

Ассоциация полиморфизма гена IL12B с предрасположенностью к псориазу в популяции Северо-Западного региона России

В.Р. Хайрутдинов, А.Ф. Михайличенко, А.А. Пискунова, А.В. Самцов, А.М. Иванов, Е.Н. Имянитов

Association of polymorphism of IL12B gene and predisposition to psoriasis among the population of the Northwestern region of Russia

V.R. KHAIRUTDINOV, A.F. MIKHAILICHENKO, A.A. PISKUNOVA, A.V. SAMTSOV, A.M. IVANOV, YE.N. IMYANITOV

об авторах:

В.Р. Хайрутдинов — старший ординатор кафедры кожных и венерических болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург
А.Ф. Михайличенко — старший лаборант НИЛ микробиологической безопасности и профилактики особо опасных инфекций НИО нанобиотехнологий Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург
А.А. Пискунова — асп. кафедры дерматовенерологии и косметологии Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования
А.В. Самцов — начальник кафедры кожных и венерических болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург
А.М. Иванов — начальник научно-исследовательского отдела нанобиотехнологий Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург
Е.Н. Имянитов — руководитель отдела биологии опухолевого роста НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург

Ген IL12B кодирует белок p40, являющийся общей субъединицей интерлейкина-12 и интерлейкина-23, играющих важную роль в патогенезе псориаза. Ген IL12B содержит полиморфизм rs12188300, который может быть ассоциирован с риском развития псориаза. Целью работы явилось изучение распределения аллелей полиморфизма rs12188300 у больных псориазом Северо-Западного региона России. Генотипирование проводилось методом аллельспецифической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Выявлено повышение встречаемости редкого аллеля Т среди больных псориазом по сравнению со здоровыми лицами (OR = 1,96, $p = 0,0007$). Частота редкого аллеля Т среди больных псориазом с псориатическим артритом была выше, чем в группе контроля (OR = 3,49, $p = 0,005$). Полученные результаты позволяют предположить, что полиморфизм rs12188300 гена IL12B является новым генетическим маркером псориаза и псориатического артрита.

Ключевые слова: псориаз, псориатический артрит, интерлейкин-12, rs12188300, генный полиморфизм.

The IL12B gene encodes protein p40 being a common subunit of interleukin-12 and interleukin-23 playing an important part in the pathogenesis of psoriasis. The IL12B gene has polymorphism rs12188300, which can be associated with the risk of psoriasis development. The goal of the study was to assess the distribution of alleles of polymorphism rs12188300 in psoriatic patients in the Northwestern region of Russia. Genotyping was carried out using the real-time allele-specific polymerase chain reaction. An increased occurrence of a rare allele T in psoriatic patients as compared to healthy people was observed (OR = 1.96, $p = 0.0007$). The occurrence of the rare allele T in patients with psoriatic arthritis was higher than in the control group (OR = 3.49, $p = 0.005$). These results suggest that rs12188300 polymorphism of the IL12B gene is a new genetic marker of psoriasis and psoriatic arthritis.

Key words: psoriasis, psoriatic arthritis, interleukin-12, rs12188300, genetic polymorphism.

■ Новые молекулярно-генетические методы существенно расширили возможности эффективного исследования роли генома в развитии мультифакторных болезней, к которым относится псориаз, и быстрой идентификации генных маркеров. Внедрение метода полногеномного анализа ассоциаций (genome-wide association study — GWAS) дало возможность изучать молекулярные основы болезней на качественно ином уровне. Использование биочипов высокой плотности позволяет считывать информацию о миллионах последовательностей ДНК и одновременно анализировать сотни тысяч генных полиморфизмов в тысячах образцов. Данный метод позволяет уйти от привычного подхода — исследования ограниченного числа генов, основанного на гипотезе о механизмах развития заболевания, и протестировать все известные нуклеотидные замены [1, 2]. Так, в работе E. Ellinghaus и соавт. (2010) в группах больных псориазом и контроле было проанализировано 2 339 118 генных полиморфизмов [3]. Несмотря на масштабность проводимых исследований, этиология и патогенез псориаза все еще остаются за непроницаемой завесой, а результаты ряда GWAS существенно отличаются даже в пределах одной этнической группы [3—6].

К сожалению, технология полногеномного анализа аллельных ассоциаций с целью идентификации генов-кандидатов пока недоступна в России. В нашей работе мы использовали уже ставший рутинным метод аллельспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. При выборе генов для исследования мы основывались на гипотезе о механизмах развития псориаза.

Интерлейкин (ИЛ) -12 и ИЛ-23 играют важную роль в патогенезе псориаза. Оба цитокина являются гетеродимерами, состоящими из двух субъединиц. Ген IL12B кодирует белок p40, являющийся общим для ИЛ-12 и ИЛ-23. Два других гена — IL12A и IL23A — кодируют уникальные субъединицы: интерлейкина-12 — p35 и интерлейкина-23 — p19 соответственно. ИЛ-12 секретируется антигенпрезентирующими клетками и отвечает за дифференцировку наивных Th0-лимфоцитов в субпопуляцию Th1-клеток, продуцирующих ИЛ-2, фактор некроза опухолей- α и интерферон- γ . ИЛ-23 вовлечен в дифференцировку Th0-лимфоцитов в Th17-клетки, которые секретируют мощные провоспалительные цитокины — фактор некроза опухолей- α и ИЛ-17A/F, а также ИЛ-22, вызывающий усиленную пролиферацию, нарушение дифференцировки кератиноцитов и развитие акантоза в эпидермисе [7].

До недавнего времени считалось, что центральное место в патогенезе псориаза принадлежит только продукции ИЛ-12 и увеличению субпопуляции Т-хелперов 1-го типа. Последние исследования показали важную роль цитокина ИЛ-23. В псориазических очагах наблюдается избыточная по сравнению с непораженной кожей продукция p40 и p19, но не p35, что указыва-

ет на преобладание девиации цитокинового профиля в сторону Th17-клеток [8]. Нейтрализация ИЛ-12 и ИЛ-23 моноклональными антителами анти-p40 (устекинумаб) приводит к разрешению псориазических высыпаний и свидетельствует о причастности обоих цитокинов к развитию псориаза [9].

Результаты исследования ассоциаций полиморфизмов гена IL12B с предрасположенностью к псориазу имеют противоречивый характер. Так, R.P. Nair и соавт. (2008), обследуя проживающих в Германии и США больных псориазом европеоидной расы, выявили ассоциацию между полиморфизмами rs3212227 (идентификационный номер однонуклеотидной замены в специализированной электронной базе данных Национального центра биотехнологической информации), расположенного в 3'-нетранслируемом участке гена IL12B, и rs6887695, локализующимся в межгенной области, и псориазом [10, 11]. J. Elder и соавт. (2009) провели полногеномный анализ на больших группах и обнаружили ассоциацию другого полиморфизма — rs2082412, расположенного вблизи гена IL12B, с псориазом и псориазическим артритом [12]. В уже упомянутой работе E. Ellinghaus и соавт. у жителей Германии была найдена ассоциация однонуклеотидных замен rs2546890 и rs953861 с псориазом [3]. Недавно был открыт новый полиморфизм гена IL12B, локализующийся вблизи промоторной области, — rs12188300 (NT_023133.13:g.3640800A>T), ассоциированный с псориазом и псориазическим артритом [5]. Данная область гена может содержать сайты связывания транскрипционных факторов, регулирующих эффективность синтеза кодируемого продукта — белка p40.

Целью настоящей работы явилось изучение распределения аллелей полиморфизма rs12188300 гена IL12B у больных псориазом Северо-Западного региона России.

Материал и методы

В группу больных бляшечным псориазом вошли 218 пациентов. Критерием включения являлось наличие заболевания в течение 12 мес. и более, подтвержденное медицинской документацией. Группу контроля составили 468 здоровых лиц (доноров). В качестве источника ДНК использовались лейкоциты периферической крови. У 175 (80%) больных заболевание началось до 40 лет (I тип псориаза), у 43 (20%) — в возрасте 40 лет или позже (II тип псориаза). Тяжесть болезни оценивалась по индексу площади и тяжести псориазических поражений PASI (Psoriasis Area and Severity Index): легкая степень (< 10 баллов) — у 115 (53%) пациентов, средняя (≥ 10 —20 < баллов) — у 50 (23%) больных, тяжелая (≥ 20 баллов) — у 53 (24%) пациентов. Диагноз псориазического артрита устанавливали на основании диагностических критериев по J. Moll и V. Wright [13]. Псориазический артрит от-

мечался у 40 (18%) больных. Анализ однонуклеотидных замен проводился методом аллельспецифической ПЦР в режиме реального времени на приборе «iQ iCycler» («Bio-Rad», США). Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистической программы «STATISTICA — 6.0» (StatSoft, Inc). Наличие ассоциации между заболеванием и генотипом тестировали с помощью χ^2 критерия Пирсона, сравнивая распределение генотипов и аллелей между группами пациентов и контролей и между подгруппами больных псориазом. Показатель отношения шансов — OR (odds ratio) — с 95% доверительным интервалом (95% CI) рассчитывался относительно группы частого аллеля.

Результаты

Анализ распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs12188300 гена IL12B выявил повышение встречаемости редкого аллеля Т среди больных псориазом — у 50 (11,5%) из 218 пациентов по сравнению со здоровыми испытуемыми — у 58 (6,2%) из 468 (OR = 1,96, 95% CI: 1,32 — 2,92, $p = 0,0007$) (см. табл.). Частота носителей гетерозиготного генотипа АТ у больных псориазом была выше — у 46 (21,1%) из 218, чем в группе контроля — 58/468 (12,4%) (относительно лиц с генотипом АА — OR = 1,89, 95% CI: 1,23 — 2,89; $p = 0,001$). Гомозиготное состояние ТТ встретилось только в группе больных псориазом — у 2 (0,9%) из 218 пациентов.

На следующем этапе с целью выявления возможного модифицирующего влияния полиморфизма гена IL12B на течение псориаза мы провели оценку характера распределения полиморфных вариантов среди больных псориазом, имеющих псориатический артрит, и пациентов без псориатического артрита (см. рис.). Частота редкого аллеля Т среди больных псориатическим

артритом — у 15 (18,8%) из 40 была выше, чем в группе контроля — у 58 (6,2%) из 468 (OR = 3,49, 95% CI: 1,88 — 6,50, $p = 0,005$) (см. табл.). Анализ распределения полиморфных аллелей в группах больных с различной степенью тяжести заболевания не выявил статистически достоверных различий.

Распределение частот генотипов в выборках больных псориазом, псориатическим артритом и лиц контрольной группы соответствовало равновесию Харди-Вайнберга в каждой, поэтому для анализа

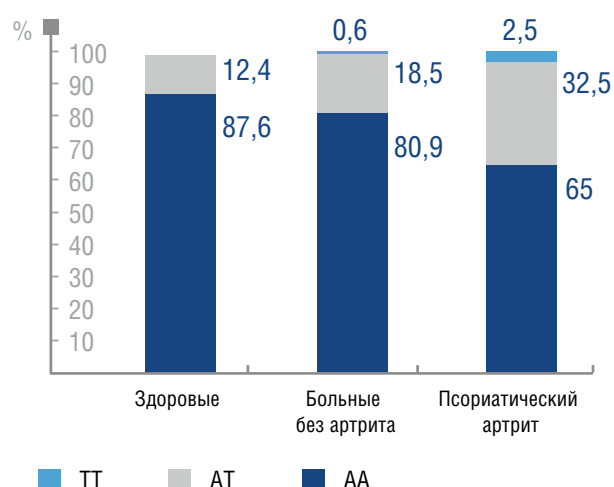


Рис. Распространенность генотипов полиморфизма rs12188300 гена IL12B у пациентов с псориатическим артритом, у больных псориазом без артрита и здоровых лиц

ТАБЛИЦА

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs12188300 гена IL12B у больных псориазом и псориатическим артритом

Генотип		Частота генотипов, абс. (отн., %)		Частота редкого аллеля Т, абс. (отн., %)		Уровень значимости p	OR (доверительный интервал)
		больные	контроль	больные	контроль		
AA	Псориаз	170 (78)	410 (87,6)			0,0007	1,96 (1,32—2,92)
AT		46 (21,1)	58 (12,4)	50 (11,5)			
TT		2 (0,9)	0 (0)				
AA	Псориатический артрит	26 (65)	410 (87,6)		58 (6,2)	0,005	3,49 (1,88—6,50)
AT		13 (32,5)	58 (12,4)	15 (18,8)			
TT		1 (2,5)	0 (0)				

Примечание. Показатель OR рассчитан для частоты аллеля Т относительно встречаемости аллеля А.

встречаемости редкого аллеля использовалась мультипликативная модель наследования. Оценочный тест Кохрана—Армитаджа на степень ассоциации А/Т полиморфизма с псориазом и псориатическим артритом в зависимости от числа аллелей Т (trend test) показал достоверные различия — $p = 6 \cdot 10^{-4}$ и $p = 2 \cdot 10^{-5}$ соответственно, что свидетельствует о наличии тенденции повышения степени ассоциации данного варианта с риском развития заболеваний при увеличении в генотипе количества аллелей Т.

Обсуждение

В настоящей работе мы впервые проанализировали особенности распределения вариантов полиморфизма rs12188300 гена IL12B у больных псориазом Северо-Западного региона РФ. В ходе исследования

было выявлено преобладание встречаемости редкого («мутантного») аллеля Т у больных псориазом и псориатическим артритом в сравнении со здоровой популяцией. Полученные результаты позволяют предположить, что исследованный полиморфизм является генетическим маркером псориаза и псориатического артрита и, возможно, обладает функциональной значимостью. Для выяснения последнего предположения представляется целесообразным исследовать корреляцию уровня продукта, кодируемого геном IL12B, с характером распределения полиморфных вариантов. Дальнейший поиск ассоциаций генных полиморфизмов с псориазом расширяет представления о молекулярном патогенезе заболевания, а новые генетические маркеры позволяют локализовать область генома, ответственную за развитие болезни. ■

Литература

1. Баранов В.С., Глов О.С., Баранова Е.В. Геномика старения и предиктивная медицина. Успехи геронтологии, 2010; 23 (3): 329—338.
2. Wang W.Y., Barratt B.J., Clayton D.G. et al. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. Nature Reviews Genetics 2005; 6 (2): 109—118.
3. Ellinghaus E., Ellinghaus D., Stuart P.E. et al. Genome-wide association study identifies a psoriasis susceptibility locus at TRAF3IP2. Nature Genetics 2010; 42 (11): 991—995.
4. Duffin K.C., Krueger G.G. Genetic variations in cytokines and cytokine receptors associated with psoriasis found by genome-wide association. J Invest Dermatol 2009; 129: 827—833.
5. Huffmeier U., Uebe S., Ekici A.B. et al. Common variants at TRAF3IP2 are associated with susceptibility to psoriatic arthritis and psoriasis. Nature Genetics 2010; 42 (11): 996—999.
6. Strange A., Capon F., Spencer C.C. et al. A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. Nature Genetics 2010; 42 (11): 985—990.
7. Nestle F.O., Kaplan D.H., Barker J. Review article: Mechanisms of Disease. Psoriasis. N Engl J Med 2009; 361: 496—509.
8. Lee E., Trepicchio W.L., Oestreicher J.L. et al. Increased expression of interleukin 23 p19 and p40 in lesional skin of patients with psoriasis vulgaris. J Exp Med 2004; 199 (1): 125—130.
9. Krueger G.G., Langley R.G., Leonardi C. et al. A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. N Engl J Med 2007; 356: 580—592.
10. Nair R.P., Ruether A., Stuart P.E. et al. Polymorphisms of the IL12B and IL23R genes are associated with psoriasis. J Invest Dermatol 2008; 128 (7): 1653—1661.
11. Интернет-ресурс Национального центра биотехнологической информации. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.
12. Elder J.T. Genome-wide association scan yields new insights into the immunopathogenesis of psoriasis. Genes and Immunity 2009; 10 (3): 201—209.
13. Moll J.M., Wright V. Psoriatic arthritis. Seminars in Arthritis and Rheumatism 1973; 3 (1): 55—78.