

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ КОФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ Id2 ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Минеев В.Н., Нёма М.А., Сорокина Л.Н.

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Цель исследования – оценка вклада репрессивного кофактора транскрипции Id2 (inhibitor of DNA-binding 2) в патогенезе бронхиальной астмы (БА). Обследовали 6 практически здоровых лиц и 9 больных аллергической бронхиальной астмой (АБА) и 24 – неаллергической БА (НАБА). Экспрессию мРНК Id2 оценивали путем проведения RT-PCR.

Значимой разницы в экспрессии мРНК Id2 в лимфоцитах при БА и у здоровых лиц не зарегистрировано. Корреляционный анализ выявил значимую прямую связь уровня экспрессии мРНК Id2 с уровнем экспрессии мРНК фермента AID и количеством эозинофилов периферической крови при АБА. У здоровых лиц наблюдается сильная прямая связь экспрессии мРНК Id2 как с содержанием IgE в сыворотке, так и с уровнем экспрессии мРНК его тяжелых цепей (ε-цепей).

У больных БА, вероятно, имеется дефект реализации функций репрессивного кофактора транскрипции ID2, что в итоге ведет к нарушению негативного контроля за экспрессией фермента AID, участвующего в переключении В-лимфоцитов на синтез IgE.

Ключевые слова: бронхиальная астма, Id2, транскрипция, иммуноглобулин E, лимфоциты

A PATHOGENETIC ROLE OF TRANSCRIPTION COREPRESSOR Id2 IN BRONCHIAL ASTHMA

Mineev V.N., Nyoma M.A., Sorokina L.N.

The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of present study was to evaluate a possible role of Id2 (inhibitor of DNA-binding 2) in pathogenesis of bronchial asthma (BA). We have examined six healthy control persons, nine patients with allergic bronchial asthma (ABA) and twenty-four patients with non-allergic bronchial asthma (NABA). The Id2 mRNA expression was evaluated by means of real-time PCR.

No significant differences in Id2 mRNA expression levels were revealed between the control and asthma groups. Correlation analysis of Id2 mRNA expression has revealed significant positive correlation with AID

Адрес для переписки:

*Минеев Валерий Николаевич
ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Министерства
здравоохранения РФ
198516, Россия, Санкт-Петербург-Петродворец,
Санкт-Петербургский пр., 56, кв.15.
Тел.: 8 (812) 450-71-63, 8 (921) 359-62-95.
E-mail: vnmineev@mail.ru*

Address for correspondence:

*Mineev Valeriy N.
The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University,
Ministry of Healthcare of the Russian Federation
198516, Russian Federation, St. Petersburg-Petrodvorets,
Sankt-Peterburgskiy pr., 56, apt 15.
Phone: 7 (812) 450-71-63, 7 (921) 359-62-95.
E-mail: vnmineev@mail.ru*

Образец цитирования:

*В.Н. Минеев, М.А. Нёма, Л.Н. Сорокина,
«Патогенетическая роль кофактора транскрипции Id2
при бронхиальной астме» // Медицинская иммунология,
2016. Т. 18, № 2. С. 183–186.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-2-183-186*

© Минеев В.Н. и соавт., 2016

For citation:

*V.N. Mineev, M.A. Nyoma, L.N. Sorokina, “A pathogenetic role
of transcription corepressor Id2 in bronchial asthma”, Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2016,
Vol. 18, no. 2, pp. 183–186.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-2-183-186*

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-2-183-186>

(activation-induced cytidine deaminase) mRNA levels and peripheric blood eosinophil contents in ABA. Healthy persons demonstrate strong positive correlation between Id2 mRNA expression and serum IgE levels, like as with ϵ -chain mRNA contents.

It was suggested that the Id2 dysfunction may take place in the BA patients. These changes affect negative control over the AID expression, which is important for switching B-cells to IgE production.

Keywords: bronchial asthma, Id2, transcription, immunoglobulin E, lymphocytes

Работа частично поддержана грантом СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова 2012 года для инновационных исследований.

Введение

Как известно, одним из ключевых элементов патогенеза бронхиальной астмы (БА) является иммуноглобулин (IgE). Открытый в 1999 году фермент AID (AICDA – activation-induced [cytidine] deaminase – индуцируемая активацией цитидиновая деаминаза) необходим для инициации процесса переключения В-лимфоцитов с продукции IgM на синтез других классов антител, в частности IgE [4].

Ранее мы уже рассматривали роль AID в патогенезе бронхиальной астмы [1].

Транскрипция гена AID контролируется факторами E2A и PAX-5 [3] и корепрессором Id2. Кофакторы семейства Id (inhibitors of DNA binding – ингибитор ДНК-связывания) не имеют ДНК-связывающих доменов, однако, могут связываться с транскрипционными фактора-

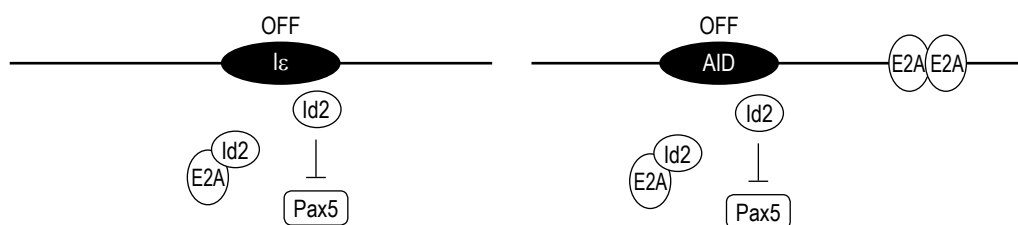
ми, угнетая их возможность связываться с ДНК. В частности, Id2 может препятствовать присоединению E2A и PAX-5 к своим сайтам связывания в промоторе гена AID (рис. 1). Целью нашей работы была оценка вклада Id2 в патогенез БА.

Материалы и методы

Обследовано 6 практически здоровых лиц, 9 больных аллергической бронхиальной астмой (АБА) и 24 – неаллергической БА (НАБА) различной тяжести течения.

Все обследованные больные БА находились в клинике госпитальной терапии имени академика М.В. Черноруцкого ПСПбГМУ имени академика И.П. Павлова. Проводили комплексное клиничко-лабораторное и инструментальное обследование, включавшее общеклинические методы, цитологический и бактериологический

Покоящаяся В-клетка



Активированная В-клетка

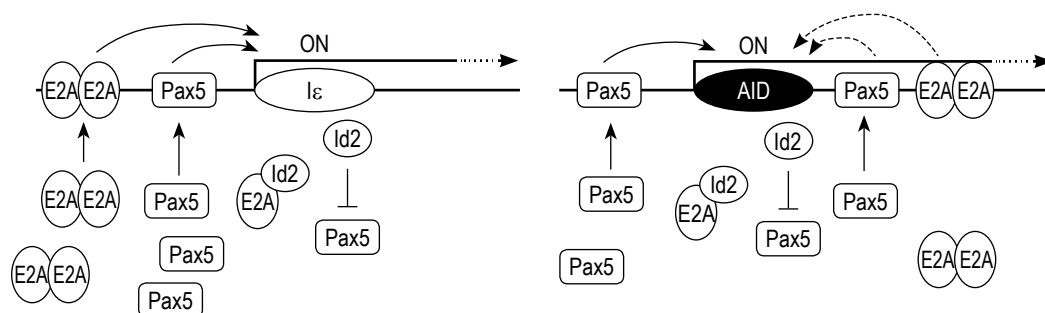


Рисунок 1. Предполагаемая регуляция экспрессии генов AID и IgE транскрипционными факторами E2A, PAX-5 и кофактором Id2 [3]

Примечание. В неактивированном В-лимфоците Id2 блокирует связывание транскрипционных факторов E2A и PAX-5 с промоторами генов тяжелых цепей IgE ($I\epsilon$) и AID, и их транскрипция не происходит (OFF).

При активации в В-клетке возрастает количество E2A и PAX-5, и изначального количества Id2 недостаточно для блокирования связывания транскрипционных факторов с ДНК. E2A и PAX-5 присоединяются к своим сайтам связывания в промоторах генов тяжелых цепей IgE и AID и инициируют их транскрипцию (ON).

анализы мокроты, а также аллергологическое исследование. Все участники подписали форму информированного согласия. В обследованных группах проводили исследование функции внешнего дыхания. Диагноз устанавливали и проводили лечение в соответствии с критериями и стандартами международного консенсуса по вопросам диагностики и лечения БА (GINA, 2012). Для исследования использовали лимфоциты периферической крови здоровых лиц и больных БА, выделенные на градиенте плотности Lymphoseparation Medium («ICN») с использованием стандартной методики выделения мононуклеаров с последующим удалением моноцитов с осаждением на пластике в условиях инкубации в среде IMDM при 37 °С в течение 40 мин.

RT-PCR. Экспрессию мРНК AID оценивали путем проведения RT-PCR (reverse transcription-PCR – обратная транскрипция – полимеразная цепная реакция [ПЦР]) с нуклеиновыми кислотами, выделенными из лимфоцитов периферической крови. ПЦР проводили в амплификаторе «iCycler» (BIORAD) в следующем режиме: инициация при 95 °С в течение 4-х мин, 30 циклов денатурации при 95 °С в течение 30 с, отжига при 60 °С в течение 30 с и полимеризации при 70 °С в течение 30 с. Завершающую полимеризацию проводили при 72 °С в течение 7 мин. Продукты амплификации подвергали электрофорезу в 1,5% агарозном геле и окраске этидия бромидом. Результат электрофореза после фотографирования в ультрафиолетовом свете анализировали в программе Gel-Pro 3.1. Уровень экспрессии мРНК Id2 и AID и тяжелых цепей IgE (эпсилон-цепей) оценивали относительно уровня β-актина.

Праймеры для Id2, AID и β-актина были разработаны на основе известных последовательностей (GenBank). (Id2 5': 5'- CCC aGA ACA aga Agg TGA GC-3' и Id2 3': 5'- AAT TCA GAA GCC TGC AAG GA-3'; AID 5': 5'- gga act tgg aga ggg agc tt-3' и AID 3': 5'- ggc tct acc tgg ctg ttc tg-3'; β-актин

5': 5'-TCC TGT GGC ATC CAC GAA ACT-3' и β-актин 3': 5'-GAA GCA TTT GCG GTG GAC GAT-3').

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью программы SPSS 13.0 с использованием методов и критериев непараметрической статистики при малом значении числа наблюдений: критериев Вилкоксона, Манна–Уитни, коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Рассмотрим, как распределена экспрессия мРНК Id2 в группах больных БА и практически здоровых лиц (табл. 1).

Как видно из таблицы 1, нет значимой разницы в экспрессии мРНК Id2 в лимфоцитах при БА и у здоровых лиц.

Уровни экспрессии мРНК Id2 значимо коррелируют с количеством эозинофилов периферической крови (ρ Спирмена = 0,717; $n = 9$; $p = 0,03$) у больных аллергической БА, в то же время подобной закономерности не отмечалось у больных неаллергическим вариантом заболевания и у здоровых лиц (ρ Спирмена = -0,279; $n = 24$; $p = 0,186$ и ρ Спирмена = -0,486; $n = 6$; $p = 0,329$).

Учитывая влияние Id2 на экспрессию AID, мы проанализировали связь экспрессии мРНК этих двух факторов. У больных БА эта корреляция оказалась значимо сильной (ρ Спирмена = 0,882; $n = 15$; $p < 0,01$). Такое однонаправленное изменение экспрессии, на наш взгляд, может быть объяснено предположительно наличием специфической обратной связи: при низких концентрациях белка Id2 увеличивается продукция мРНК AID, высокие уровни которой, вероятно, запускают процесс синтеза мРНК Id2. Отсутствие такой закономерности в группе здоровых лиц позволяет предположить наличие дефекта негативного контроля за экспрессией AID при БА, который, вероятно, имеет место на уровне

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК Id2 В ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУППАХ (ИНТЕГРИРОВАННАЯ ПЛОТНОСТЬ ПО ОТНОШЕНИЮ К β-АКТИНУ) (МЕДИАНА И КВАРТИЛИ)

Группа обследования	Значение	Значимость различий*
Контрольная группа (практически здоровые лица) $n = 6$ (1)	0.80 (0,54;1,10)	1-2: $p > 0,05$ 2-3: $p > 0,05$ 1-3: $p > 0,05$
Больные АБА $n = 9$ (2)	0.60 (0,40;1,50)	
Больные НАБА $n = 24$ (3)	0.88 (0,60;1,11)	

Примечание. * – уровень значимости, определяющий достоверность различий (для сравнения выборок использован критерий Геймса–Хьюэлла).

трансляции Id2 (то есть на стадии синтеза белка на матрице РНК).

Интересно, что, в отличие от больных БА, у здоровых лиц наблюдается сильная прямая связь экспрессии мРНК Id2 как с содержанием IgE в сыворотке, так и с уровнем экспрессии мРНК его тяжелых цепей (ϵ -цепей) (ρ Спирмена = 0,9; $n = 5$; $p = 0,037$). Возможно, это связано с общим регулятором экспрессии как мРНК ϵ -цепей, так и мРНК Id2.

Ранее мы предполагали, что таким регулятором может являться транскрипционный фактор STAT6 [2], последовательность для связывания которого присутствует в нетранслируемой части гена Id2.

Отсутствие подобной закономерности при БА, вероятно, обусловлено нарушением контроля со стороны STAT6 за транскрипцией ϵ -цепей, за счет дисбаланса в сети транскрипционных

факторов, регулирующих продукцию этих частей IgE [2].

Также с активностью STAT6 может быть связана и выявленная положительная корреляция уровней экспрессии мРНК Id2 с эозинофилией периферической крови при аллергической БА: STAT6 стимулирует дифференцировку Т-лимфоцитов в Т-хелперы 2-го типа, продуцирующие IL-5, активирующий эозинофилы.

В заключение можно отметить, что у больных БА, вероятно, имеется дефект реализации функций репрессивного кофактора транскрипции Id2, что в итоге ведет к нарушению негативного контроля за экспрессией AID, обеспечивающей переключение В-лимфоцитов на синтез IgE. Изучение концентрации белка Id2 позволит глубже понять механизмы негативного контроля в патогенезе БА.

Список литературы / References

1. Минеев В.Н., Нёма М.А., Сорокина Л.Н. Экспрессия мРНК фермента AID в лимфоцитах периферической крови при бронхиальной астме // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 1. С. 71-74. [Mineev V.N., Nyoma M.A., Sorokina L.N. Expression of AID-specific mRNA in peripheral blood lymphocytes in bronchial asthma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 1, pp. 71-74. doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-71-74 (In Russ.)]
2. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Нёма М.А., Еремеева А.В. Взаимодействие транскрипционных факторов PAX-5 и STAT6 в патогенезе аллергической бронхиальной астмы // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 1. С. 35-42. [Mineev V.N., Sorokina L.N., Nyoma M.A., Ereemeeva A.V. Interactions of transcription factors PAX-5 and STAT6 in pathogenesis of allergic bronchial asthma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 1, pp. 35-42. doi: 10.15789/1563-0625-2014-1-35-42 (In Russ.)]
3. Muramatsu M., Sankaranand V.S., Anant S., Sugai M., Kinoshita K., Davidson N.O., Honjo T. Specific expression of activation-induced cytidine deaminase (AID), a novel member of the RNA-editing deaminase family in germinal center B cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, no. 274, pp. 18470-18476.
4. Gonda H., Sugai M., Nambu Y., Katakai T., Agata Y., Mori K.J., Yokota Y., Shimizu A. The balance between Pax5 and Id2 activities is the key to AID gene expression. *The Journal of Experimental Medicine*, 2003, no. 198, pp. 1427-1437.

Авторы:

Минеев В.Н. — д.м.н., профессор, кафедра госпитальной терапии имени академика М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Сорокина Л.Н. — д.м.н., профессор, кафедра госпитальной терапии имени академика М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Нёма М.А. — к.м.н., ассистент, кафедра госпитальной терапии имени академика М.В. Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Mineev V.N., PhD, MD (Medicine), Professor, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Sorokina L.N., PhD, MD (Medicine), Assistant Professor, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Nyoma M.A., PhD (Medicine), Associate Professor, M. Chernorutsky Hospital Therapy Department with a Course of Allergology and Immunology, The First St. Petersburg I. Pavlov State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 04.10.2015
Принята к печати 07.12.2015

Received 04.10.2015
Accepted 07.12.2015