].

Гены врожденного иммунного ответа обладают высокой степенью полиморфизма и рассматриваются как важные факторы развития заболеваний у человека с определенным набором генетических вариантов. Их распределение среди населения соответствует популяционным законам и имеет свои этнографические особенности.

К настоящему времени известно о связи развития ММ с однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) в промоторном регионе ряда генов Toll-подобных рецепторов — TLR (*TLR1*, *TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR6*, *TLR10*):

- цитокинов (интерлейкинов — *IL1β*, *IL10*, *IL6*), фактора некроза опухолей (*TNF*);
- маннозосвязывающего лектина 2 (*MBL2*);
- фактора, ингибирующего миграцию макрофагов (*MIF*);
- домен-содержащего белка 15, вовлекающего каспазу (*CARD15*);
- CD4, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами (*CTLA-4*), и др. [25–28].

Показано, что SNP в генах врожденного иммунного ответа, локализованные в кодирующих и регуляторных областях, влияют на конечный уровень секреции или экспрессии белка, кодируемого этим геном, а также на его функциональную активность. Они связаны с риском развития различных зрелоклеточных опухолей, включая ММ [27]. Гетерогенность клинической картины ММ, как представляется, служит отражением существующих генетических и эпигенетических нарушений [28].

В исследованиях, проведенных нами ранее [25], показано, что у больных ММ в отличие от лиц кон-

трольной группы (без ММ) отмечена ассоциация риска развития заболевания с полиморфизмом генов *IL10* (G-1082A), *TLR2* (Arg753Gln) и *TLR3* (Phe421Leu). Так, при наличии генотипов с мутантным аллелем в гомозиготном состоянии — AA генов *IL10* (G-1082A) и *TLR3* (Phe421Leu) — риск возникновения ММ возрос в 7,5 и 14,67 раза соответственно. Напротив, при носительстве генотипов с мутантным аллелем A (GA+AA) гена *TLR2* (Arg753Gln) риск развития заболевания уменьшался в 2,49 раза. При исследовании различий в частоте выявляемых полиморфных маркеров у больных ММ II–III стадии ко времени диагностики обнаружено, что на более быстрое прогрессирование опухоли может влиять мутационный статус гена *IL17A* (G-197A). Показано, что наличие мутантного аллеля A гена *IL17A* в гомозиготном состоянии связано со снижением риска быстрого прогрессирования ММ в 4 раза. Аллель дикого типа G выступал в качестве фактора риска неблагоприятного течения заболевания. Приведенные данные послужили основанием для проведения дальнейших исследований в этом направлении.

Цель настоящего исследования — установить значение полиморфизма генов иммунного ответа в оценке результатов лечения больных ММ с использованием ВДХТ и аутоТГСК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 20 больных ММ, наблюдавшихся в гематологической клинике ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России с августа 2005 г. по январь 2017 г., которым после режима кондиционирования мелфаланом в высоких дозах (200 мг/м²) была выполнена однократная или тандемная аутоТГСК. Клинико-лабораторные показатели пациентов представлены в табл. 1.

Исходя из представленных в табл. 1 данных, можно отметить, что среди обследованных больных ММ преобладали лица женского пола с медианой возраста 51,5 года, индексом коморбидности 2, II стадией опухоли с моноклональной секрецией IgG, присутствием почти в равных соотношениях свободных легких цепей κ и λ. АутоТГСК предшествовало 5 курсов индукционной терапии. В целом средний период наблюдения за больными составил 18 мес. Медиана периода до первой аутоТГСК была 8,5 мес. Посттрансплантационный период колебался от 1 до 113 мес., в течение которого у 25 % наблюдаемых больных через 35 мес. после аутоТГСК развились неблагоприятные события: у 4 пациентов развился рецидив в 1 случае с летальным исходом и с прогрессированием — в другом.

Генотипирование SNP в 20 полиморфных участках 14 генов иммунного ответа (*TLR2*, *TLR3*, *TLR4*, *TLR6*, *TLR9*, *IL1β*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *IL17A*, *CD14*, *TNFα*, *FCGR2A*) проводили с использованием комплекта реагентов SNP-экспресс методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллель-специфичными праймерами (НПФ «Литех», Россия) на амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК технология», Россия) и с электрофоретической детекцией продуктов реакции в агарозном геле. Исследованные полиморфизмы, их характер и локализация представлены в табл. 2.

Таблица 1. Характеристика больных множественной миеломой

Показатель	Число больных
Пол	
Мужчины	8 (40 %)
Женщины	12 (60 %)
Медиана (диапазон) возраста, лет	51,5 (32–67)
Медиана (диапазон) индекса коморбидности по М. Charlson [29], баллы	2 (0–5)
Стадия ММ по Durie—Salmon [12]	
I	1 (5 %)
II	15 (75 %)
III	4 (20 %)
Иммунохимический тип	
G	14 (70 %)
A	3 (15 %)
M	1 (5 %)
D	2 (10 %)
Преобладающий уровень секреции СЛЦ	
κ	8 (40 %)
λ	9 (45 %)
НД	3 (15 %)
Медиана (диапазон) предшествующих циклов индукционной терапии	5 (4–10)
Медиана (диапазон) времени от начала лечения до 1-й аутоТГСК, мес.	8,5 (4–20)
Число аутоТГСК в пределах 12 мес. от начала заболевания	15 (75 %)
Число аутоТГСК после > 12 мес. от начала заболевания	5 (25 %)
Медиана (диапазон) периода наблюдения от 1-й аутоТГСК до окончания исследования, мес.	6 (1–113)
Число неблагоприятных исходов (рецидив, прогрессирование, смерть) за период наблюдения после 1-й аутоТГСК	5 (25 %)
Медиана (диапазон) срока наступления неблагоприятных событий от 1-й аутоТГСК, мес.	35 (11–42)
Число выполненных аутоТГСК	
Однократные	9 (45 %)
Тандемные	11 (55 %)
Мукозит после 1-й аутоТГСК	
0–I степени	6 (30 %)
II–III степени	14 (70 %)
Медиана (диапазон) периода наблюдения от начала заболевания до окончания исследования, мес.	18 (6–119)

НД — нет данных; СЛЦ — свободные легкие цепи.

Статистический анализ

Распределение генотипов по исследуемым полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди—Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Для сравнения частот аллелей между различными группами использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность. Дополнительно оценивали отношение шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ). Показатель ОШ = 1 свидетельствовал об отсутствии связи риска развития события с наблюдаемым генотипом, ОШ < 1 — об отрицательной связи (фактор пониженного риска развития события), ОШ > 1 — о положительной связи гаплотипа с риском развития события (фактор повышенного риска). Для расчета результатов использовали пакеты программ MS Office Excel 2003 STATISTICA V.13.2 и калькулятор для расчета статистики в исследованиях типа «случай-

Таблица 2. Полиморфные локусы генов иммунного ответа

Ген	Поли-морфный локус	Цитогенетическая локализация	Локализация в гене	Тип мутации
<i>IL1β</i>	T-31C	2q13-2q14	Интрон	Транзиция
	G-1473C		Промотор	Трансверсия
	C-3953T		Экзон 5	Транзиция/сайленс-мутация
	T-511C		Интрон	Транзиция
<i>IL2</i>	T-330G	4q26-4q27	Интрон	Трансверсия
<i>IL4</i>	C-589T	5q23-5q31	Интрон	Транзиция
<i>IL6</i>	C-174G	7p15-7p21	Интрон	Трансверсия
<i>IL10</i>	C-819	1q31-1q32	Интрон	Транзиция
	G-1082A		Промотор	Межгенный регион
<i>IL17A</i>	G-197A	6p12.2	Интрон	Транзиция
<i>TNF</i>	G-308A	6p21.33	Интрон	Транзиция
<i>CD14</i>	C-159T	5q31.1	Интрон, 5'-UTR	Транзиция
<i>FCGR2A</i>	His166Arg	1q23.3	Экзон 4	Транзиция/миссенс-мутация
<i>TLR2</i>	Arg753Gln	4q31.3-4q32	Экзон 3	Транзиция/миссенс-мутация
<i>TLR3</i>	Phe421Leu	4q35.1	Экзон 4	Транзиция/миссенс-мутация
<i>TLR4</i>	Asp299Gln	9q33.1	Экзон 3	Транзиция/миссенс-мутация
	Thr399Ile	9q32-9q33	Экзон 3	Транзиция/миссенс-мутация
<i>TLR6</i>	Ser249Pro	4p14	Экзон 1	Транзиция/миссенс-мутация
<i>TLR9</i>	T-1237C	3p21.2	Интрон	Транзиция
	A2848G		Экзон 2	Транзиция/сайленс-мутация

5'-UTR — 5'-нетранслируемая область гена.

контроль» (http://gen-exp.ru/calculator_or.php). Исследование количественных лабораторных показателей оценивали с помощью общепринятых методик. Характер (нормальность) их распределения определяли с использованием критерия Колмогорова—Смирнова. При отсутствии нормального распределения рассчитывали медиану. При статистическом анализе результатов использовали методы сравнения выборок (*U*-критерий Манна—Уитни), кривые выживаемости (метод Каплана—Мейера, лог-ранговый тест), многофакторный анализ (модель пропорциональных рисков Кокса). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В зависимости от эффективности проведенной индукционной терапии пациенты были разделены на три группы. Первую составили 7 человек, у которых получена частичная ремиссия, 2-ю — 9 обследованных с очень хорошей частичной ремиссией и 3-ю — 4 пациента с полной ремиссией ММ. Описание пред- и посттрансплантационных характеристик больных ММ представлено в табл. 3.

При сравнении клинических, лабораторных и демографических данных пациентов в трех выделенных

Таблица 3. Характеристика больных множественной миеломой разных групп, выделенных в соответствии с результатами индукционной терапии

Показатель	Результаты индукционной терапии, n		
	1-я группа (ЧР)	2-я группа (охЧР)	3-я группа (ПР)
Пол			
Мужчины	5 (71,4 %)	2 (22,2 %)	1 (25,0 %)
Женщины	2 (28,6 %)	7 (77,8 %)	3 (75,0 %)
Медиана (диапазон) возраста, лет	51 (32–55)	51 (34–67)	53 (49–57)
Медиана (диапазон) индекса коморбидности по M. Charlson, баллы	3 (0–5)	2 (0–5)	2 (2–3)
Стадия ММ по Durie—Salmon			
I	0	1 (11,1 %)	0
II	6 (85,7 %)	6 (66,7 %)	3 (75,0 %)
III	1 (14,3 %)	2 (22,2 %)	1 (25,0 %)
Иммунохимический тип			
G	4 (57,1 %)	7 (77,8 %)	3 (75,0 %)
A	0	2 (22,2 %)	1 (25,0 %)
M	1 (14,3 %)	0	0
D	2 (28,6 %)	0	0
Класс СЛЦ			
κ	1 (14,3 %)	5 (55,6 %)	2 (50,0 %)
λ	6 (85,7 %)	2 (22,2 %)	1 (25,0 %)
НД	0	2 (22,2 %)	1 (25,0 %)
Медиана (диапазон) предшествующих циклов индукционной терапии	5 (4–9)	6 (4–8)	7,5 (5–10)
Медиана (диапазон) времени от начала лечения до 1-й аутоТГСК, мес.	7 (4–13)	9 (6–20)	9 (4–16)
Число аутоТГСК в пределах 12 мес. от начала заболевания	6 (85,7 %)	8 (88,9 %)	1 (25,0 %)
Число аутоТГСК после > 12 мес. от начала заболевания	1 (14,3 %)	1 (11,1 %)	3 (75,0 %)
Медиана (диапазон) периода наблюдения от 1-й аутоТГСК до окончания исследования, мес.	41 (1–113)	4 (1–15)	5 (1–6)
Число неблагоприятных исходов (рецидив, прогрессирование, смерть) за период наблюдения после 1-й аутоТГСК	5 (71,4 %)	0	0
Медиана (диапазон) срока наступления неблагоприятных событий от 1-й аутоТГСК, мес.	35 (11–42)	—	—
Число выполненных аутоТГСК			
Однократные	2 (28,6 %)	6 (66,7 %)	1 (25,0 %)
Тандемные	5 (71,4 %)	3 (33,3 %)	3 (75,0 %)
Мукозит после 1-й аутоТГСК			
0–I степени	1 (14,3 %)	4 (44,4 %)	1 (25,0 %)
II–III степени	6 (85,7 %)	5 (55,6 %)	3 (75,0 %)
Медиана (диапазон) периода наблюдения от начала заболевания до окончания исследования, мес.	48 (10–119)	13 (7–21)	18 (6–21)

охЧР — очень хорошая частичная ремиссия; ПР — полная ремиссия; СЛЦ — свободные легкие цепи; ЧР — частичная ремиссия.

группах статистически значимые различия (p_1 — для различий показателей в 1-й и 2-й группах; p_2 — для различий показателей во 2-й и 3-й группах) получены в сроках динамического наблюдения. Так, период наблюдения от первой аутоТГСК до окончания исследования у больных с частичной ремиссией значительно превышал таковой у пациентов с очень хорошей частичной ремиссией ($p_1 = 0,03$). У обследованных 2-й группы этот показатель был выше, чем у больных с полной ремиссией после индукционной терапии ($p_2 = 0,04$). Это связано с тем, что 1-ю группу составили пациенты с максимальным сроком наблюдения от начала заболевания до окончания исследования ($p_1 = 0,04$).

При изучении возможной связи мутационного статуса генов иммунного ответа с непосредственными результатами индукционной терапии у больных ММ исследовали частоту распространения выявленных гаплотипов у пациентов с частичным, очень хорошим частичным ответом и полной ремиссии (табл. 4).

По нашим данным, группу пациентов с очень хорошей частичной ремиссией отличало от группы

пациентов с полным ответом на индукционную терапию отсутствие мутантных гомозигот AA гена *IL10* в полиморфном локусе G-1082A (0 vs 50 %; $\chi^2 = 5,32$; $p_2 = 0,02$; ОШ 14,78; 95% ДИ 0,67–536,69), а от группы с частичным ответом — отсутствие мутантных гомозигот TT гена *TLR6* (Ser249Pro) (0 vs 42,8 %; $\chi^2 = 4,75$; $p_1 = 0,03$; ОШ 14,78; 95% ДИ 0,62–351,27).

Известно, что не только предтрансплантационный статус пациентов, но и развитие различных осложнений в посттрансплантационный период имеют важное значение при оценке показателей бессобытийной и общей выживаемости больных ММ. Токсическое повреждение слизистых оболочек вследствие ВДХТ с последующей аутоТГСК может быть сопряжено с развитием тяжелых мукозитов. Е.А. Coleman и соавт. [32] показали, что одним из факторов патогенеза данного осложнения может служить полиморфизм генов иммунного ответа. В связи с этим проведены исследования для определения участия генетической компоненты в развитии мукозитов непосредственно после аутоТГСК у больных ММ (табл. 5).

Таблица 4. Распределение частоты гаплотипов генов иммунного ответа у больных множественной миеломой с различным ответом на индукционную терапию

Ген	SNP*	Генотип	1-я группа, ЧР (n = 7)	2-я группа, охЧР (n = 9)	3-я группа ПР (n = 4)
<i>IL1β</i>	rs2856841	ТТ	0,429	0,333	0,750
		ТС	0,571	0,667	0,250
		СС	0	0	0
	rs1143623	СС	0,334	0,333	0
		СТ	0,333	0,445	0,333
		ТТ	0,333	0,222	0,667
	rs1143634	GG	0,429	0,222	0,334
		GC	0,429	0,667	0,333
		CC	0,142	0,111	0,333
rs16944	СС	0,286	0,444	0,667	
	СТ	0,286	0,444	0	
	ТТ	0,428	0,112	0,333	
<i>IL2</i>	rs2069762	ТТ	0,143	0,556	0,500
		TG	0,857	0,444	0,500
		GG	0	0	0
<i>IL4</i>	rs2243250	СС	0,286	0,444	0,250
		СТ	0,571	0,444	0,750
		ТТ	0,143	0,112	0
<i>IL6</i>	rs1800795	СС	0,286	0,222	0,250
		CG	0,143	0,667	0,500
		GG	0,571	0,111	0,250
<i>IL10</i>	rs1800871	СС	0,857	0,667	0,750
		СТ	0,143	0,222	0,250
		ТТ	0	0,111	0
	rs1800896	GG	0,143	0,111	0,250
		GA	0,714	0,889	0,250
		AA	0,143	0	0,500
<i>IL17A</i>	rs2275913	GG	0,143	0,556	0,500
		GA	0,714	0,333	0
		AA	0,143	0,111	0,500
<i>TNF</i>	rs1800629	GG	0,714	0,667	0,500
		GA	0,286	0,333	0,500
		AA	0	0	0
<i>CD14</i>	rs34424920	СС	0,286	0,556	0,500
		СТ	0,286	0,222	0,500
		ТТ	0,428	0,222	0
<i>FCGR2A</i>	rs1801274	GG	0,714	0,445	0,500
		GA	0	0,333	0,500
		AA	0,286	0,222	0
<i>TLR2</i>	rs5743708	GG	1,000	0,778	0,750
		GA	0	0,222	0,250
		AA	0	0	0
<i>TLR3</i>	rs3775291	GG	0,429	0,445	0,250
		GA	0,429	0,333	0,500
		AA	0,142	0,222	0,250
<i>TLR4</i>	rs4986790	GG	0,400	0,667	1,000
		GA	0,600	0,333	0
		AA	0	0	0
	rs4986791	СС	0,714	0,778	0,667
		СТ	0,286	0,222	0,333
		ТТ	0	0	0
<i>TLR6</i>	rs5743810	СС	0,286	0,444	0,750
		СТ	0,286	0,556	0
		ТТ	0,428	0	0,250
<i>TLR9</i>	rs5743836	ТТ	0,857	0,778	0,750
		ТС	0,143	0,222	0,250
		СС	0	0	0
	rs352140	AA	0,429	0,445	0,334
		AG	0,142	0,333	0,333
		GG	0,429	0,222	0,333

Данные представлены в долях единицы.

охЧР — очень хорошая частичная ремиссия; ПР — полная ремиссия; ЧР — частичная ремиссия.

* Указан идентификационный номер (rs) однонуклеотидной замены, согласно The Single Nucleotide Polymorphism Database — dbSNP (National Center for Biotechnology Information, NCBI [30]; National Human Genome Research Institute, NHGRI [31]).

Таблица 5. Распределение частоты гаплотипов генов иммунного ответа у больных множественной миеломой в зависимости от выраженности мукозита после аутоТГСК

Ген	SNP*	Генотип	Мукозит 0–I	Мукозит II–III
			степени (n = 6)	степени (n = 13)
<i>IL1β</i>	rs2856841	TT	0,500	0,539
		TC	0,500	0,461
		CC	0	0
	rs1143623	CC	0,167	0,364
		CT	0,500	0,272
		TT	0,333	0,364
	rs1143634	GG	0,167	0,417
		GC	0,333	0,583
		CC	0,500	0
rs16944	CC	0,334	0,417	
	CT	0,333	0,333	
	TT	0,333	0,250	
<i>IL2</i>	rs2069762	TT	0,500	0,385
		TG	0,500	0,615
		GG	0	0
<i>IL4</i>	rs2243250	CC	0,167	0,462
		CT	0,833	0,462
		TT	0	0,076
<i>IL6</i>	rs1800795	CC	0,167	0,230
		CG	0,666	0,385
		GG	0,167	0,385
<i>IL10</i>	rs1800871	CC	0,333	0,923
		CT	0,667	0
		TT	0	0,77
	rs1800896	GG	0,167	0,154
		GA	0,667	0,692
		AA	0,167	0,154
<i>IL17A</i>	rs2275913	GG	0,333	0,384
		GA	0,667	0,308
		AA	0	0,308
<i>TNF</i>	rs1800629	GG	0,667	0,615
		GA	0,333	0,385
		AA	0	0
<i>CD14</i>	rs34424920	CC	0,500	0,385
		CT	0,167	0,385
		TT	0,333	0,231
<i>FCGR2A</i>	rs1801274	GG	33,3	61,5
		GA	50,0	15,4
		AA	16,7	23,1
<i>TLR2</i>	rs5743708	GG	0,833	0,846
		GA	0,167	0,154
		AA	0	0
<i>TLR3</i>	rs3775291	GG	0,333	0,452
		GA	0,500	0,308
		AA	0,167	0,230
<i>TLR4</i>	rs4986790	GG	0,800	0,333
		GA	0,200	0,667
		AA	0	0
	rs4986791	CC	0,833	0,667
		CT	0,167	0,333
		TT	0	0
<i>TLR6</i>	rs5743810	CC	0,333	0,539
		CT	0,500	0,308
		TT	0,167	0,153
<i>TLR9</i>	rs5743836	TT	0,667	0,846
		TC	0,333	0,154
		CC	0	0
	rs352140	AA	0,500	0,417
		AG	0,167	0,333
		GG	0,333	0,250

Данные представлены в долях единицы.

* Указан идентификационный номер (rs) однонуклеотидной замены, согласно базе данных dbSNP [30, 31].

Группу пациентов с более выраженным мукозитом (2-я группа) отличало от 1-й группы полное отсутствие мутантных гомозигот CC гена *IL1β* в позиции G-1473C (0 vs 50 %; $\chi^2 = 7,20$; $p = 0,007$; ОШ 25,00; 95% ДИ 1,03–608,13) и меньшее число носителей гетеро- и гомозиготных гаплотипов (СТ+ТТ) гена *IL10* с мутантным аллелем Т в точке мутации С-819Т (7,7 vs 66,7 %; $\chi^2 = 7,36$; $p = 0,007$; ОШ 24,00; 95% ДИ 1,69–341,01).

В настоящее время для оценки отдаленных результатов терапии используют построение кривых с анализом показателей ОБ и ВБП. Как известно, они связаны с результатами различных тестов. Так, доказано прогностическое значение отдельных биохимических маркеров, степени инфильтрации костного мозга, количества опухолевых клеток в периферической крови и костном мозге, а также темпов их прироста [33]. Определена прогностическая роль специфических белков и их фрагментов, мутационного статуса отдельных генов, их суррогатных маркеров и цитогенетических нарушений [34]. К сожалению, профиль генов иммунного ответа находился вне зоны внимания исследователей в условиях применения новых современных программ лечения больных ММ. Мы изучали ОБ и ВБП у больных ММ, получавших ВДХТ и аутоТГСК, в зависимости от молекулярно-генетических показателей. Кроме того, предпринята попытка оценить независимое прогностическое влияние этих параметров на показатели выживаемости при проведении многофакторного анализа на основании пропорциональных рисков Кокса. На рис. 1 представлены показатели ОБ всех обследованных пациентов.

Медиана ОБ составила 49,6 мес. Чтобы определить, какие исследованные генетические маркеры статистически значимо влияют на данный показатель, проведен многофакторный анализ, результаты которого представлены в табл. 6.

Результаты многофакторного анализа показали, что генетическими маркерами, статистически значимо влияющими на показатели ОБ, являются полиморфный статус генов *IL10* (G-1082A), *TNF* (G-308A), *TLR4* (Thr399Ile) и *TLR9* в полиморфных локусах T-1237C и A2848.

Важный показатель эффективности проведенного лечения — это параметры ВБП, включающие отсутствие негативных событий, а именно рецидивов или летального исхода. На рис. 2 изображена кривая ВБП с медианой 35,3 мес.

Проведено исследование генетических показателей, оказывающих независимое влияние на показатели ВБП (табл. 7).

Как видно из представленных в табл. 7 данных, на показатели ВБП оказывал влияние мутационный статус генов *TNF* (G-308A), *TLR4* (Thr399Ile) и *TLR9* в полиморфных локусах T-1237C и A2848. Независимое прогностическое значение в отношении ВБП имели гены *IL1β* (T-511C), *IL2* (T-330G), *IL6* (C-174G), *CD14* (C-159T), *TLR3* (Phe421Leu) и *TLR4* (Asp299Gly).

ОБСУЖДЕНИЕ

Механизмы, которые управляют нормальной дифференцировкой и активацией плазмочитов при ММ,

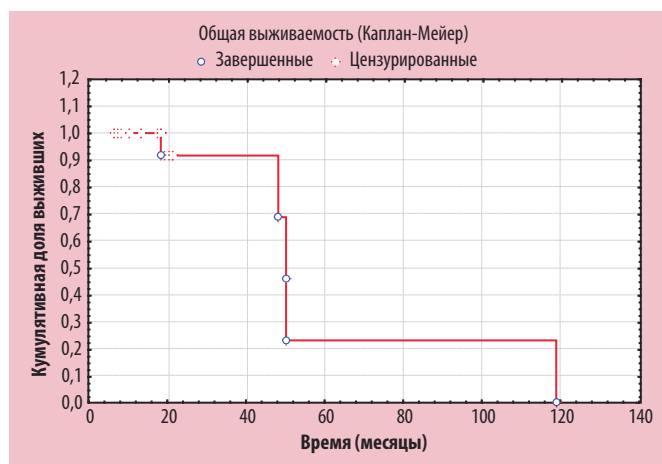


Рис. 1. Общая выживаемость больных множественной миеломой (n = 20)

Fig. 1. The overall survival in MM patients (n = 20)

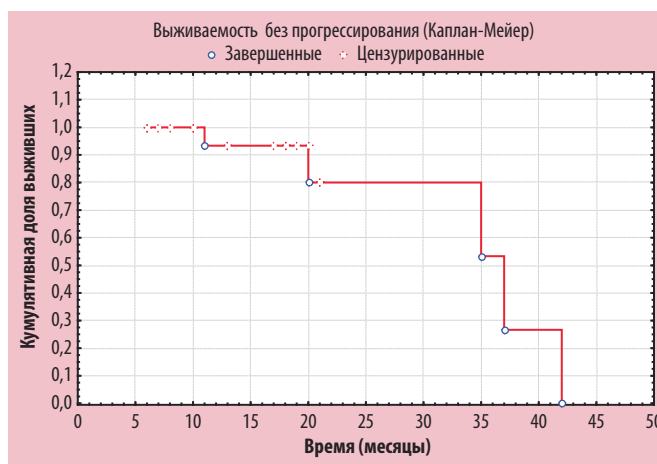


Рис. 2. Выживаемость без прогрессирования у больных множественной миеломой (n = 20)

Fig. 2. The progression-free survival in MM patients (n = 20)

Таблица 6. Генетические факторы, имеющие независимое прогностическое значение при оценке общей выживаемости у больных ММ с различным ответом на индукционную терапию с последующей аутоТГСК

Ген	SNP*	χ^2	p
<i>IL10</i>	rs1800896	5,01	0,03
<i>TNF</i>	rs1800629	4,88	0,03
<i>TLR4</i>	rs4986791	4,21	0,04
<i>TLR9</i>	rs5743836	4,86	0,03
	rs352140	4,62	0,03

* Указан идентификационный номер (rs) однонуклеотидной замены, согласно базе данных dbSNP [30, 31].

часто нарушаются, что приводит к неограниченному росту и длительному выживанию трансформированных клеток, поддерживаемых хромосомными транслокациями и онкогенными мутациями [35].

Несмотря на небольшое число наблюдений в нашем исследовании, анализ выбранных генетических маркеров, коррелирующих с эффективностью лечения и прогнозом у больных ММ, показал статистически значимое прогностическое значение полиморфного статуса генов иммунного ответа.

ВДХТ с ТГСК являются одним из основных достижений в лечении больных ММ. Определение прогноза заболевания основано преимущественно на общепринятых системах стадирования. Однако применение только базовых клинико-лабораторных критериев не позволяет определить пациентов, нуждающихся в интенсификации терапии. Все это служит основанием для продолжения поиска новых индивидуализированных прогностических маркеров эффективности лечения. ВДХТ с последующей аутоТГСК при ММ хорошо изучена. Тем не менее данных, посвященных биологическим факторам прогноза касательно ответа на этот вид лечения у пациентов с ММ, недостаточно. Интенсификация терапии приводит к повышению ее токсичности, что также требует более тщательного отбора больных для аутоТГСК. При поиске генетических прогностических критериев оказалось, что влияние на эффективность лечения и течение ММ оказывает полиморфизм генов глутатион S-трансферазы P1

Таблица 7. Генетические факторы, имеющие значение при оценке выживаемости без прогрессирования у больных ММ с различным ответом на индукционную терапию с последующей аутоТГСК

Ген	SNP*	χ^2	p
<i>IL1β</i>	rs1143623	8,50	0,01
<i>IL2</i>	rs2069762	4,46	0,04
<i>IL6</i>	rs1800795	5,34	0,02
<i>TNF</i>	rs1800629	5,19	0,02
<i>CD14</i>	rs34424920	7,02	0,01
<i>TLR3</i>	rs3775291	5,38	0,02
<i>TLR4</i>	rs4986790	7,24	0,01
	rs4986791	4,41	0,04
<i>TLR9</i>	rs5743836	4,34	0,04
	rs352140	4,95	0,03

* Указан идентификационный номер (rs) однонуклеотидной замены, согласно базе данных dbSNP [30, 31].

(*GSTP1*) Ile105Val. Кроме того, определена роль SNP в генах, кодирующих ферменты, которые участвуют в метаболизме лекарственных средств (*CYP3A4*, *CYP3A5*, *ABCB1*, *GSTM1*, *GSTT1*), в генах репарации ДНК (*ERCC1*, *ERCC2*, *XRCC3*), в апоптотических генах (*PPP1R13L*, *CD3EAP*), а также в ряде других генов, задействованных в регуляции клеточного цикла [34].

В течение последних двух десятилетий новые методы лечения ММ с использованием иммуномодулирующих препаратов и ингибиторов протеасом привели к улучшению выживаемости пациентов. Эти препараты вызывают апоптоз миеломных клеток, прерывают взаимодействие между клетками миеломы и стромальными элементами костного мозга, ингибируют ангиогенез и секрецию ряда цитокинов (IL-1 β и IL-6). Эффект данного вида лечения подтверждает важность исследования ключевых регуляторов иммунного ответа в патогенезе ММ для оценки риска, прогноза и исхода заболевания [36]. В связи с этим становится очевидным, что значительно больше внимания должно уделяться генам, ответственным за реализацию защитной функции иммунной системы. Генетические изменения в TLR, цитокиновых и других рецепторах создают основу для патологических

событий в функционировании опухолевой клетки. Широко известно, что в патогенезе ММ важная роль отводится дисбалансу цитокинов. Так, например, остеокласт-активирующие свойства некоторых цитокинов составляют основу поражения костной ткани при ММ [33]. М. Bolzoni и соавт. [37] получили интересные данные, указывающие на то, что клетки CD14+ несут рецептор, не только представляющий собой белок, способный связывать различные эндогенные лиганды в виде липополисахарида, фрагментов апоптотических клеток, липопротеидов высокой плотности, белков теплового шока и фибриногена [38], но и отличающий моноциты костного мозга пациентов с избыточной экспрессией IL21R и усиленным образованием остеокластов.

Взаимодействие между опухолевыми клетками ММ и микроокружением в костном мозге занимает центральное место в росте и выживании клеток миеломы. Происходит стимуляция ангиогенеза и усиление продукции таких цитокинов, как IL-1 β , IL-6 и IL-10. Провоспалительные цитокины высвобождаются в микроокружении костного мозга и активируют NF- κ B (ядерный фактор κ B) по классическому пути как в клетках злокачественных опухолей, так и иммунной системы человека. Эта активация приводит к дальнейшему росту и выживанию клеток миеломы и продукции медиаторов, поддерживающих местное и системное воспаление [36].

Отмечено, что и TLR могут быть вовлечены в патогенез ММ, т. к. экспрессия этих рецепторов обнаруживается не только на нормальных, но и на опухолевых клетках. По имеющимся в настоящее время данным, TLR могут быть причастны к злокачественной трансформации плазмоцитов, прогрессированию опухоли и уклонению ее от иммунного надзора [39].

В нашей работе мы выявили связь функциональных полиморфизмов регуляторных участков генов цитокинов (IL1 β (T-511C), (G-1473C), IL2 (T-330G), IL6 (C-174G), IL10 (C-819T), (G-1082A), TNF (G-308A)) с уровнем ответа на индукционную терапию, степенью тяжести посттрансплантационного мукозита, показателями ОВ и ВБП. Провоспалительные цитокины, такие как IL-1, TNF- α , IL-6, имеют важное значение в патогенезе ММ, нормальном развитии плазматических клеток, а также в их активации. Генетические вариации в генах цитокинов могут влиять на риск развития неоплазий и исходы лечения [40]. Так, показано, что носительство аллеля С в гене IL1 β T-31C связано с более высокой продукцией IL-1 β и с более лучшей ОВ у пациентов с ММ, подвергшихся аутоТГСК [36].

Н. Chen и соавт. исследовали весь ген IL1 β в целях обнаружения вариаций, которые изменяют его транскрипционную активность и связывающую способность ядерного белка [41]. Авторы нашли, что эти характеристики зависели от комбинации отдельных SNP в области промотора данного гена. В ходе работы выявлено, что четыре SNP являются основными детерминантами промоторной активности гена IL1 β : C-3737T, G-1464C, C-511T и T-31C. Аллель С в локусе G-1464C снижал активность промотора гена IL1 β в сравнении с аллелем дикого типа G, тогда как сочетание двух тесно связанных между собой T-31C и

C-511T полиморфизмов приводило к более высокой продукции IL-1 β . SNP C-3737T не оказывал большого влияния на транскрипцию гена, но разрушал сайт связывания p50 NF- κ B.

Важность анализа гаплотипов IL1 β для оценки функционирования гена была подтверждена работой N.E. Landvik и соавт., которые при немелкоклеточном раке легкого показали, что гаплотипы высокого риска развития заболевания коррелировали с повышенным уровнем мРНК в ткани неизмененного легкого [42]. A.J. Vangsted и соавт. обнаружили, что аллель дикого типа С гена IL1 β в локусе C-3737T и отсутствие носительства гаплотипа TGT в промоторе гена IL1 β (-3737^T, -1464^G и -31^T) связаны с высокой активностью промотора и более длительными периодами до наступления рецидива заболевания после аутоТГСК [40]. В нашем исследовании отмечено, что отсутствие мутантных гомозигот CC гена IL1 β в позиции G-1473C у больных ММ приводило к развитию более тяжелого мукозита (II–III степени) в ранний посттрансплантационный период. Полиморфизм гена IL1 β (T-511C) был независимым фактором, определяющим продолжительность периода без прогрессирования.

IL-6 представляет собой плейотропный цитокин, который участвует в патогенезе различных заболеваний, в т. ч. злокачественных новообразований. Этот цитокин способствует выживанию и пролиферации миеломных клеток. При ММ описан как аутокринный, так и паракринный механизм продукции IL-6 [19, 43]. Уровень IL-6 в сыворотке считается важным прогностическим фактором, коррелирующим со стадией заболевания и степенью выраженности остеопороза. Наряду с высоким сывороточным уровнем IL-6 возможно повышение и концентрации IL-10 [44]. IL-10 продуцируется моноцитами, Т- и В-лимфоцитами, естественными киллерами, тучными клетками и является мощным фактором дифференцировки В-лимфоцитов, обеспечивающим рост клеток при ММ [45].

Z.J. Gu и соавт. предположили участие IL-10 в активации клеток ММ посредством индукции аутокринного механизма онкостатином М [46]. У больных ММ наблюдали корреляцию между содержанием IL-10 и некоторыми клиническими и лабораторными параметрами [47]. Обнаружены весьма противоречивые данные, касающиеся участия генов IL6 и IL10 в развитии и течении ММ. Так, A.J. Vangsted и соавт. [36] не наблюдали связи между мутационным статусом генов IL6 и IL10 и ОВ больных ММ после высоких доз мелфалана с аутоТГСК. В исследовании G. Mazur и соавт. [48] полиморфизм промотора генов IL6 и IL10 не был связан с риском развития ММ, однако полиморфизм гена IL6 коррелировал с показателями выживаемости больных ММ. C.R. Duch и соавт. [49] не выявили связи между промоторным полиморфизмом гена IL6 (-174 G/C) и риском развития ММ. В свою очередь, В. Chakraborty и соавт. описали особенности полиморфизма промотора гена IL6 в положении -174. Больные с генотипом GC имели высокий уровень сывороточного IL-6 и представляли собой группу пациентов с более тяжелым течением ММ в сравнении с носителями гаплотипов GG и CC [50].

Мы показали, что полиморфизм гена IL10 (G-1082) был независимым фактором, влияющим на

показатели ОВ, а гена *IL6* (С-174G) — на ВБП. В нашем исследовании выявлена связь полиморфного статуса гена *IL10* в точке мутации G-1082 не только с ОВ, но и с уровнем ответа на индукционную терапию у пациентов с ММ. Полиморфный сайт С-819Т гена *IL10* определял степень выраженности мукозита после аутоТГСК.

При исследовании ассоциативных связей между полиморфизмом гена *IL2* и ММ найдено упоминание о мутации данного гена при описании эффективности иммуномодулирующих препаратов, применяемых при ММ. Хотя эти лекарственные средства используются в качестве стандартного метода лечения ММ, основная точка приложения их действия была неизвестна до 2010 г., пока Т. Ito и соавт. при изучении тератогенных эффектов талидомида не показали, что препарат связывается с белком цереблонеом [51]. Исследование, проведенное в 2014 г., выявило, что отсутствие экспрессии цереблонеом в образцах костного мозга больных ММ коррелировало с худшей выживаемостью пациентов, получавших лечение леналидомидом или талидомидом [52].

Цереблонеом образует убиквитинлигазный комплекс с DDB1, CUL4A и ROC1. При его активации иммуномодулирующими препаратами он убиквитинирует факторы транскрипции IKZF1 и IKZF3, также называемые Ikaros и Aiolos, которые подвергаются деградации в протеасомах [53]. Отсутствие этих двух факторов приводит к снижению регуляции факторов транскрипции IRF4 и MYC, которые необходимы для выживания клеток при ММ. Их отсутствие ведет к гибели опухолевых клеток. Интересно, что IRF4 стимулирует продукцию MYC, который, в свою очередь, активирует синтез IRF4 [54]. Показано, что IKZF3 связывается с промотором гена *IL2* и подавляет продукцию IL-2 Т-клетками CD4+, а добавление леналидомида индуцирует секрецию IL-2. В связи с этим эффективность иммуномодулирующих средств в лечении пациентов с ММ может находиться в прямой зависимости от статуса всех молекул-мишеней, участвующих в этом процессе [55]. В работе С. Kekik и соавт. [56] отмечено, что гаплотипы GT и TT гена *IL2* в положении +166 статистически значимо чаще встречались у больных ММ, чем у здоровых лиц, что позволило авторам говорить об определенной роли полиморфизма гена *IL2* в развитии ММ и рассматривать его как возможную терапевтическую мишень. В нашем исследовании мы отметили вклад полиморфного статуса гена *IL2* (Т-330G) в ВБП пациентов после ВДХТ и аутоТГСК.

Ген *TNFα*, расположенный на хромосоме 6p21.3, кодирует белок, который функционирует как провоспалительный иммунорегуляторный цитокин и является важным медиатором регуляции иммунного ответа [57]. TNF-α стимулирует секрецию IL-6 в стромальных клетках костного мозга, индуцирует экспрессию молекул адгезии (LFA-1, ICAM-1, VCAM-1) [58] и появление злокачественных плазматических клеток [59]. Он может также способствовать развитию остеолитических очагов в костях [60], поэтому оценка полиморфизма гена *TNFα* весьма актуальна при изучении патогенеза ММ.

Проведенные ранее исследования позволили обнаружить возможный механизм ингибирования

талидомидом экспрессии белка TNF-α на посттранскрипционном уровне. Это облегчает реорганизацию его мРНК и в конечном итоге приводит к дисфункции цитокина TNF-α [61, 62]. Сообщается о наличии по меньшей мере 44 полиморфизмов в гене *TNFα* [63, 64]. Примечательно, что SNP, расположенные в локусах -238 и -308 промоторной области *TNFα*, по-видимому, влияют на экспрессию TNF-α и считаются функциональными SNP [65, 66]. Однако предыдущие наблюдения в различных популяциях показали весьма противоречивые результаты относительно влияния генетического полиморфизма *TNFα* на риск развития миеломы [64–72]. Так, в исследованиях J. Du и соавт. у больных ММ обнаружено, что гаплотип GA или сочетание генотипов GA + AA гена *TNFα* в позиции -308 связаны с уменьшением риска развития заболевания. Гаплотипы GA+AA гена *TNFα* в локусе -238 ассоциированы со значительным улучшением показателей ВБП и ОВ [73]. Аналогичные данные получены и в нашей работе. На основании проведенного многофакторного анализа выявлено, что мутационный статус гена *TNFα* в позиции G-308A тесно связан с показателями ОВ и ВБП.

Ген *CD14*, расположенный на хромосоме 5q31.1, определяет существование белка CD14 в двух различных формах [74]: мембранной молекулы (mCD14), соединенной с мембраной гликозилфосфатидилинозитолом, экспрессируемой зрелыми моноцитами, макрофагами, активированными нейтрофильными гранулоцитами и В-клетками [75, 76], и растворимой молекулы (sCD14), лишенной гликозилфосфатидилинозитола [77]. sCD14 в сыворотке существует в виде двух основных изоформ, отличающихся молекулярной массой. mCD14 является рецептором распознавания молекулярных образцов, который играет центральную роль в реализации врожденного иммунитета и последующей активации приобретенного иммунитета [78]. Рецепторный комплекс, включающий в себя CD14 и TLR4, связываясь с бактериальным липополисахаридом [79–81], способен тем самым активировать NF-κB путь передачи сигнала через белок миелоидной дифференцировки первичного ответа 88 (MyD88). NF-κB регулирует транскрипцию многих генов, важных для реализации иммунного ответа, и участвует в развитии многих заболеваний у человека [82]. Рецептор CD14 путем образования сигнального комплекса с TLR4/MD-2 приводит к активации генов воспаления с секрецией таких иммунорегуляторных молекул, как IL-1, IL-6 и TNF-α [83–86].

У. Kanatani и соавт. обнаружили, что экспрессия гена *CD14* защищает клетки от апоптоза [87]. Авторы предположили, что регуляция экспрессии гена *CD14* имеет важное значение для определения подверженности клетки к дифференцировке или апоптозу [88]. В промоторной области гена *CD14* человека выявлено несколько функциональных SNP. Так, полиморфизм T>C, расположенный в локусе -260 (rs2569190), нарушает связывание фактора транскрипции Sp: аллель С приводит к снижению активности промотора *CD14* [89, 90]. Более выраженная экспрессия sCD14 и mCD14 обнаружена у носителей аллеля *CD14* -260T в сравнении с носителями аллеля *CD14* -260C [89, 91]. В нашей работе мы обнаружили

связь между наличием мутантных аллелей в гене *CD14* и ВБП у больных ММ после ВДХТ и аутоТГСК.

TLR связывают врожденный и адаптивный иммунитет, что является тем звеном, которое объединяет развитие воспаления и опухолевых заболеваний. Когда происходит связывание TLR со своими лигандами, наблюдается запуск двух основных сигнальных путей, перекрывающихся на определенном этапе. Первый путь представляет собой MyD88-зависимую продукцию и активацию NF-κB, тогда как другой — MyD88-независимую продукцию интерферона I типа. Первый, с участием MyD88, приводит к продукции провоспалительных цитокинов, второй путь стимулирует клеточную пролиферацию. Нарушение регуляции этих путей может в конечном итоге способствовать аномальной пролиферации клеток и развитию ММ.

В последние годы увеличивается количество лечебных подходов, основанных на активации TLR и тестируемых в ряде доклинических и клинических исследований, в т. ч. и при ММ [92]. TLR являются некаталитическими трансмембранными одиночными рецепторами [93, 94]. С одной стороны, они стимулируют реализацию врожденных и приобретенных иммунных реакций, с другой — способствуют ускользанию опухоли от иммунного надзора. Клетки при ММ экспрессируют TLR, указывая на то, что микроокружение костного мозга может реагировать на сигналы, индуцируемые опухолью [95, 96]. Однако большинство исследований, в которых была найдена связь между TLR и развитием злокачественных новообразований, были ограничены изучением мРНК. Объяснялось, что выявленные различия в уровнях мРНК связаны с изменчивостью экспрессии TLR на различных клетках [97]. TLR и их сигнальные пути в клетках ММ признаны потенциальными терапевтическими мишенями для подавления прогрессирования опухоли [98]. Полученные результаты свидетельствуют о возможной связи между активацией TLR и пролиферацией клеток, указывая, что чрезмерная экспрессия TLR является одним из факторов патогенеза ММ [92]. Выявлено, что запуск TLR при связывании их с соответствующими лигандами на плазматических клетках ведет к увеличению продукции ими иммуноглобулинов, что подчеркивает важную роль TLR в развитии плазматических неоплазий [99].

Кроме типичных клинических признаков, характеризующих ММ [36], у пациентов часто наблюдаются рецидивирующие, стойкие бактериальные, грибковые и вирусные инфекции. Действительно, клональная экспансия злокачественных плазматических клеток связана с уменьшением продукции нормальных иммуноглобулинов [92]. Дефицит гуморального иммунитета делает пациентов уязвимыми к инфекциям, которые служат основной причиной смерти наряду с полиорганной недостаточностью. Недавние эпидемиологические исследования показали, что за 5 лет, предшествующих развитию ММ, у больных отмечались неоднократные случаи пневмонии [100, 101].

В нескольких работах отмечено, что опухолевые клетки могут использовать передачу сигналов через TLR в своих целях, т. е. для усиления пролиферации, выживания или уклонения от надзора иммунной системы [102, 103]. Эффект изучен при таких В-клеточных новообразованиях, как хронический

лимфолейкоз, неходжкинские лимфомы или ММ, которые экспрессируют широкий спектр функционально активных TLR [104, 105]. Считается, что повышенная восприимчивость больных ММ к инфекциям объясняется главным образом снижением уровня поликлональных иммуноглобулинов. Кроме того, прогрессирование ММ совпадает с активацией TLR [105].

S. Manier и соавт. [106] изучали специфические взаимодействия между опухолевыми плазматическими клетками и микроокружением костного мозга. J. Bohnhorst и соавт. [107] обнаружили TLR-опосредованные взаимодействия между ними [108]. Механизмы этой взаимосвязи не до конца понятны, хотя утверждается, что прогрессирование ММ инициируется в местах воспаления [109]. Клетки, участвующие в воспалении, и молекулы микроокружения опухоли стимулируют развитие клеток ММ [110]. Например, ингибиторные цитокины, медиаторы воспаления, протеиназы и оксид азота позволяют опухолевым клеткам избегать надзора со стороны иммунной системы. В то же время клетки, участвующие в воспалении, поддерживают пролиферацию, выживание и миграцию опухолевых клеток с формированием их микроокружения [105]. Состояние воспаления может оказывать либо противоопухолевое, либо поддерживающее опухоль действие в зависимости от его типа. Так, известно, что в аспекте прогрессирования ММ активация TLR2 и TLR9 способна усиливать ангиогенез, TLR3 и TLR4 — пролиферацию, TLR4 — устойчивость опухолевых плазматических клеток к химиотерапии, TLR4 и TLR5 — увеличивать количество регуляторных Т-клеток. Напротив, при реализации противоопухолевых функций активация TLR7 и TLR9 может подавлять неоангиогенез при ММ; TLR3, TLR4, TLR7 и TLR9 — усиливать апоптоз злокачественных клеток; TLR2, TLR4 и TLR7 — повышать чувствительность клеток ММ к противоопухолевым средствам; TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 и TLR9 — подавлять презентацию Т-антигенов. TLR повышают устойчивость опухолевых клеток к апоптозу и их способность к инвазии. Таким образом, воздействия на противоопухолевый иммунитет играют важную роль в попытках улучшить результаты лечения ММ [92].

Как нормальные, так и опухолевые плазматические клетки распознают патогены через TLR. Однако поликлональная активация опухолевых клеток вследствие стимуляции TLR сопровождается снижением продукции нормальных иммуноглобулинов [111, 112] и подавлением обычной функции Т-лимфоцитов [2, 113]. И как следствие, реализуется связь между ММ и риском развития у больных рецидивирующих инфекций [111, 113–115]. Хотя и на плазматических клетках костного мозга здоровых доноров экспрессировано ограниченное число TLR, гораздо более широкий спектр TLR представлен на опухолевых плазматических элементах. Наиболее часто экспрессируются TLR1, TLR7 и TLR9. Результаты исследований показали наличие противоопухолевого эффекта при связывании с TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7 и TLR9 в клетках ММ. Активация TLR опосредует секрецию аутокринного IL-6 стромальными клетками костного мозга. IL-6 является самым важным фактором роста

и выживания клеток ММ [107, 111], участвующим в формировании лекарственной устойчивости [105].

Вскоре после первого описания TLR отмечена генетическая изменчивость этих молекул, связанная с различиями в восприимчивости больных к инфекционным заболеваниям и другим патологическим процессам [116]. Первая генетическая вариация отмечена в 2000 г. — полиморфизм гена *TLR4*, заключающийся в двух заменах аминокислот (D299G и T399I), что ослабляет взаимодействие рецептора с липополисахаридами [117] и приводит к росту числа пациентов с сепсисом, вызванным грамотрицательными бактериями [118].

SNP в последовательности ДНК представляет собой одиночную нуклеотидную замену. Почти все типичные SNP имеют только два аллеля. SNP находятся в кодирующих последовательностях генов, некодирующих областях генов или в межгенных областях. SNP в кодирующей последовательности являются синонимичными без изменения аминокислотной последовательности белка или несинонимичными, приводящими к получению другого полипептида. SNP в некодирующих регионах находят отражение в изменении сплайсинга гена, связывании факторов транскрипции или в последовательности некодирующей РНК. Показано, что SNP в генах *TLR* приводят к изменению восприимчивости человека к инфекционным или воспалительным заболеваниям вследствие неспособности отвечать на соответствующие лиганды [116, 119–121].

В проведенном нами исследовании показано, что мутации в генах *TLR3*, *TLR4*, *TLR6* и *TLR9* связаны с уровнем (глубиной) ответа на индукционную терапию у больных ММ и с показателями ВБП и ОБ.

Изучение генетических вариаций в *TLR4* в основном связано с индивидуальными различиями в ответе на инфекционные стимулы, а также с исходами заболеваний в онкологии и ответом на химиотерапию [122, 123]. ММ — это заболевание, патогенез которого в значительной степени зависит от наличия в организме воспаления и, соответственно, провоспалительного микроокружения. Т. Bagratuni и соавт. подвергли анализу генетические полиморфизмы, влияющие на функционирование сигнального пути *TLR4*, результаты лечения и характер течения заболевания у пациентов с ММ. Авторы обнаружили, что наличие SNP в гене *TLR4* связано с более слабым ответом на индукционную терапию главным образом у больных, получавших иммуномодулирующие препараты, но не бортезомиб. Показано, что изменчивость в генах иммунной системы коррелирует с различным ответом на противомиеломные препараты и оказывает влияние на течение болезни [124].

Исследования при ММ, проведенные ранее, позволили выявить, что стимуляция TLR на клетках ММ соответствующими лигандами усиливает их устойчивость к действию дексаметазона, а также способствует росту и пролиферации [107, 111]. Погибающие в результате цитотоксической терапии опухолевые клетки вызывают развитие противоопухолевого иммунного ответа посредством высвобождения HMGB1 и других эндогенных лигандов, таких как нуклеиновые кислоты, связывающиеся с *TLR4* [123]. Полиморфизм гена *TLR4* в локусах Asp299Gly и Thr399Ile ослабляет связь *TLR4* с HMGB1 путем нивелирования способ-

ности миелоидных дендритных клеток перекрестно реагировать на погибающие клетки ММ. Особенности влияния изученных SNP на результаты отдельных видов терапии, вероятно, свидетельствуют о различиях в механизмах действия препаратов на клетки ММ и их микроокружение. Таким образом, SNP, которые обуславливают передачу сигналов *TLR4* через NF-κB, связаны с эффективностью лекарственных средств, действующих на разных этапах пути NF-κB [124]. Считается, что мутации в генах *TLR* выступают в качестве прогностического маркера прогрессирования опухолей [125]. Проведен метаанализ данных 22 исследований, дизайн которых соответствовал типу «случай-контроль», с целью выявить роль 6 SNP гена *TLR4* в риске развития злокачественных новообразований. Интересно, что SNP rs1927911 в интроне 2 связан с уменьшением риска развития опухолей, в то время как Asp299Gly и Thr399Ile коррелировали с повышенным риском развития неоплазий [126].

В нашем исследовании обнаружена связь между полиморфизмом гена *TLR4* в локусе Thr399Ile и показателями ОБ и ВБП, а в локусе Asp299Gly — только с ВБП.

TLR3 в отличие от *TLR4* локализован не на клеточной мембране, а в эндосомах. Следует отметить, что экспрессия *TLR3* в опухолевых плазматических клетках не является типичной. Ген *TLR3* локализован на хромосоме 4q35. Рецептор, кодируемый этим геном, способен связывать двухцепочечную РНК [127]. При поиске взаимосвязи полиморфизма гена *TLR3* с развитием злокачественных новообразований корреляции не обнаружено [119, 128–136].

Ранее мы установили связь риска развития ММ с полиморфизмом гена *TLR3* [25]. В настоящей работе мы обнаружили, что полиморфизм гена *TLR3* является независимым фактором, оказывающим влияние на ВБП у больных ММ после аутоТГСК.

В гене *TLR6* зарегистрировано 9 SNP [121], но ни один из них не исследовался ранее у больных ММ. Мы выявили связь между мутационным статусом гена *TLR6* (Ser249Pro) и полнотой ответа на индукционную терапию у больных ММ перед проведением аутоТГСК.

TLR9 в отличие от мембранного *TLR6* расположен внутриклеточно и распознает одноцепочечную ДНК микробов, содержащую неметилированные CpG-мотивы, индуцирующие приобретенный иммунный ответ, который характеризуется продукцией провоспалительных цитокинов и интерферонов. *TLR9* стимулирует В-клетки и плазматоцитидные дендритные клетки к секреции ряда цитокинов и хемокинов, включая IL-12, IL-6 и интерфероны, обеспечивающих дифференцировку Th1. Однако чрезмерная активация *TLR9* может привести к развитию хронического воспаления с серьезными последствиями, такими как синдром системного воспалительного ответа, сепсис или аутоиммунные расстройства. Когда эти патологические состояния возникают в условиях аллогенной трансплантации, исход может быть фатальным для реципиентов [137]. Показано, что вариации в генах рецепторов иммунной системы могут непосредственно влиять на результат аллогенной трансплантации [138–140].

В проведенном нами исследовании показано, что полиморфный статус гена *TLR9* в обоих изученных

локусах (T-1237C и A2848G) связан с ОБ и ВБП, что соответствует результатам, полученным J. Рубка и соавт. [141], свидетельствующим о том, что активация TLR9 является перспективной новой стратегией борьбы со злокачественными опухолями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе выявлена связь 14 полиморфизмов 10 генов иммунного ответа (*IL1β* (T-511C) и (G-1473C), *IL2* (T-330G), *IL6* (C-174G), *IL10* (C-819T) и (G-1082A), *TNF* (G-308A), *CD14* (C-159T), *TLR3* (Phe421Leu), *TLR4* (Asp299Gly) и (Thr399Ile), *TLR6* (Ser249Pro), *TLR9* (T-1237C) и (A2848)) с непосредственными результатами перед проведением ВДХТ и аутоТГСК. Обнаружена взаимосвязь ряда полиморфизмов генов со степенью тяжести мукозита в ранний посттрансплантационный период и с показателями ОБ и ВБП. Исходя из полученных результатов, мы выдвигаем гипотезу о том, что генетическая вариабельность ряда локусов генов рецепторов иммунного ответа, приводящая к изменению их нормального функционирования, оказывает влияние на эффективность лечения больных ММ и прогноз заболевания. Полученные выводы носят предварительный характер и требуют продолжения исследований в этом направлении, чтобы подтвердить выявленные закономерности и тенденции.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: все авторы.

Предоставление материалов исследования: Н.В. Минаева, М.Н. Хоробрых, Н.А. Зорина.

Анализ и интерпретация данных: Е.Л. Назарова, Н.В. Минаева, Э.Е. Сухорукова, В.И. Шардаков, И.В. Парамонов.

Подготовка рукописи: все авторы.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Martino A, Buda G, Maggini V, et al. Could age modify the effect of genetic variants in *IL6* and *TNF-α* genes in multiple myeloma? *Leukemia Res.* 2012;36(5):594–7. doi: 10.1016/j.leukres.2012.02.009.
- Ludwig H, Durie BGM, Bolejack V, et al. Myeloma in patients younger than age 50 years presents with more favorable features and shows better survival: an analysis of 10 549 patients from the International Myeloma Working Group. *Blood.* 2008;111(8):4039–47. doi: 10.1182/blood-2007-03-081018.
- Harsini S, Beigy M, Akhavan-Sabbagh M, et al. Toll-like receptors in lymphoid malignancies: double-edged sword. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2014;89(2):262–83. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.08.010.

- Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(5):335–48. doi: 10.1038/nrc3257.
- Walker BA, Boyle EM, Wardell CP, et al. Mutational spectrum, copy number changes, and outcome: results of a sequencing study of patients with newly diagnosed myeloma. *J Clin Oncol.* 2015;33(33):3911–20. doi: 10.1200/JCO.2014.59.1503.
- Boyd KD, Ross FM, Chiecchio L, et al. A novel prognostic model in myeloma based on cosegregating adverse FISH lesions and the ISS: analysis of patients treated in the MRC Myeloma IX trial. *Leukemia.* 2012;26(2):349–55. doi: 10.1038/leu.2011.204.
- Avet-Loiseau H, Durie BG, Cavo M, et al. Combining fluorescent in situ hybridization data with ISS staging improves risk assessment in myeloma: an International Myeloma Working Group collaborative project. *Leukemia.* 2013;27(3):711–7. doi: 10.1038/leu.2012.282.
- Klein U, Jauch A, Hielscher T, et al. Chromosomal aberrations +1q21 and del(17p13) predict survival in patients with recurrent multiple myeloma treated with lenalidomide and dexamethasone. *Cancer.* 2011;117(10):2136–44. doi: 10.1002/cncr.25775.
- Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538–48. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.
- Walker BA, Wardell CP, Johnson DC, et al. Characterization of IGH locus breakpoints in multiple myeloma indicates a subset of translocations appear to occur in pregerminal center B cells. *Blood.* 2013;121(17):3413–9. doi: 10.1182/blood-2012-12-471888.
- Ross FM, Avet-Loiseau H, Ameye G, et al. Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica.* 2012;97(8):1272–7. doi: 10.3324/haematol.2011.056176.
- Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myelome. *Blood.* 2007;109(8):3489–95. doi: 10.1182/blood-2006-08-040410.
- Avet-Loiseau H, Li C, Magrangeas F, et al. Prognostic significance of copy-number alterations in multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2009;27(27):4585–90. doi: 10.1200/JCO.2008.20.6136.
- Fonseca R, Blood E, Rue M, et al. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood.* 2003;101(11):4569–75. doi: 10.1182/blood-2002-10-3017.
- Walker BA, Wardell CP, Brioli A, et al. Translocations at 8q24 juxtapose *MYC* with genes that harbor superenhancers resulting in overexpression and poor prognosis in myeloma patients. *Blood Cancer J.* 2014;4(3):e191. doi: 10.1038/bcj.2014.13.
- Walker BA, Wardell CP, Murison A, et al. APOBEC family mutational signatures are associated with poor prognosis translocations in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2015;6:6997. doi: 10.1038/ncomms7997.
- Jenner MW, Leone PE, Walker BA, et al. Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies *WWOX* and *CYLD* as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma. *Blood.* 2007;110(9):3291–300. doi: 10.1182/blood-2007-02-075069.
- Landgren O, Weiss BM. Patterns of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma in various ethnic/racial groups: support for genetic factors in pathogenesis. *Leukemia.* 2009;23(10):1691–7. doi: 10.1038/leu.2009.134.
- Lauta VM. A review of the cytokine network in multiple myeloma: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer.* 2003;97(10):2440–52. doi: 10.1002/cncr.11072.
- Noren E, Verma D, Soderkvist P, et al. Single nucleotide polymorphisms in *MORC4*, *CD14*, and *TLR4* are related to outcome of allogeneic stem cell transplantation. *Ann Transplant.* 2016;21:56–67. doi: 10.12659/AOT.895389.
- Sivula J, Cordova ZM, Tuimala J, et al. Toll-like receptor gene polymorphisms confer susceptibility to graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Scand J Immunol.* 2012;76(3):336–41. doi: 10.1111/j.1365-3083.2012.02737.x.
- Elmaagacli AH, Koldehoff M, Hindahl H, et al. Mutations in innate immune system *NOD2/CARD 15* and *TLR4* (Thr399Ile) genes influence the risk for severe acute graft-versus-host disease in patients who underwent an allogeneic transplantation. *Transplantation.* 2006;81(2):247–54. doi: 10.1097/01.tp.0000188671.94646.16.
- Granell M, Urbano-Ispizua A, Pons A, et al. Common variants in *NLRP2* and *NLRP3* genes are strong prognostic factors for the outcome of HLA-identical sibling allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2008;112(10):4337–42. doi: 10.1182/blood-2007-12-129247.
- Martino A, Sainz J, Buda G, et al. Genetics and molecular epidemiology of multiple myeloma: the rationale for the IMMENSE consortium (review). *Int J Oncol.* 2011;40(3):625–38. doi: 10.3892/ijo.2011.1284.
- Назарова Е.Л., Демьянова В.Т., Шардаков В.И. и др. Ассоциации полиморфизма ряда генов врожденного иммунитета с риском развития множественной миеломы и хронического лимфолейкоза. *Гематология и трансфузиология.* 2016;61(4):183–9. doi: 10.18821/0234-5730/2016-61-4-183-189. [Nazarova EL, Demyanova VT, Shardaakov VI, et al. Associations of polymorphism in several innate immunity genes with the risk of the development of chronic lymphoproliferative diseases. *Gematologiya i transfuziologiya.* 2016;61(4):183–9. doi: 10.18821/0234-5730/2016-61-4-183-189. (In Russ)]
- Forrest MS, Skibola CF, Lightfoot TJ, et al. Polymorphisms in innate immunity genes and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol.* 2006;134(2):180–3. doi: 10.1111/j.1365-2141.2006.06141.x.

27. Vangsted A, Klausen TW, Vogel U. Genetic variations in multiple myeloma I: effect on risk of multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2012;88(1):8–30. doi: 10.1111/j.1600-0609.2011.01700.x.
28. Rozkova D, Novotna L, Pytlík R, et al. Toll-like receptors on B-CLL cells: expression and functional consequences of their stimulation. *Int J Cancer*. 2010;126(5):1132–43. doi: 10.1002/ijc.24832.
29. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, McKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chron Dis*. 1987;40(5):373–83. doi: 10.1016/0021-9681(87)90171-8.
30. National Center for Biotechnology Information. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed 20.12.2017).
31. National Human Genome Research Institute. Available from: <https://www.genome.gov/> (accessed 20.12.2017).
32. Coleman EA, Lee JY, Erickson SW, et al. GWAS of 972 autologous stem cell recipients with multiple myeloma identifies 11 genetic variants associated with chemotherapy-induced oral mucositis. *Support Care Cancer*. 2015;23(3):841–9. doi: 10.1007/s00520-014-2406-x.
33. Barlogie B, Gale RP. Multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia: parallels and contrasts. *Am J Med*. 1992;93(4):443–50. doi: 10.1016/0002-9343(92)90176-c.
34. Dumontet C, Landi S, Reiman T, et al. Genetic polymorphisms associated with outcome in multiple myeloma patients receiving high-dose melphalan. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45(8):1316–24. doi: 10.1038/bmt.2009.335.
35. Shaffer AL, Young RM, Staudt LM. Pathogenesis of human B cell lymphomas. *Annu Rev Immunol*. 2012;30(1):565–610. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075027.
36. Vangsted AJ, Klausen TW, Ruminski W, et al. The polymorphism IL-1beta T-31C is associated with a longer overall survival in patients with multiple myeloma undergoing auto-SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2009;43(7):539–45. doi: 10.1038/bmt.2008.351.
37. Bolzoni M, Ronchetti D, Storti P, et al. IL21R expressing CD14+CD16+ monocytes expand in multiple myeloma patients leading to increased osteoclasts. *Haematologica*. 2017;102(4):773–84. doi: 10.3324/haematol.2016.153841.
38. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell*. 2002;111(7):927–30.
39. Isaza-Correa JM, Liang Z, van den Berg A, et al. Toll-like receptors in the pathogenesis of human B cell malignancies. *J Hematol Oncol*. 2014;7(1):57–67. doi: 10.1186/s13045-014-0057-5.
40. Vangsted AJ, Klausen TW, Abildgaard N, et al. Single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the IL1B gene influence outcome in multiple myeloma patients treated with high-dose chemotherapy independently of relapse treatment with thalidomide and bortezomib. *Ann Hematol*. 2011;90(10):1173–81. doi: 10.1007/s00277-011-1194-3.
41. Chen H, Wilkins LM, Aziz N, et al. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet*. 2006;15(4):519–29. doi: 10.1093/hmg/ddi469.
42. Landvik NE, Hart K, Skaug V, et al. A specific interleukin-1B haplotype correlates with high levels of IL1B mRNA in the lung and increased risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1186–92. doi: 10.1093/carcin/bgp122.
43. Klein B, Zhang XG, Jourdan M, et al. Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin-6. *Blood*. 1989;73(2):517–26.
44. DuVillard L, Guiguet M, Casasnovas R-O, et al. Diagnostic value of serum IL-6 level in monoclonal gammopathies. *Br J Haematol*. 1995;89(2):243–9. doi: 10.1111/j.1365-2141.1995.tb08944.x.
45. Lu ZY, Zhang XG, Rodriguez C, et al. Interleukin-10 is a proliferation factor but not a differentiation factor for human myeloma cells. *Blood*. 1995;85(9):2521–7.
46. Gu ZJ, Costes V, Lu ZY, et al. Interleukin-10 is a growth factor for human myeloma cells by induction of an oncostatin M autocrine loop. *Blood*. 1996;88(10):3972–86.
47. Urbanska-Rys H, Wierzbowska A, Stepień H, Robak T. Relationship between circulating interleukin-10 (IL-10) with interleukin-6 (IL-6) type cytokines (IL-6), interleukin-11 (IL-11), oncostatin M (OSM) and soluble interleukin-6 (IL-6) receptor (sIL-6R) in patients with multiple myeloma. *Eur Cytokine Netw* 2000;11(3):443–51.
48. Mazur G, Bogunia-Kubik K, Wrobel T, et al. IL-6 and IL-10 promoter gene polymorphisms do not associate with the susceptibility for multiple myeloma. *Immunol Lett*. 2005;96(2):241–6. doi: 10.1016/j.imlet.2004.08.015.
49. Duch CR, Figueiredo MS, Ribas C, et al. Analysis of polymorphism at site -174 G/C of interleukin-6 promoter region in multiple myeloma. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(2):265–7. doi: 10.1590/s0100-879x2006005000067.
50. Chakraborty B, Vishnoi G, Gowda SH, Goswami B. Interleukin-6 gene-174 G/C promoter polymorphism and its association with clinical profile of patients with multiple myeloma. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2014;13(5):e402–7. doi: 10.1111/ajco.12290.
51. Ito T, Ando H, Suzuki T, et al. Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. *Science*. 2010;327(5971):1345–50. doi: 10.1126/science.1177319.
52. Huang SY, Lin CW, Lin HH, et al. Expression of cereblon protein assessed by immunohistochemical staining in myeloma cells is associated with superior response of thalidomide- and lenalidomide-based treatment, but not bortezomib-based treatment, in patients with multiple myeloma. *Ann Hematol*. 2014;93(8):1371–80. doi: 10.1007/s00277-014-2063-7.
53. Kronke J, Udeshi ND, Narla A, et al. Lenalidomide causes selective degradation of IKZF1 and IKZF3 in multiple myeloma cells. *Science*. 2014;343(6168):301–5. doi: 10.1126/science.1244851.
54. Shaffer AL, Emre NC, Lamy L, et al. IRF4 addiction in multiple myeloma. *Nature*. 2008;454(7201):226–31. doi: 10.1038/nature07064.
- Lund J. Clinical studies in multiple myeloma [thesis for doctoral degree]. Karolinska Institutet; 2016.
55. Kekik C, Besisik S, Savran Oguz F, et al. Determination of cytokine gene polymorphisms in Turkish patients with multiple myeloma. *Adv Mol Med*. 2007;3(4):189–95. doi: 10.2399/amm.07189.
56. Chan KF, Siegel MR, Lenardo JM. Signaling by the TNF receptor superfamily and T cell homeostasis. *Immunity*. 2000;13(4):419–22. doi: 10.1016/s1074-7613(00)00041-8.
57. Richardson P, Hideshima T, Anderson K. Thalidomide: emerging role in cancer medicine. *Annu Rev Med*. 2002;53(1):629–57. doi: 10.1146/annurev.med.53.082901.104043.
58. Sawamura M, Murakami H, Tsuchiya J. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin 4 in myeloma cell precursor differentiation. *Leuk Lymphoma*. 1996;21(1–2):31–6. doi: 10.3109/10428199609067576.
59. Abildgaard N, Glerup H, Rungby J, et al. Biochemical markers of bone metabolism reflect osteoclastic and osteoblastic activity in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2000;64(2):121–9. doi: 10.1034/j.1600-0609.2000.90074.x.
60. Turk BE, Jiang H, Liu JO. Binding of thalidomide to alpha1-acid glycoprotein may be involved in its inhibition of tumor necrosis factor alpha production. *Proc Natl Acad Sci*. 1996;93(15):7552–6. doi: 10.1073/pnas.93.15.7552.
61. Sampaio EP, Hernandez MO, Carvalho DS, Sarno EN. Management of erythema nodosum leprosum by thalidomide: thalidomide analogues inhibit M. leprae-induced TNF alpha production in vitro. *Biomed Pharmacother*. 2002;56(1):13–9. doi: 10.1016/s0753-3322(01)00147-0.
62. Neben K, Mytilineos J, Moehler TM, et al. Polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha gene promoter predict for outcome after thalidomide therapy in relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood*. 2002;100(6):2263–5.
63. Li C, Wang G, Gao Y, et al. TNF-alpha gene promoter –238 G>A and –308 G>A polymorphisms alter risk of psoriasis vulgaris: a meta-analysis. *J Invest Dermatol*. 2007;127(8):1886–92. doi: 10.1038/sj.jid.5700822.
64. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet*. 1992;1(5):353. doi: 10.1093/hmg/1.5.353.
65. Pociot F, D'Alfonso S, Compasso S, et al. Functional analysis of a new polymorphism in the human TNF alpha gene promoter. *Scand J Immunol*. 1995;42(4):501–4. doi: 10.1111/j.1365-3083.1995.tb03686.x.
66. Morgan GJ, Adamson PJ, Mensah FK, et al. Haplotypes in the tumour necrosis factor region and myeloma. *Br J Haematol*. 2005;129(3):358–65. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05467.x.
67. Brown EE, Lan Q, Zheng T, et al. Common variants in genes that mediate immunity and risk of multiple myeloma. *Int J Cancer*. 2007;120(12):2715–22. doi: 10.1002/ijc.22618.
68. Kadar K, Kovacs M, Karadi I, et al. Polymorphisms of TNF-alpha and LT-alpha genes in multiple myeloma. *Leuk Res*. 2008;32(10):1499–504. doi: 10.1016/j.leukres.2008.03.001.
69. Davies FE, Rollinson SJ, Rawstron AC, et al. High-producer haplotypes of tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha are associated with an increased risk of myeloma and have an improved progression-free survival after treatment. *J Clin Oncol*. 2000;18(15):2843–51. doi: 10.1200/JCO.2000.18.15.2843.
70. Zheng C, Huang DR, Bergenbrant S, et al. Interleukin 6, tumour necrosis factor alpha, interleukin 1beta and interleukin 1 receptor antagonist promoter or coding gene polymorphisms in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2000;109(1):39–45. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.01963.x.
71. Якупова Э.В., Гринчук О.В., Калимуллина Д.Х. и др. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов интерлейкина 6 и фактора некроза опухоли альфа у больных множественной миеломой. Молекулярная биология. 2003;37(3):420–4.
- [Yakupova EV, Grinchuk OV, Kalimullina DKH, et al. Molecular genetic analysis of the interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha gene polymorphisms in multiple myeloma. *Molekulyarnaya biologiya*. 2003;37(3):420–4. (In Russ)]
72. Du J, Yuan Z, Zhang C, et al. Role of the TNF-α promoter polymorphisms for development of multiple myeloma and clinical outcome in thalidomide plus dexamethasone. *Leuk Res*. 2010;34(11):1453–8. doi: 10.1016/j.leukres.2010.01.011.
73. Goyert SM, Ferrero E, Rettig WJ, et al. The CD14 monocyte differentiation antigen maps to a region encoding growth factors and receptors. *Science*. 1988;239(4839):497–500. doi: 10.1126/science.2448876.
74. Fearn C, Kravchenko VV, Ulevitch RJ, Loskutoff DJ. Murine CD14 gene expression in vivo: extramyeloid synthesis and regulation by lipopolysaccharide. *J Exp Med*. 1995;181(3):857–66. doi: 10.1084/jem.181.3.857.
75. Haziot A, Chen S, Ferrero E, et al. The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. *J Immunol*. 1988;141(2):547–52.
76. Bazil V, Baudys M, Hilgert I, et al. Structural relationship between the soluble and membrane-bound forms of human monocyte surface glycoprotein CD14. *Mol Immunol*. 1989;26(7):657–62. doi: 10.1016/0161-5890(89)90048-5.
77. Pugin J, Heumann ID, Tomasz A, et al. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity*. 1994;1(6):509–16. doi: 10.1016/1074-7613(94)90093-0.
78. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol*. 1999;162(7):3749–52.

- 79.** Ostuni R, Zanoni I, Granucci F. Deciphering the complexity of Toll-like receptor signaling. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(24):4109–34. doi: 10.1007/s00018-010-0464-x.
- 80.** Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, et al. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* 1990;249(4975):1431–3. doi: 10.1126/science.1698311.
- 81.** da Silveira Cruz-Machado S, Carvalho-Sousa CE, Tamura EK, et al. TLR4 and CD14 receptors expressed in rat pineal gland trigger NF κ B pathway. *J Pineal Res.* 2010;49(2):183–92. doi: 10.1111/j.1600-079x.2010.00785.x.
- 82.** Kielian TL, Blecha F. CD14 and other recognition molecules for lipopolysaccharide: a review. *Immunopharmacology.* 1995;29(3):187–205. doi: 10.1016/0162-3109(95)00003-c.
- 83.** Holmgren C, Esplin MS, Hamblin S, et al. Evaluation of the use of anti-TNF- α in an LPS-induced murine model. *J Reprod Immunol.* 2008;78(2):134–9. doi: 10.1016/j.jri.2007.11.003.
- 84.** Sawa Y, Ueki T, Hata M, et al. LPS-induced IL-6, IL-8, VCAM-1, and ICAM-1 expression in human lymphatic endothelium. *J Histochem Cytochem.* 2008;56(2):97–109. doi: 10.1369/jhc.7a7299.2007.
- 85.** Zhou H, Andonegui G, Wong CH, Kubes P. Role of endothelial TLR4 for neutrophil recruitment into central nervous system microvessels in systemic inflammation. *J Immunol.* 2009;183(8):5244–50. doi: 10.4049/jimmunol.0901309.
- 86.** Kanatani Y, Kasukabe T, Okabe-Kado J, et al. Role of CD14 expression in the differentiation-apoptosis switch in human monocytic leukemia cells treated with 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 or dexamethasone in the presence of transforming growth factor beta1. *Cell Growth Differ.* 1999;10(10):705–12.
- 87.** Seiffert M, Schulz A, Ohl S, et al. Soluble CD14 is a novel monocyte-derived survival factor for chronic lymphocytic leukemia cells, which is induced by CLL cells in vitro and present at abnormally high levels in vivo. *Blood.* 2010;116(20):4223–30. doi: 10.1182/blood-2010-05-284505.
- 88.** Baldini M, Lohman IC, Halonen M, et al. A Polymorphism* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1999;20(5):976–83. doi: 10.1165/ajrcmb.20.5.3494.
- 89.** LeVan TD, Bloom JW, Bailey TJ, et al. A common single nucleotide polymorphism in the CD14 promoter decreases the affinity of Sp protein binding and enhances transcriptional activity. *J Immunol.* 2001;167(10):5838–44. doi: 10.4049/jimmunol.167.10.5838.
- 90.** Hubacek JA, Rothe G, Pitha J, et al. C(-260)-> T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation.* 1999;99(25):3218–20. doi: 10.1161/01.cir.99.25.3218.
- 91.** Thakur KK, Bolshette NB, Trandafir C, et al. Role of toll-like receptors in multiple myeloma and recent advances. *Exp Hematol.* 2014;43(3):158–67. doi: 10.1016/j.exphem.2014.11.003.
- 92.** Ellyard JI, Simson L, Parish CR. Th2-mediated anti-tumour immunity: friend or foe? *Tissue Antigens.* 2007;70(1):1–11. doi: 10.1111/j.1399-0039.2007.00869.x.
- 93.** Wylie DH, Kiss-Toth E, Visintin A, et al. Evidence for an accessory protein function for Toll-like receptor 1 in anti-bacterial responses. *J Immunol.* 2000;165(12):7125–32. doi: 10.4049/jimmunol.165.12.7125.
- 94.** Abdi J, Mutis T, Garssen J, Redegeld F. Characterization of the Toll-like receptor expression profile in human multiple myeloma cells. *PLoS One.* 2013;8(4):e60671. doi: 10.1371/journal.pone.0060671.
- 95.** Bao H, Lu P, Li Y, et al. Triggering of toll-like receptor-4 in human multiple myeloma cells promotes proliferation and alters cell responses to immune and chemotherapy drug attack. *Cancer Biol Ther.* 2011;11(1):58–67. doi: 10.4161/cbt.11.1.13878.
- 96.** Ramaiah SK, Gunthner R, Lech M, Anders HJ. Toll-like receptor and accessory molecule mRNA expression in humans and mice as well as in murine autoimmunity, transient inflammation, and progressive fibrosis. *Int J Mol Sci.* 2013;14(7):13213–30. doi: 10.3390/ijms140713213.
- 97.** Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet.* 2001;357(9255):539–45. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0.
- 98.** Dorner M, Brandt S, Tinguely M, et al. Plasma cell toll-like receptor (TLR) expression differs from that of B cells, and plasma cell TLR triggering enhances immunoglobulin production. *Immunology.* 2009;128(4):573–9. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03143.x.
- 99.** Brown LM, Gridley G, Check D, Landgren O. Risk of multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance among white and black male United States veterans with prior autoimmune, infectious, inflammatory, and allergic disorders. *Blood.* 2008;111(7):3388–94. doi: 10.1182/blood-2007-10-121285.
- 100.** Landgren O, Rapkin JS, Mellekjaer L, et al. Respiratory tract infections in the pathway to multiple myeloma: a population-based study in Scandinavia. *Haematologica.* 2006;91(12):1697–700.
- 101.** Huang B, Zhao J, Unkles JC, et al. TLR signaling by tumor and immune cells: a double-edged sword. *Oncogene.* 2008;27(2):218–24. doi: 10.1038/sj.onc.1210904.
- 102.** Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(1):57–63. doi: 10.1038/nrc2541.
- 103.** Chiron D, Bekeredjian-Ding I, Pellat-Deceunynck C, et al. Toll-like receptors: lessons to learn from normal and malignant human B cells. *Blood.* 2008;112(6):2205–13. doi: 10.1182/blood-2008-02-140673.
- 104.** Chiron D, Jego G, Pellat-Deceunynck C. Toll-like receptors: expression and involvement in multiple myeloma. *Leuk Res.* 2010;34(12):1545–50. doi: 10.1016/j.leukres.2010.06.002.
- 105.** Manier S, Sacco A, Leleu X, et al. Bone marrow microenvironment in multiple myeloma progression. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:1–5. doi: 10.1155/2012/157496.
- 106.** Bohnhorst J, Rasmussen T, Moen SH, et al. Toll-like receptors mediate proliferation and survival of multiple myeloma cells. *Leukemia.* 2006;20(6):1138–44. doi: 10.1038/sj.leu.2404225.
- 107.** Xu Y, Zhao Y, Huang H, et al. Expression and function of toll-like receptors in multiple myeloma patients: toll-like receptor ligands promote multiple myeloma cell growth and survival via activation of nuclear factor- κ B. *Br J Haematol.* 2010;150(5):543–53. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08284.x.
- 108.** Hajishengallis G. Toll gates to periodontal host modulation and vaccine therapy. *Periodontol 2000.* 2009;51(1):181–207. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00304.x.
- 109.** Шебляков Д.В., Логунов Д.Ю., Тухватулин А.И. и др. Толл-подобные рецепторы (TLR) и их значение в опухолевой прогрессии *Acta Naturae.* 2010;2(3):21–9.
[Shcheblyakov DV, Logunov DY, Tukhvatulin AI, et al. Toll-like receptors (TLRs): the role in tumor progression. *Acta Naturae.* 2010;2(3):21–9. (In Russ)]
- 110.** Jego G, Bataille R, Geffroy-Luseau A, et al. Pathogen-associated molecular patterns are growth and survival factors for human myeloma cells through Toll-like receptors. *Leukemia.* 2006;20(6):1130–7. doi: 10.1038/sj.leu.2404226.
- 111.** Clark AD, Shetty A, Soutar R. Renal failure and multiple myeloma: pathogenesis and treatment of renal failure and management of underlying myeloma. *Blood Rev.* 1999;13(2):79–90. doi: 10.1016/s0268-960x(99)90014-0.
- 112.** Wolska A, Lech-Maranda E, Robak T. Toll-like receptors and their role in hematologic malignancies. *Curr Mol Med.* 2009;9(3):324–35. doi: 10.2174/156652409787847182.
- 113.** Blade J, Kyle RA, Greipp PR. Presenting features and prognosis in 72 patients with multiple myeloma who were younger than 40 years. *Br J Haematol.* 2003;93(2):345–51. doi: 10.1046/j.1365-2141.1996.5191061.x.
- 114.** Griniute R, Bumblyte IA. Clinical and laboratory features and prognostic implications in myeloma with and without renal impairment. *Medicina (Kaunas).* 2003;39(Suppl 1):41–7.
- 115.** Schroder NW, Schumann RR. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease. *Lancet Infect Dis.* 2005;5(3):156–64. doi: 10.1016/S1473-3099(05)01308-3.
- 116.** Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet.* 2000;25(2):187–91. doi: 10.1038/76048.
- 117.** Lorenz E, Mira JP, Frees KL, Schwartz DA. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with Gram-negative septic shock. *Arch Intern Med.* 2002;162(9):1028–32. doi: 10.1001/archinte.162.9.1028.
- 118.** Netea MG, Wijmenga C, O'Neill LAJ. Genetic variation in Toll-like receptors and disease susceptibility. *Nat Immunol.* 2012;13(6):535–42. doi: 10.1038/ni.2284.
- 119.** Saini M, Das DK, Dhara A, Gupta PK. Recent developments in patents targeting Toll-like receptor genes. *Recent Pat DNA Gene Seq.* 2007;1(3):227–39. doi: 10.2174/187221507782360263.
- 120.** Noreen M, Arshad M. Association of TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, and TIRAP polymorphisms with disease susceptibility. *Immunol Res.* 2015;62(2):234–52. doi: 10.1007/s12026-015-8640-6.
- 121.** Goutaki M, Haidopoulou K, Pappa S, et al. The role of TLR4 and CD14 polymorphisms in the pathogenesis of respiratory syncytial virus bronchiolitis in Greek infants. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2014;27(4):563–72. doi: 10.1177/039463201402700412.
- 122.** Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. The interaction between HMGB1 and TLR4 dictates the outcome of anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Immunol Rev.* 2007;220(1):47–59. doi: 10.1111/j.1600-065X.2007.00573.x.
- 123.** Bagratuni T, Terpos E, Eleutherakis-Papaikovou E, et al. TLR4/TIRAP polymorphisms are associated with progression and survival of patients with symptomatic myeloma. *Br J Haematol.* 2016;172(1):44–7. doi: 10.1111/bjh.13786.
- 124.** Awasthi S. Toll-like receptor-4 modulation for cancer immunotherapy. *Front Immunol.* 2014;5:328. doi: 10.3389/fimmu.2014.00328.
- 125.** Zhang K, Zhou B, Wang Y, et al. The TLR4 gene polymorphisms and susceptibility to cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2013;49(4):946–54. doi: 10.1016/j.ejca.2012.09.022.
- 126.** Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* 2003;21(1):335–76. doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141126.
- 127.** He J-F, Jia W-H, Fan Q, et al. Genetic polymorphisms of TLR3 are associated with nasopharyngeal carcinoma risk in Cantonese population. *BMC Cancer.* 2007;7(1):194. doi: 10.1186/1471-2407-7-194.
- 128.** Gomaz A, Pavelic J, Matijevic Glavan T. The polymorphisms in Toll-like receptor genes and cancer risk. *Periodicum Biologorum.* 2012;114(4):461–9.
- 129.** Wang BG, Yi DH, Liu YF. TLR3 gene polymorphisms in cancer: a systematic review and meta-analysis. *Chinese J Cancer.* 2015;34(6):272–84. doi: 10.1186/s40880-015-0020-z.
- 130.** Castorf A, Forst A, Buch S, et al. TLR-3 polymorphism is an independent prognostic marker for stage II colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 2011;47(8):1203–10. doi: 10.1016/j.ejca.2010.12.011.
- 131.** Singh V, Srivastava N, Kapoor R, Mittal RD. Single-nucleotide polymorphisms in genes encoding Toll-like receptor-2, -3, -4, and -9 in a case-control study with bladder cancer susceptibility in a North Indian population. *Arch Med Res.* 2013;44(1):54–61. doi: 10.1016/j.arcmed.2012.10.008.

- 132.** Mandal RK, George GP, Mittal RD. Association of Toll-like receptor (TLR) 2, 3 and 9 genes polymorphism with prostate cancer risk in North Indian population. *Mol Biol Rep.* 2012;39(7):7263–9. doi: 10.1007/s11033-012-1556-5.
- 133.** Pandey S, Mittal B, Srivastava M, et al. Evaluation of Toll-like receptors 3 (c.1377C/T) and 9 (G2848A) gene polymorphisms in cervical cancer susceptibility. *Mol Biol Rep.* 2011;38(7):4715–21. doi: 10.1007/s11033-010-0607-z.
- 134.** Etokebe GE, Knezevic J, Petricevic B, et al. Single-nucleotide polymorphisms in genes encoding toll-like receptor-2, -3, -4, and -9 in case-control study with breast cancer. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2009;13(6):729–34. doi: 10.1089/gtmb.2009.0045.
- 135.** Li G, Zheng Z. Toll-like receptor 3 genetic variants and susceptibility to hepatocellular carcinoma and HBV-related hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol.* 2013;34(3):1589–94. doi: 10.1007/s13277-013-0689-z.
- 136.** Elmaagacli AH, Koldehoff M, Beelen DW. Improved outcome of hematopoietic SCT in patients with homozygous gene variant of Toll-like receptor 9. *Bone Marrow Transplant.* 2009;44(5):295–302. doi: 10.1038/bmt.2009.32.
- 137.** Lin MT, Storer B, Martin PJ, et al. Relation of an interleukin-10 promotor polymorphism to graft-versus-host disease and survival after hematopoietic cell transplantation. *N Engl J Med.* 2003;349(23):2201–10. doi: 10.1056/NEJMoa022060.
- 138.** Elmaagacli AH, Koldehoff M, Steckel NK, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of function polymorphism is associated with an increased treatment-related mortality in patients undergoing allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007;40(7):659–64. doi: 10.1038/sj.bmt.1705786.
- 139.** Elmaagacli AH, Koldehoff M, Landt O, Beelen DW. Relation of an Interleukin-23 Receptor gene polymorphism to Graft-versus-Host Disease after Hematopoietic-Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(9):821–6. doi: 10.1038/sj.bmt.1705980.
- 140.** Rybka J, Gebura K, Wrobel T, et al. Variations in genes involved in regulation of the nuclear factor- κ B pathway and the risk of acute myeloid leukaemia. *Int J Immunogenet.* 2016;43(2):101–6. doi: 10.1111/iji.12255.

