

УДК 616.344-002-031.84-07:575.224

## ПОИСК ГЕНОВ ПОДВЕРЖЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗУ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОЛНОГЕНОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА

Рудко А.А.<sup>1</sup>, Фрейдин М.Б.<sup>1</sup>, Брагина Е.Ю.<sup>1</sup>, Ан А.Р.<sup>2</sup>, Пузырёв В.П.<sup>1,2</sup><sup>1</sup> НИИ медицинской генетики СО РАМН, г. Томск<sup>2</sup> Сибирской государственной медицинской университет, г. Томск

### РЕЗЮМЕ

Болезнь Крона (БК) и туберкулез (ТБ) имеют сходные патогенетические механизмы, что предполагает также общность генетической компоненты подверженности этим болезням. Для обоснования этого предположения у русских Томской области и коренного населения Республики Тувы проведен анализ ассоциации ТБ с полиморфными вариантами генов, связанных по данным полногеномных исследований с БК. У русских впервые обнаружены статистически значимые ассоциации ТБ с полиморфизмами rs2872507 (*ORMDL3*), rs3810936 (*TNFSF15*), rs10192702 (*ATG16L1*), rs9286879 (1q24.3), rs10507523 (13q14.11). У тувинцев связь с заболеванием выявлена для полиморфных вариантов rs1407308 (*TNFSF15*) и rs1736135 (21q21.1). Обнаруженные ассоциации генных маркеров с заболеванием могут быть обусловлены функциональной ролью кодируемых белков и их патогенетическим влиянием на иммунные реакции, связанные с развитием инфекции. Таким образом, изучение полиморфизма генов, влияющих на развитие БК, позволило обнаружить новые гены-кандидаты подверженности ТБ.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** туберкулез, болезнь Крона, полиморфизм, полногеномный анализ ассоциаций, гены-кандидаты, подверженность, ассоциация.

### Введение

Туберкулез (ТБ) остается одной из наиболее распространенных и опасных инфекций в мире, от которой ежегодно умирает более 2 млн человек, несмотря на достигнутые успехи в изучении механизмов иммунной защиты организма хозяина и факторов вирулентности возбудителя заболевания *Mycobacterium tuberculosis*. Влияние наследственности человека на развитие ТБ не вызывает сомнений, свидетельством этому служат данные эпидемиологических и близнецовых исследований [18]. Поиск генетических маркеров, влияющих на подверженность инфекционным заболеваниям, включая ТБ, начался в середине прошлого века с изучения ассоциаций групп крови и других фенотипических признаков с заболеванием [13].

С развитием молекулярно-генетических технологий началась эра ассоциативных исследований, заключающаяся в поиске ассоциаций полиморфных вариантов различных генов-кандидатов с исследуемым

фенотипом методом «случай – контроль». Этот подход позволил обнаружить ассоциации ТБ с десятком генов, однако основным его недостатком является противоречивость результатов, полученных в различных популяциях, что может быть обусловлено рядом причин: дизайном исследования, объемом и однородностью исследуемых выборок, этнической специфичностью частот аллелей генов подверженности, влиянием эпигенетических факторов [5]. На фоне успехов в изучении генома человека все большую популярность приобретают полногеномные ассоциативные исследования (genome-wide association study – GWAS), обладающие высокой мощностью и позволяющие идентифицировать новые гены-кандидаты на основе их геномной локализации без знания о биологическом эффекте или типе наследования этих генов [2, 3, 13]. В табл. 1 представлены результаты полногеномных исследований подверженности ТБ. Определенные локусы и гены, обнаруженные в GWAS, предрасполагают к нескольким иммунозависимым заболеваниям, как, например, показано в отношении разных аутоиммунных заболеваний, что предполагает наличие общих

✉ Рудко Алексей Анатольевич, тел.: 8-903-953-3983, 8-3822-53-5683; e-mail: aleksey.rudko@medgenetics.ru

метаболических и сигнальных путей, патогенетически общих для разных болезней [27].

Таблица 1

Результаты полногеномного картирования генов подверженности туберкулезу				
Страна исследования	Изученные выборки	Ассоциация с ТБ	LOD или OR <sup>#</sup>	Источник
<i>Полногеномный анализ сцепления</i>				
Гамбия	Гамбия, 67 семей с ТБ (73 sibсовы пары); КуаЗулу-Натал, 16 семей с ТБ (19 sibсовых пары)	Hxq26 15q11-13	1,82 2,18	[7]
Бразилия	16 семей с ТБ (178 человек)	10q26.13 11q12.3 20p12.1	1,31 1,85 1,78	[16]
Марокко	96 семей с ТБ (227 sibсов)	1q22 3q27-q28 8q12-q13	2,00 1,93 3,38	[10]
ЮАР	ЮАР, 81 семья с ТБ (131 sibсовая пара); Малави, 24 семьи (24 sibсовые пары)	6p21-q23 20q13.31-33	1,90 2,00	[9]
Уганда	193 семьи с ТБ (803 человека)	2q21-q24** 5p13-q22** 7p22-p21 20q13	$p < 10^{-3}$ * $p < 10^{-3}$ * $p < 10^{-3}$ * $p = 0,002$ *	[22]
Таиланд	95 семей с ТБ (199 пациентов)	5q23.2-31.3 17p13.3-13.1 20p13-12.3	2,29 2,57 3,33	[14]
<i>Полногеномные ассоциативные исследования<sup>#</sup></i>				
Гана и Гамбия	11 425 индивидов	18q11.2	1,19	[24]
Таиланд и Япония	Таиланд: 433 пациента с ТБ и 295 – контроль; Япония: 188 пациентов с ТБ, 934 – контроль	20q12	1,73	[15]
Индонезия и Россия	Индонезия: 799 пациентов с ТБ и 746 – контроль; Россия: 1 912 пациентов с ТБ и 2 104 – контроль	<i>JAG1</i> <i>DYNLR</i> <i>EBF1</i> <i>TMEFF2</i> <i>CCL17</i> <i>HAUS6</i> <i>PENK</i> <i>TXNDC4</i>	1,14 1,18 0,73 0,89 0,89 1,18 1,14 1,11	[20]

<sup>#</sup> При полногеномном анализе сцепления представлены полученные значения LOD-балла, а при ассоциативных исследованиях – значения OR при достигнутом уровне значимости ( $p \leq 0,001$ ).

\* В исследовании С. Stein и соавт. расчет LOD-балла не проводился.

\*\* Сцепление локусов выявлено с резистентностью к микобактерии, проявляющейся отрицательными кожными пробами с туберкулином.

Исходя из концепции общих патогенетических механизмов, результаты GWAS, установившие локусы восприимчивости разных иммунных патологий, могут быть использованы для поиска генов подверженности ТБ. Именно такой подход был использован в настоя-

щей работе. В ходе GWAS, выполненного в 2007 г. для семи распространенных многофакторных заболеваний, обнаружена связь болезни Крона с рядом генов, ответственных за аутофагию – механизм врожденного иммунитета, используемый организмом для защиты от внутриклеточных бактериальных патогенов [23]. Значимость аутофагии в процессах борьбы макроорганизма с туберкулезной инфекцией активно обсуждается в последние годы [21, 25]. Таким образом, можно предположить, что эти гены и их полиморфные варианты, проявившие связь с болезнью Крона, могут влиять и на подверженность ТБ.

Цель исследования – поиск в этнически дифференцированных популяциях Сибири (русские и тувинцы) ассоциации ТБ с полиморфными вариантами генов, проявивших ранее ассоциацию с болезнью Крона.

## Материал и методы

Для исследования использовали образцы ДНК-банка НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск). Формирование выборок производилось на основании разработанных критериев включения-исключения, в соответствии с этическими нормами, с обязательным получением информированного согласия испытуемых.

Критерии включения в выборку больных: наличие у пациента диагноза «туберкулез легких», установленного на основании данных микроскопии мокроты с обязательным рентгенологическим исследованием легких для определения формы заболевания и распространенности специфического процесса. Критериями включения образцов ДНК в контрольную выборку были отсутствие ТБ в анамнезе и родства между индивидами. Группы больных легочным туберкулезом являлись однородными по этнической принадлежности (русские, тувинцы), сформированы из индивидов, не родственных между собой. Средний возраст в выборке русских (304 человека) составил  $(30,6 \pm 15,4)$  года. Доля лиц женского пола составила 32,6% (99 человек), мужского – 67,4% (205 человек). Выборка больных туберкулезом тувинцев включала в себя 238 человек (средний возраст  $(33,4 \pm 12,9)$  года), из них 49,2% – лица женского пола (117 человек), доля лиц мужского пола составила 50,8% (121).

Контрольные группы для исследования сформированы на основе популяционных выборок русских жителей Томской области (150 человек, в том числе 120 (80%) женщин, 30 (20%) мужчин) и коренных жителей Республики Тувы (265 человек, из них 201 (76,4%) – мужчины, 62 (23,6%) – женщины). Средний возраст в выборке русских составил  $(31,6 \pm 13,5)$  года.

Средний возраст в контрольной выборке тувинцев составил  $(33,1 \pm 8,4)$  года.

Изучены 54 полиморфных варианта 25 генов и локусов, для которых ранее выявлены ассоциации с болезнью Крона (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика исследованных генов					
Ген (SNP)	OMIM, название гена	Локализация на хромосоме	Функциональная значимость кодируемого белка	Исследованный полиморфизм	
<i>IL23R</i>	607562, рецептор к интерлейкину 23	1p31.3	Рецептор провоспалительного цитокина семейства IL-12	rs11805303 rs10489629 rs11465804 rs1343152	
<i>ITLN1</i>	609873, интеллектин 1	1q23.3	Рецептор к бактериальным арабиногалактанам и лактоферрину	rs2274910	
1q24.3	–	1q24.3	Не известна	rs9286879	
1q32.1	–	1q32.1	Не известна	rs11584383	
<i>ATG16L1</i>	610767, аутофагии 16-подобный 1	2q37.1	Компонент протеинового комплекса, играющего важную роль при аутофагии	rs13391356 rs3828309 rs2289472	rs2241880_2 rs104510 rs10192702
<i>BSN</i>	604020, белок цинковых пальчиков 231	3p21.31	Участвует в организации цитоскелета нервных синапсов	rs9858542 rs4855881 rs9822268 rs3197999 rs9858213	
<i>PTGER4</i>	601586, рецептор 4 к простагландину E	5p13.1	Рецептор простагландина E2, вызывающего расслабление гладкомышечных волокон	rs4613763	
<i>IRGM</i>	608212, семейство GTP-аз, относящихся к иммунитету, M	5q33.1	Регуляция аутофагии в ответ на внутриклеточных возбудителей	rs13361189 rs1065172 rs4958847	
<i>IL12B</i>	161561, p40-субъединица интерлейкина 12	5q33.3	Субъединица провоспалительных цитокинов ИЛ-12 и ИЛ-23. Активация клеточного иммунитета	rs1045431 rs6887695	
<i>CCR6</i>	601835, хемокиновый рецептор 6	6q27	Регуляция иммунитета. Рецептор семейства бета-хемокинов, экспрессируется на дендритных клетках и Т-клетках памяти	rs2301436	
7p12.2	–	7p12.2	Не известна	rs1456893	
8q24.13	–	8q24.13	Не известна	rs1551398	
<i>TNFSF15</i>	604052, 15-й член суперсемейства лиганда фактора некроза опухолей	9q32	Цитокин, член семейства ФНО, регулирует иммунные реакции, клеточную пролиферацию, воспаление	rs3810936 rs6478108 rs4263839	rs1407308 rs7866342
<i>ZNF365</i>	607818, белок цинковых пальчиков 365	10q21.2	Ген кодирует несколько изоформ, которые имеют различные паттерны экспрессии и функций	rs10995271	
<i>NKX2-3</i>	606727, NK2 гомеобокс 3	10q24.2	Транскрипционный фактор, возможна роль в процессах клеточной дифференцировки	rs11190140	
<i>C11ORF30</i>	608574, открытая рамка считывания 30 хромосомы 11	11q13.5	Регулятор транскрипции, возможна роль в процессах репарации ДНК	rs7927894 rs7927894_2	
<i>CCDC122</i>	613408, биспиральный DOMAIN-содержащий белок 122	13q14.11	Белок экспрессируется и локализуется в различных клеточных компартментах. Функция не известна. Выявлена ассоциация с лепрой	rs1888302 rs9567293 rs9525865	
13q14.11	–	13q14.11	Не известна	rs10507523 rs9562532	
<i>NOD2</i>	605956, нуклеотидсвязывающий домен олигомеризации белка	16q12.1	Играет роль во врожденном клеточном иммунитете на липополисахаридах внутриклеточных бактерий	rs7194886 rs4785224	rs2067085 rs17312836
<i>ORMDL3</i>	610075, ORM1-подобный белок 3	17q12	Негативная регуляция синтеза сфинголипидов	rs2872507	
<i>STAT3</i>	102582, сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции 3	17q21.2	Активатор транскрипции, в ответ на ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-11, gp-130 и др.	rs744166 rs7211777 rs17881438	
<i>PTRF</i>	603198, РНК-полимераза I, и фактор транскрипции	17q21.2	Регуляция транскрипции РНК	rs12948909 rs11079045	
<i>NAGLU</i>	609701, N-ацетилглюкоз-аминидаза	17q21.2	Вовлечен в процессы деградации гепаран-сульфата. Мутации приводят к развитию мукополисахаридоза III	rs647397	

<i>PTPN2</i>	176887, Т-клеточная протеин-тирозин фосфатаза	18p11.21	Регулятор различных клеточных процессов, включая рост клеток, их дифференцировку, мито- тический цикл и онкогенные преобразования	rs2542151
21q21.1	–	21q21.1	Не известна	rs1736135

Генотипирование выбранных полиморфных маркеров выполнено с помощью iPLEX-анализа полиморфизмов на массспектрометре MassARRAY System SEQUENOM в 384-луночном формате. Данный метод основан на отличии масс продуктов амплификации альтернативных аллелей и состоит из ряда последовательных этапов (мультиплексная полимеразная цепная реакция (ПЦР), SAP-реакция, iPLEXGold реакция и анализ спектров). Для проведения ПЦР использовали структуры праймеров и условия генотипирования, предоставленные сотрудниками Центра генетики человека Wellcome Trust Оксфордского университета (Великобритания) в рамках сотрудничества по изучению генетики подверженности ТБ.

Поиск ассоциации маркеров исследуемых генов с ТБ и его отдельными формами проводили путем сравнения частот аллелей и генотипов между больными и здоровыми индивидами, используя критерий  $\chi^2$ . При ожидаемых численностях генотипов менее пяти использовали точный тест Фишера. Об ассоциации разных генотипов (или их комбинаций) и аллелей с заболеванием судили также по величине отношения шансов (oddsratio – OR) [19]. Уровень статистической значимости различий в настоящем исследовании принят при значении  $p < 0,05$ . Расчеты осуществляли с помощью программ Statistica 5.0 for Windows и Microsoft Excel 2007.

## Результаты и обсуждение

Известно, что восприимчивость к инфекционному заболеванию определяется одновременно многими генами с различным вкладом каждого из них в формирование того или иного патологического фенотипа. К тому же один и тот же ген может участвовать в формировании чувствительности (или резистентности) к нескольким инфекционным заболеваниям. Вероятно, для каждого гена (и их ансамблей) существует свое «поле действия», которое модифицируется средой [1]. Сочетания генов предрасположенности к болезни могут быть неодинаковыми в популяциях, обуславливая различия в подверженности заболеванию у разных народов. В связи с этим перспективным направлением исследований генетических основ предрасположенности к ТБ является изучение вкладов конкретных полиморфизмов в различающихся как по расовой, так и по этнической принадлежности популяциях.

В исследованной популяции славянского населения Томской области ассоциация с ТБ выявлена для полиморфизма rs2872507 гена *ORMDL3* как при сравнении частот аллелей, так и при сравнении частот генотипов (табл. 3). При этом рисковым в отношении ТБ являлся редкий аллель А (OR 1,59; 95%-й CI: 1,13–7,41;  $p = 0,01$ ). Частота гомозигот по этому аллелю в группе больных фактически в 2 раза превышала такую в контрольной выборке ( $p = 0,02$ ).

Таблица 3

Частоты аллелей и генотипов изученных полиморфизмов больных туберкулезом и здоровых лиц								
Ген (SNP)	Группа	Численность генотипов				Частоты аллелей	Сравнение частот генотипов (d.f. = 2)	Сравнение частот аллелей (d.f. = 1)
<i>Русские</i>								
<i>ORMDL3</i> (rs2872507)	Больные ТБ Контроль	GG	GA	AA	G	$\chi^2 = 6,42$ $p = 0,04$	$\chi^2 = 6,66$ $p = 0,01$	
		84 43	117 39	63 14	53,98 65,10			
1q24.3 (rs9286879)	Больные ТБ Контроль	GG	GA	AA	G	$\chi^2 = 5,40$ $p = 0,065$	$\chi^2 = 4,96$ $p = 0,03$	
		22 4	106 44	166 93	25,51 18,44			
<i>TNFSF15</i> (rs3810936)	Больные ТБ Контроль	CC	CT	TT	C	$\chi^2 = 7,33$ $p = 0,03$	$\chi^2 = 1,19$ $p = 0,27$	
		146 70	109 65	43 9	67,28 71,18			
13q14.11 (rs10507523)	Больные ТБ Контроль	AA	AC	CC	A	$\chi^2 = 7,28$ $p = 0,03$	$\chi^2 = 2,16$ $p = 0,14$	
		9 2	62 46	226 95	13,47 17,48			
<i>ATG16L1</i> (rs10192702)	Больные ТБ Контроль	AA	AC	CC	A	$\chi^2 = 8,61$ $p = 0,01$	$\chi^2 = 0,00$ $p = 0,99$	
		99 38	133 86	68 22	55,17 55,48			
<i>Тувинцы</i>								
<i>TNFSF15</i> (rs1407308)		TT	GT	GG	T			

	Больные ТБ Контроль	150 139	42 77	5 7	86,80 79,60	$\chi^2 = 9,47$ $p = 0,009$	$\chi^2 = 7,19$ $p = 0,007$
21q21.1 (rs1736135)	Больные ТБ Контроль	CC 7 15	CT 62 88	TT 144 123	C 17,84 26,11	$\chi^2 = 8,69$ $p = 0,01$	$\chi^2 = 8,23$ $p = 0,004$

Для полиморфизма rs9286879, расположенного в локусе 1q24.3, ассоциация с ТБ обнаружена при сравнении частот аллелей: рисковым в отношении развития заболевания являлся аллель G (OR 1,51; 95%-й CI: 1,05–2,19;  $p = 0,03$ ).

Кроме того, при сравнении частот генотипов ассоциации с ТБ обнаружены для полиморфизма rs10507523, расположенного в локусе 13q14.11 ( $\chi^2 = 7,28$ ,  $p = 0,03$ ), полиморфизма rs3810936 гена *TNFSF15* ( $\chi^2 = 7,33$ ;  $p = 0,03$ ) и полиморфизма rs10192702 гена *ATG16L1* ( $\chi^2 = 8,61$ ;  $p = 0,01$ ). В случае с полиморфизмом rs3810936 различия частот генотипов обусловлены избытком гомозигот по редкому аллелю TT в группе пациентов с ТБ (OR 2,53; 95%-й CI: 1,15–5,75;  $p = 0,02$ ), для полиморфизма rs10507523 ассоциация обусловлена избытком в группе больных гомозигот по частому аллелю CC (OR 1,61; 95%-й CI: 1,01–2,55;  $p = 0,04$ ), для полиморфизма rs10192702 различия частот генотипов обусловлены недостатком гетерозигот в группе больных ТБ (OR 0,56; 95%-й CI: 0,36–0,85;  $p = 0,005$ ).

При изучении тувинской популяции ассоциации с ТБ выявлены для полиморфизмов rs1407308 гена *TNFSF15* и rs1736135, расположенного в локусе 21q21.1, как при сравнении частот аллелей, так и при сравнении частот генотипов (табл. 3). В обоих случаях для редкого в тувинской популяции аллеля обнаружен протективный эффект в отношении ТБ (OR 0,593; 95%-й CI: 0,40–0,87;  $p = 0,007$ ; OR 0,61; 95%-й CI: 0,44–0,86;  $p = 0,004$  для rs1407308 и rs1736135 соответственно).

Белок, кодируемый геном *TNFSF15*, представляет собой цитокин, принадлежащий к семейству фактора некроза опухолей. Его экспрессия обнаружена в эндотелиальных клетках в ответ на такие провоспалительные цитокины, как TNF и IL-1. Белок TNFSF15 приводит к активации NF-κB и MAP-киназ, контролирующих экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла [6]. Выявлены многочисленные ассоциации полиморфных вариантов этого гена с болезнью Крона и неспецифическим язвенным колитом. В отношении ТБ ген ранее не изучен, однако, учитывая иммунорегулирующую функцию кодируемого им белка, полиморфизм гена может влиять на подверженность заболеванию.

Ген *ORMDL3* наиболее часто в литературе упоминается как ген-кандидат подверженности бронхиальной астме, в том числе у детей, что подтверждено ре-

зультатами GWAS и ассоциативными исследованиями [17]. Обнаружены ассоциации этого гена и с различными аутоиммунными заболеваниями. Кодируемый геном белок является негативным регулятором синтеза сфинголипидов, кроме того, влияя на регуляцию кальциевых сигналов в эндоплазматическом ретикулуме, он рассматривается как эндогенный индуктор воспаления [8].

В полногеномном исследовании [11] обнаружена ассоциация полиморфизма гена *ATG16L1* с болезнью Крона, подтвержденная впоследствии в многочисленных ассоциативных исследованиях в различных популяциях. Белковый продукт гена *ATG16L1* является компонентом большого протеинового комплекса, влияющего на процесс аутофагии [21, 25].

Помимо полиморфных вариантов известных генов связь с заболеванием выявлена для трех маркеров, находящихся в межгенных областях: локусов 1q24.3 и 13q14.11 – у русских, 21q21.1 и 13q14.11 – у тувинцев.

На расстоянии ±0,5 мегабаз (Мб) от полиморфизма rs9286879 в локусе 1q24.3 располагаются семь генов: *DNM3*, *C1ORF9*, *PIGC*, *C1orf105*, *TNFSF6*, *TNFSF4*, *TNFSF18*, среди которых определен интерес с точки зрения возможного патогенетического влияния на развитие ТБ могут представлять последние три, белковые продукты которых являются цитокинами, принадлежащими к семейству фактора некроза опухолей. Продукт *TNFSF6* является ключевым элементом в запуске апоптоза в некоторых типах клеток, в частности лимфоцитах. Мутации этого гена ассоциированы с таким аутоиммунным заболеванием, как системная красная волчанка. *TNFSF4* вовлечен в процессы взаимодействия Т-клеток с антигенпрезентирующими клетками, является кофактором пролиферации Т-клеток и продукции различных цитокинов. *TNFSF18* активно экспрессируется в эндотелиальных клетках и играет значимую роль в их взаимодействии с активированными Т-лимфоцитами.

Локус 13q14.11 содержит четыре гена: *ENOX1*, *CCDC122*, *LAC1*, *TNFSF11*. Функция белка *CCDC122* не известна, однако выявлена ассоциация его полиморфизма с лепрой, микобактерийным заболеванием, сходным по патогенезу с ТБ [26]. *TNFSF11* является лигандом остеопротегерина и функционирует как ключевой фактор дифференцировки и активации остеокластов. Кроме того, он является фактором выживания дендритных клеток и вовлечен в Т-клеточный иммунный ответ.

В непосредственной близости ( $\pm 0,5$  Мб) от изученного полиморфизма rs1736135 локуса 21q21.1 расположены гены *NR1P1*, *USP25*, не вовлеченные в процессы иммунной защиты. В то же время соседний локус 21q22.11 содержит целый пул генов, ответственных за регулирование иммунных реакций, в том числе при ТБ: *IFNAR1*, *IFNAR2*, *IFNGR2*, *IL10RB* и др.

Таким образом, в настоящем исследовании обнаружена ассоциация ТБ с полиморфизмом ряда новых генов-кандидатов. Согласно базе данных генетических ассоциаций HuGE Navigator ([www.hugenavigator.net/](http://www.hugenavigator.net/)), ни один из генов, проявивших ассоциацию с ТБ в настоящем исследовании, ранее в отношении подверженности заболеванию не был изучен.

## Заключение

Полученные ассоциации объяснимы с точки зрения возможного функционального влияния кодируемых генами белков на процессы иммунной защиты при туберкулезной инфекции. Выявлена определенная этническая специфика обнаруженных ассоциаций, проявляющаяся в том, что некоторые полиморфизмы связаны с ТБ либо только у русских, либо только у тувинцев. Ранее это было показано при изучении других генов-кандидатов подверженности ТБ [4]. В то же время обнаруженная связь с ТБ полиморфизмов гена *TNFSF15* обеих изученных популяций свидетельствует о неслучайности полученных ассоциаций. В отношении генов подверженности астме недавно проведено масштабное исследование более ста генов-кандидатов [12]. В этом исследовании не удалось подтвердить ассоциации для 95 генов и только для трех генов установлена ассоциация с бронхиальной астмой (БА) в двух этнически родственных популяциях. Эти и другие аналогичные данные позволяют предположить наличие небольшого числа общих генов БА, эффекты которых лишь слабо модифицируются межгенными и генно-средовыми взаимодействиями, в то время как более значительная часть генов подверженности проявляют скорее популяционно-специфические эффекты в отношении развития заболевания. Аналогичное предположение можно сделать и для ТБ, в частности, вероятно, ген *TNFSF15* является общим геном подверженности ТБ, тогда как другие гены, для которых установлена ассоциация с заболеванием в проведенном исследовании, являются этноспецифическими в этом отношении.

Полученные результаты, без сомнения, представляют интерес для дальнейшего изучения. Учитывая новизну данных полиморфизмов с точки зрения ассоциативных исследований при ТБ, отсутствие информации о функциональной роли ряда исследованных

маркеров, перспективным является их дальнейшее изучение, в том числе и с использованием экспериментальных моделей для определения патогенетической значимости при ТБ.

*Исследование выполнено при поддержке Министрства образования и науки Российской Федерации, соглашения № 8042 (НОЦ), № 8156.*

## Литература

1. Пузырёв В.П. Генетика мультифакториальных заболеваний: между прошлым и будущим // Мед. генетика. 2003. Т. 2, № 12. С. 498–508.
2. Пузырёв В.П. Феномно-геномные отношения и патогенетика многофакторных заболеваний // Вестн. РАМН. 2011. № 9. С. 17–27.
3. Рудко А.А., Фрейдин М.Б., Пузырёв В.П. Наследственная подверженность туберкулезу // Молекулярная медицина. 2011. № 3. С. 3–10.
4. Фрейдин М.Б., Рудко А.А., Колоколова О.В. и др. Сравнительный анализ структуры наследственной компоненты подверженности к туберкулезу у тувинцев и русских // Молекулярная биология. 2006. Т. 40, № 2. С. 252–262.
5. Azad A.K., Sadee W., Schlesinger L.S. Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis // Infect. Immun. 2012. V. 80, № 20. P. 3343–3359.
6. Bamias G., Martin C., Marin M. et al. Expression, localization, and functional activity of TL1A, a novel Th1-polarizing cytokine in inflammatory bowel disease // J. Immunol. 2003. V. 171. P. 4868–4874.
7. Bellamy R. Identifying genetic susceptibility factors for tuberculosis in Africans: a combined approach using a candidate gene study and a genome-wide screen // Clin. Sci. 2000. V. 98. P. 245–250.
8. Cantero-Recasens G., Fandos C., Rubio-Moscardo F. et al. The asthma-associated ORMDL3 gene product regulates endoplasmic reticulum-mediated calcium signaling and cellular stress // Hum. Molec. Genet. 2010. V. 19. p. 111–121.
9. Cooke G.S., Campbell S.J., Bennett S. et al. Mapping of a novel susceptibility locus suggests a role for MC3R and CTSZ in human tuberculosis // Am. J. Crit. Care Med. 2008. V. 178. P. 203–207.
10. El Baghdadi J., Orlova M., Alter A. et al. An autosomal dominant major gene confers predisposition to pulmonary tuberculosis in adults // J. Exp. Med. 2006. V. 203, № 7. P. 1679–1684.
11. Galanter J.M., Torgerson D., Gignoux C.R. et al. Cosmopolitan and ethnic-specific replication of genetic risk factors for asthma in 2 Latino populations // J. Allergy Clin. Immunol. 2011. V. 128. P. 37–43.
12. Hampe J., Franke A., Rosenstiel P., et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1 // Nature Genet. 2007. V. 39. P. 207–211.
13. Hill A.V.S. Evolution, revolution and heresy in the genetics of infectious disease susceptibility // Phil. Trans. R. Soc. 2012. V. 367. P. 840–849.
14. Mahasirimongkol S., Yanai H., Nishida N. et al. Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais // Genes Immun. 2009. № 10. P. 77–83.
15. Mahasirimongkol S., Yanai H., Mushiroda T. et al. Genome-wide association studies of tuberculosis in Asians identify at-risk locus for young tuberculosis // Journal of Human Genetics. 2012. V. 57. P. 363–367.
16. Miller E.N., Jamieson S.E., Joberty C. et al. Genome-wide

- scans for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians // *Genes Immun.* 2004. V. 5 (1). P. 63–67.
17. *Moffatt M.F., Gut I.G., Demenais F. et al.* A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma // *N. Engl. J. Med.* 2010. V. 363 (13). P. 1211–1221.
  18. *Möller M., de Wit E., Hoal E.G.* Past, present and future directions in human genetic susceptibility to tuberculosis // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2009. V. 2. P. 1–24.
  19. *Pearce N.* What does the odds ratio estimate in a case-control study? // *Int. J. Epidemiol.* 1993. V. 26. P. 1189–1192.
  20. *Png E., Alisjahbana B., Sahiratmadja E. et al.* A genome-wide association study of pulmonary tuberculosis susceptibility in Indonesians // *BMC Medical Genetics.* V. 13, № 5. P. 1–9.
  21. *Songane M., Kleinnijenhuis J., Alisjahbana B. et al.* Polymorphisms in autophagy genes and susceptibility to tuberculosis // *PLoS One.* 2012. V. 7 (8). P. e41618.
  22. *Stein C.M., Zalwango S., Malone L.L.* Genome scan of M. tuberculosis infection and disease in Ugandans // *PLoS ONE.* 2008. V. 3, № 12. P. 1–10.
  23. *The Wellcome Trust Case Control Consortium.* Genome-wide association study of 14000 cases of seven common diseases and 3000 share controls // *Nature.* 2007. V. 447. P. 661–683.
  24. *Thye T., Vannberg F., Wong S. et al.* Genome-wide association analyses identifies a susceptibility locus for tuberculosis on chromosome 18q11.2 // *Nature Genome.* 2010. V. 42, № 9. P. 739–741.
  25. *Vergne I., Singh S., Roberts E. et al.* Autophagy in immune defense against *Mycobacterium tuberculosis* // *Autophagy.* 2006. V. 2, Iss. 3. P. 175–178.
  26. *Wong S.H., Hill A.V., Vannberg F.O. et al.* Genome-wide association study of leprosy // *N. Engl. J. Med.* 2010. V. 362 (15). P. 1446–1447.
  27. *Zhernakova A., Van Diemen C.C., Wijmenga C.* Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune-related diseases // *Nat. Rev. Genet.* 2009. V. 10 (1). P. 43–55.

Поступила в редакцию 22.03.2013 г.

Утверждена к печати 10.04.2013 г.

**Рудко Алексей Анатольевич** (✉) – канд. мед. наук, гл. врач генетической клиники НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск).

**Фрейдин Максим Борисович** – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск).

**Брагина Елена Юрьевна** – канд. биол. наук, науч. сотрудник лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск).

**Ан Адиля Рамизовна** – аспирант кафедры медицинской генетики СибГМУ (г. Томск).

**Пузырёв Валерий Павлович** – д-р мед. наук, профессор, академик РАМН, директор НИИ медицинской генетики СО РАМН, зав. кафедрой медицинской генетики СибГМУ (г. Томск).

✉ **Рудко Алексей Анатольевич**, тел.: 8-903-953-3983, 8 (3822) 53-56-83; e-mail: aleksey.rudko@medgenetics.ru

## SEARCH OF TUBERCULOSIS SUSCEPTIBILITY GENES USING THE RESULTS OF GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY OF CROHN'S DISEASE

**Rudko A.A.<sup>1</sup>, Freidin M.B.<sup>1</sup>, Bragina Ye.Yu.<sup>1</sup>, An A.<sup>2</sup>, Puzyryov V.P.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Medical Genetics SB RAMS, Tomsk, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

### ABSTRACT

Crohn's disease (CD) and tuberculosis (TB) share several mechanisms of pathogenesis, and this suggests they also have common genetic susceptibility factors. To test this hypothesis, we performed the analysis of association between TB and polymorphisms of genes associated with CD, according to the results of genome-wide association studies, in Russians from Tomsk and indigenous people from Tuva. For the first time, The rs2872507 (*ORMDL3*), rs3810936 (*TNFSF15*), rs10192702 (*ATG16LI*), rs9286879 (1q24.3), rs10507523 (13q14.11) polymorphisms were found to be associated with TB in Russians. The rs1407308 (*TNFSF15*) and rs1736135 (21q21.1) were associated with the disease in Tuvians. The associations found are likely due to the functional role of the relevant proteins and their pathogenetic influence on the immune reaction underlying tuberculosis infection. Overall, the study of polymorphisms associated with CD allowed us to identify new candidate genes for TB.

**KEY WORDS:** tuberculosis, Crohn's disease, polymorphism, genome-wide association study, candidate

genes, predisposition, association.

**Bulletin of Siberian Medicine, 2013, vol. 12, no. 3, pp. 61–68****References**

1. Puzyryov V.P. *Medical Genetics*, 2003, vol. 2, no. 12, pp. 498–508 (in Russian).
2. Puzyryov V.P. *Herald of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2011, no. 9, pp. 17–27 (in Russian).
3. Rudko A.A., Freidin M.B., Puzyryov V.P. *Molecular Medicine*, 2011, no 3, pp. 3–10 (in Russian).
4. Freidin M.B., Rudko A.A., Kolokolova O.V. et al. *Molecular Biology*, 2006, vol. 40, no. 2, pp. 252–262 (in Russian).
5. Azad A.K., Sadee W., Schlesinger L.S. Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis. *Infect. Immun.*, 2012, vol. 80, no. 20, pp. 3343–3359.
6. Bamias G., Martin C., Marin M. et al. Expression, localization, and functional activity of TL1A, a novel Th1-polarizing cytokine in inflammatory bowel disease. *J. Immun.*, 2003, vol. 171, pp. 4868–4874.
7. Bellamy R. Identifying genetic susceptibility factors for tuberculosis in Africans: a combined approach using a candidate gene study and a genome-wide screen. *Clin. Sci.*, 2000, vol. 98, pp. 245–250.
8. Cantero-Recasens G., Fandos C., Rubio-Moscardo F. et al. The asthma-associated ORMDL3 gene product regulates endoplasmic reticulum-mediated calcium signaling and cellular stress. *Hum. Molec. Genet.*, 2010, vol. 19, pp. 111–121.
9. Cooke G.S., Campbell S.J., Bennett S. et al. Mapping of a novel susceptibility locus suggests a role for MC3R and CTSZ in human tuberculosis. *Am. J. Crit. Care Med.*, 2008, vol. 178, pp. 203–207.
10. El Baghdadi J., Orlova M., Alter A. et al. An autosomal dominant major gene confers predisposition to pulmonary tuberculosis in adults. *J. Exp. Med.*, 2006, vol. 203, no. 7, pp. 1679–1684.
11. Galanter J.M., Torgerson D., Gignoux C.R. et al. Cosmopolitan and ethnic-specific replication of genetic risk factors for asthma in 2 Latino populations. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, vol. 128, pp. 37–43.
12. Hampe J., Franke A., Rosenstiel P. et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nature Genet.*, 2007, vol. 39, pp. 207–211.
13. Hill A.V.S. Evolution, revolution and heresy in the genetics of infectious disease susceptibility. *Phil. Trans. R. Soc.*, 2012, vol. 367, pp. 840–849.
14. Mahasirimongkol S., Yanai H., Nishida N. et al. Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun.*, 2009, no. 10, pp. 77–83.
15. Mahasirimongkol S., Yanai H., Mushiroda T. et al. Genome-wide association studies of tuberculosis in Asians identify at-risk locus for young tuberculosis. *Journal of Human Genetics*, 2012, vol. 57, pp. 363–367.
16. Miller E.N., Jamieson S.E., Joberty C. et al. Genome-wide scans for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians. *Genes Immun.*, 2004, vol. 5 (1), pp. 63–67.
17. Moffatt M.F., Gut I.G., Demenais F. et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N. Engl. J. Med.*, 2010, vol. 363 (13), pp. 1211–1221.
18. Möller M., de Wit E., Hoal E.G. Past, present and future directions in human genetic susceptibility to tuberculosis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2009, vol. 2, pp. 1–24.
19. Pearce N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? *Int. J. Epidemiol.*, 1993, vol. 26, pp. 1189–1192.
20. Png E., Alisjahbana B., Sahiratmadja E. et al. A genome-wide association study of pulmonary tuberculosis susceptibility in Indonesians. *BMC Medical Genetics*, vol. 13, no. 5, pp. 1–9.
21. Songane M., Kleinnijenhuis J., Alisjahbana B. et al. Polymorphisms in autophagy genes and susceptibility to tuberculosis. *PLoS One*, 2012, vol. 7 (8), pp. e41618.
22. Stein C.M., Zalwango S., Malone L.L. Genome scan of M. tuberculosis infection and disease in Ugandans. *PLoS ONE*, 2008, vol. 3, no. 12, pp. 1–10.
23. The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14000 cases of seven common diseases and 3000 share controls. *Nature*, 2007, vol. 447, pp. 661–683.
24. Thye T., Vannberg F., Wong S. et al. Genome-wide association analyses identifies a susceptibility locus for tuberculosis on chromosome 18q11.2. *Nature Genome*, 2010, vol. 42, no. 9, pp. 739–741.
25. Vergne I., Singh S., Roberts E. et al. Autophagy in immune defense against *Mycobacterium tuberculosis*. *Autophagy*, 2006, vol. 2, iss. 3, pp. 175–178.
26. Wong S.H., Hill A.V., Vannberg F.O. et al. Genome-wide association study of leprosy. *N. Engl. J. Med.*, 2010, vol. 362 (15), pp. 1446–1447.
27. Zhernakova A., Van Diemen C.C., Wijmenga C. Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune-related diseases. *Nat. Rev. Genet.*, 2009, vol. 10 (1), pp. 43–55.

**Rudko Aleksei A.** (✉), Institute of Medical Genetics SB RAMS, Tomsk, Russian Federation.

**Freidin Maksim B.**, Institute of Medical Genetics SB RAMS, Tomsk, Russian Federation.

**Bragina Yelena Yu.**, Institute of Medical Genetics SB RAMS, Tomsk, Russian Federation.

**An Adilya R.**, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Puzyryov Valery P.**, Institute of Medical Genetics SB RAMS, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Rudko Aleksei A.**, Ph.: +7-903-953-39-83, +7-3822-53-56-83; e-mail: aleksey.rudko@medgenetics.ru