



УДК 575.174.015.3:618.19-006.04

А.В. Марковский, Н.Н. Страмбовская

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА SER249PRO ГЕНА *TLR6* С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

Читинская государственная медицинская академия, 672090, ул. Горького 39а,
тел. 8-(3022)-32-00-85, e-mail: pochta@medacadem.chita.ru, г. Чита

Резюме

Исследован генетический полиморфизм *TLR6*-Ser249Pro у 40 больных раком молочной железы и у 89 относительно здоровых резидентов Забайкальского края. В сравнении с контрольной группой, у больных РМЖ отмечено частотное преобладание генотипа *TLR6*-249Pro/Pro с увеличением относительного риска развития заболевания в 5,52 раза (CI 95 %: 2,21-13,79).

Ключевые слова: рак молочной железы, толл-подобные рецепторы, генетический полиморфизм, предрасположенность.

A.V. Markovsky, N.N. Strambovskaya

ASSOCIATION OF THE POLYMORPHISM SER249PRO OF *TLR6* GENE WITH BREAST CANCER IN TRANSBAYKAL REGION

Chita State Medical Academy, Chita

Summary

Genetic polymorphism of *TLR6*-Ser249Pro from 40 patients with breast cancer and at 89 rather healthy residents of Transbaykal Region are studied. The comparison with the control group of patients with breast cancer demonstrated prevalence of genotype frequency: *TLR6*-249Pro/Pro – with an increased risk of developing the disease by 5,52 times (CI 95 %: 2,21-13,79).

Key words: breast cancer, toll-like receptors, genetic polymorphism, predisposition.

Заболеваемость раком молочной железы (РМЖ) неуклонно растет, так за период с 2007 по 2012 гг. прирост стандартизованных показателей по России составил 13,8 % [2]. Наряду с этим онкогеномикой изучаются все новые молекулярные механизмы канцерогенеза, в частности Toll-like рецепторы, разработка эффективных методов диагностики, прогноза течения, оптимизации лечения и мониторинга рецидивирования опухолей. В последние годы возрастает интерес к изучению Toll-like рецепторов (Toll-like receptors – TLRs) при опухолевом процессе. Однако роль TLR в онкогенезе неоднозначна – с одной стороны они участвуют в противоопухолевом иммунитете, с другой – способствуют уклонению опухолевых клеток от иммунного ответа [6, 3]. До настоящего момента в литературе нет данных комплексного исследования толл-рецепторов, в частности *TLR6* при раке молочной железы, в том числе и его генетического полиморфизма.

Цель работы – сравнение частоты аллелей и генотипов генетического полиморфизма *TLR6*(Ser249Pro) среди относительно здоровых женщин и больных раком молочной железы в Забайкальском крае.

Материалы и методы

Обследовано 40 женщин в возрасте 53,1±13,0 лет, находившихся на стационарном лечении в онкологическом диспансере с диагнозом рак молочной железы. Контрольную группу составили 89 здоровых женщин Забайкальского края в возрасте 41,2±18,5 лет, считающих себя относительно здоровыми и не имеющих на момент исследования онкологической патологии. Материалом для молекулярно-генетического анализа (PCR-Ef) служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической венозной крови. Амплификацию проводили в термоциклере (ООО «Бис-Н», Новосибирск). В работе использовались стандартные наборы для исследуемых SNP научно-производственной фирмы «Литех» (Москва). Для оценки соответствия распределений наблюдаемых генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в двух субпопуляциях использовали критерий χ^2 . Статистическая обработка данных проводилась с использованием on-line калькулятора (http://gen-exp.ru/calculator_or.php).

Результаты и обсуждение

В настоящее время получены убедительные доказательства того, что TLRs экспрессируются злокачественными клетками различного происхождения и локализации, в частности молочной железы, предстательной железы, яичника, пищевода, желудка, легкого, головы, шеи и др. [7, 9, 13, 14]. Рецептор TLR6 (CD286) распознает патоген-связанные молекулярные структуры грамположительных бактерий и грибов и способен активировать ключевой фактор транскрипции NF- κ B (nuclear factor kappa – B) [4, 5], который, играет важную роль в этиологии, патогенезе и прогрессии опухолей и в частности РМЖ [8]. NF- κ B синтезируются непосредственно в опухоли и регулируют различные функции опухолевых клеток, например, активируют экспрессию генов ряда антиапоптотических белков, защищая клетки от апоптоза. Присутствие этих белков увеличивает устойчивость клеток к различным стрессовым воздействиям, возникающих в процессе воспаления, что способствует развитию пролиферативного эффекта, в том числе и при РМЖ. NF κ B – один из важнейших факторов, обуславливающих взаимосвязь хронического воспаления и опухолеобразования – [10]. В связи с этим агенты, способные активировать NF κ B, могут непосредственно участвовать в процессе развития и прогрессии опухоли. Как известно, взаимодействие патогенов с TLR на поверхности клетки приводит к активации NF κ B и экспрессии NF κ B-зависимых генов, что и обуславливает участие TLR в стимуляции канцерогенеза. Можно предположить, что полиморфизмы TLR могут создавать повышенное сродство к NF- κ B, что, в свою очередь, повышает транскрипционную активность генов и, как следствие, приводит к развитию злокачественных образований.

В результате нашего исследования обнаружены все искомые мутации в гомо- и гетерозиготном состоянии с частотным подчинением закону Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Полиморфизм *TLR6-Ser249Pro* в контрольной группе здоровых женщин встречался с частотой в генотипах: *TLR6-249Ser/Ser* – 13,5 %, *TLR6-249Ser/Pro* – 40,4 %, *TLR6-249Pro/Pro* – 46,1 % и аллельным распределением: *TLR6-249Ser* – 0,34, *TLR6-249Pro* – 0,66. В группе больных раком молочной железы частота генотипов была следующей: *TLR6-249Ser/Ser* – 0 %, *TLR6-249Ser/Pro* – 17,5 %, *TLR6-249Pro/Pro* – 82,5 %, аллелей: *TLR6-249Ser* – 0,09, *TLR6-249Pro* – 0,91.

При сравнении между группами нами отмечено, что у больных РМЖ, более часто встречался генотип *TLR6-249Pro/Pro* (в клинической группе – 82,5 %, в контрольной – 46,1 % ($\chi^2=16,14$; $p=0,0003$)) с увеличением риска развития заболевания у носителей данного генотипа в 5,52 раза (CI 95 %: 2,21-13,79), а обладателей *TLR6-249Pro* – в 5,3 раза (CI 95 %: 2,30-12,23). Кроме этого, среди пациентов с РМЖ не выявлено ни одной нормальной гомозиготы. Таким образом, расчет отношения шансов выявил значительную ассоциацию генотипа *Pro/Pro* с РМЖ. Это дает основание предполагать, что мутантная аллель *Pro*, особенно в гомозиготном состоянии маркирует повышенный риск развития РМЖ.

Ген TLR6 (толл-подобного рецептора 6) локализован в хромосоме 4p13, представлен одним экзоном и кодирует мембранный белок длиной в 796 аминокислот, который обнаружен на поверхности моноцитов, нейтрофилов, эндотелиальных клеток кожных капилляров и др. [1]. Следует отметить, что в литературе приводятся неоднозначные данные по изучению полиморфизма этого гена, где например, J. Sun и соавт., показывают повышенный риск, ассоциированный с носительством полиморфизма гена TLR6, при развитии рака предстательной железы [12], что противоречит данным другого исследования, проведенного E. Platz [11].

Таким образом, анализируя результаты, мы предполагаем, что генотип *Pro/Pro* является существенным предикторным фактором болезни. И проведение более масштабного исследования, возможно, позволит включить исследование полиморфизма гена TLR6 в диагностические протоколы, как генетический маркер РМЖ. Представленные в литературе данные, также показывают, что опухолестимулирующие эффекты TLR и их лигандов имеют сложный механизм, который необходимо изучать более детально.

В результате исследования в наблюдаемых группах выявлены все аллели полиморфизма TLR6(*Ser249Pro*) в гомо- и гетерозиготном состоянии. В сравнении с контрольной группой у больных раком молочной железы в Забайкальском крае отмечено частое носительство генотипа *TLR6-249Pro/Pro* и аллеля *TLR6-249Pro* с увеличением риска развития заболевания до 5,5 раза ($p=0,0003$).

Литература

1. Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-генетические аспекты дерматита // Медицинская генетика. – 2012. – № 12. – С. 18-26.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. – М.: Издательская группа РОНЦ, 2014. – 226 с.
3. Марковский А.В. Генетический полиморфизм генов TLR6 (*Ser249Pro*) у больных раком молочной железы в Забайкальском крае // Материалы XIV научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 22-24 апреля 2015 г.). – Ч. 1. – Чита: РИЦ ЧГМА, 2015. – С. 124-125.
4. Чойнзонов Е.Л., Спирина Л.В., Кондакова И.В., Шишкин Д.А., Чижевская С.Ю. Экспрессия транс-

крипционных факторов NF- κ B и HIF-1 в плоскоклеточных карциномах головы и шеи: связь с прогнозом заболевания // Вопросы онкологии. – 2013. – Т. 59, № 5. – С. 575-579.

5. Campino S., Forton J., Auburn S., Fry A., et al. TLR9 polymorphisms in African populations: no association with severe malaria, but evidence of cis-variants acting on gene expression // Malaria Journal. – 2009. – Режим доступа: <http://www.malariajournal.com/content/8/1/44> (дата обращения 28.07.2015).

6. Chang A.H., Parsonnet J. Role of Bacteria in Oncogenesis // Clin. Microbiol. Rev. – 2010. – Vol. 23, № 4. – P. 837-857.

7. Hasan A., Sadoh D., Palmer R., et al. The immune responses to human and microbial heat shock proteins in

periodontal dis-ease with and without coronary heart disease // Clin. Exp. Immunol. – 2005. – Vol. 142, № 3. – P. 585-94.

8. Huber M.A., Azoitei N., Baumann B., Grünert S., et al. NF-kappaB is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 114, № 4. – P. 569-81.

9. Ilvesaro J.M., Merrell M.A., Swain T.M., et al. Toll like receptor-9 agonists stimulate prostate cancer invasion in vitro // Prostate. – 2007. – Vol. 67, № 7. – P. 774-781.

10. Pikarsky E., Porat R.M., Stein I., Abramovitch R., et al. NF-κB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer // Nature. – 2004. – Vol. 431. – P. 461-466.

11. Platz E.A., De Marzo A.M. Epidemiology of inflammation and prostate cancer // J. Urol. – 2004. – Vol. 171, № 2. – P. 36-40.

12. Sun J., Wiklund F., Hsu F.C., et al. Interactions of sequence variants in interleukin-1 receptor-associated kinase 4 and the toll-like receptor 6-1-10 gene cluster increase prostate cancer risk // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2006. – Vol. 15, № 3 – P. 480-485.

13. Szczepanski M.J., Czystowska M., Zeromski J., et al. Triggering of Toll-like receptor 4 expressed on human head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor development and protects the tumor from immune attack // Cancer Res. – 2009. – Vol. 69, № 7. – P. 3105-3113.

14. Yu L., Wang L., Chen S. Exogenous or endogenous Toll-like receptor ligands: which is the MVP in tumorigenesis? // Cell Mol. Life Sci. – 2012. – Vol. 69, № 6. – P. 935-949.

Literature

1. Gimalova G.F., Karunas A.S., Khusnutdinova E.K. Molecular-genetic aspects of dermatitis // Medical genetics. – 2012. – № 12. – P. 18-26.

2. Davidov M.I., Aksel E.M. Statistics of malignant neoplasias in Russia and CIS in 2012. – M.: RONTs publishing group, 2014. – P. 226.

3. Markovskiy A.V. Genetic polymorphism of genes TLR6 (Ser249Pro) in patients suffering from breast cancer in Transbaikalian region // Materials of XIV science-to-practice conference of young scientists and student «Medicine of future» (Chita, April 22-24, 2015). – P. 1. – Chita: RfTC CSMU, 2015. – P. 124-125.

4. Choinzonov E.L., Spirina L.V., Kondakova I.V., et al. Expression of transcription factor NF-κB and HIF-1 in squamous carcinoma located in neck and head area: connection with disease outcome // Issues of oncology. – 2013. – Vol. 59, № 5. – P. 575-579.

5. Campino S., Forton J., Auburn S., Fry A., et al. TLR9 polymorphisms in African populations: no association with severe malaria, but evidence of cis-variants acting on gene expression // Malaria Journal. – 2009. – <http://www.malariajournal.com/content/8/1/44> (28.07.2015).

6. Chang A.H., Parsonnet J. Role of Bacteria in Oncogenesis // Clin. Microbiol. Rev. – 2010. – Vol. 23, № 4. – P. 837-857.

7. Hasan A., Sadoh D., Palmer R., et al. The immune responses to human and microbial heat shock proteins in periodontal dis-ease with and without coronary heart disease // Clin. Exp. Immunol. – 2005. – Vol. 142, № 3. – P. 585-594.

8. Huber M.A., Azoitei N., Baumann B., Grünert S., et al. NF-kappaB is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 114, № 4. – P. 569-581.

9. Ilvesaro J.M., Merrell M.A., Swain T.M., et al. Toll like receptor-9 agonists stimulate prostate cancer invasion in vitro // Prostate. – 2007. – Vol. 67, № 7. – P. 774-781.

10. Pikarsky E., Porat R.M., Stein I., Abramovitch R., et al. NF-κB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer // Nature. – 2004. – Vol. 431. – P. 461-466.

11. Platz E.A., De Marzo A.M. Epidemiology of inflammation and prostate cancer // J. Urol. – 2004. – Vol. 171, № 2. – P. 36-40.

12. Sun J., Wiklund F., Hsu F.C., et al. Interactions of sequence variants in interleukin-1 receptor-associated kinase 4 and the toll-like receptor 6-1-10 gene cluster increase prostate cancer risk // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2006. – Vol. 15, № 3. – P. 480-85.

13. Szczepanski M.J., Czystowska M., Zeromski J., et al. Triggering of Toll-like receptor 4 expressed on human head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor development and protects the tumor from immune attack // Cancer Res. – 2009. – Vol. 69, № 7. – P. 3105-3113.

14. Yu L., Wang L., Chen S. Exogenous or endogenous Toll-like receptor ligands: which is the MVP in tumorigenesis? // Cell Mol. Life Sci. – 2012. – Vol. 69, № 6. – P. 935-949.

Координаты для связи с авторами: Марковский Александр Викторович – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Научно-исследовательского института молекулярной медицины ЧГМА, тел. +7-964-468-02-28, e-mail: sorcerer-asu@mail.ru; Страмбовская Наталья Николаевна – канд. мед. наук, зав. лабораторией молекулярной генетики Научно-исследовательского института молекулярной медицины ЧГМА, доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ЧГМА, тел.: 8-(3022)-32-28-61, +7-924-477-00-95, e-mail: strambovskaia@yandex.ru.

