

Локус генетической предрасположенности к диабету 1 типа IDDM2 (Сообщение 2)

Д.А. Чистяков, И.И. Дедов

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

Предпринятый в 1994 г. широкомасштабный генетический поиск областей сцепленности генов с инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) позволил обнаружить в геноме человека 12 локусов предрасположенности к заболеванию на 9 различных хромосомах (см. таблицу) [12, 42]. Из них с определенными генами соотнесены лишь три: IDDM1 (6p21) связан с генами HLA, а IDDM2 (11p15) - с геном инсулина (INS); на хромосоме 7p расположен локус предрасположенности, сцепленный с геном глюкокиназы (GSK). Главный вклад в генетический компонент развития ИЗСД вносит локус IDDM1, определяющий, насколько риск развития заболевания у потомков больных ИЗСД превышает величину среднего риска для популяции. В настоящем обзоре мы рассмотрим IDDM2 - другой генетически детерминированный локус предрасположенности.

Локус предрасположенности IDDM2 расположен в гене (INS) на хромосоме 11p15.5 [6]. В различных популяциях IDDM2 определяет от 5 до 15% семейной сегрегации ИЗСД [7], а вместе с IDDM1 эта доля колеблется от 40 до 60% [42].

Локусы генетической предрасположенности к ИЗСД в ДНК человека

Хромосома	Локус	λ_s	λ_s при 95% доверительном интервале	Ссылка
6p21	IDDM1	2.60	1.7 - 4.2	[12]
11p15	IDDM2	1.29	1.0 - 1.7	[7, 12]
15q	IDDM3			[13]
11q13	IDDM4	1.07	1.0 - 1.5	[12, 15]
6q25 (ESR)	IDDM5	1.16	1.0 - 1.7	[12]
18q	IDDM6	1.10	1.0 - 1.5	[12]
2q31	IDDM7	1.13	1.0 - 1.6	[12, 14]
6q27 (D6S264)	IDDM8	1.42	1.0 - 2.2	[27]
2q21-q25	IDDM9	1.26	1.0 - 1.7	[14]
Xq	Dxs1068	1.21		[11]
10p11.2-q11.2	IDDM10	1.45	1.0 - 2.2	[12, 15]
7p	GSK			[39]

Ген INS находится между генами тирозингидроксилазы (TH) и инсулиноподобного фактора роста II (IGF2) [22]. Область предрасположенности IDDM2 длиной 4,1 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов) содержит ген INS, был впервые описан в 1981 г. [4]. Он состоит из тандемно повторяющихся единиц размером 14-15 п.н. с консенсусной последовательностью AGAGGGGTGTGGGG [5]. Число повторов в составе VNTR может варьировать от 26 до более чем 200. В зависимости от их числа аллели VNTR подразделяют на 3 класса. Аллели класса I содержат от 26 до 63 повторяющихся единиц, тогда как аллели класса III включают от 141 до 209 звеньев. Промежуточный по длине класс II редко встречается у европеоидов и состоит из аллелей, содержащих около 80 тандемных повторов [5].

Исследования в европейских популяциях обнаружили достоверное увеличение частоты встречаемости гомозигот класса I у больных ИЗСД по сравнению со здоровыми людьми [6, 19, 33], что свидетельствует об ассоциации 5'VNTR с предрасположенностью к диабету. При этом гомозиготный генотип VNTR класса I выступает в качестве генетического фактора риска развития патологии. Анализ диабетических семей, имеющих хотя бы одного гетерозиготного родителя, выявил повышенную частоту передачи предрасполагающих аллелей класса I детям, больным диабетом, что дополнительно подтверждает связь между локусом INS и заболеванием [3, 35].

Показана способность аллелей VNTR модулировать экспрессию инсулина в тимусе. У индивидов, имеющих аллели класса III, уровень мРНК проинсулина в тимусе в 2-3 раза превышает аналогичные показатели у носителей аллелей класса I. Это свидетельствует о защитной роли аллелей класса III в развитии диабета. На основании этих данных выдвинуто предположение о том, что активация экспрессии инсулина в тимусе плода способствует индукции иммунной толерантности, нарушение которой ведет к появлению аутоантител и развитию аутоиммунных заболеваний, к которым относится и ИЗСД [43].

Среди прочих полиморфизмов гена INS строгую ассоциацию с заболеванием показали ПДФФ/HphI (полиморфизм длины рестриктазных фрагментов, выявляемый с помощью рестриктазы HphI в положении -23 п.н. и нуклеотидная замена A>G3123 в позиции +1140 п.н. (рис. 1) [26]. По всей видимости, среди всех полиморфизмов гена INS именно 5'VNTR наиболее тесно связан с развитием ИЗСД (рис. 2) [36]. В находящемся по соседству с локусом INS гене IGF2 обнаружен вариабельный участок A>G3123, сцепленный с полиморфизмом VNTR класса III [36]. При этом гаплотип VNTR класса III/A3123 обладает более выраженным защитным эффектом по сравнению с вариантом VNTR класса III/G2123. Гомозиготы G3123/G3123 ассоциированы с повышенным риском развития заболевания, однако этот генотип не может являться генетическим маркером ИЗСД, поскольку аллель G3123 обнаружен как среди предрасполагающих, так и защитных гаплотипов [36].

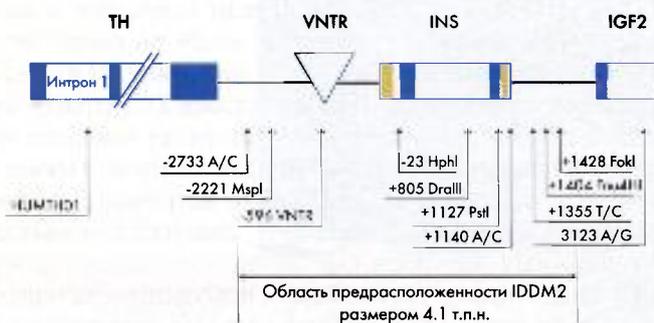


Рис. 1. Структурная организация локуса IDDM2 и соседствующие с ним гены. Границы локуса предрасположенности выделены стрелками. Полиморфные участки приведены в нижней части рисунка. Их положение (за исключением полиморфного участка 3123 A/G в п.р.) обозначено относительно первого нуклеотида стартового кодона ATG (+1) INS. Треугольником выделен 5' INS-VNTR. Заштрихованы нетранслируемые области. Интроны (некодирующие области генов) обозначены белыми прямоугольниками; экзоны (кодирующие участки) окрашены черным цветом.

Другой соседний ген - ген тирозингидроксилазы (локус HUMTH01) содержит в первом интроне I полиморфный тетра-нуклеотидный микросателлит, располагающийся в 9 т.п.н. от 5'-конца гена INS (см. рис. 1) [17]. Среди аллелей данного микросателлита пять (Z, Z-4, Z-8, Z-12, Z-16) являются основными. Сам по себе микросателлит HUMTH01 вряд ли может считаться генетическим маркером ИЗСД, поскольку расположен вне пределов зоны предрасположенности к заболеванию длиной 4.1 т.п.н. (см. рис. 1), а его аллель Z-8 встречается как в защитных, так и в предрасполагающих гаплотипах [8].

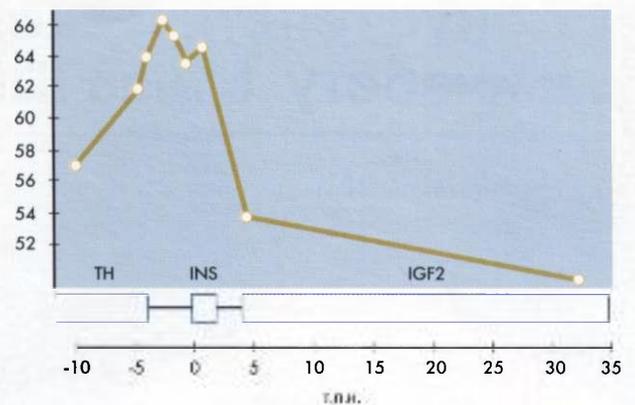


Рис. 2. Кривая неравновесного сцепления с ИЗСД участка хромосомы протяженностью около 40 т.п.н., включающая гены тирозингидроксилазы (TH), инсулина INS и инсулиноподобного фактора роста II (IGF2). Аллели, сцепленные с ИЗСД, должны передаваться от гетерозиготных родителей к больным детям с вероятностью, существенно превышающей 50%. Максимальный процент передачи (66%) имеют аллели класса I 5' INS-VNTR (от родителей, гетерозиготных по классам I и III), что свидетельствует о наибольшей силе сцепления заболевания именно с локусом 5' VNTR по сравнению с соседними участками ДНК.

Аллели VNTR класса III подразделяются на 15 подклассов (от 301 до 315), четко различающихся по размеру [9]. Между аллелем Z и подклассами 306-310 и аллелем Z-8 и подклассами 304-306 показано неравновесие по сцеплению (рис. 3). Гаплотипы, содержащие подклассы 306-310 и аллель Z-8, обнаруживают более выраженный защитный эффект по сравнению с различными комбинациями аллеля Z и подклассов 304-306 [9].

У европеоидов удалось различить 21 аллель VNTR класса I (рис. 4) [10]. Сообща аллели класса I гораздо чаще передаются диабетическим потомкам, чем аллели класса III от гетерозиготных пациентов, содержащих аллели обоих классов [29]. Таким образом, аллели класса I в целом строго ассоциированы с предрасположенностью к ИЗСД. Но

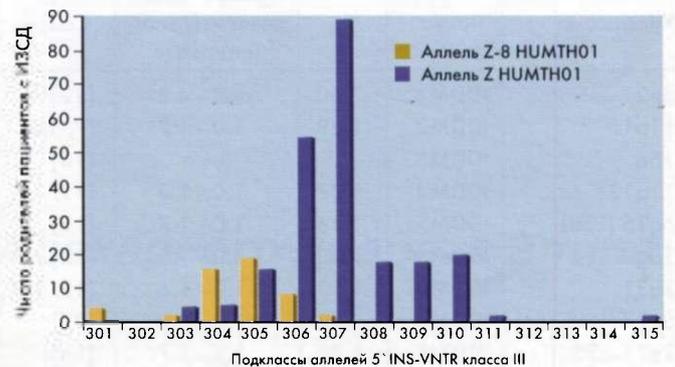


Рис. 3. Неравновесное сцепление между разными подклассами аллелей класса III 5' INS-VNTR и аллелями Z и Z-8 микросателлита HUMTH01 [9].

не все аллели в равной степени связаны с риском развития данной патологии: достоверный характер подобной ассоциации показан только для 15 аллелей из 21 [9].

Аллели класса I можно разделить по размеру на 3 основных подкласса. Малый подкласс (Is) включает аллели с длиной, близкой к размеру аллеля 655 п.н., который состоит из 312 повторов и наиболее распространен у больных ИЗСД среди аллелей своего подкласса. Аналогичным образом средний под-

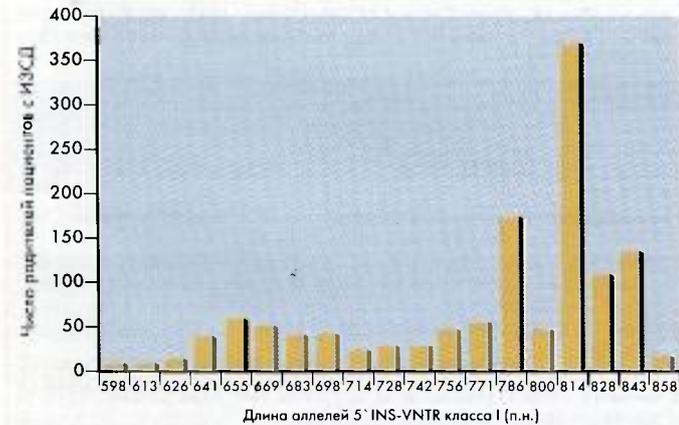


Рис. 4. Распределение частот аллелей класса I 5' INS-VNTR у родителей детей, больных ИЗСД [29].

класс (Im) состоит из аллелей, среди которых преобладает аллель 786 п.н. с 40 повторами, а большой подкласс (II) объединяет аллели по соседству с аллелем 814 п.н., содержащим 42 повторяющихся звена

классов [29]. Сильное неравновесие по сцеплению обнаружено для определенных аллелей VNTR класса I и микросателлита HUMTH01. Особенно заметно оно между аллелями подкласса Is и аллелем Z-4 локуса HUMTH01, а также между аллелями среднего подкласса и аллелем Z-12 (9), в то время как подкласс Im сцеплен с аллелем Z-16 (рис. 5) [29].

Вскрытие механизмов взаимодействия между разными генетическими локусами предрасположенности к одному и тому же наследственному заболеванию является важной ступенью в раскрытии их роли в патогенезе последнего. Так, локусы IDDM1 и IDDM2 могут взаимодействовать друг с другом через посредство продуктов экспрессии, участвующих в одних и тех же или перекрывающихся биохимических путях, нарушение которых приводит к развитию диабета. Инсулин может выступать в качестве аутоантитела и его презентация Т-клеткам рестрицируется определенными молекулами HLA класса I или II. О взаимодействии между локусами IDDM1 и IDDM2 свидетельствуют следующие факты. Предохраняющие аллели VNTR класса III уменьшают риск развития ИЗСД у лиц I-й степени родства с выявленными аутоантителами, несмотря на наличие у этих лиц предрасполагающих генотипов HLA [38]. В то же время наличие генотипа, гомозиготного по аллелям VNTR класса I, никоим образом не влияет на 25-кратный риск развития ИЗСД у пациентов с высокопредрасполагающим генотипом DQA1*030-DQB10302/DQA1*0501-DQB180201 [44]. Также не обнаружено предпочтительной передачи предрасполагающих аллелей локуса INS больным детям, гомозиготным по DR3 [23].

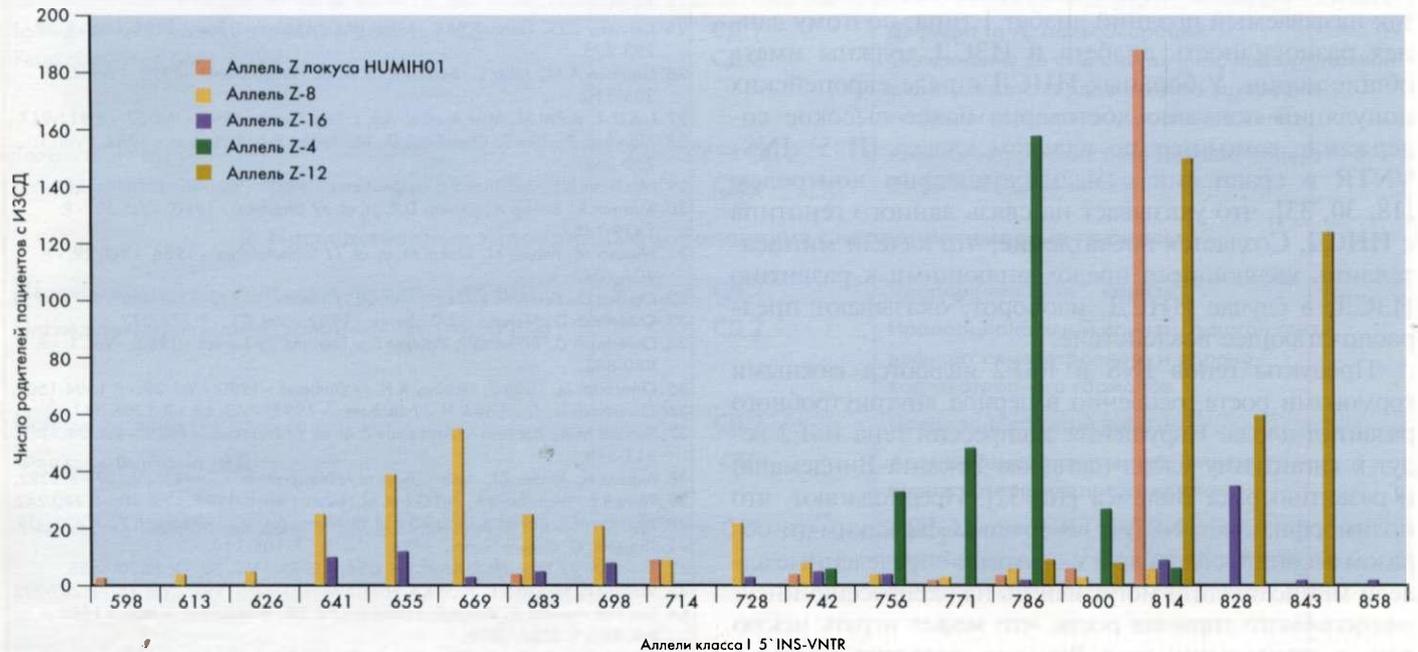


Рис. 5. Неравновесное сцепление между аллелями класса I 5' INS-VNTR и аллелями локуса HUMTH01 [29].

Как уже упоминалось, ген 5' VNTR гена INS способен влиять на экспрессию инсулина. Данный минисателлит содержит высокоаффинные участки связывания фактора транскрипции Ptg-1, который обладает способностью к индукции экспрессии INS в клетках, не способных к нормальной продукции данного гормона [25]. Белок MAZ, родственник Ptg-1, связан с терминацией транскрипции. Участки связывания этого белка могут присутствовать в промоторных областях многих генов, предотвращая сбои в транскрипции (эффект транскрипционной интерференции) и осуществляя эффективную терминацию, особенно в случае таких близко расположенных генов, какими являются гены TH и INS [2]. Вероятная функция 5' VNTR состоит в том, чтобы предотвращать сквозную транскрипцию гена INS и соседнего с ним гена TH. Анализ нуклеотидной последовательности аллеля VNTR длиной 698 п.н. выявил присутствие 17 областей с более чем 70%-ной гомологией с консенсусной последовательностью участка связывания MAZ [25]. Накоплено достаточно данных о влиянии аллельной вариабельности VNTR гена INS на уровни инсулина, его секрецию и экспрессию [7, 33, 37, 43], однако связано ли это с патогенезом ИЗСД, требует дальнейшей проверки.

Помимо ИЗСД, полиморфный локус 5' INS-VNTR был исследован на связь с другим наиболее распространенным типом диабета - неинсулинзависимым (ИНСД) [6, 18, 24, 30, 31], а также с другими нарушениями (диабетическая гипертриглицеридемия [21], ожирение и гиперинсулинемия [45], атеросклероз [28], сердечно-сосудистая патология [11] и т.д.). До 20% больных ИНСД, по всей видимости, имеют так называемый поздний диабет I типа, поэтому данная разновидность диабета и ИЗСД должны иметь общие корни. У больных ИНСД в ряде европейских популяций показано достоверно более высокое содержание гомозигот по аллелям класса III 5' INS-VNTR в сравнении с недиабетическим контролем [18, 30, 33], что указывает на связь данного генотипа с ИНСД. Создается впечатление, что аллели минисателлита, являющиеся предохраняющими к развитию ИЗСД, в случае ИНСД, наоборот, оказывают predisposing воздействие.

Продукты генов INS и IGF2 являются важными гормонами роста, особенно в период внутриутробного развития плода. Нарушения экспрессии гена IGF2 ведут к гигантизму плода (синдром Беквита-Виндемана) и развитию рака Вильмса [16, 32]. Предполагают, что полиморфизм 5' INS-VNTR и ген IGF2 каким-то образом ассоциированы друг с другом и определенные аллели минисателлита могут влиять на экспрессию инсулинподобного гормона роста, что может играть некую роль в становлении рака Вильмса, развитие которого связано с модификацией или дефицитом по IGF2 [40].

В любом случае, исследования роли минисателлита гена IBS в развитии ИЗСД и других наследственных заболеваний взаимно дополняют друг друга и результаты генетического анализа одной патологии могут быть использованы для аналогичного изучения другой.

Литература

1. Amos C., Cohen J., Srinivasan S. et al. // *Atherosclerosis*. - 1989. - Vol. 79. - P. 51-57.
2. Ashfield R., Patel A.J., Bossone S.A. // *EMBO J.* - 1994. - Vol. 13. - P. 6556-6567.
3. Bain S.C., Prins J.B., Hearne C.M. et al. // *Nature Genet.* - 1992. - Vol. 2. - P. 212-215.
4. Bell G.I., Karam J.H., Rutter W.J. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* - 1981. - Vol. 78. - P. 5759-5763.
5. Bell G.I., Selby M.J., Rutter W.J. // *Nature.* - 1982. - Vol. 295. - P. 31-35.
6. Bell G.I., Horita S., Karam J.H. // *Diabetes.* - 1984. - Vol. 33. - P. 176-183.
7. Bennett S.T., Lucassen A.M., Cough S.C.L. et al. // *Nature Genet.* - 1995. - Vol. 9. - P. 284-292.
8. Bennett S.T., Lucassen A.M., Cough S.C.L. et al. // *Nature Genet.* - 1995. - Vol. 9. - P. 379-380.
9. Bennett S.T., Lucassen A.M., Todd J.A. et al. // In: *PCR: Essential Techniques / Ed. J.F. Burke.* - Oxford: BIOS Sci. Publ., 1995. - P. 31-33.
10. Bennett S.T., Wilson A.J., Cucca F. et al. // *Autoimmun.* - 1996. - Vol. 9. - P. 415-421.
11. Cordell H.J., Kawaguchi Y., Todd J.A., Farrall M. // *Am. J. Hum. Genet.* - 1995. - Vol. 59. - P. 435-449.
12. Davies J.L., Kawaguchi Y., Bennett S.T. et al. // *Nature.* - 1994. - Vol. 371. - P. 130-136.
13. Field L., Tobias R., Magnus T. // *Nature Genet.* - 1994. - Vol. 8. - P. 189-194.
14. Gornelis F., Faure S., Martinez M. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1998. - Vol. 95. - P. 10746-10750.
15. Hashimoto L., Habita C., Beressi J. et al. // *Nature.* - 1994. - Vol. 371. - P. 161-164.
16. Hastie N.D. // *Annu. Rev. Genet.* - 1994. - Vol. 28. - P. 523-528.
17. Hearne C.M., Ghosh S., Todd J.A. // *Trends Genet.* - 1992. - Vol. 8. - P. 288-294.
18. Hitman G.A., Jowett A.C., Williams L.G. et al. // *Diabetologia.* - 1984. - Vol. 28. - P. 218-222.
19. Hitman G.A., Tarn A.C., Winter R.M. // *Diabetologia.* - 1985. - Vol. 28. - P. 218-222.
20. Horton V., Stratton I., Zimmet P. et al. // *Diabetes.* - 1995. - Vol. 44. - P. 236A.
21. Jowett N.I., Williams L.G., Hitman G.A., Galton D.H. // *Br. Med. J.* - 1984. - Vol. 288. - P. 96-99.
22. Juinet C., van Heiningen V. // *Cytogenet. Cell. Genet.* - 1991. - Vol. 58. - P. 459-454.
23. Julier C., Hyer R.N., Davies J. et al. // *Nature.* - 1991. - Vol. 354. - P. 155-159.
24. Kambo P.K., Hitman G.A., Mohan V. et al. // *Diabetologia.* - 1989. - Vol. 32. - P. 45-51.
25. Kennedy C.G., German M.C., Rutter W.J. // *Nature Genet.* - 1995. - Vol. 9. - P. 293-298.
26. Lucassen A.M., Julier C., Beressi J. et al. // *Nature Genet.* - 1993. - Vol. 4. - P. 305-310.
27. Luo D.-F., Bui M.M., Muir A. et al. // *Am. J. Hum. Genet.* - 1995. - Vol. 57. - P. 911-917.
28. Mandrup-Poulsen T., Owerbach D., Mortensen S.A. // *Lancet.* - 1984. - Vol. 1. - P. 250-252.
29. McGinnis R.E., Spielman R.S. // *Diabetes.* - 1995. - Vol. 44. - P. 1296-1302.
30. Morgan R., Bishop A., Owens D.R. et al. // *Diabetes.* - 1990. - Vol. 39. - P. 1479-1484.
31. Nimura M., Iwama N., Mukai M. et al. // *Diabetologia.* - 1986. - Vol. 29. - P. 402-404.
32. Ogawa O., Eccles M.R., Szeto J. et al. // *Nature.* - 1993. - Vol. 362. - P. 749-751.
33. Owerbach D., Nerup J. // *Diabetes.* - 1982. - Vol. 31. - P. 275-277.
34. Owerbach D., Billestolle P., Poulsen S., Nerup J. // *Lancet.* - 1982. - Vol. 1. - P. 880-883.
35. Owerbach D., Gunn S., Gubbay K.H. // *Diabetes.* - 1990. - Vol. 39. - P. 1504-1509.
36. Owerbach D., Gubbay K.H. // *Diabetes.* - 1993. - Vol. 42. - P. 1708-1714.
37. Permutt M.A., Rotwein P., Andreone T. et al. // *Diabetes.* - 1985. - Vol. 34. - P. 311-314.
38. Pugliese A., Awdeh Z.L., Alper C.A. et al. // *Transp. Proc.* - 1995. - Vol. 27. - P. 3392.
39. Rowe R.E., Wapelhorst B., Bell G.I. et al. // *Nature Genet.* - 1995. - Vol. 10. - P. 240-242.
40. Steeman M.J., Rainier S., Dobry S.J. et al. // *Nature Genet.* - 1994. - Vol. 7. - P. 433-439.
41. Thomson G. // *Nature Genet.* - 1994. - Vol. 8. - P. 108-110.
42. Todd J.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1995. - Vol. 92. - P. 8650-8655.
43. Vafiadis P., Bennett S.T., Todd J.A. et al. // *Nature Genet.* - 1997. - Vol. 15. - P. 289-292.
44. Van Der Auwera B., Schutt F., Lauruu I. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 1995. - Vol. 80. - P. 2567-2573.
45. Weaver J.U., Kopelman P.G., Hitman G.A. // *Eur. J. Clin. Invest.* - 1992. - Vol. 22. - P. 265-270.