

О новых диагностических возможностях CD138 (синдекана-1) при множественной миеломе

А.Ф. Карамышева

НИИ канцерогенеза ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Аида Фуадовна Карамышева aikaram@yandex.ru

Синдекан-1, или CD138, – один из основных маркеров, используемых при проточно-цитометрическом анализе плазматических клеток множественной миеломы (ММ). В обзоре приводятся сведения о CD138, а также о некоторых других часто применяемых для характеристики ММ маркерах – CD19, CD45, CD56, позволяющих отличать клетки ММ от нормальных плазмочитов. При анализе ММ, как правило, учитывается только популяция плазмочитов, экспрессирующая маркер CD138. Известные в настоящее время из литературы данные свидетельствуют о том, что популяция плазматических клеток миеломы, не экспрессирующая CD138 (CD138⁻), не менее важна для оценки прогноза ММ. Эта популяция плазмочитов проявляет некоторые свойства, которыми должны обладать стволовые опухолевые клетки. В популяции CD138⁻ клеток повышены индекс пролиферации, клоногенность, прививаемость иммунодефицитным мышам по сравнению с плазмочитами, положительными по экспрессии этого маркера. Кроме того, негативные по экспрессии CD138 клетки оказались более устойчивы к действию ряда применяемых при лечении ММ химиопрепаратов, чем клетки, экспрессирующие этот маркер. Плазматические CD138⁻ клетки при культивировании *in vitro* способны продуцировать плазматические CD138⁺ клетки и таким образом воспроизводить гетерогенную по экспрессии CD138 популяцию клеток миеломы. Результаты проведенных исследований, а также статистические данные, указывающие на худшую выживаемость больных ММ со сниженным уровнем экспрессии CD138, свидетельствуют о необходимости учета популяции CD138⁻ плазмочитов при анализе этого заболевания. Поэтому представляется важной задача поиска новых маркеров, позволяющих различать экспрессирующие CD138 популяции плазматических клеток ММ и плазмочиты, не экспрессирующие этот маркер. Одним из таких маркеров оказался рецептор фактора роста эндотелия сосудов VEGFR3.

Ключевые слова: множественная миелома, плазматические клетки, маркеры множественной миеломы, CD138, синдекан-1, рецептор фактора роста эндотелия сосудов VEGFR3, популяции плазмочитов, прогноз

DOI: 10.17650/2313-805X-2015-2-3-43-50

The new diagnostic features of CD138 (syndecan-1) in multiple myeloma

A. F. Karamysheva

Research Institute of Carcinogenesis, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoye shosse, Moscow, 115478, Russia

Syndecan-1 (CD138) is one of the main cell markers used in flow cytometric analysis of multiple myeloma (MM) cells. CD138 and several other markers – CD19, CD45, CD56 – which are often used in order to characterize MM and give the possibility to differentiate MM cells from the normal plasmocytes are described. Only CD138-expressing MM plasma cells are usually taken into account in MM analysis. The current literature data point out that CD138-negative MM plasma cells could be important for MM prognosis, as well. This cell population demonstrates certain properties that are typical to the cancer stem cells. CD138-negative cell population is characterized by higher proliferation, clonogenicity, engraftment in immunodeficient mice as compared to CD138 expressing plasma cells. Besides that, CD138-negative cells were more resistant than CD138-positive cells to the drugs that are used in MM chemotherapy. CD138-negative plasma cells are able to produce CD138 expressing cells upon a long-term culture *in vitro* and thus to reproduce the heterogenic in CD138 expression population of MM plasma cells. The results of these investigations, as well as statistical data indicating the worse overall survival of CD138 low expressing MM patients point out that CD138-negative population of MM plasma cells should be taken into consideration in MM analysis. Thus, it could be important to find the new markers distinguishing the plasma cell population differing in CD138 expression. Vascular endothelial growth factor receptor VEGFR3 was found to be a new marker with such properties.

Key words: multiple myeloma, plasma cells, multiple myeloma markers, CD138, syndecan-1, vascular endothelial growth factor receptor VEGFR3, plasma cell populations, prognosis

Введение

Множественная миелома (ММ) – злокачественное лимфолипролиферативное заболевание, характеризующееся неконтролируемым размножением плазматических клеток.

Плазматические клетки представляют собой конечный этап дифференцировки В-клеток и образу-

ются на антиген-зависимой стадии дифференцировки (рис. 1). В норме плазматические клетки присутствуют в организме человека в незначительном количестве (< 1 % от общего количества клеток костного мозга) [1]. Нормальные плазмочиты – это практически не делящиеся клетки.

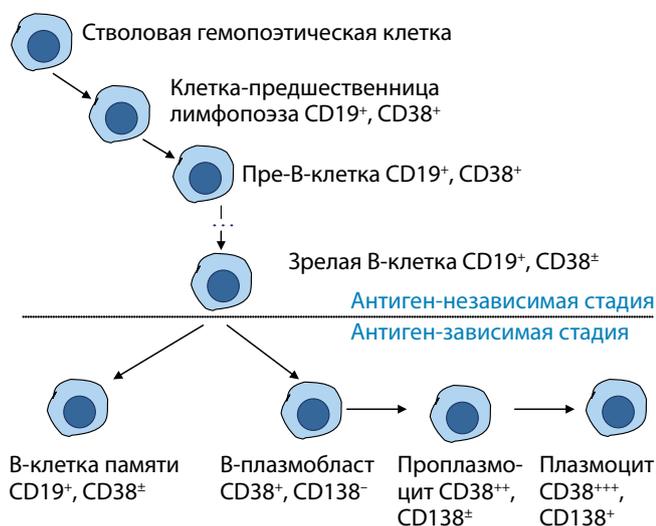


Рис. 1. Схема дифференцировки плазматических клеток

Маркеры плазматических клеток

Наиболее важной фенотипической характеристикой как нормальных, так и миеломных плазматических клеток считается высокий уровень экспрессии CD38 и CD138 (синдекана-1) [2, 3].

Маркер CD38 не является специфичным для плазматических клеток. Этот антиген также экспрессируется в таких клетках, как базофилы, моноциты, ранние В- и Т-лимфоциты, естественные киллеры и некоторые другие [1]. CD38 экспрессируется на всех этапах дифференцировки В-клеток. В зрелых В-клетках экспрессия этого маркера заметно снижается, но на антиген-зависимой стадии дифференцировки В-клеток CD38 начинает экспрессироваться вновь, достигая в плазмочитах максимальных значений экспрессии, многократно превышающих уровень экспрессии в незрелых В-лимфоцитах [1, 4].

Экспрессия CD138 является отличительной чертой плазматических клеток. В костном мозге нет других клеток, которые бы экспрессировали этот маркер. В связи с этим CD138 рассматривается многими авторами в качестве универсального маркера плазматических клеток независимо от того, являются ли они нормальными или злокачественными, и часто используется для идентификации и выделения плазмочитов [4, 5]. Кроме того, поскольку CD138 появляется только на плазматических клетках и, в небольшом количестве, на непосредственных предшественниках плазмочитов, он также считается одним из дифференцировочных маркеров.

В связи с тем, что как нормальные, так и миеломные плазматические клетки выявляются методами проточной цитофлуориметрии в области с высокой экспрессией CD38, важно было идентифицировать маркеры, экспрессия которых позволяла бы различать эти виды клеток. К числу таких маркеров относятся, в частности, CD19, CD45 и CD56.

CD19 — универсальный маркер В-клеток, экспрессирующийся на всех стадиях их созревания. Экспрес-

сия CD19 присутствует в нормальных плазмочитах, хотя и снижена по сравнению с В-клетками, находящимися на других стадиях дифференцировки. CD56, представляющий собой молекулу клеточной адгезии NCAM, напротив, практически не экспрессируется нормальными плазмочитами. Оказалось, что для большей части миеломных плазматических клеток характерно отсутствие экспрессии CD19 и в то же время появление или значительное усиление экспрессии CD56, т. е. плазматические клетки миеломы в большинстве своем имеют фенотип CD19⁻/CD56⁺, тогда как фенотипу нормальных плазмочитов соответствует CD19⁺/CD56⁻ [6–9]. Хотя встречаются также минорные субпопуляции миеломных клеток CD19⁺/CD56⁺ и CD19⁻/CD56⁻ [6, 9].

Высказывается предположение о том, что появление в клетках миеломы экспрессии адгезионной молекулы CD56 может способствовать взаимодействию между плазмочитами миеломы и стромальными клетками костного мозга [6]. С другой стороны, потеря CD56 частью плазматических клеток миеломы снижает их адгезионные возможности и тем самым может способствовать их диссеминированию. Так, например, в работе С. Pellat-Deceunynck и соавт. приводятся данные о том, что уровень экспрессии CD56 был резко снижен у пациентов с выраженными экстрамедуллярными проявлениями болезни [10].

Еще одним маркером, экспрессия которого различна в нормальных и миеломных плазматических клетках, является CD45⁻ лейкоцитарный поверхностный антиген, представляющий собой рецептор-подобную тирозиновую протеинфосфатазу. Этот маркер экспрессирован на поверхности всех представителей кроветворных рядов, за исключением эритрокариоцитов.

В работе С. Pellat-Deceunynck и соавт. сравнивался уровень экспрессии 2 изоформ CD45 (CD45RA и CD45RO) в плазматических клетках больных на разных стадиях развития ММ и в нормальных плазмочитах [10]. Полученные данные свидетельствуют о снижении экспрессии обеих изоформ CD45 по мере усиления злокачественности заболевания. В целом же популяция плазматических клеток миеломы гетерогенна по экспрессии CD45. Значительная часть миеломных плазматических клеток либо негативны по экспрессии CD45, либо характеризуются очень низким уровнем экспрессии этого маркера. Однако в небольшой популяции клеток миеломы уровень экспрессии CD45 может быть очень высоким. Так, при исследовании 49 больных ММ во всех случаях была обнаружена фракция миеломных клеток с повышенной экспрессией CD45 (медиана относительного количества таких клеток составила 12 %), причем именно в этой фракции оказался наиболее высоким индекс пролиферации [11].

Экспрессия CD45 в плазмочитах больных ММ может служить одним из прогностических факторов.

Выживаемость больных ММ, у которых при постановке диагноза большая часть клеток миеломы (медиана – 80 %) были негативными по экспрессии CD45, была статистически достоверно ниже, чем у больных, плазмциты которых хотя бы в слабой степени экспрессировали этот маркер [12]. Авторы полагают, что плохой прогноз выживаемости у негативных по экспрессии CD45 больных может объясняться тем, что CD45⁻ клетки миеломы в большей степени, чем CD45⁺ клетки, способны к циркуляции и диссеминации, у них также повышен клоногенный потенциал.

Популяция CD138-негативных плазматических клеток

Будучи клетками, находящимися на терминальной стадии дифференцировки, плазматические клетки, в том числе и у больных ММ, обладают очень низким уровнем пролиферативной активности (< 1 %) [3].

Низкий уровень пролиферации миеломных плазматических клеток и вместе с тем частое возникновение рецидивов у больных ММ после проведенного лечения послужили причиной для предположения о существовании самовоспроизводимой популяции миеломных клеток (стволовых опухолевых клеток ММ), способной к возобновлению роста опухоли и устойчивой к применяемой противоопухолевой терапии. В пользу этого предположения также свидетельствуют данные экспериментов, проведенных с использованием культур клеток ММ и клинических образцов, полученных от больных ММ, которые указывают на присутствие небольшой популяции клеток ММ, обладающих способностью к неограниченному самовоспроизведению [13].

Поскольку именно эта субпопуляция клеток ММ, как предполагается, ответственна за возникновение рецидивов, необходимо идентифицировать эти клетки, выявить специфичные для этой популяции клеток маркеры, с тем чтобы в дальнейшем разрабатывать специфичные для этих клеток таргетные препараты, является одной из наиболее важных задач в лечении ММ.

В ряде работ в качестве возможных кандидатов на роль стволовых клеток ММ рассматриваются плазматические клетки, в которых отсутствует экспрессия CD138. При исследовании линий клеток миеломы человека RPMI 8226 и NCI-H929 W. Matsui и соавт. идентифицировали в них минорную популяцию клеток, не экспрессирующих основной маркер как опухолевых, так и нормальных плазмцитов CD138 [14]. Количество таких клеток составляло 2–5 % от общей популяции. CD138⁻ клетки обладали некоторыми свойствами, позволившими авторам работы предположить, что именно эти клетки могут представлять собой популяцию стволовых опухолевых клеток ММ. Так, CD138⁻ клетки отличались более высокой клоногенной активностью при последовательном пассировании колоний в метилцеллюлозе по сравнению с CD138⁺ клетками. Аналогичными свойствами обладали и различающиеся по экспрессии CD138 популя-

ции клеток, выделенные из образцов костного мозга больных ММ. В условиях *in vivo* при прививке иммунодефицитным NOD/SCID мышам приживались только CD138⁻ клетки. Авторы показали, что популяция CD138⁻ клеток в отличие от CD138⁺ экспрессирует антигены CD19 и CD20, характерные скорее для зрелых В-клеток, чем для плазмцитов. Более высокая клоногенность CD138⁻ клеток по сравнению с CD138⁺ клетками как *in vitro* при росте клеток в метилцеллюлозе, так и *in vivo* при прививке NOG (NOD/SCID/IL-2R γ null) мышам позднее была продемонстрирована также в работе R. Reghunathan и соавт. [15].

Стволовые опухолевые клетки должны обладать способностью продуцировать клетки опухоли, в данном случае зрелые плазматические клетки, положительные по экспрессии CD138. Такая способность была продемонстрирована в работах R. Reghunathan и соавт. [15], G. M. Fuhler и соавт. [16], M. Zlei и соавт. [17], где показано, что при длительном культивировании CD138⁻ клеток появляются CD138⁺ клоны, т. е. популяция CD138⁻ плазмцитов способна восстановить гетерогенную по экспрессии CD138 популяцию клеток миеломы. При этом культивирование клеток, экспрессирующих CD138, не приводило к появлению CD138⁻ клонов.

W. Matsui и соавт. в своей дальнейшей работе продемонстрировали, что популяция миеломных клеток, не экспрессирующих CD138, обладает еще одним характерным для стволовых клеток свойством – устойчивостью к действию химиопрепаратов [18]. Была исследована относительная резистентность CD138⁺ и CD138⁻ популяций миеломных плазматических клеток, выделенных из клеточных линий RPMI 8226 и NCI-H929, к химиопрепаратам, используемым в клинической практике при лечении ММ, таким как кортикостероид дексаметазон, аналог талидомида леналидомид, протеасомный ингибитор бортезомиб и активный метаболит цитотоксического алкилирующего агента 4-гидроксициклофосфамид. Все использованные химиопрепараты подавляли клоногенный рост CD138⁺ клеток и практически не влияли на клоногенность CD138⁻ клеток. Исследование действия этих же препаратов на клоногенность CD138⁻ клеток, полученных от больных ММ, также показало отсутствие значительного подавляющего эффекта.

Устойчивость популяции плазмцитов миеломы со сниженным уровнем экспрессии CD138 к действию леналидомида продемонстрирована и в работе Y. Kawano и соавт. [19]. Сравнивая профиль экспрессии генов в популяциях плазмцитов с высоким и низким уровнем экспрессии CD138, авторы также отмечают, что для CD138⁻ клеток характерен менее зрелый фенотип.

Таким образом, минорная популяция плазматических клеток миеломы, негативная по экспрессии CD138, обладала признаками стволовых опухолевых клеток: способностью к самовоспроизведению, высокой клоногенностью, прививаемостью мышам, устойчивостью к действию лекарственных препаратов.

Факторы, приводящие к возникновению популяции CD138-негативных плазматических клеток

Возможность существования жизнеспособных плазмочитов, не экспрессирующих CD138, какое-то время являлась предметом дискуссий. В ряде работ отмечалось, что утрата экспрессии CD138 клетками миеломы может быть связана с теми или иными неблагоприятными условиями воздействия на них. Так, M. Jourdan и соавт. показали, что CD138 очень быстро теряется клетками миеломы, входящими в апоптоз, индуцируемый дексаметазоном или возникающий в результате их хранения при комнатной температуре [20]. При этом экспрессия CD38 в апоптотических клетках миеломы остается неизменной. Аналогичные данные получены в работе J.H. Christensen и соавт., в которой снижение экспрессии CD138 в клетках миеломы зависело от времени, прошедшего между получением образца биопсии от больного и его анализом [21].

Авторы этих работ приходят к выводу, что потеря CD138 клетками миеломы — это «апоптотический артефакт», связанный с условиями их получения и хранения.

В работе S. Reid и соавт. популяция плазмочитов, не экспрессирующих CD138, увеличивалась в том случае, если материал, полученный от больных ММ, был подвергнут замораживанию [22]. Этот эффект авторы работы также объясняют тем, что процесс замораживания—размораживания образцов может стимулировать в клетках апоптоз. Вместе с тем в этой же работе анализ свежеполученных образцов костного мозга больных ММ подтвердил существование популяции CD138⁻ плазмочитов. Проанализировав 218 больных ММ, авторы нашли, что популяция клеток миеломы, не экспрессирующих CD138, может составлять от 1,1 до 97,5 % (медиана — 19,6 %). При этом оценка количества плазмочитов, находящихся в S-фазе, показала, что доля таких клеток достоверно выше в популяции плазмочитов, не экспрессирующих CD138. S. Reid и соавт. характеризуют популяцию CD138⁻ плазмочитов как менее зрелую и обладающую повышенным пролиферативным потенциалом. Они обращают внимание на то, что игнорирование этой популяции при анализе ММ может в значительной степени сказываться как на оценке тяжести заболевания, так и на выборе тактики лечения.

Иммуногистохимическое исследование, проведенное I.V. Waage-Garner и соавт. на образцах биопсий костного мозга больных ММ, также продемонстрировало, что экспрессия CD138 плазматическими клетками миеломы действительно гетерогенна [23]. Анализ иммуногистохимически окрашенных срезов показал, что клетки миеломы, в которых экспрессия CD138 либо не обнаруживалась, либо была довольно низкой, цитологически не отличались от клеток с высоким уровнем экспрессии этого маркера. Эти результаты затем были подтверждены и при исследовании плаз-

матических клеток у больных ММ с помощью проточной цитометрии. В работе G.M. Fuhler и соавт. также не было найдено каких-либо морфологических различий между CD138⁺ и CD138⁻ клетками, хотя и отмечено, что CD138⁻ клетки меньше по размеру [16]. Флуоресцентная микроскопия показала снижение мембранного CD138 в этих клетках, хотя внутри клеток присутствовало небольшое количество этого белка.

Таким образом, существование и жизнеспособность популяции плазматических клеток, не экспрессирующих CD138, в настоящее время не вызывают сомнений, хотя при анализе популяций плазмочитов необходимо учитывать быструю потерю клетками экспрессии CD138 при неблагоприятных условиях выделения и хранения образцов.

Появление клонов плазматических клеток, не экспрессирующих CD138, возможно, является следствием контакта CD138⁺ клеток с микроокружением. Об этом свидетельствуют данные работы S. Yaccoby [3]. В этой работе полученные от больных ММ клетки миеломы с фенотипом CD45^{low}CD38^{high}CD138^{high} ко-культивировали с остеокластами. В результате клетки миеломы начинали экспрессировать B-клеточный маркер CD19, как правило, отсутствующий в плазмочитах миеломы, и CD34, общий маркер стволовых гемопоэтических клеток. Экспрессия CD45 сдвигалась в сторону повышения, а также появлялись субклоны клеток с потерей экспрессии CD38 и CD138.

Полученные в результате ко-культивирования с остеокластами клетки миеломы с измененным иммунофенотипом обладали признаками стволовых клеток: у них была повышена выживаемость по сравнению с исходными клетками, и кроме того, они обладали устойчивостью к действию дексаметазона. Все эти свойства измененные клетки сохраняли и при дальнейшем их культивировании в отсутствие остеокластов.

Аналогичные данные получены в работе G.M. Fuhler и соавт. при ко-культивировании клеточных линий ММ со стромальными клетками костного мозга [16]. В этой работе линии клеток ММ RPM1 8226 и U-266 ко-культивировали как с культурами остеобластных MG63 или стромальных клеток HS-5, так и с мезенхимальными клетками стромы, полученными либо от здоровых доноров, либо от больных ММ. Во всех случаях ко-культивирования процент CD138⁻ клеток повышался, при этом стромальные клетки больных ММ оказывали более выраженный эффект, чем стромальные клетки здоровых доноров.

Появление клонов плазматических клеток, не экспрессирующих CD138, продемонстрировано также и в условиях *in vivo*. Так, в работе N. Nosen были получены данные, свидетельствующие о том, что при трансплантации мышам CD138⁺⁺ клеток ММ в экспериментальной модели SCID-rag в дальнейшем появляются клоны не экспрессирующих CD138 клеток ММ, что также указывало на возможность обратимости экспрессии CD138 [24].

Данные этих работ указывают на то, что зрелые плазматические клетки миеломы обладают пластичностью и в определенных условиях способны к «перепрограммированию», в результате которого могут возникать популяции клеток, сходные по своим характеристикам со стволовыми опухолевыми клетками.

Рецептор факторов роста эндотелия сосудов VEGFR3 – новый маркер, различающий популяции CD138⁺ и CD138⁻ плазмоцитов

Мы обнаружили еще один довольно неожиданный маркер, позволяющий различать популяции миеломных клеток, экспрессирующих и не экспрессирующих CD138. Это один из рецепторов факторов роста эндотелия сосудов – VEGFR3. Из данных литературы известно, что VEGFR3 интенсивно экспрессируется на поверхности миеломных клеток [25]. В нашей работе при исследовании экспрессии мРНК факторов роста эндотелия сосудов (VEGF) и их рецепторов (VEGFR) в аспиратах костного мозга 33 больных ММ была выявлена группа пациентов, у которых отсутствовала экспрессия VEGFR3 и, соответственно, ко-экспрессия мРНК этого рецептора и взаимодействующих с ним факторов роста VEGF-C, VEGF-D [26]. У этих больных оказался повышен плазмоцитоз ($66,84 \pm 23,05$ % по сравнению с $37,05 \pm 11,88$ % в группе пациентов с ко-экспрессией этих генов; $p < 0,05$), а выживаемость оказалась хуже, чем у больных с высоким уровнем ко-экспрессии этих генов (рис. 2) [27]. Эти данные дают возможность предположить, что экспрессия VEGFR3 может служить прогностическим фактором для больных ММ.

Для того чтобы более детально охарактеризовать плазматические клетки миеломы, различающиеся по экспрессии VEGFR3, мы исследовали экспрессию VEGFR3 и ряда других маркеров плазматических клеток с помощью проточной цитометрии у 23 больных ММ. Оказалось, что экспрессия VEGFR3 в плазматических клетках миеломы коррелирует с экспрессией CD138. Популяции CD138⁺ и CD138⁻ плазматических клеток миеломы существенно не различались ни по одному из исследованных маркеров (CD19, CD45, CD56, CD3), кроме VEGFR3 (рис. 3). В популяции CD138⁺ плазмоцитов средний уровень экспрессии VEGFR3 составлял 83 %, а в 15 из 23 случаев доходил до 93–99 %, тогда как в популяции CD138⁻ плазмоцитов экспрессия VEGFR3 отсутствовала [28]. Плазматические CD138⁻ клетки во всех исследованных случаях имели фенотип VEGFR3⁻. Таким образом, отсутствие экспрессии VEGFR3 в плазматических клетках больных ММ может указывать на снижение уровня экспрессии CD138 и появление субпопуляции CD138⁻ клеток.

Низкий уровень экспрессии CD138 у больных ММ, так же как и отсутствие экспрессии VEGFR3 в нашей работе, по-видимому, может служить неблагоприятным фактором прогноза при ММ. В уже упоминавшейся работе Y. Kawano и соавт. сравнивались группы

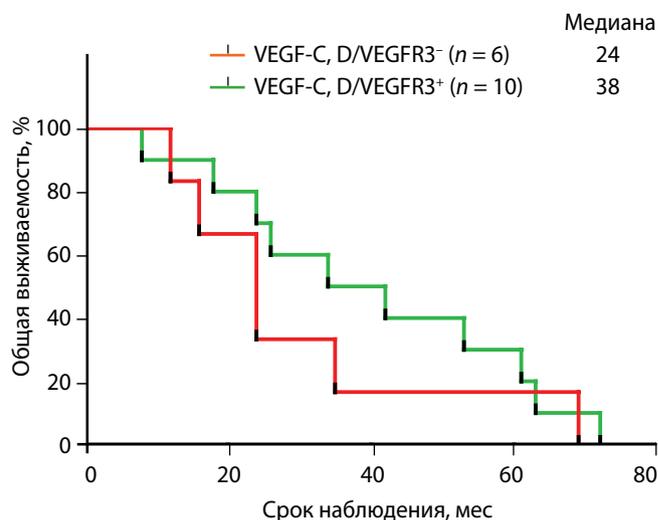


Рис. 2. Выживаемость групп больных ММ, различающихся по ко-экспрессии VEGFR3/VEGF-C, VEGF-D

больных ММ с высоким (> 20 %) и низким содержанием популяции CD138⁻ плазмоцитов [19]. У пациентов с рецидивами и больных, находящихся на прогрессирующей стадии заболевания, количество CD138⁻ плазмоцитов было статистически достоверно выше, чем у первично диагностируемых больных. Общая выживаемость вновь диагностируемых больных ММ с пониженной экспрессией CD138 была достоверно хуже, чем у пациентов с CD138⁺.

Данные о выживаемости больных ММ, полученные в нашей работе, в сущности, согласуются с результатами Y. Kawano и соавт., поскольку, как показал цитофлуориметрический анализ, экспрессия VEGFR3, как правило, была очень высокой в миеломных клетках CD138⁺, но при этом отсутствовала в популяции CD138⁻. И следовательно, потеря клетками миеломы экспрессии VEGFR3, как и потеря экспрессии CD138, может служить неблагоприятным прогностическим фактором при ММ [29].

Возможная роль CD138 (синдекана-1) в развитии множественной миеломы

Молекулярные механизмы, которые могли бы объяснить взаимосвязь между экспрессией CD138 (синдекана-1) на миеломных плазматических клетках и выживаемостью больных ММ, неизвестны. Высказывается несколько гипотез, основанных на биологических характеристиках этого белка.

CD138 (синдекан-1) относится к семейству синдеканов, являющихся трансмембранными протеогликанами. Синдеканы регулируют взаимодействие клеток с внеклеточным матриксом, участвуют в межклеточной адгезии и присоединении гепарин-связывающих факторов роста. В частности, продемонстрировано, что синдекан-1 принимает непосредственное участие в формировании межклеточных контактов [30], а также препятствует инвазии клеток в коллаген [31, 32]. В связи с этим авторы предполагают, что потеря экс-

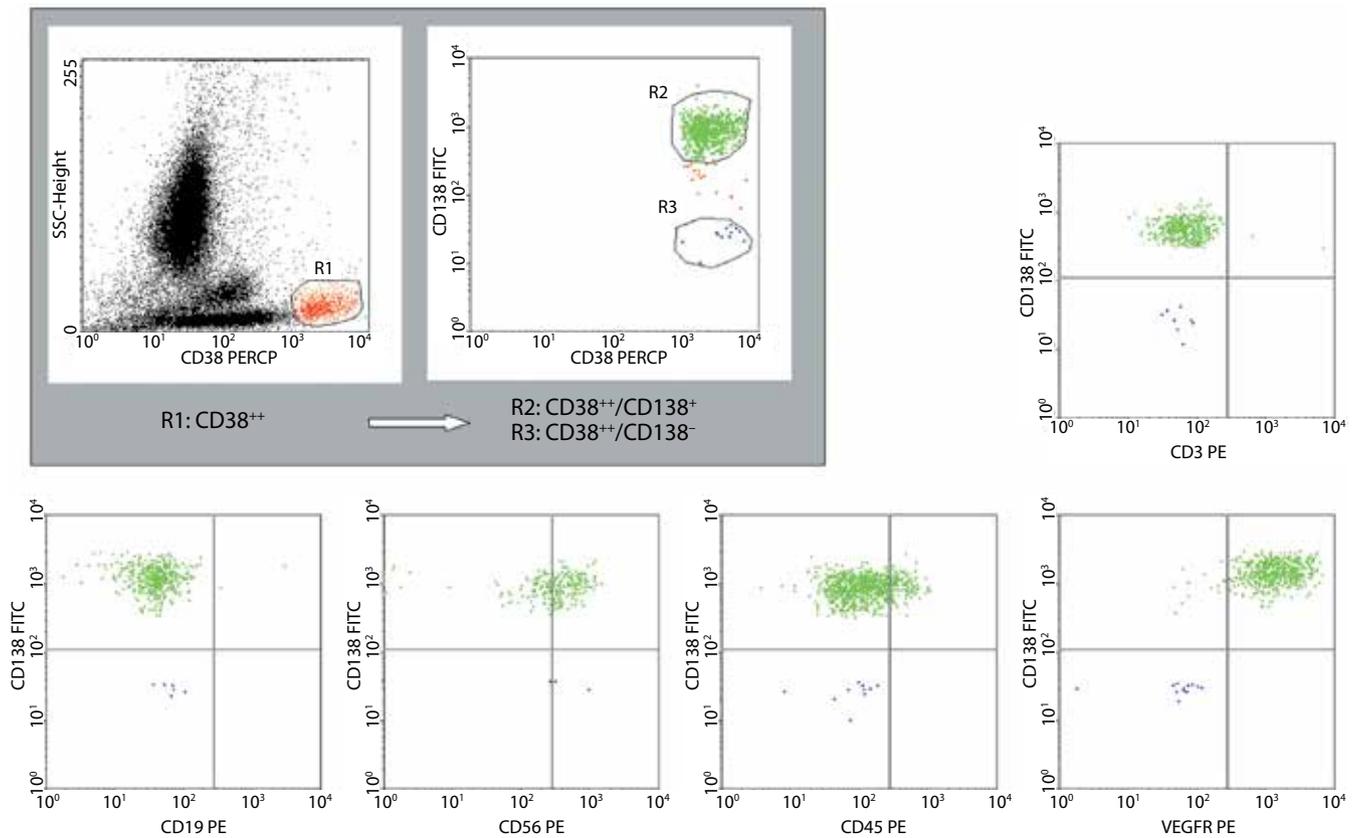


Рис. 3. Проточно-цитометрический анализ экспрессии маркеров плазматических клеток ММ. На врезке: схема гейтирования плазматических клеток больных ММ при анализе $CD138^+$ (R2) и $CD138^-$ (R3) популяций плазмоцитов. CD3, маркер T-лимфоцитов, – отрицательный контроль

прессии синдекана-1 в плазмочитах может способствовать диссеминированию и инвазии плазматических клеток миеломы. Кроме того, поскольку синдекан-1 участвует в присоединении к клеткам гепарин-связывающих факторов роста, отсутствие этой молекулы на мембране клеток может снижать их чувствительность к регулируемому действию соответствующих цитокинов.

Известно, что внеклеточный домен экспрессируемого на поверхности плазмоцитов синдекана-1 может быть утерян в результате протеолитического высвобождения, или «слущивания» (shedding) [33]. При этом эктодомен попадает во внеклеточную среду в условиях *in vitro* или циркулирует в сыворотке крови.

Влияние такого «высвобожденного» синдекана-1 на размножение клеток миеломы *in vitro* было исследовано M. V. Dhodapkar и соавт. [33]. В этой работе добавление очищенного внеклеточного домена синдекана-1 в культуральную среду клеток миеломы ARH-77, не экспрессирующих синдекан-1, значительно подавляло их размножение. Внеклеточный домен синдекана-1 при добавлении в культуральную среду клеток миеломы, как экспрессирующих (ARH-77), так и не экспрессирующих (agr) синдекан-1, индуцировал их апоптоз и подавлял переход из G1-фазы в S-фазу клеточного цикла. При прививке иммунодефицитным мышам SCID клеток ARH-77, трансфицированных синдеканом-1, развитие связанных с миеломой признаков заболева-

емости происходило в более поздние сроки и было менее выраженным, чем у контрольных мышей, которым были привиты нативные клетки ARH-77. Все данные, полученные в этой работе, указывали на то, что экспрессия клетками миеломы синдекана-1 может оказывать сдерживающий эффект на развитие заболевания.

Напротив, потеря внеклеточного домена синдекана-1 в результате «слущивания», так же как и отсутствие экспрессии этого протеогликана, может приводить к снижению адгезионных свойств клеток миеломы и оказывать неблагоприятное воздействие на развитие ММ. Так, С. Seidel и соавт. установили, что содержание «слущенного» синдекана-1 в сыворотке крови больных ММ может служить независимым прогностическим фактором [34]. Выживаемость больных с высоким содержанием синдекана-1 в сыворотке крови достоверно ниже, чем в группе больных с низким содержанием этого белка (медианы выживаемости составили 20 и 44 мес соответственно). Авторы отмечают намного более высокий уровень синдекана-1 в сыворотке крови больных ММ по сравнению со здоровыми донорами (медианы составили, 643 и 128 ед/мл соответственно; $p < 0,0001$).

Таким образом, в популяции клеток ММ содержатся как плазмоциты, экспрессирующие CD138, так и не экспрессирующие этот специфический для плазматических клеток маркер. Доля популяции $CD138^-$ плазмоцитов у разных больных ММ может колебаться

в довольно широких пределах. Эти клетки обладают более высоким по сравнению с экспрессирующими CD138 плазмочитами пролиферативным потенциалом и более устойчивы к действию лекарственных препаратов. Характерные особенности CD138⁻ плазмочитов во многом соответствуют свойствам, которые должны быть присущи стволовым опухолевым клеткам. И в то же время эта популяция, как правило, не учитывается при анализе плазматических клеток миеломы, что мо-

жет в значительной степени отражаться как на прогнозе развития заболевания, так и на выборе схемы лечения.

Принимая во внимание приведенные в обзоре данные, в том числе о корреляции между сниженным уровнем экспрессии CD138 и неблагоприятным прогнозом, учет популяции не экспрессирующих CD138 плазмочитов при анализе опухолевых клеток у больных ММ представляется совершенно необходимым.

Автор выражает искреннюю благодарность проф. Н.Н. Тупицыну и к.б.н. М.Н. Костюковой за внимательное прочтение статьи и высказанные ценные замечания.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Terstappen L.W., Johnsen S., Segers-Nolten I.M., Loken M.R. Identification and characterization of plasma cells in normal human bone marrow by high-resolution flow cytometry. *Blood* 1990;76(9):1739–47.
2. Вотякова О.М., Демина Е.А. Множественная миелома. В кн.: Клиническая онкогематология. Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2007. С. 847–73. [Votyakova O.M., Demina E.A. Multiple myeloma. In: Clinical oncohematology. Ed. by M.A. Volkova. Moscow: Meditsina, 2007. Pp. 847–73. (In Russ.)].
3. Yaccoby S. The phenotypic plasticity of myeloma plasma cells as expressed by dedifferentiation into an immature, resilient, and apoptosis-resistant phenotype. *Clin Cancer Res* 2005;11(21):7599–606.
4. Jego G., Bataille R., Pellat-Deceunynck C. Interleukin-6 is a growth factor for nonmalignant human plasmablasts. *Blood* 2001;97(6):1817–22.
5. Bataille R., Jého G., Robillard N. et al. The phenotype of normal, reactive and malignant plasma cells. Identification of “many and multiple myelomas” and of new targets for myeloma therapy. *Haematologica* 2006;91(9):1234–40.
6. Harada H., Kawano M.M., Huang N. et al. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma. *Blood* 1993;81(10):2658–63.
7. Kawano M., Huang N., Harada H. et al. Identification of immature and mature myeloma cells in the bone marrow of human myelomas. *Blood* 1993;82(2):564–70.
8. van Camp B., Durie B.G.M., Spier C. et al. Plasma cells in multiple myeloma express a natural killer cell-associated antigen: CD56 (NKH-1; Leu-19). *Blood* 1990;76(2):377–82.
9. Pellat-Deceunynck C., Bataille R., Robillard N. et al. Expression of CD28 and CD40 in human myeloma cells: a comparative study with normal plasma cells. *Blood* 1994;84(8):2597–603.
10. Pellat-Deceunynck C., Barille S., Puthier D. et al. Adhesion molecules on human myeloma cells: Significant changes in expression related to malignancy, tumor spreading, and immortalization. *Cancer Res* 1995;55(16):3647–53.
11. Robillard N., Pellat-Deceunynck C., Bataille R. Phenotypic characterization of the human myeloma cell growth fraction. *Blood* 2005;105(12):4845–8.
12. Moreau P., Robillard N., Avet-Loiseau H. et al. Patients with CD45 negative multiple myeloma receiving high-dose therapy have a shorter survival than those with CD45 positive multiple myeloma. *Haematologica* 2004;89(5):547–51.
13. Cruz R.D., Tricot G., Zangari M., Zhan F. Progress in myeloma stem cells. *Am J Blood Res* 2011;1(3):135–45.
14. Matsui W., Huff C.A., Wang Q. et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood* 2004;103(6):2332–6.
15. Reghunathan R., Bi C., Liu S.C. et al. Clonogenic multiple myeloma cells have shared stemness signature associated with patient survival. *Oncotarget* 2013;4(8):1230–40.
16. Fuhler G.M., Baanstra M., Chesik D. et al. Bone marrow stromal cell interaction reduces syndecan-1 expression and induces kinomic changes in myeloma cells. *Exp Cell Res* 2010;316(11):1816–28.
17. Zlei M., Egert S., Wider D. et al. Characterization of in vitro growth of multiple myeloma cells. *Exp Hematol* 2007;35(10):1550–61.
18. Matsui W., Wang Q., Barber J.P. et al. Clonogenic multiple myeloma progenitors, stem cell properties, and drug resistance. *Cancer Res* 2008;68(1):190–7.
19. Kawano Y., Fujiwara S., Wada N. et al. Multiple myeloma cells expressing low levels of CD138 have an immature phenotype and reduced sensitivity to lenalidomide. *Int J Oncol* 2012;41(3):876–84.
20. Jourdan M., Ferlin M., Legouffe E. et al. The myeloma cell antigen syndecan-1 is lost by apoptotic myeloma cells. *Br J Haematol* 1998;100(4):637–46.
21. Christensen J.H., Jensen P.V., Kristensen I.B. et al. Characterization of potential CD138 negative myeloma “stem cells”. *Haematologica* 2012;97(6):e18–20.
22. Reid S., Yang S., Brown R. et al. Characterisation and relevance of CD138-negative plasma cells in plasma cell myeloma. *Int J Lab Hematol* 2010;32(6 Pt 1):e190–6.
23. Bayer-Garner I.B., Sanderson R.D., Dhodapkar M.V. et al. Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma: Shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions. *Mod Pathol* 2001;14(10):1052–8.
24. Hosen N. Multiple myeloma-initiating cells. *Int J Hematol* 2013;97(3):306–12.
25. Vacca A., Ria R., Ribatti D. et al. A paracrine loop in the vascular endothelial growth factor pathway triggers tumor angiogenesis and growth in multiple myeloma. *Haematologica* 2003;88(2):176–85.
26. Буравцова И.В., Калитин Н.Н., Саблина Ю.А. и др. Экспрессия мРНК генов факторов роста семейства VEGF и их рецепторов у больных множественной миеломой: сопоставление с цитологическими характеристиками костного мозга. Российский биотерапевтический журнал 2009;8(4):17–24. [Buravtsova I.V., Kalitin N.N., Sablina Yu.A. et al. Vascular endothelial growth factors and their receptors gene expression in multiple myeloma patients: comparison with the bone marrow cytological characteristics. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal* 2009;8(4):17–24. (In Russ.)].
27. Buravtsova I.V., Kalitin N.N., Karamysheva A.F., Golenkov A.K. Survival of multiple myeloma patients is different

in groups with various intensities of vascular endothelial growth factors(VEGFs) and their receptors (VEGFRs) mRNA co-expression. 36th EORTC-PAMM Winter Meeting, 21–24 January, 2015, Marseille, France. P. 106.

28. Kostjukova M.N., Karamysheva A.F. CD138+ and CD138– multiple myeloma cells demonstrate different membrane expression of interleukin-6 receptor(CD126) and vascular endothelial growth factor receptor 3 (VEGFR3). Иммунология гемопоза = Haematopoiesis Immunology 2014;12(1–2):96.

29. Буравцова И.В., Костюкова М.Н., Калигин Н.Н. и др. Экспрессия маркера плазматических клеток CD138 и рецептора факторов роста эндотелия сосудов

VEGFR3 у больных множественной миеломой: корреляция с прогнозом. Иммунология гемопоза 2015;13(1):120. [Buravtsova I.V., Kostyukova M.N., Kalitin N.N. et al. Expression of the marker of plasma cells CD138 and vascular endothelial growth factor receptor VEGFR3 in patients with multiple myeloma: correlation with prognosis. Immunologiya gemopoeza = Haematopoiesis Immunology 2015;13(1):120. (In Russ.)].

30. Stanley M.J., Leibersbach B.F., Liu W. et al. Heparan sulfate-mediated cell aggregation. Syndecans-1 and -4 mediate intercellular adhesion following their transfection into human B lymphoid cells. J Biol Chem 1995;270(10):5077–83.

31. Ridley R.C., Xiao H., Hata H. et al. Expression of syndecan regulates human myeloma plasma cell adhesion to type I collagen. Blood 1993;81(3):767–74.

32. Liebersbach B.F., Sanderson R.D. Expression of syndecan-1 inhibits cell invasion into type-I collagen. J Biol Chem 1994;269(31):20013–9.

33. Dhodapkar M.V., Abe E., Theus A. et al. Syndecan-1 is a multifunctional regulator of myeloma pathobiology; control of tumor survival, growth, and bone cell differentiation. Blood 1998;91(8):2679–88.

34. Seidel C., Sundan A., Hjorth M. et al. Serum syndecan-1: a new independent prognostic marker in multiple myeloma. Blood 2000;95(2):388–92.