

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА RS2542151 ГЕНА RTPN2 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ

Достанко Н. Ю.¹, Ягур В. Е.¹, Синявская Е. С.², Гончарова Р. И.²

¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь;

² Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»,
г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Ген RTPN2 кодирует протеин тирозинфосфатазу нерецепторного 2-го типа, которая экспрессируется в макрофагах, Т-лимфоцитах, дендритных клетках, клетках эпителия кишечника, регулирует несколько ключевых сигнальных путей, включая JAK/STAT, MAPK и NF-κB, действует как сдерживающий регулятор воспалительных процессов, а также влияет на барьерную функцию эпителия кишечника и его проницаемость. Полиморфизмы в гене RTPN2 были ассоциированы с риском развития различных аутоиммунных заболеваний, в том числе ревматоидного артрита и его ответом на терапию ингибиторами ФНО-α. Нами была изучена частота встречаемости однонуклеотидного полиморфизма rs2542151 гена RTPN2 у пациентов с системной красной волчанкой по сравнению с контрольной группой здоровых доноров и показано двукратное повышение риска развития системной красной волчанки для носителей полиморфизма rs2542151 в белорусской популяции пациентов как в целом, так и среди женщин.

Ключевые слова: протеин тирозинфосфатаза нерецепторного 2-го типа, системная красная волчанка, RTPN2, rs2542151.

Введение. Ген RTPN2 кодирует протеин тирозинфосфатазу нерецепторного 2-го типа. Исследования показали, что RTPN2 экспрессируется в макрофагах, Т-лимфоцитах, дендритных клетках, клетках эпителия кишечника, и действует как негативный регулятор воспалительных процессов, сдерживая или предупреждая развитие воспаления и способствуя иммунологической толерантности [1, 2]. Ген RTPN2 регулирует несколько ключевых сигнальных путей, включая JAK/STAT, MAPK и NF-κB, которые играют важную роль в воспалении и клеточной пролиферации, дифференцировке и выживаемости [2, 3]. Удаление или частичная абляция RTPN2 приводили к гиперактивации этих путей, что способствовало усилению воспалительного ответа,

спонтанному, хроническому и аутоиммунному воспалению, особенно в коже, печени, легких и почках. Было показано также, что изменения в уровне экспрессии и активности RTPN2 могут служить индикаторами патологических процессов и даже быть использованы для прогнозирования исхода заболеваний. Высокий уровень экспрессии RTPN2 может ассоциироваться с благоприятным прогнозом, тогда как низкий уровень может указывать на неблагоприятный исход. Кроме того, RTPN2 может быть использован в качестве мишени для разработки новых терапевтических стратегий: ингибиторы или активаторы RTPN2 могут быть использованы для модуляции его активности и улучшения лечения различных заболеваний. [2] Количество работ в PubMed,

посвященных изучению роли RTPN2, еще не так велико по сравнению с другими генами и не превышает пятисот, тем не менее за последние 15 лет интерес к нему возрос.

Полиморфизмы в гене RTPN2, а также модуляция его активности в экспериментальных работах были ассоциированы с развитием различных аутоиммунных заболеваний: воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся язвенный колит и болезнь Крона, ревматоидный артрит (РА), ювенильный ревматоидный артрит, болезнь Грейвса, целиакия, сахарный диабет 1-го типа [2, 4–6], а также с развитием и прогрессированием ряда системных заболеваний, где воспаление является важным компонентом патогенеза, таких как атеросклероз [3], неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), диабет 2-го типа [7], способствовали увеличению проатерогенной активности, прогрессированию атеросклероза и НАЖБП [3, 7].

Интересно, что ген RTPN2 может влиять также на прогрессирование различных видов рака, так как, увеличивая его экспрессию, клетки опухоли могут уходить от иммунного ответа, что было описано для клеток рака щитовидной железы, глиомы [1]. Увеличение экспрессии RTPN2 клетками данных опухолей способствовало усилению пролиферации и миграции клеток рака щитовидной железы, глиомы, что указывает на проонкогенную роль RTPN2 в данном контексте за счет способности влиять на иммунное окружение опухоли и ее способность избегать иммунного надзора. При этом в экспериментах было показано, что к увеличению экспрессии данного гена в клетках этих опухолей приводит воспалительный ответ и оксидативный стресс. Это подтверждает гипотезу о том, что RTPN2 может быть индуцирован этими факторами. Вместе с тем известно, что при Т-клеточных лейкозах и лимфомах данный ген наоборот дезактивирован, что подчеркивает его роль как сдерживающего гена при данных видах опухолей [1, 2].

Кроме того, описан еще один важный механизм, посредством которого полиморфизмы в гене RTPN2 могут вносить свой вклад в развитие аутоиммунных процессов. RTPN2 регулирует взаимодействие между макрофагами и кишечными эпителиальными клетками, регулируя продукцию цитокинов и хемокинов, которые влияют на барьерную функцию эпителиальных клеток, включая плотность межклеточных контактов и проницаемость эпителия [2, 7].

Было показано, что тирозинфосфатаза Т-клеток экспрессируется в кишечном эпителии и регулирует экспрессию и функцию белков

плотных контактов, таких как окклюдин и клаудин, которые важны для поддержания целостности кишечного барьера и снижения его проницаемости.

Удаление и инактивация RTPN2 приводили к нарушению взаимодействий между макрофагами и эпителиальными клетками, иммунной гиперактивации, повышенной экспрессии провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-6, TNF- α , и повышенной воспалительной реакции, снижению экспрессии белков, участвующих в формировании плотных контактов, увеличению проницаемости кишечного барьера, а мутации в гене RTPN2 были связаны с повышенным риском развития ВЗК и приводили к развитию ранней аутоиммунной энтеропатии.

Кроме того, в экспериментальных исследованиях было показано, что RTPN2 играет ключевую роль в регуляции формирования аутофагосом в клетках кишечника, а снижение его экспрессии приводило к снижению аутофагии в эпителии кишечника, способствовало накоплению повреждений и усилению воспаления, что также может способствовать развитию и усугублять течение ВЗК [4].

Важно подчеркнуть, что состояние кишечного барьера, а именно его повышенная проницаемость, может непосредственно влиять на риск развития большого числа аутоиммунных заболеваний, а не только воспалительных заболеваний кишечника, а также на риск прогрессирования НАЖБП до гепатита и цирроза и риск развития диабета 2-го типа у пациентов с НАЖБП [7].

Было показано, что ген RTPN2 является локусом предрасположенности к РА у европейцев, снижение его экспрессии при РА влияло на большое количество провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО- α), в том числе повышало количество ИЛ-6, синтезируемого синовиальными фибробластами и снижало их аутофагию, что имеет значение для прогрессирования РА и разрушения суставов, а высокие уровни RTPN2, наоборот, способствовали увеличению резистентности синовиальных фибробластов к апоптозу и увеличению аутофагии [5].

Полиморфизмы в гене ассоциировались с ответом на терапию ингибиторами ФНО- α , увеличением пролиферации Т-клеток и восприимчивостью к микобактериям у пациентов с РА [8].

Тем не менее, публикации, посвященные анализу гена RTPN2 при системной красной волчанке (СКВ) практически отсутствуют, за исключением одной работы, где упоминается об ассоциации полиморфизма в данном гене с наличием перикардита и серозита у пациентов с СКВ [9].

Цель работы – оценить частоту полиморфизма rs2542151 гена RPTN2 у пациентов с СКВ по сравнению с контрольной группой.

Материалы и методы. Сбор данных и материалов для проведения исследования проводили на базе ревматологического отделения государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» (МНПЦХТиГ) с согласия этического комитета МНПЦХТиГ как часть НТП Союзного государства «ДНК-идентификация», раздел «Молекулярно-генетическая оценка риска аутоиммунных заболеваний». У всех пациентов, участвовавших в исследовании, а также у здоровых доноров, входивших в группу сравнения, было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Все пациенты, принявшие участие в исследовании, соответствовали классификационным критериям Американской коллегии ревматологов (ACR) для системной красной волчанки (1997).

Экстракцию ДНК из образцов периферической крови осуществляли фенол-хлороформным методом. Аллельный статус гена RPTN2 по полиморфизму rs2542151 оценивали методом real-time PCR (полимеразная цепная реакция в реальном времени) с использованием флуоресцентно меченых TaqMan-зондов. При оценке результатов и определении генотипов использовали программное обеспечение CFX Maestro 1.0 компании «Био-Рад».

Данный этап исследования был проведен на базе государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси». Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение Statistica 10.0. и SNPStats web tool. При оценке результатов использовали описательную статистику по генотипам и аллелям, тест на соответствие закону Hardy-Weinberg, критерий Пирсона χ^2 , двухсторонний точный метод Фишера (ТМФ, p_{2-i}) для оценки значимости различий между группами, рассчитывали прогностическое отношение шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (ДИ) для оценки прогностической значимости аллельного статуса по изучаемому полиморфизму при различных моделях наследования, а также информационные критерии Akaike (AIC) и Bayesian (BIC) для каждой модели (ко-доминантная,

доминантная, рецессивная, сверхдоминантная и лог-аддитивная).

Результаты и их обсуждение. В исследование были включены 56 женщин и 4 мужчин с СКВ в возрасте от 18 до 72 лет (средний возраст составил 38,9 года, 95% ДИ 35,7–42,1 года, медиана возраста – 37,1 года) и 345 человек группы сравнения, среди которых было 257 женщин и 88 мужчин в возрасте от 18 до 63 лет (средний возраст – 38,1 года, 95% ДИ 36,9–39,2 года, медиана возраста – 37,5 года). Значимых различий в сравниваемых группах по возрасту выявлено не было (U критерий Манна–Уитни, $p = 0,98$). Учитывая наличие различий между группами по полу (U критерий Манна–Уитни, $p < 0,001$, 6,4 % мужчин в группе СКВ и 25,5 % мужчин в группе сравнения), при последующем анализе проводили корректировку полученных результатов по полу, а также выполнили дополнительные аналогичные расчеты только по женщинам. Значимых различий по возрасту в сравниваемых группах женщин также не было выявлено (U критерий Манна–Уитни, $p = 0,56$).

Соответствие распределения генотипов закону Hardy-Weinberg оценивали с помощью точного теста Фишера, при этом значимых отклонений для исследованного SNP в группе СКВ ($p = 0,26$) и группе сравнения ($p = 0,84$), а также в общей группе обследуемых ($p = 0,72$) выявлено не было, в том числе при проверке только в группах женщин ($p = 0,26$, $p = 0,62$ и $p = 0,22$ соответственно).

Распределение частот аллелей в основной и контрольной группах в общей выборке (Ж, М) и среди женщин (Ж) статистически значимо не различалось ($p = 0,25$ и $p = 0,14$ соответственно), что представлено в таблице 1.

Распределение частот генотипов гена RPTN2 с полиморфизмом rs2542151 в группе пациентов с СКВ и контрольной группе для общей выборки и среди женщин представлено в таблицах 2 и 3.

Частоты генотипов полиморфного гена RPTN2 по rs2542151 в основной группе и группе сравнения основной выборки и среди женщин, значения отношения шансов наличия СКВ, соответствующие p и рассчитанные информационные критерии AIC и BIC для разных моделей наследования приведены в таблицах 4 и 5.

Таблица 1 – Частоты аллелей гена в исследуемых группах

Пол	Аллель	Все исследуемые		Группа сравнения		Группа СКВ	
		n	относительная частота	n	относительная частота	n	относительная частота
Ж, М	T	673	0,83	580	0,84	93	0,78
	G	137	0,17	110	0,16	27	0,22
Ж	T	523	0,84	437	0,85	86	0,77
	G	103	0,16	77	0,15	26	0,23

Таблица 2 – Частоты генотипов гена RTPN2 в исследуемых группах в общей выборке

Генотип	Все испытуемые		Группа сравнения		Группа СКВ	
	n	относительная частота	n	относительная частота	n	относительная частота
G/G	10	0,02	9	0,03	1	0,02
T/G	117	0,29	92	0,27	25	0,42
T/T	278	0,69	244	0,71	34	0,57
NA	3	–	0	–	3	–

Примечание: NA – генотип не определен, n – число выявленных генотипов в группе испытуемых.

Таблица 3 – Частоты генотипов гена RTPN2 в исследуемых группах среди женщин

Генотип	Все испытуемые		Группа сравнения		Группа СКВ	
	n	относительная частота	n	относительная частота	n	относительная частота
G/G	5	0,02	4	0,02	1	0,02
T/G	93	0,3	69	0,27	24	0,43
T/T	215	0,69	184	0,72	31	0,55
NA	3	–	0	–	3	–

Примечание: NA – генотип не определен, n – число выявленных генотипов в группе испытуемых.

Таблица 4 – Риск развития СКВ, ассоциированный с носительством полиморфного аллеля гена RTPN2 при разных моделях наследования (общая выборка с коррекцией по полу)

Модель наследования	Генотип	Относительная частота	n	Относительная частота	n	Относительная частота	BIC
Кодоминантная	T/T	244 (70,7 %)	34 (56,7 %)	1,0	0,085	330	346,1
	G/T	92 (26,7 %)	25 (41,7 %)	1,94 (1,09–3,46)			
	G/G	9 (2,6 %)	1 (1,7 %)	1,11 (0,13–9,47)			
Доминантная	T/T	244 (70,7 %)	34 (56,7 %)	1,0	0,031	328,3	340,3
	G/T-G/G	101 (29,3 %)	26 (43,3 %)	1,88 (1,07–3,33)*			
Рецессивная	T/T-G/T	336 (97,4 %)	59 (98,3 %)	1,0	0,91	333	345
	G/G	9 (2,6 %)	1 (1,7 %)	0,88 (0,10–7,44)			

Окончание табл. 4

Сверх-доминантная	T/T- G/G	253 (73,3 %)	35 (58,3 %)	1,0	0,026	328	340,1
	G/T	92 (26,7 %)	25 (41,7 %)	1,93 (1,09–3,43)*			
Лог-аддитивная	–	–	–	1,66 (1,00–2,75)	0,056	293,3	341,3

Примечание: * – Значимые различия между группами.

Таблица 5 – Риск развития СКВ у женщин, ассоциированный с носительством полиморфного аллеля гена RTPN2 при разных моделях наследования

Модель наследования	Генотип	Группа сравнения	Группа СКВ	OR (95%ДИ)	p	AIC	BIC
Кодоминантная	T/T	184 (71,6 %)	31 (55,4 %)	1,0	0,065	294,6	305,8
	G/T	69 (26,9 %)	24 (42,9 %)	2,06 (1,13–3,76)			
	G/G	4 (1,6 %)	1 (1,8 %)	1,48 (0,16–13,72)			
Доминантная	T/T	184 (71,6 %)	31 (55,4 %)	1,0	0,02	292,7	300,2
	G/T- G/G	73 (28,4 %)	25 (44,6 %)	2,03* (1,12–3,68)			
Рецессивная	T/T- G/T	253 (98,4 %)	55 (98,2 %)	1,0	0,9	298	305,5
	G/G	4 (1,6 %)	1 (1,8 %)	1,15 (0,13–10,49)			
Сверх-доминантная	T/T- G/G	188 (73,2 %)	32 (57,1 %)	1,0	0,021	292,7	300,2
	G/T	69 (26,9 %)	24 (42,9 %)	2,04* (1,13–3,71)			
Лог-аддитивная	–	–	–	1,82* (1,07–3,11)	0,031	293,4	300,9

Примечание: * – Значимые различия между группами.

Данные анализа, приведенные в таблицах 4 и 5, позволяют говорить о том, что были выявлены значимые различия в частоте генотипов гена RTPN2 в основной и контрольной группе как в общей выборке исследуемых лиц, так и среди женщин. В общей группе исследуемых значимые различия были получены для доминантной и сверхдоминантной модели наследования, при этом сверхдоминантная модель обладала лучшими показателями AIC and BIC в отношении прогнозирования риска СКВ. В группе женщин значимые различия были выявлены для доминантной, сверхдоминантной, а также лог-аддитивной модели, при этом доминантная и сверхдоминантная модели обладали лучшими метриками и одинаково хорошо представляли наблюдаемую генетическую архитектуру признака в данной выборке. Таким образом, анализ моделей наследования генотипов гена RTPN2 выявил почти

двукратное увеличение риска СКВ в общей группе мужчин и женщин и двукратное увеличение риска для женщин при наличии полиморфизма rs2542151 для носителей генотипов G/T и G/G.

При этом выявление сверхдоминантности может указывать на то, что гетерозиготы могут обладать определенным преимуществом в изучаемой популяции, возможно в отношении более активного ответа на инфекции. Результаты, полученные в нашем исследовании, согласуются с ранее опубликованными данными, где также была показана роль полиморфизма rs2542151 в развитии аутоиммунных заболеваний [6].

Закключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о повышении риска развития системной красной волчанки в белорусской популяции пациентов для носителей полиморфизма rs2542151 RPN2

Список цитированных источников

1. PTPN2 in the Immunity and Tumor Immunotherapy: A Concise Review / J. Song [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, N 17. – P. 10025.
2. Characterization of PTPN2 and its use as a biomarker / S. Bussi res-Marmen [et al.] // Methods. – 2014. – Vol. 65, N 2. – P. 239–246.
3. PTPN2 negatively regulates macrophage inflammation in atherosclerosis / X. Hu [et al.] // Aging (Albany NY). – 2020. – Vol. 13, N 2. – P. 2768–2779.
4. Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 2 regulates autophagosome formation in human intestinal cells / M. Scharl [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2012. – Vol. 18, N 7. – P. 1287–1302.
5. Aradi, B. Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 2: an important regulator of Interleukin-6 production in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts / B. Aradi, M. Kato, M. Filkova // Arthritis Rheumatol. – 2015. – Vol. 67, N 10. – P. 2624–2633.
6. The susceptibility loci juvenile idiopathic arthritis shares with other autoimmune diseases extend to PTPN2, COG6, and ANGPT1 / S. D. Thompson [et al.] // Arthritis Rheum. – 2010. – Vol. 62, N 11. – P. 3265–3276.
7. Genetic susceptibility of increased intestinal permeability is associated with progressive liver disease and diabetes in patients with non-alcoholic fatty liver disease / L. Miele [et al.] // Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. – 2020. – Vol. 30, N 11. – P. 2103–2110.
8. Polymorphisms in STAT4, PTPN2, PSORS1C1 and TRAF3IP2 Genes Are Associated with the Response to TNF Inhibitors in Patients with Rheumatoid Arthritis / P. Conigliaro [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, N 1 (0169956).
9. A polymorphism upstream MIR1279 gene is associated with pericarditis development in Systemic Lupus Erythematosus and contributes to definition of a genetic risk profile for this complication / C. Ciccacci [et al.] // Lupus. – 2017. – Vol. 26, N 8. – P. 841–848.

Association of *PTPN2* rs2542151 polymorphism with systemic lupus erythematosus risk

Dostanko N. Y.¹, Yagur V. E.¹, Siniauskaya E. S.², Goncharova R. I.²

¹ *Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus;*

² *Institute of Genetic and Cytology of NASB, Minsk, Republic of Belarus*

The *PTPN2* gene encodes the protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2, which is expressed in macrophages, T-lymphocytes, dendritic cells and intestinal epithelial cells, regulates several key signaling pathways, including JAK/STAT, MAPK and NF- κ B, acting as a negative regulator of inflammatory processes. It also influences the barrier function of the intestinal epithelium and its permeability. Polymorphisms of the *PTPN2* gene have been associated with the risk of various autoimmune diseases including rheumatoid arthritis and its response to TNF- α inhibitors. We studied the frequency of rs2542151 *PTPN2* polymorphism in patients with systemic lupus erythematosus compared to a control group of healthy donors. We revealed a twofold increase in the risk of systemic lupus erythematosus for carriers of the rs2542151 polymorphism in the Belarusian population, both in general cohort and among women.

Keywords: protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2, systemic lupus erythematosus, *PTPN2*, rs2542151.

Поступила 05.06.2024