

УДК 616-07-08-002:575.224

ПОЛИМОРФИЗМ RS7574865 ГЕНА *STAT4* ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

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

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

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

Реферат. Ген *STAT4* кодирует белок 4-го семейства STAT, который является важным фактором передачи сигнала цитокинов и активатором транскрипции сотен генов, участвующих во врожденных и адаптивных иммунных реакциях. Регуляция экспрессии *STAT4* цитокинами IL-12 играет важную роль в иммунном ответе через путь JAK-STAT. Ось IL-12-STAT4 способствует образованию аутоантител при системной красной волчанке, регулируя взаимодействие между Т-хелперами и В-лимфоцитами. Полиморфизмы в гене *STAT4* были ассоциированы с риском развития различных аутоиммунных заболеваний, в том числе системной красной волчанки, с тяжелыми проявлениями данного заболевания. Мы изучили частоту встречаемости однонуклеотидного полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* у пациентов с системной красной волчанкой по сравнению с контрольной группой здоровых доноров и показали повышение риска развития системной красной волчанки для носителей полиморфизма rs7574865 в белорусской популяции как в целом, так и среди женщин.

Ключевые слова: IL-12-STAT4 ось; системная красная волчанка; STAT4; rs7574865

Введение

Белок *STAT4* принадлежит к белкам семейства STAT, они передают сигналы различных цитокинов, ключевые активаторы транскрипции сотен генов, связанных с выживанием, пролиферацией и дифференцировкой иммунных клеток. Среди членов своего семейства *STAT4* проявляет самую высокую тканевую специфичность и высоко экспрессируется в основном в лимфатических узлах, миелоидных клетках, ткани тестикул и коже. В базальном состоянии многие иммунные клетки не экспрессируют *STAT4*, но тучные клетки соединительной ткани, активированные моноциты и активированные Т-клетки имеют высокий уровень экспрессии *STAT4*. Регуляция экспрессии *STAT4* играет важную роль в иммунном ответе, в частности *STAT4* необходим для развития фолликулярных Т-хелперных лимфоцитов, способствует дифференциации Т-хелперов 1 (Th1), участвует в дифференциации регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) в фолликулярные регуляторные Т-лимфоциты, кроме того, CD4⁺ Т-лимфоциты, не имеющие *STAT4*, склонны к дифференцировке в Т-хелперы 2-го типа (Th2). *STAT4* ингибирует развитие клеток-предшественников Т-хелперов 17-го типа (Th17), вызывая их превращение в клетки, продуцирующие интерферон гамма (IFN- γ) и контролирует экспрессию >200 генов в клетках Th17. Активация естественных клеток-киллеров (NK)

также зависит от *STAT4*, а высокие уровни *STAT4* способствуют поддержанию образования NK-клеток памяти. *STAT4* играет важную роль в активации моноцитов и дендритных клеток и в функционировании нейтрофилов. Таким образом, функция *STAT4* в иммунной системе охватывает как врожденные, так и адаптивные иммунные реакции [1].

STAT4 в основном активируется в цитоплазме различными цитокинами, такими как интерлейкины (IL) IL-12 и IL-23, и интерферонами типа I, через путь JAK-STAT или каскад сигнализации p38/MKK6 и играет центральную роль в передаче сигнала. В зависимости от типа клеток активаторы *STAT4* могут различаться, а экспрессируемый при этом *STAT4* по-разному реагирует на различные цитокины [1].

STAT4 и его взаимодействие с IL-12 играют важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний. IL-12 активирует *STAT4*, что приводит к усиленной продукции IFN- γ и IL-21 CD4⁺ Т-лимфоцитами, т.е. к усилению воспаления, способствует развитию Th1-ответа, что повышает риск развития аутоиммунных процессов. Повышенные уровни IL-12 и *STAT4* коррелируют, например, с активностью и тяжестью системной красной волчанки (СКВ). Таким образом, IL-12 и *STAT4* формируют ось, важную для развития и поддержания аутоиммунных заболеваний, особенно у генетически предрасположенных пациентов. Ось IL-12-STAT4 способствует образованию

аутоантител при СКВ, регулируя взаимодействие между Т-хелперами и В-лимфоцитами и дифференциацию последних в клетки, секретирующие аутоантитела. [1; 2; 3]

Однонуклеотидные полиморфизмы в гене *STAT4* были ассоциированы с развитием различных аутоиммунных заболеваний, включая ревматоидный артрит, СКВ, в том числе волчаночный нефрит, сахарный диабет 1-го типа, псориаз, воспалительные заболевания кишечника, болезнь Бехчета, синдром Шегрена, системный склероз, первичный билиарный цирроз, аутоиммунный тиреоидит и другие заболевания [1]. Кроме того, показано, что риск аллели *STAT4* чаще встречается у пациентов с более тяжелыми проявлениями СКВ, такими как нефрит, а также с наличием антител к двухцепочечной ДНК и более ранним возрастом начала СКВ [3; 4]. Более того, более высокие уровни продукции IFN- γ (интерферона- γ), стимулированные IL-12, зарегистрированы у носителей аллеля TT [5]. Полиморфные варианты *STAT4* приводят к повышенной экспрессии гена, что способствует активации Th1 и Th17 лимфоцитов и увеличению продукции провоспалительных цитокинов, таких как IFN- γ и IL-17A. Т-лимфоциты пациентов с СКВ, несущие аллель риска T rs7574865, демонстрируют усиленный ответ на ИЛ-12 и ИФН- α [6].

Несколько метаанализов последовательно показали, что аллель T или генотип TT полиморфизма *STAT4* rs7574865 служат фактором риска СКВ для лиц азиатского, европейского и американского происхождения, несмотря на различия в показателях распространенности среди разных этнических групп [7; 8]. Тем не менее связь между определенными аллелями полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* и риском развития СКВ, согласно некоторым опубликованным исследованиям, остается спорной [4].

Цель и задачи исследования

Оценить вклад генетического полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* в риск развития СКВ для белорусской популяции.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе Института генетики и цитологии НАН Беларуси в рамках Научно-технической программы Союз-

ного государства «ДНК-идентификация», раздел 6.4 «Молекулярно-генетическая оценка риска аутоиммунных заболеваний». Набор материала осуществляли на базе Минского Научно-практического центра хирургии, трансплантологии и гематологии (МНПЦХТиГ), для чего было получено согласие этического комитета МНПЦХТиГ. Все включенные в данный проект лица подписывали письменное информированное согласие на добровольное участие в исследовании. У пациентов с СКВ, находившихся на лечении в отделении ревматологии (основная группа), а также у здоровых доноров, обращавшихся в МНПЦХТиГ (контрольная группа), брали образцы крови и собирали данные клинического и лабораторного обследования. Все пациенты, которые были включены в исследование, соответствовали классификационным критериям Американской коллегии ревматологов для системной красной волчанки (критерии ACR 1997 г.).

Из проб периферической крови экстрагировали ДНК посредством фенол-хлороформного метода. Аллельный статус гена *STAT4* по полиморфизму rs7574865 определяли методом ПЦР в реальном времени (real-time PCR), применяя флуоресцентно-меченые зонды TaqMan. Для анализа результатов и идентификации генотипов использовали специализированное программное обеспечение CFX Maestro версии 1.0 от «Био-Рад». Статистическую обработку данных проводили с помощью программных пакетов Statistica 10.0. и SNPStats web tool. При анализе результатов использовали описательную статистику по генотипам и аллелям, соответствие распределения генотипов закону Hardy-Weinberg оценивали с помощью точного теста Фишера, для оценки значимости различий между группами использовали U-критерий Манна-Уитни и критерий Пирсона χ^2 , для оценки прогностической значимости аллельного статуса по изучаемому полиморфизму при различных моделях наследования (кодминантной, доминантной, рецессивной, сверх-доминантной и лог-аддитивной) рассчитывали прогностическое отношение шансов (OR) с 95 % доверительным интервалом (95 % ДИ), а также информационные критерии Akaike (AIC) и Bayesian (BIC) для каждой модели.

Результаты и обсуждение

В основную группу пациентов с СКВ было включено 63 человека, из них 59 женщин и 4 мужчины в возрасте от 18 до 72 лет (средний возраст 38,9 года, 95% ДИ 35,7–42,1 года, медиана возраста 37,1 года), в контрольной группе было 345 человек, 257 женщин и 88 мужчин в возрасте от 18 до 63 лет (средний возраст 38,1 года, 95 % ДИ 37–39,2 года, медиана возраста 37,5 года). Значимых различий в исследуемой и контрольной группах по возрасту не выявлено (U-критерий Манна–Уитни, $p = 0,98$), однако различия по полу между исследуемой и контрольной группами значимы (6,4 и 25,5%

отклонений для изучаемого полиморфизма в общей группе обследуемых ($p = 0,28$), а также в основной ($p = 0,78$) и контрольной ($p = 0,063$) группах выявлено не было, в том числе при проверке только в группах женщин ($p = 0,64$, $p = 0,55$ и $p = 0,28$ соответственно для общей, основной и контрольной групп женщин).

Распределение частот аллелей G и T в общей выборке, включавшей женщин (Ж) и мужчин (М), в том числе в основной и контрольной группах общей выборки, и в соответствующих группах, включавших только женщин (Ж), статистически значимо не различалось ($p = 0,94$, $p = 0,954$, $p = 0,684$ соответственно, критерий Пирсона χ^2), что представлено в табл. 1.

Таблица 1 – Частоты аллелей гена в исследуемых группах

Пол	Аллель	Все исследуемые		Контрольная группа		Группа СКВ	
		<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота
Ж, М	G	616	0,76	536	0,78	80	0,66
	T	196	0,24	154	0,22	42	0,34
Ж	G	479	0,76	400	0,78	79	0,68
	T	151	0,24	114	0,22	37	0,32

мужчин соответственно в основной и контрольной группах, U-критерий Манна–Уитни, $p < 0,001$), поэтому в дальнейшем при расчетах мы проводили корректировку полученных результатов по полу, а также отдельно проанализировали только женщин. В исследуемой и контрольной группах женщин значимых различий по возрасту также не выявлено (U-критерий Манна–Уитни, $p = 0,56$).

При анализе соответствия распределения генотипов закону Hardy–Weinberg значимых

Значимых различий между общей выборкой и выборкой, состоявшей только из женщин, в частотах генотипов во всех проанализированных группах не выявлено ($p = 0,93$, $p = 0,94$ и $p = 0,84$, критерий Пирсона χ^2). Распределение частот генотипов гена *STAT4* в основной, контрольной группах и среди всех испытуемых общей выборки, а также в аналогичных группах выборки, включавшей только женщин, представлено в табл. 2 и 3.

Таблица 2 – Частоты генотипов гена *STAT4* в исследуемых группах в общей выборке

Генотип	Все испытуемые		Контрольная группа		Группа СКВ	
	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота
G/G	230	0,56	202	0,59	28	0,45
G/T	158	0,39	132	0,38	26	0,42
T/T	19	0,05	11	0,03	8	0,13
NA	1	–	0	–	1	–

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

Таблица 3 – Частоты генотипов гена *STAT4* в исследуемых группах среди женщин

Генотип	Все испытуемые		Контрольная группа		Группа СКВ	
	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота	<i>n</i>	Относительная частота
G/G	180	0,57	152	0,59	28	0,48
G/T	119	0,38	96	0,37	23	0,4
T/T	16	0,05	9	0,04	7	0,12
NA	1	–	0	–	1	–

Частоты генотипов полиморфизма rs7574865 в основной и контрольной группах основной выборки и в выборке, включавшей только женщин, а также значения отношения шансов развития СКВ, информационные критерии AIC и BIC для разных моделей наследования и соответствующие им значения p приведены в табл. 4 и 5.

контрольной группе как в общей выборке исследуемых лиц, так и в выборке, включавшей только женщин. В общей выборке исследуемых значимые различия получены для четырех моделей наследования (кодминантной, доминантной, рецессивной и лог-аддитивной). Рецессивная и лог-аддитивная модели обладали лучшей и почти равной предсказательной ценностью

Таблица 4 – Риск развития СКВ, ассоциированный с полиморфизмом rs7574865 гена *STAT4* при разных моделях наследования (общая выборка с коррекцией по полу, $n = 407$)

Модель наследования	Генотип	Группа контроля	Группа СКВ	OR (95%ДИ)	p	AIC	BIC
Кодминантная	G/G	202 (58,5 %)	28 (45,2 %)	1,00	0,008	332,2	348,2
	G/T	132 (38,3 %)	26 (41,9 %)	1,48 (0,83–2,66)			
	T/T	11 (3,2 %)	8 (12,9 %)	5,21* (1,88–14,42)			
Доминантная	G/G	202 (58,5 %)	28 (45,2 %)	1,00	0,04	335,6	347,6
	G/T-T/T	143 (41,5 %)	34 (54,8 %)	1,78* (1,03–3,10)			
Рецессивная	G/G-G/T	334 (96,8 %)	54 (87,1 %)	1,00	0,005	331,9	343,9
	T/T	11 (3,2 %)	8 (12,9 %)	4,39* (1,65–11,71)			
Сверх-доминантная	G/G-T/T	213 (61,7 %)	36 (58,1 %)	1,00	0,49	339,3	351,3
	G/T	132 (38,3 %)	26 (41,9 %)	1,22 (0,70–2,12)			
Лог-аддитивная	—	—	—	1,90* (1,22–2,96)	0,005	331,8	343,8

* – значимые различия между группами.

Таблица 5 – Риск развития СКВ среди женщин ($n = 315$) с полиморфизмом rs7574865 гена *STAT4* при разных моделях наследования

Модель наследования	Генотип	Группа контроля	Группа СКВ	OR (95%ДИ)	p	AIC	BIC
Кодминантная	G/G	152 (59,1 %)	28 (48,3 %)	1,00	0,039	300,4	311,6
	G/T	96 (37,4 %)	23 (39,7 %)	1,30 (0,71–2,39)			
	T/T	9 (3,5 %)	7 (12,1 %)	4,22* (1,45–12,27)			
Доминантная	G/G	152 (59,1 %)	28 (48,3 %)	1,00	0,13	302,6	310,1
	G/T-T/T	105 (40,9 %)	30 (51,7 %)	1,55 (0,88–2,75)			
Рецессивная	G/G-G/T	248 (96,5 %)	51 (87,9 %)	1,00	0,016	299,1	306,6
	T/T	9 (3,5 %)	7 (12,1 %)	3,78* (1,35–10,62)			
Сверх-доминантная	G/G-T/T	161 (62,6 %)	35 (60,3 %)	1,00	0,74	304,8	312,3
	G/T	96 (37,4 %)	23 (39,7 %)	1,10 (0,61–1,98)			
Лог-аддитивная	—	—	—	1,69* (1,07–2,67)	0,027	300	307,5

* – значимые различия между группами.

Данные о частотах генотипов и рассчитанные значения OR, AIC и BIC, приведенные в табл. 4 и 5, позволяют говорить, что выявлены значимые различия в частоте генотипов полиморфного гена *STAT4* в группе СКВ и кон-

в отношении риска развития СКВ (показатели AIC and BIC для данных моделей практически не отличались), но демонстрировали различные отношения шансов, 4,39 для рецессивной модели наследования и 1,9 для лог-аддитивной мо-

дели. В выборке, включавшей только женщин, значимые различия выявлены для кодоминантной, рецессивной и лог-аддитивной модели, рецессивная модель однозначно демонстрировала лучшие метрики прогнозирования СКВ (минимальные значения AIC and BIC) со значением отношения шансов 3,78 (95 % ДИ 1,35–10,62).

Таким образом, анализ генотипов гена *STAT4* позволяет *предполагать, что рецессивная модель наследования полиморфизма rs7574865 наиболее точна при прогнозировании риска СКВ как в выборке, включавшей только женщин, так и в общей выборке исследуемых и демонстрирует* увеличение риска СКВ в общей группе мужчин и женщин в 4,39 раза и соответствующее увеличение риска для женщин в 3,78 раза для носителей генотипа Т/Т. Результаты, полученные в нашем исследовании на белорусской популяции, согласуются с ранее

опубликованными работами [1; 3; 6; 7; 8], в которых также показана роль носительства рискового генотипа Т/Т полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* в развитии СКВ, а также некоторых других аутоиммунных заболеваний.

Заключение

Результаты исследования свидетельствуют о значимом вкладе полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* в повышение риска развития системной красной волчанки для белорусской популяции.

Работа выполнена на базе Института генетики и цитологии НАН Беларуси в рамках Научно-технической программы Союзного государства «ДНК-идентификация», раздел 6.4 «Молекулярно-генетическая оценка риска аутоиммунных заболеваний».

Список цитированных источников

1. *STAT4* gene polymorphisms in human diseases / Xia Y., Xie Y., Zhang H. [et al.] // Front. Immunol. – 2024. – Vol. 15: 1479418. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1479418/full> (дата обращения 12.06.2025).
2. Ueno, H. The IL-12-STAT4 axis in the pathogenesis of human systemic lupus erythematosus / H. Ueno // Eur. J. Immunol. – 2020. – Vol. 50, No. 1. – P. 10–16.
3. Specificity of the *STAT4* genetic association for severe disease manifestations of systemic lupus erythematosus / K.E. Taylor, E.F. Remmers, A.T. Lee [et al.] // PLoS Genet. – 2008. – Vol. 4, No. 5: e1000084. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18516230/> (дата обращения 12.06.2025).
4. Ассоциация полиморфизма rs7574865 G/T гена *STAT4* с ювенильным началом системной красной волчанки / М.Ю. Крылов, М.И. Каледа, И.А. Гусева [и др.] // Современная ревматология. – 2022. – Т. 16, No. 1. – С. 68–72.
5. The *STAT4* SLE risk allele rs7574865[T] is associated with increased IL-12-induced IFN- γ production in T cells from patients with SLE / N. Hagberg, M. Joelsson, D. Leonard [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2018. – Vol. 77. – P.1070–1077.
6. Down-regulation-resistant *STAT4* risk haplotype contributes to lupus nephritis through CD4+ T cell interferon- γ production / I.K. Madera-Salcedo, A.L., A.L. Ramírez-Sánchez, N. Rodríguez-Rodríguez [et al.] // Arthritis Rheumatol. – 2023. – Vol. 75, No. 6. – P. 961–972.
7. Wang J. M. Association of *STAT4* gene rs7574865, rs10168266 polymorphisms and systemic lupus erythematosus susceptibility: A meta-analysis / J. Wang, W.D. Xu, an-F Huang // Immunological Investigations. - 2021. – Vol. 50, No. 2–3. – P. 282–294.
8. Polymorphism in *STAT4* increase the risk of systemic lupus erythematosus: An updated meta-analysis / Shancui-Zheng, Jinping-Zhang, Guoyuan-Lu [et al.] // Int. J. Rheumatol. – 2022:5565057. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9054488/> (дата обращения 12.06.2025).

STAT4 GENE RS7574865 POLYMORPHISM IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

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

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

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

The *STAT4* gene encodes a protein belonging to the STAT family of transcription factors that plays an essential role in cytokine signaling pathways and activates hundreds of genes involved in both innate and adaptive immune responses. Regulation of *STAT4* expression by cytokines such as interleukin-12 is critical for immune response through the JAK-STAT pathway. The IL-12-STAT4 axis contributes to autoantibody formation in systemic lupus erythematosus (SLE), modulating interaction between T helper cells and B lymphocytes. Polymorphisms of *STAT4* gene have been associated with risk of various autoimmune diseases including SLE, as well as severe SLE manifestations. We investigated the frequencies of rs7574865 *STAT4* genotypes in SLE patients compared to healthy donors and revealed increased risk of SLE for carriers of rs7574865 polymorphism in the Belarusian population, both in general cohort and among women.

Keywords: IL-12-STAT4 axis; systemic lupus erythematosus; STAT4; rs7574865