

# Локус генетической предрасположенности к диабету 1 типа (Сообщение 1)

Д.А. Чистяков, И.И. Дедов

Государственный научный центр РФ «ГосНИИ генетика»  
(дир.-член-корр. РАН В.Г. Дебабов),  
Эндокринологический научный центр  
(дир.-акад. РАМН И.И. Дедов) РАМН, Москва

**И**нсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) является мультифакторным заболеванием, характеризующимся специфическим аутоиммунным разрушением  $\beta$ -клеток Лангерганса поджелудочной железы. Предрасположенность к ИЗСД обусловлена как генетическими факторами, так и условиями окружающей среды [44]; анализ близнецов в семьях больных диабетом показал, что вклад генетического компонента в риск развития ИЗСД составляет лишь 36% [31], что свидетельствует о важной роли внешних факторов.

Широкомасштабное сканирование генома человека с использованием панели высокополиморфных динуклеотидных микросателлитных маркеров, более или менее равномерно расположенных по всей геномной ДНК, выявило 12 локусов предрасположенности к ИЗСД на разных хромосомах [45]. Среди них наиболее важным является локус IDDM1, определяющий 35% семейной кластеризации ИЗСД и обладающий наивысшими значениями  $\lambda_S$  (т.е. отношения риска развития заболевания у потомков больных ИЗСД к уровню общепопуляционного риска) среди прочих локусов предрасположенности [11].

Локус предрасположенности IDDM1 находится на хромосоме 6p21 и занимает область размером до 20 сантиморганид. По сравнению с другими локусами предрасположенности IDDM1 обладает максимальными значениями  $\lambda_S$ , колеблющимися в различных популяциях европеоидов от 1,7 до 4,2 [11].

Локус IDDM1 отождествляется с генами главного комплекса гистосовместимости класса II. Молекулы класса II экспрессируются так называемыми клетками, представляющими антигены, и участвуют в связывании и экспонировании на поверхности макрофагов процессированных фрагментов различных антигенов. В дальнейшем через посредство Т-клеточного рецептора происходит распознавание антигенов и инициируется иммунный ответ. Гены класса II также связаны с запуском аутоиммунных процессов при ИЗСД.

Связь между генами HLA и ИЗСД подтверждается результатами популяционных исследований и семейного анализа. Популяционные исследования выявляют подобную связь как достоверно более высокую встречаемость определенных аллельных вариантов (генетических маркеров риска) у больных по сравнению со здоровыми индивидами. Анализ семей больных диабетом обнаруживает достоверно более высокое содержание предрасполагающих комбинаций молекул HLA класса II у близнецовых пар по сравнению с тем, что ожидается при случайной сегрегации.

Локусы предрасположенности к ИЗСД были сначала определены как гаплотипы DR3 и DR4 серологическими методами. Позднее с появлением таких молекулярно-генетических подходов, как полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) и генотипирование с использованием олигонуклеотидных зондов, специфических к определенным последовательностям, было подтверждено, что локус HLA-DQ является наиболее вероятным кандидатом на связь с диабетом [51].

У больных ИЗСД наряду с повышенным содержанием DR3 и DR4 отмечено снижение частоты встречаемости антигенов Dw2/DR2 и B7, что позволило говорить о них как о факторах, предохраняющих от раннего развития диабета [25]. Действительно, в популяциях Северной Европы эти маркеры оказывают защитный эффект, но в ряде средиземноморских популяций защитную роль играет присутствие не DR2, а DR5. Оказалось, что в этих популяциях распределение подтипов DR2 носит различный характер. Так, в Южной Европе один из подтипов DR2 (DR16) ассоциирован с аллелем DQ5, тогда как на севере континента другой подтип DR2 (DR15) специфически связан с DQ6, а гаплотип DR2 (15)-DQ6 предохраняет от ИЗСД [36]. Результаты данных исследований подтверждают центральную роль генов DQ в обеспечении генетического риска развития ИЗСД.

Молекулы гетеродимеров, образуемых  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепями, которые кодируются генами DQA1 и DQB1, играют важную роль в обеспечении генетической предрасположенности к ИЗСД. Для генов HLA-DQA1 и DQB1 характерен полиморфизм, выражающийся в существовании множественных аллельных вариантов вследствие варибельности нуклеотидной последовательности 2-го экзона данных генов. Так, к настоящему моменту известно не менее 19 аллелей гена DQA1 и 35 аллелей гена DQB1 [1]. Интерес к полиморфизму DQ  $\beta$ -цепи возник с появлением гипотезы о важной роли 57-го аминокислотного остатка в обеспечении защитной роли к ИЗСД. Эта гипотеза была подтверждена данными о различной роли в обеспечении риска развития ИЗСД  $\beta$ -цепей, несущих в 57-м положении либо аспарагиновую кислоту (Асп57), либо иной аминокислотный остаток [46].

В предрасположенность к ИЗСД важный вклад вносит также и полиморфизм  $\alpha$ -цепи, основанный на наличии или отсутствии в 52-м положении аргинина (Арг52) [21]. Генетическая роль DQ  $\alpha$ -цепи выяснена в исследованиях популяций, относящихся к различным расам. Разную роль в предрасположенности к диабету 1 типа двух наиболее общих для европеоидов гаплотипов DQ2 (предрасполагающий DR3-DQ2 и нейтральный DR7-DQ2) можно объяснить различиями в строении  $\alpha$ -цепи: гаплотипам DR3 соответствует аллель DQA1\*0501, а гаплотипам DR7 - аллель DQA1\*0201. В отличие от европеоидов у негроидов гаплотип DR7-DQ2 связан с риском развития ИЗСД и данному гаплотипу соответствует иной, чем у белой расы, вариант  $\alpha$ -цепи (аллель DQA1\*0301) [19].

Белковые продукты генов DQA1 и DQB1 ( $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи) вступают друг с другом во взаимодействие, образуя гетеродимеры. Если гетеродимер образован продуктами генов, расположенных на разных родительских хромосомах, то говорят о транс-комбинации  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей (транс-гетеродимер); продукты генов, находящихся на одних и тех же хромосомах родителей, вступают в цис-взаимодействие. Так, гетеродимер, образованный продуктами аллелей DQA1\*0301 и DQB1\*0201, может быть обнаружен у европеоидов как транс-гетеродимер. Такой транс-гетеродимер может образовываться у носителей DQ2/8 (генотип DQA1\*0501-DQB1\*0201/DQA1\*0301-DQB1\*0302), обладающих максимальным риском развития ИЗСД.

Гетеродимеры, кодируемые генами в транс-положении, могут образовывать комбинации, уникальные для гетерозиготных индивидов. Показана принципиальная возможность образования таких транс-гетеродимерных молекул DQ [23], что частично объясняет повышенный риск ИЗСД, связанный с опре-

деленными гетерозиготными вариантами генотипов. Другим примером предрасполагающей комбинации аллелей HLA-DQ является гетеродимер DQA1\*0301-DQB1\*0401, образуемый продуктами генов либо в цис-, либо в транс-положении. Этот гетеродимер характерен для гаплотипов DR4-DQ4, специфически встречающихся у японцев, но он также обнаружен и у европеоидов (гетерозиготы DR4-DQ3/DR8-DQ4) [38, 39].

Гипотеза о важнейшей роли гетеродимеров HLA-DQ в обеспечении генетического риска развития ИЗСД согласуется с синергическим эффектом присутствия двух разных предрасполагающих гаплотипов в гетерозиготах. Генетический риск развития диабета зависит от числа «диабетогенных» гетеродимеров ( $\alpha$ -Арг52+/ $\beta$ -Асп57-), образуемых каждым генотипом, и увеличивается с возрастанием их доли в генотипе («дозовый эффект») [2, 22]. В таблице приведен список вариантов гетеродимеров, кодируемых генами в цис- или транс-положении и обеспечивающих либо предрасположенность, либо устойчивость к диабету 1-го типа.

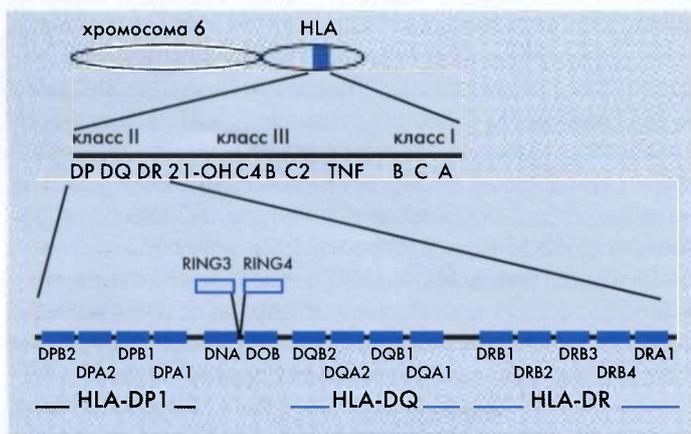
Важная роль молекул класса II в обеспечении предрасположенности/устойчивости к любой аутоиммунной болезни, включая и ИЗСД, объясняется функцией этих молекул. Специфический иммунный ответ инициируется, когда T(СD4+)-лимфоцит узнает процессированный фрагмент антитела (пептид), связанный с молекулой класса II. Сила сродства между разнообразными молекулами класса II и гипотетическими диабетогенными пептидами должна определять «отбой» либо запуск механизмов диабетической аутоиммунной [29].

Помимо генов HLA-DQ, в предрасположенности к ИЗСД могут вовлекаться и другие гены главного комплекса гистосовместимости (см. рисунок). Из-за сильного неравновесия по сцеплению трудно оценить вклад каждого отдельного гена. Тем не менее, для крайне полиморфных генов DRB1, относящихся к классу II и содержащих 198 аллелей, четко охарактеризованы аллели предрасположенности и устойчивости к ИЗСД. У европеоидов к диабету предрасполагают аллели \*04 и \*17(03), тогда как в азиатских популяциях подобная роль описана лишь для аллелей \*04. Защитное действие оказывают аллели DRB1\*07, \*11 и \*15 [7, 39].

Полиморфизм генов главного комплекса гистосовместимости класса III также может быть связан с предрасположенностью к диабету 1 типа. Эти гены кодируют компоненты С2 и С4 комплемента и пропердиновый фактор В. Так, в гаплотипе А1, В8, DR3, DQ2, ассоциированном с повышенным риском развития ИЗСД, обнаружен аллель С4А0<sup>null</sup>. В южных регионах Европы более ранний возраст дебюта заболевания связан с иным вари-

## Комбинации молекул HLA-DQ, отвечающие за предрасположенность/устойчивость к ИЗСД

Комбинации HLA-DQ	Популяционная специфичность	Гаплотипы	Кодируются генами в положении
<b>Предрасполагающие:</b>			
A1*0301 B1*0302		DR4-DQ8	цис
A1*0501 B1*0201		DR3-DQ2	цис
A1*0501 B1*0302		DR4-DQ8/DR3-DQ2	транс
A1*0301 B1*0201		DR4-DQ8/DR3-DQ2	транс
A1*0301 B1*0201	Негроиды	DR7-DQ2	цис
A1*0301 B1*0402		DR4-DQ8/DR8-DQ4	транс
A1*0301 B1*0401	Японцы	DR4-DQ4	цис
A1*0301 B1*0303	Японцы	DR9-DQ9	цис
<b>Предохраняющие:</b>			
A1*0102 B1*0602		DR2-DQ6	цис
A1*0103 B1*0603		DR13-DQ6	цис
A1*0301 B1*0301		DR4-DQ7	цис
A1*0501 B1*0301		DR5-DQ7	цис



Строение области хромосомы 6, содержащей гены главного комплекса гистосовместимости.

антом гаплотипа DR3, DQ2, который ассоциирован с A30, B18 и BfF1 [50]. В Северной Европе данный вариант мало распространен, однако наиболее часто встречаемый гаплотип A2, B15, Cw3, DR4 содержит аллель С4В3, в свою очередь являющийся редким в других гаплотипах. Этот гаплотип также связан с наивысшим риском развития заболевания [32].

Выдвинуто предположение о том, что область генов главного комплекса гистосовместимости между локусами ВАТ1 и HLA-B содержит гены, играющие важную роль в развитии ИЗСД [12]. Внутри этой об-

ласти охарактеризованы несколько новых генов, названных генами PERB, но их роль в развитии патологии до сих пор не ясна [15, 27]. Для находящегося по соседству гена фактора некроза опухоли (TNF $\alpha$ ) также описан полиморфизм, специфический к определенным гаплотипам и связанный с уровнем синтеза TNF $\alpha$  и, как следствие, с продукцией интерлейкина-1 (IL-1). Предложенная ранее модель о влиянии усиленного синтеза этих цитокинов на предрасположенность к ИЗСД не подтвердилась, так как не было показано какой-либо независимой связи полиморфизма гена TNF $\alpha$  с диабетом [30, 34].

Гены HLA-DP располагаются ближе к центромере, чем гены HLA-DQ, и, по-видимому, не являются факторами риска развития заболевания [18]. Между локусами DQ и DP отсутствует какое-либо заметное неравновесие по сцеплению. Между этими локусами находятся гены белков, участвующих во внутриклеточном транспорте антигенных пептидов (гены TAP1 и 2) и в цитоплазматическом процессинге пептидов (гены LMP2 и 7). Выдвинута гипотеза о важности этих генов в патогенезе ИЗСД. Продукты аллелей TAP и специфические молекулы класса I могут образовывать функционально важные комплексы, ответственные за транспорт эндогенных пептидов, связанных с молекулами класса I. Аллели генов класса I и локуса TAP находятся в неравновесии по сцеплению с аллелями локуса HLA-DQ [14]. Однако достоверные различия в распределении ал-

аллелей локуса TAP у больных ИЗСД и у здоровых индивидов могут возникать также и по причине известного сцепления между локусом DQ и предрасположенностью к ИЗСД [24]. Комбинация аллелей TAP2\*0201 и DQB1\*0602 проявляет защитный эффект по отношению к ИЗСД, но при этом между локусами HLA-DQ и TAP не обнаружено неравновесия по сцеплению [8].

Между генами TAP и локусом DQA1 находятся гены (DQA2, DQB2, DOB и др.), продукты экспрессии которых не обнаружены. Для многих из них описан полиморфизм [43, 49]. ПДРФ/TaqI гена DQA2 проверен на связь с ИЗСД и установлено его независимое влияние на предрасположенность к заболеванию [17]. Однако сильное неравновесие по сцеплению между генами DQA2 и DQB1 затрудняет проведение сравнительного анализа [35]. ПДРФ/BglIII гена DQA2 также, по-видимому, характеризует гаплотипы B8-DR3, ассоциированные с диабетом 1 типа [10]. Анализ редко встречающихся гаплотипов DR15(2)-DQ\*0602 у больных ИЗСД показал различия в распределении аллелей ПДРФ гена DQA2 по сравнению со здоровыми людьми, что подтверждает важность центромерных факторов в обеспечении защитной роли данного гаплотипа [36].

Эксперименты на линиях клеток, дефицитных по генам главного комплекса гистосовместимости, показали, что презентация цитоплазматических антигенов молекулами класса II зависит по меньшей мере от продуктов экспрессии еще одного локуса, находящегося среди генов главного комплекса гистосовместимости класса II. Этот локус не отождествляется с генами TAP, LMP1 и LMP7 [26]. Позднее было показано, что упомянутая клеточная функция может быть приписана продуктам локуса DM [28]. Белковые продукты этого гена содержат потенциальный участок связывания антигена, характерный для молекул класса II, однако известные полиморфные области гена DM в отличие от генов HLA-DQ не расположены в зонах, ответственных за формирование данного участка связывания [9, 40].

Помимо полиморфизма кодирующих областей

различных генов, полиморфные участки регуляторных областей также могут быть связаны с предрасположенностью к заболеванию [5, 33, 41]. Данная связь может быть опосредована разными уровнями экспрессии отдельных аллелей либо различиями в последовательности участков связывания регуляторных белков, ведущих к изменению сродства этих участков к связываемым белкам [42].

В заключение хотелось бы отметить, что гены HLA вовлечены не только в развитие диабета 1-го типа. Отмечена их связь с инсулиннезависимым (ИНСД) диабетом (тип 2). По всей видимости, в популяциях европеоидов с максимальным риском ИНСД связаны лишь молекулярные варианты DQ  $\alpha$ -цепей Arg52<sup>+</sup>/Arg52<sup>+</sup>, в отличие от ИЗСД, в предрасположенности к которому важный вклад вносят и продукты гена DQB1 [16]. У белых американцев также отмечена предрасполагающая роль к диабету 2-го типа генотипа HLA-DR4 [37]. У коренных новозеландцев (маори) высокий риск ИНСД ассоциирован с антигенами группы HLA-B40 (гены класса I), но не с генами класса II [13]. У негров США, больных ИНСД и резистентных к инсулину, показано достоверно более высокое содержание серологически выявляемых фенотипов HLA-DQW6, A33, DR2, DR9 и BF-S по сравнению с контролем [4, 6]. Связь между генами HLA класса II и ИНСД показана и в русской популяции, хотя она и менее выражена, чем при диабете 1-го типа [2].

Генетические исследования свидетельствуют о наличии HLA-детерминант, общих для обоих типов диабета [2, 48]. Однако гены HLA скорее участвуют в развитии не классического диабета типа 2, а одной из его форм, связанной с вяло текущим аутоиммунным процессом и наличием противоостровковых антител [47]. Такой диабет, на первый взгляд диагностируемый как типичный ИНСД, обладает многими иммунологическими и клиническими свойствами ИНСД и занимает как бы промежуточное положение между классическим диабетом 1-го и 2-го типов. Поэтому такую форму заболевания называют «диабетом 1 1/2» [20].

## Литература

1. Алексеев Л. П., Дедов И.И., Зилов А.В. и др. // Сахар. диабет. - 1998. - No. 1. - С. 19 - 21.
2. Демуров Л.М., Чистяков Д.А., Кондратьев Я.Ю. и др. // Мол. биол. - 1998. - Т. 32. - С. 964 - 969.
3. Овчинников И.В., Гаврилов Д.К., Носиков В.В., Дебабов В.Г. // Мол. биол. - 1991. - Т. 25. - С. 1266 - 1271.
4. Acton R.T., Roseman J.M., Bell D.S. // Diabetes Care. - 1994. - Vol. 17. P. 1491 - 1494.
5. Andersen L.C., Beaty J.C., Nettles J.W. et al. // J. Exp. Med. - 1991. - Vol. 173. - P. 181 - 192.
6. Vanerji M.A., Norin A.J., Chaiken R.L., Lebovitz H.E. // Diabetes Care. - 1993. - Vol. 16. - P. 429 - 433.
7. Bodmer J.G., March S.G., Albert E.D. et al. // Eur. J. Immunogenet. - 1997. - Vol. 24. - P. 105 - 151.
8. Sailat-Zucman S., Bertin E., Timsit J. et al. // Eur. J. Immunol. - 1993. - Vol. 23. - P. 1784 - 1788.
9. Carrington M., Harding A. // Immunogenetics. - 1994. - Vol. 40. - P. 165.
10. Cavan D.A., Kelly M.A., Jacobs K.H. et al. // Autoimmunity. - 1994. - Vol. 17. - P. 123 - 125.
11. Davies J.L., Kawaguchi Y., Bennett S.T. et al. // Nature. - 1994. - Vol. 371. - P. 130 - 136.
12. Degli-Esposti M.A., Abraham L.J., Mccann V. // Immunogenetics. - 1992. - Vol. 36. - P. 345 - 356.
13. Dittmer I., Woodfield G., Simpson I. // N. Z. Med. J. - 1998 - Vol. 111. - P. 294 - 296.
14. Faustman D., Li X.P., Lin H.Y. et al. // Science. - 1991. - Vol. 254. - P. 1756 - 1761.
15. Gaudieri S., Leelayuwat S., Townent D.C. et al. // J. Mol. Evol. - 1997. - Vol. 44. - Suppl. 1. - P. S147 - S154.
16. Ghabanbasani M.Z., Spaepen M., Buysse I. // Clin. Genet. - 1995. - Vol. 47. - P. 225 - 230.
17. Hitman G.A., Niven M.J., Festenstein H. et al. // J. Clin. Invest. - 1987. - Vol. 79. - P. 609 - 615.
18. Jackson D.G., Capra J.D. // Proc. natl. Acad. Sci. USA. - 1993. - Vol. 90. - P. 11079 - 11083.
19. Jenkins D., Mijovic C., Fletcher J. et al. // Diabetologia. - 1990. - Vol. 33. - P. 387 - 395.
20. Juneja R., Palmer J.P. // Autoimmunity. - 1999. - Vol. 29. - P. 65-83.
21. Khalil I., D'Auriol L., Gobet M. et al. // J. Clin. Invest. - 1990. - Vol. 85. - P. 1315 - 1319.
22. Khalil I., Deschamps I., Lepage V. et al. // Diabetes. - 1992. - Vol. 41. - P. 378 - 384.
23. Kwok W.W., Gemayet N.S., Deapen D. et al. // Diabetes. - 1993. - Vol. 42. - P. 1351 - 1363.
24. Loffi M., Sasry A., Ye M., Vandermeulen J. et al. // Immunol. Lett. - 1994. - Vol. 41. - P. 201 - 204.
25. Ludwig H., Scherthaner G., Mayr W.R. // N. Engl. J. Med. - 1976. - Vol. 294. - P. 1066.
26. Maltani M.S., Ceman S., Weston M. et al. // J. Immunol. - 1993. - Vol. 151. - P. 6751 - 6756.
27. Marshall B., Leelayuwat C., Degli-Esposti M.A. // Hum. Immunol. - 1993. - Vol. 38. - P. 24 - 29.
28. Morris P., Shaman J., Attaya M. et al. // Nature. - 1994. - Vol. 368. - P. 551 - 554.
29. Nepom G.T. // Diabetes. - 1990. - V. 39. - P. 1153 - 1157.
30. Nerup J., Mandrup-Poulsen T., Molvig J. // Diab. Metab. Rev. - 1987. - Vol. 3. - P. 779 - 802.
31. Olmos P., A'Hern N., Heaton D.A. et al. // Diabetologia. - 1988. - Vol. 31. - P. 747 - 750.
32. Partanen J., Koskimies S., Ilonen J. // Tissue Antigens. - 1986. - Vol. 27. - P. 291 - 297.
33. Perfetto C., Zacheis M., McDavid D. et al. // Hum. Immunol. - 1993. - Vol. 36. - P. 27 - 33.
34. Pociot F., Wilson A.G., Nerup J., Duff G.W. // Eur. J. Immunol. - 1993. - Vol. 23. - P. 3050 - 3053.
35. Ratanachaiyavong S., Bidwell J.L., Bidwell E.A. Mc Gregor A.M. // Hum. Immunol. - 1991. - Vol. 30. - P. 136 - 139.
36. Reijonen H., Ilonen J., Akerblom H.K. et al. // Tissue Antigens. - 1994. - Vol. 43. - P. 1 - 6.
37. Rich S.S., French L.R., Sprafka J.M. et al. // Diabetologia. - 1993. - Vol. 36. P. 234 - 238.
38. Ronningen K.S., Gjertsen H.A., Iwe T. et al. // Diabetes. - 1991. - Vol. 40. P. 759 - 763.
39. Ronningen K.S. // In: HLA 1991. (Eds.: Tsuji K., Aizawa M., Sasazuki T.). Oxford University Press, Oxford. - 1992. - P. 713 - 722.
40. Sanderson F., Powis S.H., Kelly A.P., Trowdale J. // Immunogenetics. - 1994. - Vol. 39. - P. 56 - 58.
41. Singal D.P., Qui X., D'Souza M., Sood S.K. // Immunogenetics. - 1993. - Vol. 37. - P. 143 - 147.
42. Sukiennicki T.L., Shewey L.M., Nepom G.T. // Immunol. Res. - 1993. - V. 12. - P. 317 - 329.
43. Tilanis M.G.J., Vaneggermond M.C.J.A., Fei H. // Tissue Antigens. - 1987. - Vol. 30. - P. 128 - 134.
44. Todd J.A. // Diabetic Med. - 1994. - Vol. 11. - P. 6 - 16.
45. Todd J.A. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1995. - Vol. 92. - P. 8650 - 8655.
46. Todd J.A., Bell J.L., McDevitt H.O. // Nature. - 1987. - Vol. 329. - P. 599 - 604.
47. Tuomi T., Carlsson A., Li H. et al. // Diabetes. - 1999. - Vol. 48. - P. 150 - 157.
48. Tuomilehto-Wolf E., Tuomilehto J., Hitman G.A. // British Med. J. - 1993. - Vol. 307. - P. 155 - 159.
49. van Eldert P.M., Lopez M.T. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1992. - Vol. 89. - P. 11594 - 11597.
50. Vicario J.L., Martinez-Iaso J., Corell A. // Diabetologia. - 1992. - Vol. 35. - P. 475 - 481.
51. Wassmuth R., Lernmark A. // 1989. - Vol. 53. - P. 358 - 399.