

УДК 616.5;616.97

DOI: 10.14427/jipai.2015.2.35

## Полиморфизм -511С/Т гена IL1В и атопический дерматит

Ю.В. Максимова<sup>1</sup>, Е.В. Свечникова<sup>1</sup>, В.Н. Максимов<sup>1,2</sup>, К.Н. Колесник<sup>2</sup>, С.Г. Лыкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России)

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины» («НИИТПМ»)

## Polymorphism -511C / T gene IL1B and atopic dermatitis

Y.V. Maximova<sup>1</sup>, E.V. Svechnikova<sup>1</sup>, V.N. Maximov<sup>1,2</sup>, K.N. Kolesnik<sup>1,2</sup>, S.G. Lykova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Novosibirsk State Medical University

<sup>2</sup> Federal State Budgetary of Scientific Institution «Institution of Internal and Preventive Medicine»

### Аннотация

**Цель исследования:** оценка ассоциации полиморфизма -511С/Т (rs16944) гена IL1В с атопическим дерматитом (АД) в русской популяции.

**Материалы и методы.** Группа больных с АД (100 человек, 25 % мальчиков/мужчин, 75 % девочек/женщин). В качестве контроля взяты две группы: 1) популяционная выборка 25-35 летних жителей Октябрьского района г. Новосибирска 100 человек, 2) группа учащихся общеобразовательных школ, 100 человек. Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование выполнялось по опубликованной методике.

**Результаты.** При сравнении исследуемых групп по частотам генотипов rs16944 получено достоверное различие ( $p=0,043$ ). Однако при разделении по полу оказалось, что у мужчин с АД отсутствуют значимые различия при сравнении с группой контроля. Отношение шансов у женщин носительниц генотипа СТ попасть в группу с АД в 2.7 раза выше, чем у носительниц двух других генотипов (95 % ДИ 1.5-4.7;  $p=0,001$ ).

**Вывод.** Полиморфизм rs16944 (-511С/Т) гена IL-1 $\beta$  ассоциирован с атопическим дерматитом у женщин. Носительство генотипа СТ повышает риск развития АД у женщин. У мужчин ассоциация не обнаружена.

### Ключевые слова

Атопический дерматит, ген, однонуклеотидный полиморфизм (ОНП), -511С/Т, rs16944, IL1В.

### Summary

**Objective:** to evaluate the association of polymorphism -511C / T (rs16944) gene IL1B with atopic dermatitis (AD) in the Russian population.

**Materials and methods.** A group of patients with AD (100 people, 25% of boys / men, 75% of girls / women). As a control, taken two groups: 1) population sample of 25-35 year old residents of Oktyabrsky district of Novosibirsk, 100 people, 2) a group of secondary school students, 100 people. Genomic DNA was isolated from venous blood by phenol-chloroform extraction. Genotyping was performed on the published procedure.

**Results.** When comparing the treatment groups in frequency of genotypes rs16944 received a significant difference ( $p = 0.043$ ). However, the separation by gender was found that men with AD are no significant differences when compared with the control group. The odds ratio in female carriers of the genotype CT to get into a group with AD is 2.7 times higher than in carriers of the other two genotypes (95% CI 1.5-4.7,  $p = 0.001$ ).

**Conclusion.** Polymorphism rs16944 (-511C / T) gene IL-1 $\beta$  is associated with atopic dermatitis in women. Carriage CT genotype increases the risk of AD in women. In men, the association was not found.

### Key words

Atopic dermatitis, gene, single nucleotide polymorphism (SNP), -511C/T, rs16944, IL1B.

По данным литературы у 80% детей, страдающих атопическим дерматитом (АД), отмечаетсяотягощенный семейный анамнез. При атопии у одного из родителей риск развития АД у ребенка составляет 45-50% [1, 2]. Согласно последним западноевропейским данным около половины больных с АД имеют мутацию в гене филаггрина [3]. Однако, остаются неясными причины развития заболевания у другой половины больных, а также факторы, способствующие проявлению в виде АД мутаций в гене FLG (в виде АД они проявляются примерно у половины носителей). Одно из возможных объяснений заключается в наличии других генов в рамках модели АД, как олигогенного заболевания или наличия генов-модификаторов. Логично искать такие гены из числа известных генов-кандидатов. Один из таких генов - IL1B (OMIM 147720) [4]. Лимфоцит активирующий фактор или эндогенный пироген, именуемый интерлейкином-1 вырабатывается преимущественно активированными макрофагами, а также другими клетками: эндотелиальными, эпителиальными, глиальными, кератиноцитами и фибробластами. ИЛ-1 существует в двух формах – ИЛ-1 альфа и ИЛ-1 бета, кодируемых различными генами. IL-1b является преобладающей формой IL-1. Интерлейкин 1 - провоспалительный цитокин, впервые описан в 1985 году [5]. IL1-бета синтезируется в виде предшественника массой 33 кДа. Активная форма IL-бета образуется в результате отщепления части предшественника каспазой-1 (CASP1/ICE). IL-1b - многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играющий ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета. Этот цитокин является важным медиатором воспалительной реакции, а также участвует в различных клеточных процессах, в том числе клеточной пролиферации, дифференцировке и апоптозе. Он одним из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Индукция циклооксигеназы-2 (PTGS2/COX2) этим цитокином в центральной нервной системе (ЦНС) вносит свой вклад в гиперчувствительность к боли при воспалении.

Ген IL1B находится на длинном плече 2-й хромосомы (q13), состоит из 7 экзонов, синтезируется 8 транскриптов. Согласно данным базы HuGE Navigator (version 2.0) исследованы ассоциации этого гена с несколькими сотнями патологических фенотипов, в том числе с АД [6]. В настоящее время в базе dbSNP содержится информация о 704 ОНП в этом гене [7]. Из них для

7 ОНП доказан патогенный эффект. rs16944 - это замена С на Т в положении 511 промотора гена IL1B. Немецкие исследователи Reich K и соавторы (2003) не выявили ассоциации rs16944 с АД [8]. Тогда как в Македонии такая ассоциация была обнаружена: ОШ для генотипа СТ 2.4 (95 % ДИ 1.4-4.1; p=0.001); ОШ для генотипа СС 0.5 (95 % ДИ 0.3-0.9; p=0.011) (67 детей с АД и 301 человек в контрольной группе) [9]. В исследовании, выполненном на иранской популяции ассоциации rs16944 с АД выявить не удалось (89 больных с АД и 140 человек - контроль) [10]. Таким образом, в тех немногих исследованиях ассоциации rs16944 с АД получены неоднозначные результаты. Поэтому возможность использования rs16944 гена IL1B в качестве маркера предрасположенности к развитию АД необходимо проверять в каждой конкретной популяции.

### Материал и методы

Обследованы 100 больных АД в возрасте 15–35 лет, из которых 25 % составляли мальчики/мужчины, а 75 % — девочки/женщины. Диагностика АД основывалась на жалобах, анамнезах жизни и заболевания. Диагноз АД устанавливали при наличии классических диагностических критериев J. Hanifin и G. Rajka. Кроме того, учитывали стадию заболевания, клинко-морфологическую форму, распространенность процесса на коже. Степень тяжести заболевания определяли с учетом индекса SCORAD. Фиксировались также возраст начала заболевания, его продолжительность, выполнение и результат кожных аллергических проб, наличие сопутствующих аллергических заболеваний, семейный анамнез.

Для оценки частот генотипов и аллелей полиморфизма -511С/Т (rs16944) гена IL1B были взяты две группы контроля: 1) Популяционная выборка 25-35 летних жителей г. Новосибирска 100 человек, обследованных в рамках международного проекта ВОЗ «MONICA» (Мониторинг заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний) [11]. 2) Группа учащихся общеобразовательных школ Октябрьского района г. Новосибирска, сформированная из 10 % выборки от всех учащихся общеобразовательных школ этого района (100 человек).

Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции [12]. Генотипирование выполняли по методике, описанной Zhang D., и соавт. (2007 г.) [13]: Прямой праймер 5-TGGCATTGATCTGGTTCATC-3, обратный, 5-GTTTAGGAATCTTCCCACTT-3. Условия ПЦР: 95°C 1 minute; 30 cycles of 95°C 30

сек, 55°C 30 сек, 72°C 30 сек. К ПЦР продуктам добавлялась эндонуклеаза рестрикции Aта87I (Сибэнзим, Россия). Результат оценивался после электрофореза в 4 % полиакриламидном геле и окраски 0.1% бромистым этидием. Размер продукта в 304 п.н. соответствовал Т аллелю, 190 и 114 пн – С аллелю.

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ SPSS 11.5. На I этапе определяли частоты генотипов и аллелей изучаемого полиморфизма в группе больных АД и в группах контроля, затем оценивали соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе (по критерию  $\chi^2$ ). Ассоциация ОНП с развитием АД проверялась с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия  $\chi^2$  по Пирсону. В случае четырехпольных таблиц для сравнения выборок по частотам генотипов и аллелей применяли точный двусторонний критерий Фишера. Относительный риск заболевания по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как отношение шансов (ОШ).

### Результаты и обсуждение

Частоты генотипов в контрольной группе соответствуют равновесию Харди-Вайнберга ( $X^2 = 0.77$ ). При сравнении группы с АД с контролем по частотам генотипов полиморфизма rs16944 гена IL1B получено достоверное различие -  $p=0,043$  (таблица 1). По частотам аллелей различия между группами отсутствуют,  $p=0,855$ .

В контрольной группе различия по частотам генотипов при разделении по полу отсутствовали, поэтому при сравнении с группой с АД её не делили по полу. При разделении группы с АД по полу, оказалось, что у мужчин с АД отсутствуют значимые различия при сравнении с группой контроля, тогда как при сравнении частот генотипов в группе женщин с АД с частотами в группе контроля получены высоко достоверные различия ( $p=0,002$ ). Отношение шансов у женщин носительниц генотипа СТ попасть в группу с АД в 2.7 раза выше, чем у носительниц двух других генотипов (95 % ДИ 1.5-4.7;  $p=0,001$ ). Генотипы СС и ТТ, наоборот, чаще встречаются в группе контроля, чем в группе с АД (таблица 2). Факторы, уровень которых выше в группе здоровых по сравнению с группой больных, принято называть протективными или защитными.

Можно констатировать, что наши данные во многом совпали с результатами исследования выполненного в Македонии, где были получены сходные частоты генотипов в исследуемых группах и сопоставимые оценки риска, связанные с ними. Так ОШ для генотипа СТ 2.4 (95 % ДИ 1.4-4.1;  $p=0.001$ ); ОШ для генотипа СС 0.5 (95 % ДИ 0.3-0.9;  $p=0.011$ ) [11].

Мы пока недостаточно хорошо представляем роль IL1B в развитии патологического процесса, все его взаимодействия, положительные и отрицательные обратные связи. Мы не встретили в доступной литературе обоснованной логичной

**Таблица 1. Частоты генотипов rs16944 гена IL1B в контрольной группе и в группе с АД**

Генотипы	Контрольная группа		АД		p
	n	%	n	%	
СС	85	42,5	35	35	0,043
СТ	95	47,5	61	61	
ТТ	20	10	4	4	

**Таблица 2. Частоты генотипов rs16944 гена IL1B у женщин в контрольной группе и в группе с АД**

Генотипы	Контрольная группа		АД		p	ОШ	95 % ДИ ОШ
	n	%	n	%			
СС	85	42,5	20	26,7	0,002		
СТ	95	47,5	53	70,7			
ТТ	20	10	2	2,6			
С/Т	95	47,5	53	70,7	0,001	2.663	1.507-4.705
СС+ТТ	105	52,5	22	29,3			
С/С	85	42,5	20	26,7	0,018	0.492	0,274-0.882
СТ+ТТ	115	57,5	55	73,3			

Примечания: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал

гипотезы о механизмах влияния полиморфизма гена IL1B на формирование фенотипа АД. Только в недавнем исследовании (2013 год) выполненном в Японии на культуре кератиноцитов из человеческих волосяных фолликулов показали, что воздействие интерферона гамма индуцирует повышенную экспрессию IL32, IL1B, IL8 и CXCL1 в клетках доноров atopическим дерматитом, по сравнению с клетками от доноров без атопии [14]. Экспрессия IL1B коррелировала с экспрессией IL32. Авторы предположили, что избыточная экспрессия IL32 в кератиноцитах из волосяных фолликулов пациентов с atopическим дерматитом приводит к избыточной продукции про-IL1 $\beta$  и активации его через комплекс инфламмосомы, в который вовлечен белок NLRP2 [14]. Некоторые NOD-подобные рецепторы распознают не только сигналы проникновения инфекции в клетку, но и так называемые немикробные

„сигналы опасности“. При связывании лиганда они образуют большие цитоплазматические комплексы (инфламмосомы), которые обеспечивают протеолитическую активацию провоспалительных цитокинов - интерлейкина 1 бета и интерлейкина 18. Ещё есть данные об участии IL1B в реализации аллергической реакции на никель у предрасположенных лиц: активация ионами никеля NLRP3-ASC-caspase-1 иммунного сигнального пути в антиген-презентирующих клетках приводит к протеолитическому расщеплению про-IL1 $\beta$  и секреции IL1B [15]. Мы до сих пор находимся на этапе накопления знаний и каждое новое исследование - это ещё один шаг к лучшему пониманию патогенеза заболевания.

**Вывод.** Полиморфизм -511C/T (rs16944) гена IL1B ассоциирован с atopическим дерматитом у женщин. Носительство генотипа СТ повышает риск развития АД у женщин. У мужчин ассоциация не обнаружена.

## Литература

1. Atopический дерматит: новые подходы к профилактике и наружной терапии. Рекомендации для врачей. Под ред. Ю.В. Сергеева. М.: Медицина для всех, 2005, 64 с.
2. Хёгер Петер Г. Детская дерматология. Пер. с нем. под ред. А. А. Кубановой, А.Н. Львова. М.: Издательство Панфилова; БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013: 648.
3. Sandilands A, Terron-Kwiatkowski A, Hull PR et al. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atop eczema. Nat Genet. 2007; May;39(5): 650-654.
4. <http://omim.org/>
5. March C.J., Mosley B., Larsen A., et al. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. Nature 1985; 315: 641-647.
6. <http://hugenavigator.net/>
7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>
8. Reich K, Westphal G, König IR, et al. Cytokine gene polymorphisms in atop eczema. Br J Dermatol. 2003 Jun;148(6):1237-1241.
9. Stavric K, Peova S, Trajkov D, Spiroski M. Gene polymorphisms of 22 cytokines in Macedonian children with atop eczema. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2012 Mar; 11(1): 37-50.
10. Behniafard N, Gharagozlou M, Sotoudeh S, et al. Association of single nucleotide polymorphisms of interleukin-1 family with atop eczema. Allergol Immunopathol (Madr). 2014 May-Jun; 42(3): 212-215.
11. MONICA Monograph and Multimedia Sourcebook. World's largest study of heart disease, stroke, risk factors, and population trends 1979-2002. Edited by Hugh Tunstall-Pedoe (with 64 other contributors for the WHO MONICA Project) - WHO, Geneva, 2003, 237 p.
12. Смит К., Калко С., Кантор Ч. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК. Анализ генома. Под ред. К. Дейвиса, пер. с англ. М: Мир, 1990: 58-94.
13. Zhang D, Zheng H, Zhou Y, et al. Association of IL-1beta gene polymorphism with cachexia from locally advanced gastric cancer. BMC Cancer. 2007 Mar 14; 7: 45.
14. Yoshikawa Y, Sasahara Y, Takeuchi K, et al. Transcriptional Analysis of Hair Follicle-Derived Keratinocytes from Donors with Atop eczema Reveals Enhanced Induction of IL32 Gene by IFN- $\gamma$ . Int J Mol Sci. 2013 Feb 5;14(2): 3215-3227.
15. Li X, Zhong F. Nickel induces interleukin-1 $\beta$  secretion via the NLRP3-ASC-caspase-1 pathway. Inflammation. 2014 Apr; 37(2): 457-466.

## Сведения об авторах:

Максимова Ю.В. - зав. кафедрой медицинской генетики и биологии медико-профилактического факультета ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел. 8(383)2259224, 164706@mail.ru

Свечникова Е.В. - доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии лечебного факультета ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России

Максимов В.Н. - зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний «НИИТПМ»

Колесник К.Н. - м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний «НИИТПМ»

Львова С.Г. - профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии лечебного факультета ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России

Поступила 11.05.2015 г.