

АССОЦИИИ ПОЛИМОРФИЗМА В ГЕНАХ ЦИТОКИНОВ С РИСКОМ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО У МУЖЧИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КУРЕНИЯ

© Л.А. Гордеева¹, С.А. Мун¹, Е.Н. Воронина², Е.Г. Поленок¹, А.Д. Магатина^{1,3}, В.А. Титов¹, С.Е. Рагожина⁵, И.А. Вафин⁵, Е.Л. Романова⁶, А.Н. Глушков¹

¹Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово;

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск;

³Кемеровская областная клиническая больница Медико-генетическая консультация, Кемерово;

⁴Кемеровский областной клинический онкологический диспансер, Кемерово;

⁵Кемеровский областной центр крови, Кемерово;

⁶Кемеровский государственный университет, Кемерово

Для цитирования: Гордеева Л.А., Мун С.А., Воронина Е.Н., и др. Ассоциации полиморфизма в генах цитокинов с риском плоскоклеточного рака легкого у мужчин в зависимости от длительности курения // Экологическая генетика. — 2018. — Т. 16. — № 1. — С. 60–69. doi: 10.17816/ecogen16160-69.

Поступила в редакцию: 16.02.2018

Принята в печать: 16.03.2018

✿ Изучали влияние полиморфных локусов *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629), *IL6* (rs1800795) и *IL10* (rs1800896) на риск развития плоскоклеточного рака легкого (ПРЛ) у мужчин в зависимости от длительности курения. Исследование показало, что возраст, длительность курения и количество выкуриваемых сигарет в день ($p < 0,0001$) являются основными факторами риска возникновения ПРЛ у мужчин. При стаже курения менее 35 лет обнаружен дополнительный фактор риска ПРЛ — аллель-174G гена *IL6* (OR = 1,68; 95 % CI: 1,12–2,51; $p_{\text{cor}} = 0,04$). Ассоциации локусов *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629) и *IL10* (rs1800896) с риском ПРЛ не выявлены. Таким образом, длительность курения и полиморфизм гена *IL6* (rs1800795) могут влиять на чувствительность к ПРЛ у мужчин.

✿ **Ключевые слова:** курение; плоскоклеточный рак легкого; гены цитокинов.

ASSOCIATION BETWEEN CYTOKINE GENE POLYMORPHISMS AND SQUAMOUS CELL LUNG CANCER DEPENDING ON THE DURATION OF SMOKING IN MEN

© L.A. Gordeeva¹, S.A. Mun¹, E.N. Voronina², E.G. Polenok¹, A.D. Magatina^{1,3}, V.A. Titov⁴, S.E. Ragozhina⁵, I.A. Vafin⁵, E.L. Romanova⁶, A.N. Glushkov¹

¹Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia;

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia;

³Regional Clinical Hospital, Genetic Consultation, Kemerovo, Russia;

⁴Regional Clinical Oncological Hospital, Kemerovo, Russia;

⁵Kemerovo Regional Blood Centre, Kemerovo, Russia;

⁶Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

For citation: Gordeeva LA, Mun SA, Voronina EN, et al. Association between cytokine gene polymorphisms and squamous cell lung cancer depending on the duration of smoking in men. *Ecological genetics*. 2018;16(1):60-69. doi: 10.17816/ecogen16160-69.

Received: 16.02.2018

Accepted: 16.03.2018

✿ **Background.** Squamous cell lung cancer (SCLC) is the most common form of lung cancer among men smokers. Mediators and products of inflammation can contribute to the initiation of carcinogenesis in smokers. The aim of study is to investigate the association between *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629), *IL6* (rs1800795), *IL10* (rs1800896) genes and SCLC depending on the duration of smoking in men. **Materials and methods.** We studied 324 patients with SCLC and 168 healthy

men smokers. The typing of the *IL1RN* (rs2234663) gene polymorphism has analyzed by polymerase chain reaction (PCR). Detection of the *IL1B* (rs1143634) and *IL6* (rs1800795) polymorphisms have performed by restriction fragment length analysis, as a restriction enzyme *TaqI* was used. The *IL1B* (rs16944), *TNFA* (rs1800629) and *IL10* (rs1800896) genes polymorphisms have determined through *TaqMan*-real-time PCR. **Results.** The study showed, the age, duration of smoking and the number of cigarettes smoked per day were the main risk factors for SCLC in men ($p < 0.0001$). The *IL6* -174G allele was detected an additional risk factor of SCLC at a smoking duration of less than 35 years (OR = 1.68; 95 % CI: 1.12-2.51; $p_{\text{cor}} = 0.04$). No association of *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629), and *IL10* (rs1800896) genes with the risk of SCLC in men was identified. **Conclusion.** The duration of smoking and rs1800795 *IL6* gene polymorphism may influence on the susceptibility to SCLC in men. Our results can be useful in understanding the molecular mechanisms of development of SCLC.

✿ **Keywords:** smoking; squamous cell lung cancer; cytokine genes.

ВВЕДЕНИЕ

Плоскоклеточный рак легкого (ПРЛ) составляет 40–50 % случаев бронхогенного рака, его возникновение преимущественно связано с курением [1]. Весьма актуальна проблема рака легкого на территории Сибири и Дальнего Востока в связи с высокой заболеваемостью, особенно среди мужчин [2].

Активация клеток респираторного тракта продуктами табачного дыма приводит к запуску каскада воспаления, которое, как правило, предшествует появлению опухолевого процесса в ткани, то есть, иными словами, возникает ситуация предрака, ассоциированного с воспалением [3, 4]. Продукция специфических ростовых факторов — цитокинов — неотъемлемый компонент в процессе формирования предрака, как и механизма ангиогенеза, обеспечивающего дыхание, питание опухолевых клеток и удаление продуктов их жизнедеятельности [4]. Отсутствие адекватного иммунного ответа на опухоль связано с дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов, продуцируемых инфильтрующими ее лимфоцитами [5].

Известно, что межиндивидуальные различия цитокинового профиля зависят от полиморфизма регуляторных регионов их генов. Установлено, что отдельные аллели генов цитокинов могут влиять на скорость транскрипции, стабильность или качество мРНК, а также активность белковых продуктов их экспрессии [3, 6]. Это послужило основанием для изучения влияния полиморфизма в генах про- и противовоспалительных цитокинов на развитие ПРЛ у курящих мужчин.

Целью настоящей работы явилось изучение ассоциации полиморфных локусов rs1143634 и rs16944 в гене *IL1B*, rs2234663 в гене *IL1RN*, rs1800629 в гене *TNFA*, rs1800795 в гене *IL6* и rs1800896 в гене *IL10* с риском ПРЛ у мужчин в зависимости от длительности курения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выборка. Исследованы образцы ДНК 492 мужчин в возрасте старше 40 лет, живущих в Кузбассе и принадлежащих к русской этнической группе. Все обследуемые лица дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование проводилось с соблюдением условий конфиденциальности и одобрено местным этическим комитетом (протокол № 3 от 8.02.2017).

В исследуемую группу (больные ПРЛ) вошли 324 курящих мужчины с ПРЛ, которые поступили на лечение в Кемеровский областной клинический онкологический диспансер. Диагноз первичного ПРЛ в каждом случае был подтвержден морфологически, рентгенологически и эндоскопически. Гистологическая форма плоскоклеточного рака легкого была установлена в соответствии с Международной классификацией болезней для онкологии (8050–8076). Сопутствующее хроническое воспаление локального и системного характера имели 277 мужчин (85,5 %), 126 (45,5 %) из них имели пульмонологическую патологию (хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), хронический бронхит), 63 (22,7 %) — сердечно-сосудистую патологию (ишемическая болезнь сердца, гипертония, атеросклероз и др.) и 88 (31,8 %) — сочетанную пульмонологическую и сердечно-сосудистую патологию; у 47 мужчин (14,5 %) сопутствующая патология отсутствовала.

Группу сравнения (контроль) составили 168 условно здоровых курящих мужчин, большая часть которых — 106 (63,1 %) — была донорами Областного центра крови г. Кемерова, 62 (36,9 %) были жителями Крапивинского района (экологически благоприятный район Кузбасса [7]). Хронические заболевания имели 70 (41,6 %) мужчин, из них 34 (48,5 %) — органов дыхания и сердечно-сосудистой системы.

Генотипирование. ДНК из лимфоцитов периферической крови выделяли с помощью метода фенол-хлороформной экстракции с последующим осаждением этанолом. Образцы ДНК хранили при -20°C .

В работе исследовали однонуклеотидные замены (SNP) в генах *IL1B* +3953C>T (rs1143634), *IL1B* -511T>C (rs16944), *TNFA* -308G>A (rs1800629), *IL6* -174G>C (rs1800795) и *IL10* -1082A>G (rs1800896), а также мини-сателлитный маркер во 2-м интроне гена *IL1RN* (rs2234663), характеризующийся различным числом tandemных повторов (VNTR86bp). Тест-системы для молекулярно-генетического анализа данных полиморфных локусов генов цитокинов были разработаны в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск).

Генотипирование локусов *IL1B* (rs16944), *TNFA* (rs1800629) и *IL10* (rs1800896) проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реаль-

ного времени (Real Time) с использованием конкурирующих TaqMap-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Амплификацию осуществляли с помощью термоциклера CFX-96 (Bio-Rad, США). Детальное описание методик типирования приведено в работах Л.А. Гордеевой и др. [8, 9].

Полиморфные варианты генов *IL1B* (rs1143634) и *IL6* (rs1800795) типировали с помощью сайт-специфической рестрикции ферментом TaqI (НПО «СибЭнзим», Россия) продуктов ПЦР с последующей детекцией в электрофореze [10]. Полиморфизм гена *IL1RN* (rs2234663) детектировали путем электрофоретического разделения продуктов амплификации [10]. VNTR аллели в гене *IL1RN* обозначали следующим образом: аллель *IL1RN*1* содержал четыре tandemных повтора по 86 н. п.; аллель *IL1RN*2* — два tandemных повтора; аллель *IL1RN*3* — пять tandemных повторов; аллель *IL1RN*4* — три tandemных повтора. Амплификацию проводили с помощью термоциклера «Терцик» (НПФ «ДНК-Технология», Россия).

Статистическая обработка данных. Статистический анализ полученных результатов осуществляли с помощью пакета статистических программ Statistica for Windows v. 8.0 (StatSoft, Inc.) и GenABEL, Genetics программного обеспечения R-project (www.r-project.org).

Соответствие частот генотипов изучаемых генов цитокинов равновесию Харди — Вайнберга (HWE) оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. В этом случае и при использовании других критериев нулевую гипотезу отвергали при $p\text{-value} \leq 0,05$. Для определения прогностической значимости фактора стажа курения в развитии ПРЛ использовали ROC (Receiver Operator Characteristic) — анализ с построением ROC-кривой [11]. Отношение шансов (odds ratio, OR) и его доверительный интервал (95 % CI) оценивали с помощью логистического регрессионного анализа (функция glm программы R). В качестве базовой модели исследовали аддитивную модель наследования признака, при которой гомозигота по аллелю риска была закодирована как «2», гетерозигота — как «1», а гомозигота по референсному аллелю — как «0».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для анализа ассоциаций с риском ПРЛ были выбраны шесть полиморфных локусов в генах *IL1B*, *IL1RN*, *TNFA*, *IL6* и *IL10* согласно данным литературы об их функциональной значимости (ассоциация с продукцией цитокина, влияние на уровень экспрессии гена и т. д., табл. 1).

Изучали влияние следующих факторов на риск развития ПРЛ: возраст, длительность и интенсивность курения, полиморфизм в генах цитокинов (табл. 2).

Таблица 1

Функциональная значимость полиморфных локусов генов цитокинов

Table 1

Functional significance of cytokine genes polymorphic loci

Полиморфные локусы	Функциональный эффект
rs1143634 (+3953C>T) в экзоне 5 гена <i>IL1B</i> , хромосома 2(q13)	Повышенный уровень продукции белка IL-1 β [6]
rs16944 (-511T>C) в регуляторном регионе гена <i>IL1B</i> , хромосома 2(q14)	Регуляция экспрессии гена и индукции белка IL-1 β [12]
rs2234663 VNTR86bp в интроне 2 гена <i>IL1RN</i> , хромосома 2(q14.2)	Повышенный уровень экспрессии мРНК и продукции белка IL-1-Ra и IL-1 β [6]
rs1800629 (-308G>A) в регуляторном регионе гена <i>TNFA</i> , хромосома 6(p21.3)	Повышенный уровень экспрессии гена и продукции белка TNF- α [13]
rs1800795 (-174G>C) в регуляторном регионе гена <i>IL6</i> , хромосома 7(p21-14)	Повышенная транскрипционная активность гена [14]
rs1800896 (-1082A>G) в регуляторном регионе гена <i>IL10</i> , хромосома 1(q31-32)	Повышенный уровень транскрипционной активности гена и продукции белка IL-10 [14]

Таблица 2

Влияние возраста, длительности и интенсивности курения, полиморфных локусов генов цитокинов на развитие плоскоклеточного рака легкого у мужчин

Table 2

Influence of age, duration and intensity of smoking, cytokine genes polymorphisms on the development of squamous cell lung cancer in men

Фактор	Плоскоклеточный рак легкого ($n = 324$)	Контроль ($n = 168$)	$p\text{-value}$
Возраст (лет): Mean $\pm$ SD Me LQ-UQ	57,5 $\pm$ 4,5 58,0 55,0—61,0	52,7 $\pm$ 7,7 52,0 49,0—57,0	< 0,0001

Окончание табл. 2 (Table 2 (continued))

Фактор	Плоскоклеточный рак легкого ($n = 324$)	Контроль ($n = 168$)	p -value
Длительность курения (лет): Mean $\pm$ SD Me LQ-UQ	37,6 $\pm$ 8,6 40,0 32,0–43,0	25,7 $\pm$ 11,2 25,0 20,0–32,0	< 0,0001
Количество выкуриваемых сигарет в день: Mean $\pm$ SD Me ≤ 1 пачки >1– ≤ 2 пачек >2 пачек нет информации	21,9 $\pm$ 9,4 20 186 (57,4 %) 54 (16,6 %) 4 (1,3 %) 80 (24,7 %)	16,4 $\pm$ 7,4 15 130 (77,4 %) 9 (5,4 %) 2 (1,1 %) 27 (16,1 %)	< 0,0001
+3953C>T <i>IL1B</i> (rs1143634) CC CT TT аллель риска T	191 (0,591) 119 (0,366) 14 (0,043) 147 (0,226)	97 (0,554) 64 (0,366) 14 (0,080) 92 (0,274)	0,31
-511T>C <i>IL1B</i> (rs16944) CC CT TT аллель риска T	135 (0,419) 146 (0,453) 41 (0,127) 228 (0,351)	83 (0,474) 72 (0,411) 20 (0,114) 112 (0,333)	0,34
<i>IL1RN</i> (rs2234663) *1/*1 *1/*2 *2/*2 *1/*3+*2/*3+*4/*4+*4/*3 аллель риска *2	145 (0,460) 126 (0,400) 30 (0,095) 14 (0,045) 190 (0,292)	91 (0,520) 60 (0,343) 17 (0,097) 7 (0,040) 95 (0,283)	0,39
-174G>C <i>IL6</i> (rs1800795) CC GC GG аллель риска G	62 (0,192) 165 (0,511) 96 (0,297) 357 (0,549)	35 (0,200) 92 (0,526) 48 (0,274) 188 (0,559)	0,54
-308G>A <i>TNFA</i> (rs1800629) GG GA AA аллель риска A	259 (0,800) 64 (0,197) 1 (0,003) 66 (0,101)	134 (0,766) 39 (0,223) 2 (0,011) 43 (0,137)	0,26
-1082A>G <i>IL10</i> (rs1800896) AA GA GG аллель риска G	115 (0,354) 145 (0,449) 64 (0,197) 274 (0,421)	46 (0,263) 92 (0,526) 37 (0,211) 166 (0,494)	0,11
Примечание: Mean $\pm$ SD — среднее значение $\pm$ стандартное отклонение; Me — медиана; LQ — нижний квартиль; UQ — верхний квартиль			

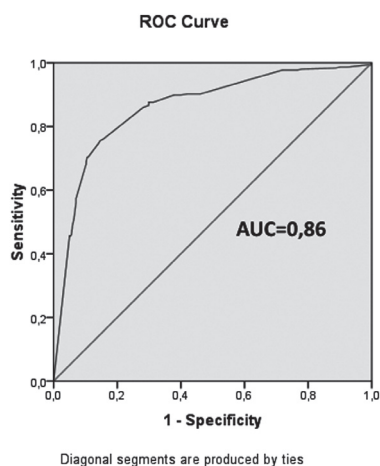


Рис. 1. ROC-кривая для параметра «длительность курения» и уровни чувствительности (Sensitivity) и специфичности (Specificity) теста

Fig. 1. ROC-curve for the parameter duration of smoking and the test levels of sensitivity and specificity

Выявлены значимые отличия между группами мужчин с ПРЛ и в контроле по возрасту, длительности курения и количеству выкуриваемых сигарет в день. Распределение частот генотипов для полиморфных локусов *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629) и *IL10* (rs1800896) у мужчин с ПРЛ и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди – Вайнберга (данные не показаны, $p > 0,05$). Распределение частот аллелей и генотипов изучаемых генов в двух группах было сопоставимым.

Мы предположили, что на развитие ПРЛ у мужчин с разным стажем курения могут оказывать влияние полиморфные локусы изучаемых генов цитокинов. С це-

лью определения порогового значения длительности курения, характерного только для больных ПРЛ мужчин, был проведен ROC-анализ (рис. 1).

На рис. 1 изображена ROC-кривая, координаты которой представляют значения анализируемого параметра и уровни чувствительности и специфичности теста [11]. Исходя из требований оптимального баланса чувствительности и специфичности, величина порога отсечения (точка cut off) для данного объема выборки составляла 35 лет курения при значении площади под кривой (AUC — Area Under Curve) 0,86 (95 % CI: 0,83–0,89; $p = 0,001$). Чувствительность и специфичность теста были 72 и 77 % соответственно, то есть в анализируемой выборке при определении порога отсечения длительности курения 35 лет мы идентифицируем 72 % больных ПРЛ и 77 % здоровых мужчин. Построенная модель имеет хорошую предсказательную способность. Поэтому далее исследуемые группы были разделены на две подгруппы в зависимости от длительности курения — менее 35 лет и более 35 лет.

На следующем этапе оценивали влияние полиморфных локусов генов цитокинов на риск развития ПРЛ в этих подгруппах. Адекватного сравнения при длительности курения более 35 лет провести не представилось возможным, поскольку количество мужчин в контрольной группе было значительно меньше ($n = 31$), чем в группе ПРЛ ($n = 212$). Анализ влияния полиморфных локусов на риск ПРЛ при длительности курения менее 35 лет показал, что для большинства локусов значимые ассоциации отсутствовали, кроме локуса rs1800795 гена *IL6*. Выявлена значимая ассоциация аллеля -174G гена *IL6* с риском ПРЛ у курильщиков со стажем менее 35 лет (табл. 3). Такой же результат получили при

Таблица 3

Ассоциации полиморфных локусов генов цитокинов с риском плоскоклеточного рака легкого при длительности курения менее 35 лет

Table 3

Association between cytokine genes polymorphisms and squamous cell lung cancer at a duration smoking of less than 35 years

Полиморфный локус	Плоскоклеточный рак легкого, n	Контроль, n	p -value*
+3953C>T <i>IL1B</i> (rs1143634)			
CC	72 (0,642)	76 (0,555)	0,08
CT	34 (0,304)	50 (0,365)	
TT	6 (0,054)	11 (0,080)	
аллель риска T	46 (0,205)	72 (0,263)	
-511T>C <i>IL1B</i> (rs16944)			
CC	44 (0,393)	65 (0,474)	0,18
CT	52 (0,464)	56 (0,409)	
TT	15 (0,134)	16 (0,117)	
аллель риска T	82 (0,369)	88 (0,321)	

Окончание табл. 3 (Table 3 (continued))

Полиморфный локус	Плоскоклеточный рак легкого, <i>n</i>	Контроль, <i>n</i>	<i>p</i> -value*
<i>IL1RN</i> (rs2234663) *1/*1 *1/*2 *2/*2 *1/*3+*2/*3+*4/*4+*4/*3 аллель риска *2	51 (0,477) 43 (0,402) 10 (0,093) 3 (0,028) 63 (0,294)	71 (0,518) 47 (0,343) 13 (0,095) 6 (0,044) 74 (0,270)	0,57
-174G>C <i>IL6</i> (rs1800795) CC GC GG аллель риска G	16 (0,145) 55 (0,495) 40 (0,360) 135 (0,608)	28 (0,205) 75 (0,547) 34 (0,248) 143 (0,522)	0,01# OR = 1,68 [1,12–2,51]**
-308G>A <i>TNFA</i> (rs1800629) GG GA AA аллель риска A	89 (79,5) 23 (20,5) 0 23 (0,103)	102 (74,5) 33 (0,241) 2 (0,014) 37 (0,135)	0,10
-1082A>G <i>IL10</i> (rs1800896) AA GA GG аллель риска G	34 (0,304) 49 (0,437) 29 (0,259) 107 (0,478)	40 (0,292) 66 (0,482) 31 (0,226) 128 (0,467)	0,80
Примечание: <i>n</i> — количество наблюдений; * <i>p</i> -value оценивали с учетом поправки на возраст; **OR — отношение шансов, в квадратных скобках его 95 % доверительный интервал; # <i>p</i> -value = 0,04 после коррекции по Бонферрони (количество статистических тестов равно 4)			

Таблица 4

Полиморфизм гена *IL6* (-174 G>C) у больных плоскоклеточным раком легкого при длительности курения менее 35 лет и более 35 лет

Table 4

The *IL6* (-174 G>C) gene polymorphism in patients with squamous cell lung cancer at a smoking duration of less than 35 years and more than 35 years

-174G>C <i>IL6</i> (rs1800795)	Плоскоклеточный рак легкого		<i>p</i> -value
	курение < 35 лет, <i>n</i>	курение ≥ 35 лет, <i>n</i>	
CC	16 (0,145)	46 (0,218)	0,03 OR = 1,43 [1,02–2,00]
GC	55 (0,495)	109 (0,517)	
GG	40 (0,360)	56 (0,265)	
аллель риска G	135 (0,608)	221 (0,524)	
Примечание: <i>n</i> — количество наблюдений			

сравнении мужчин с ПРЛ при длительности курения менее 35 лет и более 35 лет (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Курение — одна из причин хронического воспаления верхних дыхательных путей, создающего благоприятные условия для канцерогенеза [15]. Наше исследование показало, что длительность, количество выкуриваемых сигарет в день, а также возраст оказывают влияние на развитие ПРЛ у мужчин. Мужчины с ПРЛ имеют больший стаж курения и выкуривают больше сига-

рет в день, чем условно здоровые курящие мужчины. Полученные нами результаты согласуются с данными крупномасштабных эпидемиологических исследований, проводимых на территории России [16].

По данным литературы, для реализации канцерогенного эффекта требуется 20–25-летний латентный период [16]. В нашей выборке курящих пороговым значением для развития ПРЛ была длительность курения 35 лет. 72 % мужчин с ПРЛ курили свыше 35 лет. Известно, что ПРЛ ассоциирован с употреблением «высокосмолистых» папирос и сигарет, где основная доля

канцерогенов представлена полициклическими ароматическими углеводородами [17]. Однако за последние несколько десятилетий концентрация смолы в табачном дыме сигарет снизилась в несколько раз — с 35 мг на сигарету в 80-х гг. до 10–12 мг в конце XX в. [16]. Возможно, за счет этого увеличивается срок реализации канцерогенного эффекта и объясняется полученный нами результат.

В настоящей работе не выявлены ассоциации полиморфных локусов *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629), *IL6* (rs1800795) и *IL10* (rs1800896) генов цитокинов с риском ПРЛ без учета длительности курения. Анализ большинства проведенных ранее метаанализов тоже не показал значимых ассоциаций полиморфизма в генах цитокинов с раком легкого [18–21]. Однако при их выполнении не были учтены социальные и средовые факторы, роль которых в патогенезе рака легкого доказана. В то же время очевидно, что ген-средовые взаимодействия влияют на здоровье и продолжительность жизни человека [22]. Поэтому мы оценили влияние полиморфных локусов *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629), *IL6* (rs1800795) и *IL10* (rs1800896) на риск развития ПРЛ у мужчин в зависимости от длительности курения. Изначально предположили, что при разной длительности курения ПРЛ может иметь свою генетическую картину воспаления.

В результате выявлена значимая ассоциация аллеля -174G гена *IL6* (rs1800795) с риском ПРЛ у курильщиков со стажем менее 35 лет при сравнении их со «здоровыми» курильщиками (OR = 1,68; 95 % CI: 1,12–2,51) и курильщиками с ПРЛ при стаже курения более 35 лет (OR = 1,43 95 % CI: 1,02–2,00).

Данные о взаимосвязи полиморфизма гена *IL6* (rs1800795) с риском развития рака легкого противоречивы. Два метаанализа не подтвердили самостоятельной ассоциации полиморфизма гена *IL6* (rs1800795) с риском рака легкого [20, 21]. Однако у норвежцев была найдена ассоциация генотипа CC гена *IL6* с риском ПРЛ [23]. С другой стороны, люди с немелкоклеточным раком легкого — носители аллеля -174G (вектор генотипов GC, GG) быстрее умирают от рака (выживаемость < 20 месяцев), чем носители генотипа CC [24].

Анализ литературы показал, что вариант -174G гена *IL6* отвечает за усиление функций IL-6, связанных с поддержанием хронического воспаления, лежащего в основе метаболических, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и неопластических болезней у пожилых людей [25]. Нуклеотидная замена -174 G>C в регуляторном участке гена *IL6* (rs1800795) может влиять на индивидуальную чувствительность людей к неблагоприятным факторам при активации транскрипции этого гена. У носителей аллеля -174G фактор транскрипции GATA-1 (эритроидный фактор транскрипции,

кодируемый геном *GATA-1*) может связываться с локусом -174 гена *IL6* и увеличивать его транскрипцию, поэтому эти люди имеют повышенный риск развития болезни и смертности, связанных с воспалением. Напротив, у людей с аллелем -174C фактор транскрипции GATA-1 не может эффективно связываться с локусом -174 гена *IL6*, поэтому они имеют преимущество в снижении риска болезни и смертности за счет ограничения гипервоспалительных ответов на хроническую активацию симпатической нервной системы в условиях длительного стресса [26]. Если учесть, что аллель -174G гена *IL6* отвечает за усиление воспаления и за процесс его хронизации, то даже при непродолжительном курении они могут быть уязвимы к развитию рака. По крайней мере обнаружено, что люди с генотипом GG гена *IL6* (rs1800795) чаще имеют IV стадию хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) по сравнению с другими генотипами [3]. Этим можно объяснить выявленную нами ассоциацию -174G гена *IL6* с риском ПРЛ у курильщиков со стажем менее 35 лет.

Сigaretный дым стимулирует продукцию IL-6, которая выявляется в бронхоальвеолярном лаваже и в конденсате выдыхаемого воздуха у больных с легочной патологией и у «здоровых» курильщиков [3, 27]. У больных ХОБЛ и раком легкого наблюдаются более высокие сывороточные уровни IL-6, чем у здоровых людей [28, 29]. Активация IL-6-сигнального пути является механизмом, связывающим хроническое воспаление и рак [30]. При воспалительном стрессе IL-6 блокирует апоптоз и служит эффектором активации критических транскрипционных факторов NF-κB и STAT3, которые регулируют экспрессию генов, запускающих механизмы опухолевой промоции, ангиогенеза и метастазирования [31, 32].

Кроме того, IL-6 может регулировать экспрессию генов цитохрома P450 (CYP). Установлено, что IL-6 ингибирует транскрипцию генов *CYP1A1*, *CYP1A2* и *CYP3A4*, снижает уровни их мРНК и ферментатическую активность изоформ, но повышает экспрессию генов *CYP1B1* и *CYP2E1* в зависимости от типа ткани [33, 34]. По сравнению со здоровыми тканями *CYP1B1* сверхэкспрессирован при раке легкого, толстой кишки, молочной железы и других опухолях [24]. Эксперименты *in vitro* на клеточной линии карциномы толстой кишки показали, что экспрессия *CYP1B1* посттрансляционно регулируется IL-6 через микроРНК — miR27b, нацеленную на мРНК *CYP1B1* посредством механизма, включающего метилирование ДНК. Было предположено, что, манипулируя ферментами CYP, IL-6 индуцирует фенотипические изменения опухолевых клеток. Это может привести к активации метаболизма канцерогенов, повреждению ДНК и промоции опухоли *in situ* [34].

Таким образом, возраст, длительность курения и количество выкуриваемых сигарет в день представляют собой основные факторы риска возникновения ПРЛ

у мужчин. При стаже курения менее 35 лет обнаружен дополнительный фактор риска ПРЛ — аллель -174G гена *IL6*. Аллель -174G гена *IL6* не является маркером ПРЛ. Скорее, он выступает уязвимым фактором, который делает его носителей более чувствительными к усилению воспаления даже при непродолжительном по времени курении. Полиморфные локусы *IL1B* (rs1143634, rs16944), *IL1RN* (rs2234663), *TNFA* (rs1800629) и *IL10* (rs1800896) по отдельности не оказывали значимого влияния на предрасположенность к ПРЛ. В то же время сложные взаимодействия цитокинов в реализации про- и противовоспалительных функций не исключают их участия в канцерогенезе бронхов, которое может быть выявлено при исследовании их межгенных взаимосвязей. Наши результаты могут быть полезными в понимании молекулярных механизмов развития ПРЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопов А. Современные подходы к классификации рака легкого // Врач. — 2011. — № 12. — С. 7–12. [Akopov A. Current approaches to classification of lung cancer. *Vrach*. 2011;(12):7-12. (In Russ.)]
2. Одинцова И.Н., Писарева Л.Ф., Ананина О.А., Воробьев В.А. Эпидемиология рака легкого в Сибири и на Дальнем Востоке // Сибирский онкологический журнал. — 2013. — (Приложение № 2.) — С. 55–56. [Odintsova IN, Pisareva LF, Ananina OA, Vorob'ev VA. Epidemiologiya raka legkogo v Sibiri i na Dal'nem Vostoke. *Siberian journal of oncology*. 2013; (Suppl.2):55-56. (In Russ.)]
3. Данилко К.В., Корытина Г.Ф., Ахмадишина Л.З., и др. Ассоциация полиморфных маркеров генов цитокинов (*IL1B*, *IL1RN*, *TNFA*, *LTA*, *IL6*, *IL8*, *IL10*) с развитием хронической обструктивной болезни легких // Молекулярная биология. — 2007. — Т. 41. — № 1. — С. 26–36. [Danilko KV, Korytina GF, Akhmadishina LZ, et al. Association of cytokines genes (*IL1*, *IL1RN*, *TNF*, *LTA*, *IL6*, *IL8*, *IL10*) polymorphic markers with chronic obstructive pulmonary disease. *Molecular Biology*. 2007;41(1):26-36. (In Russ.)]
4. Абелев Г.И., Эрайзер Т.Л. На пути к пониманию природы рака // Биохимия. — 2008. — Т. 73. — № 5. — С. 605–618. [Abelev GI, Eraiser TL. On the path to understanding the nature of cancer. *Biochemistry (Moscow)*. 2008;73(5):605-618. (In Russ.)]
5. Бережная М.Н. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. 2. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения // Онкология. — 2009. — Т. 11. № 2. — С. 86–93. [Berezhnaya NM. Role of immune system cells in tumor microenvironment. II. Interaction of the immune system cells with other microenvironment components. *Oncology*. 2009;11(2):86-93. (In Ukrain.)]
6. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление. — 2005. — Т. 4. — № 2. — С. 3–12. [Gromova AJu, Simbirtsev AS. Gene polymorphisms of interleukin-1 family cytokines. *Cytokines and Inflammation*. 2005;4(2):3-12. (In Russ.)]
7. Гордеева Л.А., Мун С.А., Воронина Е.Н., и др. Исследование ассоциаций полиморфизма генов ферментов детоксикации ксенобиотиков и факторов среды с риском плоскоклеточного рака легкого у мужчин // Медицина в Кузбассе. — 2015. — Т. 14. — № 3. — С. 14–21. [Gordeeva LA, Mun SA, Voronina EN, et al. Research of associations of genes polymorphisms of xenobiotic-detoxifying enzymes and environmental factors with risk squamous lung cancer in male. *Medicine in Kuzbass*. 2015;14(3):14-21. (In Russ.)]
8. Гордеева Л.А., Мун С.А., Воронина Е.Н., и др. Полиморфные варианты генов цитокинов (*IL1B*, *IL1RN*, *TNFA* и *IL6*) у курящих мужчин с раком легкого // Цитокины и воспаление. — 2015. — Т. 14. — № 1. — С. 50–56. [Gordeeva LA, Mun SA, Voronina EN, et al. The polymorphisms of cytokine *IL1B*, *IL1RN*, *TNFA* and *IL6* genes in male smokers with lung cancer. *Cytokines and Inflammation*. 2015;14(1):50-56. (In Russ.)]
9. Гордеева Л.А., Оскорбина О.С., Воронина Е.Н. и др. Ассоциации полиморфизма генов цитокинов с невынашиванием беременности // Медицинская иммунология. — 2017. — Т. 19. — № 5. — С. 553–564. [Gordeeva LA, Oskorbina OS, Voronina EN, et al. Association between cytokine gene polymorphisms and recurrent miscarriage. *Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(5):553-564. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-585-596.
10. Гордеева Л.А., Глушкова О.А., Воронина Е.Н., и др. Ассоциации материнских полиморфизмов генов цитокинов (*IL1B*, *IL1RN*, *TNF*, *IL4*, *IL6*) с врожденными пороками развития у плода и новорожденного // Иммунология. — 2013. — Т. 34. — № 6. — С. 298–304. [Gordeeva LA, Glushkova OA, Voronina EN, et al. Association of maternal polymorphisms of cytokine gene (*IL1B*, *IL1RN*, *TNF*, *IL4*, *IL6*) with congenital malformations in fetus and newborn. *Immunology*. 2013; 34(6):298-304. (In Russ.)]
11. Рубанович А.В., Хромов-Борисов Н.Н. Теоретический анализ показателей предсказательной эффективности бинарных генетических тестов // Экологическая генетика. — 2013. — Т. 11. — № 1. — С. 77–91. [Rubanovich AV, Khromov-BorISOV NN. Theoretical analysis of the predictability indices of the binary genetic tests. *Ecological genetics*. 2013;11(1):77-91. (In Russ.)]
12. Baune BT, Dannlowski U, Domschke K, et al. The interleukin 1 beta (*IL1B*) gene is associated with failure to achieve remission and impaired emotion processing

- in major depression. *Biol Psychiatry*. 2010;67(6): 543-9. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.11.004.
13. Рыдловская А.В., Симбирцев А.С. Функциональный полиморфизм гена *TNFA* и патология // Цитокины и воспаление. — 2005. — Т. 4. — № 3. — С. 4–10. [Rydlovskaya AV, Simbirtsev AS. *TNFA* functional gene polymorphism and pathology. *Cytokines and Inflammation*. 2005;4(3):4-10. (In Russ.)]
 14. Назарова Е.Л., Демьянова В.Т., Шардаков В.И., и др. Ассоциации полиморфизма ряда генов врожденного иммунитета с риском развития хронических лимфопролиферативных заболеваний // Гематология и трансфузиология. — 2016. — Т. 61. — № 4. — С. 183–189. [Nazarova EL, Demianova VT, Shardakov BI, et al. Associations of polymorphism in several innate immunity genes with the risk of the development of chronic lymphoproliferative diseases. *Hematology and Transfusiology*. 2016;61(4):183-189. (In Russ.)]. doi: 10.18821/0234-5730/2016-61-4-183-189.
 15. Enewold L, Mechanic LE, Bowman ED, et al. Serum concentrations of cytokines and lung cancer survival in African Americans and Caucasians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(1):215-22. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0705.
 16. Мукерия А.Ф., Заридзе Д.Г. Эпидемиология и профилактика рака легкого // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. — 2010. — Т. 21. — № 3. — С. 3–13. [Mukeria AF, Zaridze DG. Lung cancer epidemiology and prevention. *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. 2010;21(3):3-10. (In Russ.)]
 17. Имянитов Е.Н. Молекулярная патология рака легкого: клинические аспекты // Практическая онкология. — 2003. — Т. 4. — № 3. — С. 131–139. [Imyanitov EN. Molekulyarnaya patologiya raka legkogo: klinicheskie aspekty. *Prakticheskaya onkologiya*. 2003;4(3):131-139. (In Russ.)]
 18. Xu J, Yin Z, Cao S, et al. Systematic Review and Meta-Analysis on the Association between IL-1B Polymorphisms and Cancer Risk. *PLOS ONE*. 2013;8(5):e63654. doi: 10.1371/journal.pone.0063654.
 19. Zhang Y, Changming L, Peng H, et al. IL1 Receptor Antagonist Gene *IL1-RN* Variable Number of Literature Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE*. 2012;7(9): e46017. doi: 10.1371/journal.pone.0046017.
 20. Liu Y, Song XL, Zhang GL, et al. Lack of association between IL-6-174G>C polymorphism and lung cancer: a meta-analysis. *Genet Mol Res*. 2015; 14(1):163-9. doi: 10.4238/2015.
 21. Zhou W, Zhang S, Hu Y, et al. Meta-analysis of the associations between TNF- α or IL-6 gene polymorphisms and susceptibility to lung cancer. *Eur J Med Res*. 2015;20:28. doi: 10.1186/s40001-015-0113-9.
 22. Кучер А.Н. Ген-средовые взаимодействия как основа формирования здоровья // Экологическая генетика. — 2017. — Т. 15(4). — С. 19–32. [Kucher AN. Gene-environment interactions as the basis of health formation. *Ecological genetics*. 2017;15(4):19-32. doi: 10.17816/ecogen15419-32.
 23. Campa D, Zienoldiny S, Maggini V, et al. Association of a common polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene with risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*. 2004;25(2):22935.
 24. Jia W, Fei GH, Hu JG, Hu XW. A study on the effect of IL-6 gene polymorphism on the prognosis of non-small-cell lung cancer. *Onco Targets Ther*. 2015;8:2699-704. doi: 10.2147/OTT.S84636.
 25. Cole SW, Arevalo JM, Manu K, et al. Antagonistic pleiotropy at the human IL6 promoter confers genetic resilience to the pro-inflammatory effects of adverse social conditions in adolescence. *Dev Psychol*. 2011;47(4):1173-80. doi: 10.1037/a0023871.
 26. Cole SW, Arevalo JM, Takahashi R, et al. Computational identification of gene-social environment interaction at the human IL6 locus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(12):5681-6. doi: 10.1073/pnas.0911515107.
 27. Прощаев К.И., Ильницкий А.Н., Павлова Т.В., и др. Локальные и системные нейроиммуноэндокринные сдвиги под влиянием поллютантов в контексте преждевременного старения: анализ состояния проблемы // Фундаментальные исследования. — 2011. — № 6. — С. 150–153. [Prashchayev KI, Ilnitski AN, Pavlova TV, et al. Local and systemic neuroimmunno-endokrinnye shifts under the influence of pollutants in the context of premature aging: analysis of problems. *Fundamental Research*. 2011;6:150-153. (In Russ.)]
 28. Зейдлиц А.А., Любарский М.С., Наров Ю.Э., Морозов В.В. Влияние регионарной лимфотропной терапии на течение воспалительного процесса при раке легкого // Бюллетень СО РАМН. — 2013. — Т. 36(6). — С. 86–91. [Zeydlits AA, Lubarsky MS, Narov YuE, Morozov VV. Impact of the regional lymphotropic therapy on inflammation at lung cancer. *Bulletin SO RAMN*. 2013;36(6):86-91. (In Russ.)]
 29. Ганцева Х.Х., Габитова Д.М., Афлятунова С.Ф. К патогенетическому единству в развитии хронической обструктивной болезни легких и рака легкого // Креативная хирургия и онкология. — 2010. — № 4. — С. 19–22. [Gantseva KhKh, Gabitova DM, Aflyatunova SF. To the pathogenetic unity in the development of the chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary cancer. *Creative surgery and oncology*. 2010;(4):19-22 (In Russ.)]
 30. Naugler WE, Karin M. The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med*. 2008;14(3):109-19. doi: 10.1016/j.molmed.2007.12.007.

31. Ochoa CE, Mirabolfathinejad SG, Ruiz VA, et al. Interleukin 6, but not T helper 2 cytokines, promotes lung carcinogenesis. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2011;4(1):51-64. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0180.
32. Ara T, Declerck YA. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. *Eur J Cancer*. 2010;46(7):1223-31. doi: 10.1016/j.ejca.2010.02.026.
33. Сибиряк С.В. Цитокины как регуляторы цитохром P450-зависимых монооксигеназ. Теоретические и прикладные аспекты // Цитокины и воспаление. — 2003. — Т. 2. — № 2. — С. 12–22. [Sibiryak SV. Cytokines as cytochrome P450 dependent monooxygenases regulators. Theoretical and applied aspects. *Cytokines and Inflammation*. 2003;2(2):12-22. (In Russ.)]
34. Patel SA, Bhambra U, Charalambous MP, et al. Interleukin-6 mediated upregulation of CYP1B1 and CYP2E1 in colorectal cancer involves DNA methylation, miR27b and STAT3. *Br J Cancer*. 2014;111(12):2287-96. doi: 10.1038/bjc.2014.540.

✿ Информация об авторах

Людмила Александровна Гордеева — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики. ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: gorsib@rambler.ru.

Стелла Андреевна Мун — канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакогеномики. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск. E-mail: stellamun@yandex.ru.

Елена Николаевна Воронина — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории фармакогеномики. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск. E-mail: voronina_l@mail.ru.

Елена Геннадьевна Поленок — канд. фарм.-хим. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии. ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: ihe@list.ru.

Алина Давидовна Магатина — биолог, медико-генетическая консультация, ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница»; инженер-технолог лаборатории иммуногенетики, ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: ihe@kemtel.ru.

Виктор Александрович Титов — заведующий торакальным отделением. ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово. E-mail: 05-guz-okod@kuzdrav.ru.

Светлана Егоровна Рагожина — заместитель главного врача по медицинской части. ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», Кемерово. E-mail: ragozhina@mail.ru.

Илгиз Ахматович Вафин — главный врач. ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови». E-mail: stpk@kuzdrav.ru.

Елизавета Леонидовна Романова — обучающаяся, Центр дополнительного образования. Кемеровский государственный университет (КемГУ), Кемерово. E-mail: nev11@yandex.ru.

Андрей Николаевич Глушков — д-р мед. наук, зам. директора. ФИЦ УУХ СО РАН (Институт экологии человека СО РАН), Кемерово. E-mail: ihe@list.ru.

✿ Information about the authors

Lyudmila A. Gordeeva — PhD, Leading Rof the Laboratory Immunogenetics. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: gorsib@rambler.ru.

Stella A. Mun — PhD, Senior Researcher of the Laboratory Immunogenetics. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: stellamun@yandex.ru.

Elena N. Voronina — PhD, Researcher of the Laboratory Pharmacogenomics. Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: voronina_l@mail.ru.

Elena G. Polenok — PhD, Leading Researcher of the Laboratory Immunochemistry. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: ihe@list.ru.

Alina D. Magatina — Biologist of the Genetic Consultation. Regional Clinical Hospital; Engineer of the Laboratory Immunogenetics. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: ihe@kemtel.ru.

Viktor A. Titov — Chief of Thoracic Department of Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia. E-mail: 05-guz-okod@kuzdrav.ru.

Svetlana E. Ragozhina — Assistant of Main Physician on Medicine of Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia. E-mail: ragozhina@mail.ru.

Ilgiz A. Vafin — Main Physician. Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia. E-mail: stpk@kuzdrav.ru.

Elizaveta L. Romanova — Learning of The Center for Continuing Education. Kemerovo State University (KemSU), Kemerovo, Russia. E-mail: nev11@yandex.ru.

Andrey N. Glushkov — Doctor of Medical Sciences, Deputy Director. FRC CCC SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. E-mail: ihe@list.ru.