

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

Прогностическое значение активности гена *PRAME* в опухолевых клетках фолликулярной лимфомы

В.А. Мисюрин¹, А.Е. Мисюрина², С.К. Кравченко²,
Н.А. Лыжко¹, Ю.П. Финашутина¹, Н.Н. Касаткина¹,
Д.С. Мар'ин², Е.С. Нестерова², Н.Н. Шаркунов³,
М.А. Барышникова¹, А.В. Мисюрин¹

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

² ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167

³ ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», 2-й Боткинский пр-д, д. 5, Москва, Российская Федерация, 125284

Prognostic Value of *PRAME* Activity in Tumor Cells of Follicular Lymphoma

VA Misyurin¹, AE Misyurina², SK Kravchenko²,
NA Lyzhko¹, YuP Finashutina¹, NN Kasatkina¹,
DS Mar'in², ES Nesterova², NN Sharkunov³,
MA Baryshnikova¹, AV Misyurin¹

¹ NN Blokhin National Medical Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

² National Medical Hematology Research Center, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

³ SP Botkin Municipal Clinical Hospital, 5 2-i Botkinskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125284

РЕФЕРАТ

Цель. Определить параметры выживаемости больных фолликулярной лимфомой (ФЛ) в группах с различным уровнем экспрессии гена *PRAME* в опухолевых клетках.

Материалы и методы. В работе собраны образцы лимфатических узлов, крови и аспирата костного мозга 34 первичных больных ФЛ. Уровень экспрессии гена *PRAME* в опухолевых клетках (центроцитах и центробластах) оценивался методом количественной ПЦР в реальном времени. Изучалось влияние разного уровня экспрессии *PRAME* на параметры выживаемости больных с медианой наблюдения 29 мес. Предпринято сопоставление клиническо-лабораторных признаков, используемых для расчетов FLIPI-1 и FLIPI-2 в разных группах пациентов.

Результаты. Высокий (> 5 % относительно контрольного гена *ABL*) уровень экспрессии *PRAME* коррелирует с большей активностью Ki-67 ($p = 0,043$) и более высокой степенью распространенности опухоли ($p = 0,04$). Отмечается ухудшение параметров выживаемости при высоком уровне экспрессии *PRAME* в клетках ФЛ. Сочетание высокого риска по FLIPI-1/FLIPI-2 и высокого уровня экспрессии *PRAME* определяет крайне неблагоприятный прогноз с возможным летальным исходом.

Заключение. У больных ФЛ высокий уровень экспрессии гена *PRAME* в опухолевых клетках имеет отрицательное прогностическое значение, но только при наличии параметров, определяющих высокий риск по FLIPI-1 и FLIPI-2. На основании сопоставления уровня экспрессии *PRAME* с показателями FLIPI-1 и FLIPI-2 можно с большей вероятностью предположить раннюю летальность у больных ФЛ.

Ключевые слова: ген *PRAME*, фолликулярная лимфома.

Получено: 4 ноября 2018 г.

Принято в печать: 24 февраля 2019 г.

ABSTRACT

Aim. To set survival parameters for follicular lymphoma (FL) patients with different *PRAME* expression levels in tumor cells.

Materials & Methods. The study was conducted on samples of lymph nodes, blood, and bone marrow of 34 patients with newly diagnosed FL. *PRAME* expression levels were measured in tumor cells (centrocytes and centroblasts) by quantitative real-time PCR. The impact of different *PRAME* expression levels on survival parameters was studied with median follow-up of 29 months. Clinical and laboratory characteristics used for FLIPI-1 and FLIPI-2 calculations in different patient groups were compared.

Results. A high (> 5 % against *ABL* control gene) *PRAME* expression level correlates with higher Ki-67 activity ($p = 0.043$) and larger tumor mass ($p = 0.04$). Survival parameters were worse with high *PRAME* expression level in FL cells. Combination of both high FLIPI-1/FLIPI-2 risk and high *PRAME* expression level determines extremely unfavorable prognosis and may result in death.

Conclusion. In FL patients high *PRAME* expression level in tumor cells has negative prognostic value, but only in the presence of parameters determining high FLIPI-1 and FLIPI-2 risk. Juxtaposition of *PRAME* expression level and FLIPI-1/FLIPI-2 values enables most reliable prediction of early mortality in FL patients.

Keywords: *PRAME* gene, follicular lymphoma.

Received: November 4, 2018

Accepted: February 24, 2019

Для переписки: Всеволод Андреевич Мисюрин, канд. биол. наук, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; тел.: +7(985)436-30-19; e-mail: vsevolod.misyurin@gmail.com

Для цитирования: Мисюрин В.А., Мисюрина А.Е., Кравченко С.К. и др. Прогностическое значение активности гена *PRAME* в опухолевых клетках фолликулярной лимфомы. Клиническая онкогематология. 2019;12(2):173–8.

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-173-178

For correspondence: Vsevolod Andreevich Misyurin, PhD in Biology, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; Tel.: +7(985)436-30-19; e-mail: vsevolod.misyurin@gmail.com

For citation: Misyurin VA, Misyurina AE, Kravchenko SK, et al. Prognostic Value of *PRAME* Activity in Tumor Cells of Follicular Lymphoma. Clinical oncohematology. 2019;12(2):173–8 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-173-178

ВВЕДЕНИЕ

Фолликулярная лимфома (ФЛ) остается неизлечимым заболеванием. Более того, вероятность наступления неблагоприятных событий при ФЛ до сих пор мало предсказуема, несмотря на развитие методов, позволяющих относить больных к различным группам риска, известных как FLIPI (Follicular Lymphoma International Prognostic Index). Существуют и длительное время используются два поколения индекса FLIPI, отличающиеся между собой способом подсчета баллов. FLIPI-1 оценивается по таким факторам, как возраст больного, степень распространенности заболевания, стадия, уровень гемоглобина и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [1]. При подсчете баллов FLIPI-2 важны возраст, уровень β 2-микроглобулина, максимальный диаметр пораженного лимфатического узла, уровень гемоглобина и наличие поражения костного мозга [2]. В любом случае анализ позволит отнести больного к той или иной группе риска и предоставит возможность клиницисту определить вероятный прогноз. Однако даже предположение о том, что шанс на 10-летнюю продолжительность жизни составит приблизительно 70 %, не исключает риск ранней смерти больного ФЛ, т. е. в первый же год наблюдения после установления диагноза. И наоборот, пациент может оставаться под наблюдением и через 15 лет после установления диагноза ФЛ, несмотря на предположение в дебюте заболевания о том, что вероятность 5-летней выживаемости не превышает 35 %. Кроме того, необходимо учитывать способность ФЛ к трансформации в более агрессивную форму — диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ) с вероятностью около 3 % ежегодно [3].

Из этого следует, что необходимо продолжить дальнейшее развитие прогностических критериев. Уточненная система оценки рисков сделает выбор терапии ФЛ более обоснованным и позволит добиться значительных лечебных результатов.

Объектом настоящего исследования стал ген *PRAME*, экспрессия которого наблюдается у многих пациентов с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями, но нехарактерна для соматических тканей здорового человека [4, 5]. Благодаря этому *PRAME* является опухоль-специфическим маркером, выявление которого на уровне мРНК или белка однозначно свидетельствует о наличии опухолевых клеток. Экспрессия данного гена коррелирует с ухудшением результатов терапии и параметров выживаемости у больных практически с любыми опухолями, за исключением острых лейкозов [5]. Негативное влияние свя-

зано с функциями белка, кодируемого данным геном. Белок *PRAME* блокирует дифференцировку клеток [6], снижает чувствительность к химиопрепаратам [7] и апоптозу [8], увеличивает скорость пролиферации [9] и даже защищает клетку от отравления солями тяжелых металлов [10]. К тому же *PRAME* вмешивается в систему контроля экспрессии генов и существенно влияет на транскрипционный профиль клетки [11].

ФЛ отличается разнообразными аномалиями транскриптома [12], что может свидетельствовать об активности гена *PRAME* в центроцитах и центробластах. К настоящему времени наблюдения с экспрессией *PRAME* при ФЛ совершенно не описаны. Мы предполагаем, что экспрессия *PRAME* может не только происходить у больных ФЛ, но и значимо влиять на клинический исход. Цель данного исследования заключается в проверке предположения о связи активного гена *PRAME* с параметрами выживаемости у больных ФЛ, а также в выявлении критически значимого для прогноза уровня экспрессии изучаемого гена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

В исследование включено 34 больных ФЛ (15 мужчин, 19 женщин; медиана возраста 56 лет на начало наблюдения). Цитологические типы 1–2 были определены у 19 больных, 3a — у 8 и 3b — у 7. Поражение костного мозга подтверждалось гистологическим исследованием, определением В-клеточной клональности методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) или при иммунофенотипировании. Лейкозный состав костного мозга и крови подтверждали с помощью ПЦР или иммунофенотипирования. Диагноз ФЛ устанавливался на основании гистологического и иммуногистохимического исследований.

Для стратификации больных по группам риска согласно критериям FLIPI-1 и FLIPI-2 определяли уровень активности ЛДГ, гемоглобина и β 2-микроглобулина, максимальный диаметр опухолевого лимфатического узла, оценивали количество пораженных зон и стадию заболевания по Ann Arbor.

Лечение больных проводилось по различным схемам, в т. ч. R-CHOP-21, R-CVP, R-DHAP и R-B.

Выделение РНК и ПЦР в реальном времени

Выделение тотальной РНК из образцов костного мозга, крови и лимфатических узлов с последующим синтезом кДНК проводилось с помощью набора реагентов «РНК-экстракт» («ГеноТехнология», Россия),

Таблица 1. Параметры экспрессии гена *PRAME* в различных биоматериалах (лимфатические узлы, кровь, костный мозг) больных фолликулярной лимфомой

Группа	Частота обнаружения активного <i>PRAME</i> , %	Уровень экспрессии <i>PRAME</i> , медиана (диапазон)	<i>p</i> при сравнении с активностью в лимфатических узлах больных ФЛ
Лимфатический узел (контроль)	25	0,92 (0,05–1,79)	0,0368
Лимфатический узел (больные ФЛ)	65	7,28 (0,42–151)	—
Костный мозг (больные ФЛ)	42	0,25 (0,08–10,15)	0,0186
Кровь (больные ФЛ)	86	2,16 (0,1–23,3)	0,0437

согласно рекомендациям, предоставленным разработчиком. Поражение лимфатических узлов клетками ФЛ было доказано при гистологическом исследовании. Определение уровня экспрессии гена *PRAME* и гена домашнего хозяйства *ABL* выполнялось с помощью наборов «Онкоскрин-9Q» и «Онкоскрин-14Q» («Гено-Технология», Россия) соответственно, согласно рекомендациям, предоставленным разработчиком. Для создания отрицательного контроля мы использовали образцы крови 12 здоровых добровольцев, костного мозга 2 пациентов без онкогематологических заболеваний и 8 лимфатических узлов, в которых, как показало иммуногистохимическое исследование, не было признаков опухолевого поражения.

Статистический анализ

Для сравнения групп по количественным признакам использовался критерий Манна—Уитни. Для сравнения групп по наличию или отсутствию признака на качественном уровне применялся критерий χ^2 . Для оценки взаимосвязи между уровнем экспрессии *PRAME* и Ki-67 вычисляли регрессионное уравнение. Лог-ранговый критерий использовался для анализа общей (ОВ) и бессобытийной выживаемости (БСВ), причем осуществлялся последовательный подбор границы уровня экспрессии *PRAME*, наиболее заметно разделяющей группы больных по параметрам выживаемости. При оценке БСВ событием считались смерть больного и рецидив заболевания. Различия между группами считались значимыми при $p < 0,05$. Перед кластеризацией данные были преобразованы. Непрерывные значения абсолютного уровня экспрессии гена *PRAME* в лимфатическом узле были трансформированы в ранговые, где ранг 0 соответствовал отсутствию экспрессии *PRAME*, ранг 1 — уровню экспрессии *PRAME* > 0 и $\leq 5\%$, ранг 2 — уровню экспрессии *PRAME* $> 5\%$. Баллы, вычисленные при определении групп риска по FLIPI, были заменены рангами, где ранг 0 соответствовал низкому риску по FLIPI-1 и FLIPI-2, ранг 1 — промежуточному риску и 2 — высокому риску. Объединение объектов в кластеры проводилось методом Варда. В качестве меры расстояния использовался процент несогласия. Анализ проводился в программе STATISTICA 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно имеющимся данным, у 21 из 26 больных установлена стадия IV по Ann Arbor, у 1 — стадия III, у 3 — стадия II и у 1 — стадия I. В 55 % случаев пораженные лимфатические узлы образовывали массивные конгломераты (12 из 22 случаев). Поражение костного мозга имело место у 18 (56 %) из 32 обследо-

ванных пациентов. Опухолевый состав крови был выявлен у 6 (21 %) из 29 больных.

Активность гена *PRAME* хотя бы в одном из исследованных образцов биоматериалов обнаруживалась у 22 (64 %) из 34 больных. Экспрессия гена *PRAME* наблюдалась чаще в лимфатических узлах, чем в крови или костном мозге. Для лимфатических узлов был характерен наибольший уровень экспрессии *PRAME* по сравнению с образцами крови ($p = 0,0437$) и костного мозга ($p = 0,0186$). В контрольных образцах крови и костного мозга экспрессия *PRAME* не обнаружена. В 2 из 8 реактивных лимфатических узлов наблюдалась экспрессия *PRAME*, однако на значительно более низком уровне по сравнению с лимфатическими узлами больных ФЛ ($p = 0,0368$) (табл. 1).

При ФЛ возможна циркуляция centroцитов в крови. В тех случаях, когда их наличие в крови было доказано, выявлялась также экспрессия *PRAME* ($p = 0,0357$). Активность *PRAME* в костном мозге незначимо связана с наличием в нем клеток ФЛ ($p = 0,0992$). Экспрессия *PRAME* в лимфатическом узле не определяется опухолевой массой ($p = 0,5967$). В то же время экспрессия гена *PRAME* значимо связана с поражением костного мозга, доказанным при гистологическом исследовании ($p = 0,0034$).

Уровень экспрессии гена *PRAME* $> 0\%$ в лимфатическом узле оказался значимо связан со снижением уровня ЛДГ ($p = 0,0414$). Статус по шкале ECOG и цитологический тип не были значимо связаны с уровнем экспрессии гена *PRAME* в лимфатических узлах ($p = 0,3327$ и $p = 0,2026$ соответственно).

Уравнения множественной линейной регрессии показали прямую зависимость между уровнем экспрессии гена *PRAME* и показателем активности маркера Ki-67 ($p = 0,043$).

Частота достижения полной ремиссии не зависела от уровня экспрессии *PRAME* ($p = 0,7858$).

Медиана срока наблюдения составила 29 мес. (диапазон 6–53 мес.). Была обнаружена статистически значимая связь между уровнем экспрессии *PRAME* и параметрами ОВ и БСВ. Так, ОВ была значимо хуже в группе больных (так называемая группа *PRAME*^{high}, $n = 7$), у которых ген *PRAME* в опухолевых клетках лимфатического узла экспрессировался на уровне, превышающем 5 %, по сравнению с другими больными (группа *PRAME*^{low}, $n = 11$; $p = 0,0402$) (рис. 1). Уровень экспрессии *PRAME* в крови и костном мозге не был значимо связан с параметрами выживаемости.

Мы сопоставили клинические признаки, которые учитываются при определении значений FLIPI-1 и FLIPI-2, у больных в группах *PRAME*^{low} и *PRAME*^{high} (табл. 2). Указанные группы пациентов не различались по признакам, включенным в данные прогностические

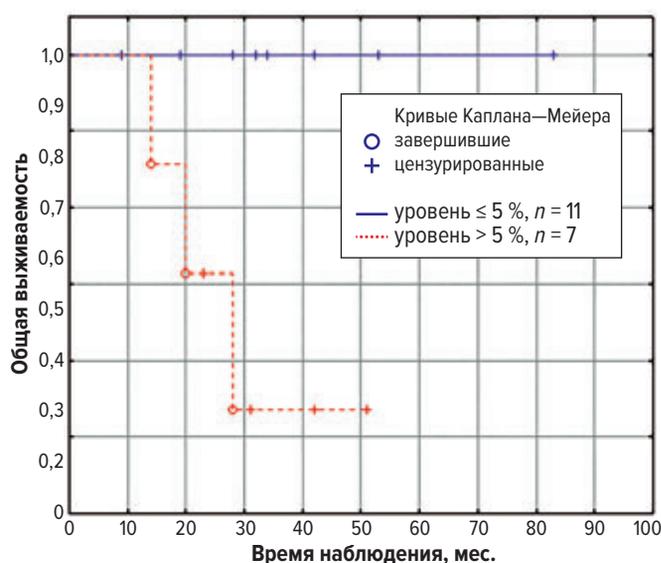


Рис. 1. Общая выживаемость больных фолликулярной лимфомой с различным уровнем экспрессии гена *PRAME* в лимфатических узлах ($p = 0,0402$)

Fig. 1. Overall survival of follicular lymphoma patients with different *PRAME* expression levels in lymph nodes ($p = 0.0402$)

индексы, кроме общего числа зон пораженных лимфатических узлов. У больных из группы $PRAME^{high}$ их количество было значимо выше по сравнению с больными из группы $PRAME^{low}$ ($p = 0,04$). Различий по общему показателю индексов FLIPI не наблюдалось, кроме тенденции к значимости, наблюдаемой при определении числа пациентов, имеющих высокий риск по FLIPI-1 ($p = 0,0876$).

Кластерный анализ показал, что параметры FLIPI и значения уровня экспрессии *PRAME* выше или ниже 5%-го порога имеют несколько сочетаний (рис. 2). В кластер 1 были объединены больные, которые имеют промежуточный риск по FLIPI-1/FLIPI-2 и различный (от нулевого до очень высокого, в т. ч. и большего, чем 5 %) уровень экспрессии *PRAME*. Кластер 2 — больные могут находиться в группе неблагоприятного риска по FLIPI-1/FLIPI-2, но иметь относительно низкий

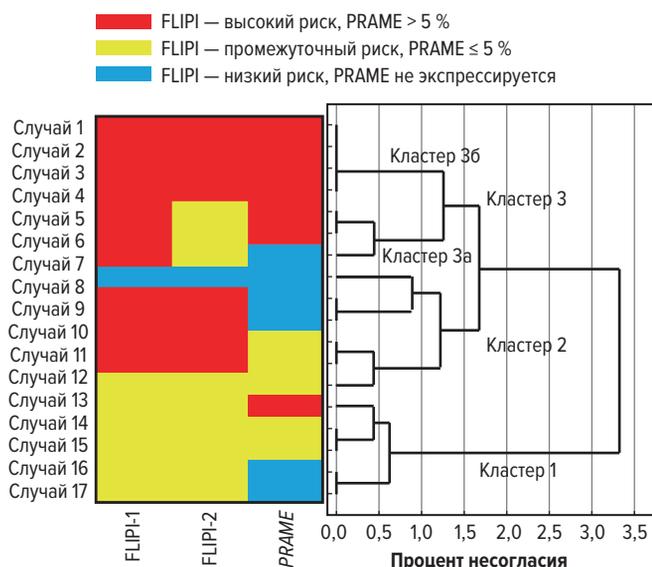


Рис. 2. Кластерный анализ данных по значениям FLIPI и уровню экспрессии гена *PRAME*. Красным шрифтом выделены наблюдения с летальным исходом ($n = 3$)

Fig. 2. Cluster analysis of FLIPI values and *PRAME* expression levels. Fatal cases ($n = 3$) are highlighted in red

либо нулевой уровень экспрессии *PRAME*. Кластер 3 разделяется на два. Кластер 3а — пациенты имеют неблагоприятный риск по FLIPI-1 или промежуточный риск по FLIPI-2 и высокий (> 5 %) уровень экспрессии гена *PRAME*, за исключением одного из случаев, при котором экспрессия *PRAME* не наблюдалась. В кластере 3б были пациенты, имеющие неблагоприятный риск по FLIPI-1/FLIPI-2 и высокий уровень экспрессии гена *PRAME*. Все больные, умершие в период наблюдения, относились к кластеру 3б.

ОБСУЖДЕНИЕ

По сравнению с реактивными лимфатическими узлами, в которых наблюдалась слабая экспрессия

Таблица 2. Сопоставление признаков, значимых для определения групп риска по FLIPI-1 и FLIPI-2, у больных фолликулярной лимфомой, имеющих различный уровень экспрессии гена *PRAME* в лимфатических узлах

Признак	Группа с высоким уровнем экспрессии <i>PRAME</i> в лимфатических узлах, $n = 7$	Группа с низким уровнем экспрессии <i>PRAME</i> в лимфатических узлах, $n = 11$	p
Медиана (диапазон) возраста, лет	61 (46–79)	59 (41–78)	0,8562*
Медиана (диапазон) уровня гемоглобина, г/л	131 (121–137)	136 (82–172)	0,6833*
Больные с поражением > 4 зон лимфатических узлов, %	86	36	0,0400**
Медиана (диапазон) уровня ЛДГ, ЕД/л	434 (254–842)	462 (394–1956)	0,2447*
Стадии заболевания III–IV, %	83	88	0,8489**
Уровень $\beta 2$ -микроглобулина, %	83	75	0,7069**
Вовлечение костного мозга, %	71	55	0,4738**
Медиана (диапазон) диаметра лимфатического узла, мм	47 (27–109)	56 (24–124)	0,4945*
Больные с низким риском по FLIPI-1, %	0	10	0,4117**
Больные с промежуточным риском по FLIPI-1, %	15	45	0,1715**
Больные с высоким риском по FLIPI-1, %	85	45	0,0876**
Больные с низким риском по FLIPI-2, %	0	10	0,4117**
Больные с промежуточным риском по FLIPI-2, %	57	45	0,6287**
Больные с высоким риском по FLIPI-2, %	43	45	0,9139**

Значение p , полученное после анализа с помощью *критерия Манна–Уитни и **критерия χ^2 .

PRAME, при ФЛ активность данного гена в пораженных лимфатических узлах была на значительно более высоком уровне. Присутствие транскриптов PRAME в крови и костном мозге больных ФЛ сопровождается циркуляцией опухолевых клеток в кровотоке и поражением костного мозга. Таким образом, экспрессия гена PRAME является опухоль-специфическим маркером при ФЛ, а ее высокий уровень свидетельствует о поражении лимфатических узлов, костного мозга и о циркуляции опухолевых клеток в крови.

Следует отметить, что эта активность наблюдается не у каждого больного, но встречается довольно часто. Сопоставление наших результатов с данными литературы показывает, что экспрессия гена PRAME при ФЛ происходит чаще по сравнению с другими злокачественными лимфопролиферативными заболеваниями. Например, при ДВКЛ экспрессия PRAME наблюдалась в 32 % случаев [13], при лимфоме Ходжкина — в 22 % [14], при мантийноклеточной лимфоме — в 57 % [15], а при неходжкинских лимфомах в целом — в 44 % [16].

В связи с тем, что высокий уровень экспрессии PRAME имеет отрицательное прогностическое значение при многих онкологических заболеваниях, мы оценили параметры ОБ и БСВ у больных ФЛ в группах с наличием или отсутствием у них транскриптов PRAME и в группах с различным уровнем экспрессии данного гена. Подбор порогового значения уровня экспрессии PRAME позволил найти ту величину, при которой наблюдались значимые различия ОБ между группами больных с PRAME^{low} и PRAME^{high}. Это был уровень PRAME в центроцитах и центробластах ФЛ, т. е. в опухолевых клетках лимфатического узла, превышающий 5 % относительно контрольного гена ABL.

В нашей работе группа больных с PRAME^{high} и худшими параметрами ОБ составляла 39 % от общего числа. Интересно, что К. Mitsuhashi и соавт., установившие отрицательное прогностическое значение гиперэкспрессии белка PRAME при ДВКЛ, выявили всего 14 % больных, имевших данный неблагоприятный признак [13]. Подобные различия могут объясняться разными патогенетическими особенностями ФЛ и ДВКЛ. С другой стороны, К. Mitsuhashi и соавт. использовали иммуногистохимический метод определения количества белка PRAME. Оценка его экспрессии проводилась двумя независимыми специалистами, но не была автоматизирована в отличие от метода ПЦР, при котором количество транскрипта гена устанавливается более точно. Тем не менее группа PRAME^{high} в нашей работе включает в себя значительную долю больных ФЛ и для них можно предполагать худший исход по сравнению с больными из общей группы.

Неблагоприятный исход при гиперэкспрессии PRAME может объясняться тем, что она сопровождается увеличением уровня экспрессии Ki-67, маркера пролиферативной активности опухолевых клеток. Таким образом, чем выше активность PRAME, тем быстрее клетки делятся, и неудивительно, что это определяет неблагоприятный исход ФЛ.

Продолжая наше исследование, мы сопоставили группы больных с PRAME^{high} и PRAME^{low} по прогностическим индексам FLIPI-1 и FLIPI-2, а также по отдельным параметрам, которые используются в этих индексах (см. табл. 2). Один из показателей, формирующих

FLIPI-1, значимо различается у больных из групп PRAME^{high} и PRAME^{low}, — это количество пораженных зон, число которых оказалось большим у пациентов с высоким уровнем экспрессии PRAME. Наше наблюдение согласуется с данными мировой литературы, согласно которым белок PRAME коррелирует с большей массой опухоли. Поскольку количество пораженных зон учитывается при расчете FLIPI-1, неудивительно, что в группе PRAME^{high} оказывается несколько больше больных, имеющих неблагоприятный прогноз по FLIPI-1, чем в группе PRAME^{low}.

В то же время из пяти признаков, формирующих FLIPI-2, ни один значимо не различается в группах пациентов, разделенных по признаку уровня экспрессии PRAME. Мы можем проиллюстрировать это средним значением признаков FLIPI-1 и FLIPI-2 в группах больных с разным уровнем экспрессии PRAME. Так, у больных с PRAME^{high} среднее значение признака FLIPI-1 составляет 3,29, что больше по сравнению с группой больных с PRAME^{low}, имеющих значение признака 2,81. У пациентов с PRAME^{low} и PRAME^{high} среднее значение FLIPI-2 составляло 2,29 и 2,27 соответственно, что, как мы видим, практически не различается. Значения *p* не приведены, т. к. индексы FLIPI не являются непрерывными данными и применение критерия Манна—Уитни для их анализа было бы некорректным.

Для более глубокого понимания причин смерти больных мы провели кластерный анализ имеющихся данных по таким факторам, как группа риска по FLIPI-1 и FLIPI-2, а также уровень экспрессии PRAME. Согласно результатам кластеризации, существует по меньшей мере четыре комбинации факторов, одна из которых может наблюдаться у больного. Летальный исход в течение первых 3 лет после установления диагноза ФЛ имел место только в тех случаях, когда у больного был высокий риск по FLIPI-1 и FLIPI-2 и одновременно высокий уровень экспрессии гена PRAME, превышающий 5 %. В данной группе под наблюдением остался всего 1 из 4 больных. Во всех остальных группах, для которых характерны наличие либо только неблагоприятного признака по FLIPI, либо только гиперэкспрессия PRAME или относительно благоприятные признаки FLIPI и низкий либо нулевой уровень экспрессии PRAME, все больные остаются под наблюдением.

Более ранняя летальность у больных, имеющих неблагоприятный прогноз по FLIPI-1 и FLIPI-2, закономерна. Однако учет уровня экспрессии PRAME в лимфатическом узле, пораженном опухолью, дополнит информацию о вероятности наступления неблагоприятных событий. Определение высокого уровня экспрессии PRAME у больных, имеющих высокий риск по FLIPI, говорит о сочетании сразу двух неблагоприятных факторов. Наличие только одного из этих факторов, как мы наблюдали, влияет на прогноз не столь драматично. Сопоставив данные факторы между собой, клиницист получает преимущества в планировании риск-адаптированной терапии.

Таким образом, экспрессия гена PRAME при ФЛ имеет важное прогностическое значение. Веским подтверждением такому заключению может служить ассоциация активности PRAME и Ki-67, а также ранняя летальность у больных, имеющих высокий уровень экспрессии гена PRAME и неблагоприятный прогноз по FLIPI-1 и FLIPI-2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наблюдаемые нами особенности активности гена *PRAME* не являются чем-то необычным: белок, кодируемый данным геном, всегда ухудшает прогноз у онкологических больных. Только при острых лейкозах активность *PRAME* связана с лучшими параметрами выживаемости. Что касается хронических лимфо-пролиферативных заболеваний, то неблагоприятная особенность экспрессии *PRAME* проявлялась во всех исследованиях. К сожалению, ФЛ не стала исключением.

Однако возможности терапии со временем неуклонно растут. Можно надеяться на таргетную иммунотерапию, которая в ближайшем будущем должна будет дополнить методы чекпойнт-терапии. Блокаторы PD-1 и CTLA-4 позволят Т-клеткам больного реализовать свои функции, а введение в кровь иммунопрепаратов, в т. ч. антител или CAR Т-клеток, распознающих антиген *PRAME*, приведет к быстрому распознаванию и уничтожению *PRAME*-экспрессирующей клетки ФЛ.

Но что делать врачу-гематологу в настоящее время, когда иммунотерапия против *PRAME* еще недоступна? Можно полагаться на существующие средства, в т. ч. на бортезомиб. В прошлом экспрессия *PRAME* была настоящей проблемой при лечении больных множественной миеломой. Больные с экспрессией *PRAME* умирали быстрее, чем *PRAME*-негативные. Внедрение в клинику бортезомиба нивелировало значение активности *PRAME* при множественной миеломе [17]. Причина заключается в бортезомиб-опосредованной отмене некоторых функций белка *PRAME*. Действительно, независимые наблюдения показывают, насколько эффективным оказался данный подход при лечении множественной миеломы [18]. Интересно, что на ресурсе clinicaltrials.gov к настоящему моменту (июль 2018 г.) можно найти информацию о 50 клинических исследованиях применения бортезомиба при ФЛ. В некоторых случаях достигался успех, в некоторых — нет. Но ни в одном из исследований не проводится разделение больных ФЛ на *PRAME*^{high}, которые потенциально будут более чувствительными к бортезомибу, и остальных, т. е. *PRAME*^{low}. Таким образом, возможность применения бортезомиба с большей эффективностью пока осталась неиспользованной.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана темой НИР № 114112440124.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: В.А. Мисюрин, А.Е. Мисюрина, С.К. Кравченко, А.В. Мисюрин.

Сбор и обработка данных: все авторы.

Анализ и интерпретация данных: В.А. Мисюрин, А.Е. Мисюрина, С.К. Кравченко, А.В. Мисюрин.

Подготовка рукописи: В.А. Мисюрин, А.Е. Мисюрина, С.К. Кравченко, А.В. Мисюрин.

Окончательное одобрение рукописи: В.А. Мисюрин, А.Е. Мисюрина, С.К. Кравченко, А.В. Мисюрин.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P, et al. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood*. 2004;104(5):1258–65. doi: 10.1182/blood-2003-12-4434.
2. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, et al. Follicular lymphoma international prognostic index 2: a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. *J Clin Oncol*. 2009;27(27):4555–62. doi: 10.1200/JCO.2008.21.3991.
3. Montoto S, Davies AJ, Matthews J, et al. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007;25(17):2426–33. doi: 10.1200/JCO.2006.09.3260.
4. Ortmann CA, Eisele L, Nuckel H, et al. Aberrant hypomethylation of the cancer-testis antigen *PRAME* correlates with *PRAME* expression in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2008;87(10):809–18. doi: 10.1007/s00277-008-0514-8.
5. Yao J, Caballero OL, Yung WK, et al. Tumor subtype-specific cancer-testis antigens as potential biomarkers and immunotherapeutic targets for cancers. *Cancer Immunol Res*. 2014;2(4):371–9. doi: 10.1158/2326-6066.CCR-13-0088.
6. Epping MT, Wang L, Edel MJ, et al. The human tumor antigen *PRAME* is a dominant repressor of retinoic acid receptor signaling. *Cell*. 2005;122(6):835–47. doi: 10.1016/j.cell.2005.07.003.
7. Dyrskjot L, Zieger K, Kissow Lildal T, et al. Expression of *MAGE-A3*, *NY-ESO-1*, *LAGE-1* and *PRAME* in urothelial carcinoma. *Br J Cancer*. 2012;107(1):116–22. doi: 10.1038/bjc.2012.215.
8. De Carvalho DD, Mello BP, Pereira WO, Amarante-Mendes GP. *PRAME*/EZH2-mediated regulation of *TRAIL*: a new target for cancer therapy. *Curr Mol Med*. 2013;13(2):296–304. doi: 10.2174/156652413804810727.
9. McElwaine S, Mulligan C, Groet J, et al. Microarray transcript profiling distinguishes the transient from the acute type of megakaryoblastic leukaemia (M7) in Down's syndrome, revealing *PRAME* as a specific discriminating marker. *Br J Haematol*. 2004;125(6):729–42. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.04982.x.
10. Kim HL, Seo YR. Molecular and genomic approach for understanding the gene-environment interaction between *Nrf2* deficiency and carcinogenic nickel-induced DNA damage. *Oncol Rep*. 2012;28(6):1959–67. doi: 10.3892/or.2012.2057.
11. Costessi A, Mahrour N, Tijchon E, et al. The tumour antigen *PRAME* is a subunit of a Cul2 ubiquitin ligase and associates with active NFY promoters. *EMBO J*. 2011;30(18):3786–98. doi: 10.1038/emboj.2011.262.
12. Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome – biological and translational implications. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(10):726–34. doi: 10.1038/nrc3130.
13. Mitsuhashi K, Masuda A, Wang YH, et al. Prognostic significance of *PRAME* expression based on immunohistochemistry for diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP therapy. *Int J Hematol*. 2014;100(1):88–95. doi: 10.1007/s12185-014-1593-z.
14. Мисюрин В.А., Лукина А.Е., Мисюрин А.В. и др. Особенности соотношения уровней экспрессии генов *PRAME* и *PML/RARα* в дебюте острого промиелоцитарного лейкоза. *Российский биотерапевтический журнал*. 2014;13(1):9–16. [Misyurin VA, Lukina AE, Misyurin AV, et al. A ratio between gene expression levels of *PRAME* and *PML/RARα* at the onset of acute promyelocytic leukemia. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2014;13(1):9–16. (In Russ)]
15. Proto-Siqueira R, Figueiredo-Pontes LL, Panepucci RA, et al. *PRAME* is a membrane and cytoplasmic protein aberrantly expressed in chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma. *Leuk Res*. 2006;30(11):1333–9. doi: 10.1016/j.leukres.2006.02.031.
16. Proto-Siqueira R, Falcao RP, de Souza CA, et al. The expression of *PRAME* in chronic lymphoproliferative disorders. *Leuk Res*. 2003;27(5):393–6. doi: 10.1016/S0145-2126(02)00217-5.
17. Qin Y, Lu J, Bao L, et al. Bortezomib improves progression-free survival in multiple myeloma patients overexpressing preferentially expressed antigen of melanoma. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(9):1666–71. doi: 10.3760/cma.jissn.0366-6999.20132356.
18. Солодовник А.А., Мкртчян А.С., Мисюрин В.А. и др. Экспрессия раково-тестикулярных генов *PRAME*, *NY-ESO1*, *GAGE1*, *MAGE A3*, *MAGE A6*, *MAGE A12*, *SSX1*, *SLLP1*, *PASD1* у больных множественной миеломой, их влияние на показатели общей выживаемости и скорость возникновения рецидива. *Успехи молекулярной онкологии*. 2018;5(2):62–70. doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-2-62-70. [Solodovnik AA, Mkrtchyan AS, Misyurin VA, et al. Expression of cancer-testis genes *PRAME*, *NY-ESO1*, *GAGE1*, *MAGE A3*, *MAGE A6*, *MAGE A12*, *SSX1*, *SLLP1*, *PASD1* in patients with multiple myeloma, their influence on overall survival and relapse rate. *Advances in molecular oncology*. 2018;5(2):62–70. doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-2-62-70. (In Russ)]