

МИССЕНС-МУТАЦИЯ Gln11Leu ГЕНА TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 7 И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К ПСОРИАЗУ

Галимова Э.С.^{1,2}, Кинго К.³, Кокс С.¹

¹ Институт биомедицины и трансляционной медицины, Тартуский университет, г. Тарту, Эстония

² ФГБУН «Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра» РАН, г. Уфа, Россия

³ Институт клинической медицины, Тартуский университет, г. Тарту, Эстония

Резюме. Toll-подобные рецепторы (TLRs) – консервативные рецепторы, которые распознают патоген-ассоциированные микробные структуры. Эти рецепторы экспрессируются на клетках кожи, в том числе кератиноцитах, меланоцитах и клетках Лангерганса. Многочисленные экспериментальные исследования свидетельствуют о ключевой роли TLRs в патогенезе иммунопатологических заболеваний, в том числе псориаза.

Цель исследования – анализ ассоциаций полиморфных вариантов гена *TLR7* с риском развития псориаза. Использованы образцы ДНК 138 больных псориазом и 317 здоровых доноров. Генотипирование полиморфных локусов rs179003, rs179008, rs179020, rs850632, rs12013728 гена *TLR7* проведено с использованием SNPLex платформы (AB, США). В общей выборке больных псориазом обнаружена ассоциация аллеля *T* (rs179008) гена *TLR7* с повышенным риском развития заболевания ($P = 0,0065$, $OR = 1,95$). Кроме того, носительство аллеля *T* (rs179008) гена *TLR7* повышает риск развития псориаза у больных с поздним началом развития заболевания и спорадической формой ($P = 0,0004$, $OR = 2,50$ и $P = 0,0078$, $OR = 2,2$ соответственно). В результате проведенного молекулярно-генетического исследования идентифицировано, что миссенс-мутация Gln11Leu гена *TLR7* вносит определенный вклад в развитие предрасположенности псориазом. Для подтверждения результатов настоящего исследования необходимы репликативные исследования на независимых выборках и функциональный анализ.

Ключевые слова: псориаз, врожденный иммунитет, генетика, *TLR7*, миссенс-мутация Gln11Leu, ассоциация

TOLL-LIKE RECEPTOR 7 GENE Gln11Leu MISSENSE-MUTATION AND SUSCEPTIBILITY TO PSORIASIS

Galimova E.S.^{a, b}, Kingo K.^c, Kõks S.^a

^a Institute of Biomedicine and Translational Medicine, Faculty of Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonia

^b Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation

^c Institute of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonia

Abstract. Toll-like receptor (TLR) are responsible for recognizing various molecular patterns associated with pathogens. Their expression have been detected in skin cells such as keratinocytes and melanocytes. Numerous experimental studies demonstrate the key role of TLRs in the pathogenesis of immune diseases, including psoriasis.

The objective of this study is to analyze the associations of polymorphisms in *TLR7* gene and the risk of psoriasis development. DNA samples were collected from 138 patients with psoriasis and 317 healthy controls. Genotyping of rs179003, rs179008, rs179020, rs850632, rs12013728 polymorphic loci in *TLR7* gene was performed using the SNPLex™ method (AB, USA).

Адрес для переписки:

Галимова Эльвира Сафуановна
ФГБУН «Институт биохимии и генетики Уфимского
научного центра» РАН
450054, Россия, г. Уфа, пр. Октября, 71.
Тел./факс: 8 (3472) 235-60-88.
E-mail: elya-4@yandex.ru

Address for correspondence:

Galimova Elvira S.
Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center,
Russian Academy of Sciences
450054, Russian Federation, Ufa, Prospect Oktyabrya, 71.
Phone/Fax: 7 (3472) 235-60-88.
E-mail: elya-4@yandex.ru

Образец цитирования:

Э.С. Галимова, К. Кинго, С. Кокс «Миссенс-мутация Gln11Leu гена Toll-подобного рецептора 7 и предрасположенность к псориазу» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 3. С. 267–274.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-3-267-274

© Галимова Э.С. и соавт., 2017

For citation:

E.S. Galimova, K. Kingo, S. Kõks “Toll-like receptor 7 gene Gln11Leu missense-mutation and susceptibility to psoriasis”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2017, Vol. 19, no. 3, pp. 267–274.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-3-267-274

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3-267-274

SNP in the *TLR7* gene rs179008 (Gln11Leu) was associated with psoriasis in entire psoriasis, late onset and sporadic subgroups (Pc = 0.0065, OR = 1.95; Pc = 0.0004, OR = 2.50; Pc = 0.0078, OR = 2.2, respectively). In conclusion, this study is the first to identify genetic variants of the *TLR7* gene significantly associated with psoriasis.

Keywords: psoriasis, innate immunity, genetics, *TLR7* gene, missense-mutation Gln11Leu, association

Финансирование: работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 14-04-97026-р_Поволжье_а и 13-04-01489), Научного фонда Эстонии (гранты № 7549 и 7479), Министерства науки и образования Эстонии (грант № SF0180043s07), программы финансирования университетских научно-исследовательских проектов Министерства науки и образования Эстонии (IUT20-46) и гранта Евросоюза – Европейского фонда регионального развития.

Funding. This research was funded by the Russian Foundation for Basic Research grant 14-04-97026-r_Volga region_a, and 13-04-01489, the Estonian Science Foundation grants 7549 and 7479, the Estonian Ministry of Science and Education grant SF0180043s07, the European Union through the European Regional Development Fund, institutional research funding IUT20-46 of the Estonian Ministry of Education and Research.

Введение

Псориаз – хронический дерматоз многофакторной природы с доминирующим значением в его развитии генетических факторов [2, 3, 4]. Проведенные молекулярно-генетические исследования выявили ассоциацию и сцепление 19 геномных локусов с псориазом, при этом максимальный LOD-балл был получен для локуса *PSORS1* в хромосомном регионе 6p21.3 главного комплекса гистосовместимости (*MHCI* – major histocompatibility complex) [1, 5, 36]. Полногеномные исследования ассоциаций полиморфных вариантов (GWAS Genome-Wide Association Studies) идентифицировали более 40 хромосомных регионов по всему геному, ассоциированных с псориазом: гены сигнальных путей врожденного иммунитета, адаптивного иммунитета и барьерной функции кожи [31]. В ряде исследований показана роль полиморфных локусов (SNPs – Single nucleotide polymorphism) и мутаций генов цитокинов и цитокиновых рецепторов, а также компонентов их сигнальных путей в патогенезе заболевания [6, 7, 8, 9, 21].

В настоящее время активно изучаются функции и значение Toll-подобных рецепторов (TLRs – Toll-like receptors), играющих центральную роль в системе иммунной защиты кожи. Различные типы этих рецепторов установлены на основных клеточных популяциях – от эпителиальных до иммунокомпетентных, таких как кератиноциты, фибробласты, антиген-презентирующие клетки и меланоциты. Активация TLRs через внутриклеточные сигнальные пути приводит к образованию провоспалительных стимулов и инициирует сигнал, трансформирующий кожу в функциональное состояние защиты. Таким образом, TLRs участвуют в гомеостазе и восстановлении ткани.

TLRs – класс клеточных рецепторов с одним трансмембранным фрагментом, которые распознают консервативные структуры различных патогенов, активируя клеточный иммунный ответ [10], и тем самым играют ключевую роль во врожденном иммунитете и формировании

второй линии защиты – адаптивного иммунитета. В настоящее время известны 10 клеточных TLRs, которые связывают определенные лиганды и продуцируются в организме различными клетками. TLRs активируются при связывании лигандов, которые, главным образом, являются структурными компонентами бактерий, вирусов и грибов [11]. Патоген-кодируемые лиганды относятся к трем категориям: липиды и липопептиды (TLR1/TLR2; TLR2/TLR6; TLR4), протеины (TLR5) и нуклеиновые кислоты (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9). TLR3 распознает двухцепочечную РНК вирусов (ds RNA), TLR7 и TLR8 распознают одноцепочечную РНК (ss RNA), тогда как TLR9 – бактериальные и вирусные ДНК и синтетические олигонуклеотиды, содержащие неметилированные CG повторы [11, 13, 24, 26]. Не идентифицировано лиганда для TLR10, хотя, как показано, он является функциональным рецептором [23].

После активации TLRs происходит их олигомеризация. Олигомерный рецептор способен связывать несколько внутриклеточных адаптерных белков, которые обеспечивают последующую передачу сигнала. Всего существует пять адаптерных белков – MyD88, TIRAP, TRIF, TRAM, SARM, набор которых варьирует в зависимости от типа рецептора и сигнального пути [13]. Например, TLR4 может взаимодействовать с MyD88 и TIRAP, индуцируя синтез провоспалительных цитокинов, либо с TRIF и TRAM, что приводит к синтезу интерферонов. TLR-индуцированный интерферон может быть вовлечен в развитие таких заболеваний, как псориаз и атеросклероз [17, 30, 38]. Адаптерные белки связываются со специфическими ферментами-киназами, которые значительно усиливают сигнал и приводят в конечном итоге к продукции цитокинов, хемокинов и пептидов, которые определяют воспалительный ответ клетки [11]. Таким образом, TLR сигнал, опосредованный адаптерными белками и ферментами-киназами, приводит к активации интерферон-регуляторного фактора (IRF) и семейства транскрипционных факторов NF-κB (nuclear factor – ядерный фактор каппа-B) и по-

следующей индукции TLR-регулируемых генов [33, 41]. В целом TLRs являются одними из наиболее мощных клеточных генных модуляторов.

Рецепторы локализируются, как правило, на клеточной мембране, но могут быть и внутри клетки. TLRs экспрессируются иммунными клетками, такими как моноциты, макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты [33]. Сравнительно недавно TLRs были идентифицированы в эпителиальных клетках и кератиноцитах [15, 27, 34, 42]. В эпидермисе кератиноциты выполняют барьерную функцию организма и определяют первую линию иммунной защиты организма от патогенов [28]. Данные о роли эпидермиса как иммунного органа подтверждаются анатомическим, молекулярным и функциональным сходством эпителиальных клеток вилочковой железы и кератиноцитов эпидермиса [28]. Исследования экспрессии TLRs в кератиноцитах здоровой и псориатической кожи представлены в нескольких работах [12, 14, 16, 39]. Английские ученые установили повышенную экспрессию TLR2 в верхнем слое эпидермиса псориатической кожи и в базальном слое здоровой и непораженной кожи, также была снижена экспрессия TLR5 в базальных кератиноцитах псориатических папул [12]. Другие исследователи обнаружили повышенную экспрессию TLR1 в базальных кератиноцитах псориатической кожи [16]. Vegen и соавт. выявили, что кератиноциты экспрессируют все известные TLRs, и цитокины TNF α и IFN γ регулируют внутрицитоплазматическую и поверхностную экспрессию большинства TLRs [14]. Seung и соавт. определили, что экспрессия TLR4 была выше в образцах кожи с каплевидным псориазом по сравнению с бляшечным псориазом и здоровой кожей [39]. Поскольку TLRs являются средством в индукции врожденного иммунитета и воздействии на адаптивный иммунитет, регулирование экспрессии TLRs при таких заболеваниях, как псориаз, атопический дерматит, лепра, системная красная волчанка и др., может быть значимым в патофизиологии данных болезней [33].

Согласно литературным данным, активация TLR7 и TLR9 эндогенными РНК или ДНК может быть важным механизмом в провоцировании таких заболеваний, как системная красная волчанка и псориаз [13]. Кроме того, учеными была исследована роль ингибиторов данных TLRs на модельных мышах и возможность использования в качестве терапевтических средств при аутоиммунных заболеваниях [13]. Хотя полная картина биологической роли TLRs до конца не ясна, изучение генетических изменений некоторых компонентов сигнального пути по каждому TLRs имеет большую перспективу [10, 11, 13]. SNPs в генах регуляторных молекул начальных этапов развития воспалительной реакции в ряде случаев обуславливает нарушения, приводящие к изменениям количественных показателей защитных реакций, что сказывается на развитии и исходе

иммунопатологических, инфекционных и воспалительных процессов [10, 11, 25, 29].

Влияние полиморфных вариантов гена *TLR7* на течение и клиническую картину псориаза в разных популяциях России является недостаточно изученным, определяя актуальность настоящего исследования. **Целью нашего исследования** являлся анализ ассоциаций полиморфных локусов гена *TLR7* с риском развития псориаза у татар Волго-Уральского региона.

Материалы и методы

В работе использованы образцы ДНК 138 больных вульгарным псориазом, состоящих на учете и находящихся на стационарном лечении в Республиканском кожно-венерологическом диспансере (г. Уфа). Выборку больных составили неродственные между собой пациенты в возрасте от 8 до 81 лет. 39 пациентов имели первые проявления псориаза до 40 лет (I тип псориаза) и 98 после 40 лет (II тип псориаза). 37 пациентов в анамнезе имели родственников больных псориазом.

Клиническое обследование больных для постановки диагноза проводили на основе специально разработанной формализованной карты истории болезни, куда включали данные о возрасте, поле, национальности больного, анамнезе заболевания, особенностях течения, наследственности, провоцирующих факторах, раннее проводимом лечении, перенесенных и сопутствующих заболеваниях. В диагностике псориатического артрита использовали критерии CASPAR (Классификация критериев псориатического артрита – Classification criteria for Psoriatic ARthritis) [35], рентгенографическое исследование суставов и позвоночника, а также анализ крови для определения ревматоидного фактора в крови пациента и исключения ревматоидного артрита.

До начала лечения и в течение курса терапии всем больным проводили обследование с применением лабораторных методов исследования (общий анализ крови и мочи, биохимическое исследование крови, проведение исследования для выявления сифилиса, гепатитов В и С, ВИЧ). У каждого больного для оценки тяжести и распространенности кожных проявлений использовали индекс PASI (Psoriasis area and severity index).

Контрольная группа была сформирована из 317 здоровых неродственных людей, соответствующих выборке больных по возрасту, полу и этнической принадлежности. Забор крови производили на станциях переливания крови у здоровых доноров, отрицающих наличие псориаза и других аутоиммунных заболеваний у себя и родственников.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [32]. Было прогенотипировано 5 SNPs гена, кодирующего *TLR7* у 138 больных

ТАБЛИЦА 1. ДАННЫЕ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА *TLR7*, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ИССЛЕДОВАНИИ

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF STUDIED SNPs OF *TLR7* GENE

Полиморфный локус Polymorphic locus	Хр. позиция Chr. position	Хромосома Chromosome	Ген Gene	Функциональное значение Function significance
rs179003	12895822	Xp22.3	<i>TLR7</i>	Intergenic variant
rs179008	12885540	Xp22.3	<i>TLR7</i>	exon 3 Gln11Leu
rs179020	12871738	Xp22.3	<i>TLR7</i>	intron 2
rs850632	12891447	Xp22.3	<i>TLR7</i>	3' of gene
rs12013728	12898576	Xp22.3	<i>TLR7</i>	3' of gene

псориазом и 317 здоровых доноров (табл. 1). Генотипирование 5 SNPs гена *TLR7* было осуществлено с использованием SNPlex платформы согласно протоколу (SNPlex Genotyping System 48-plex Protocol, "Applied Biosystems") на кафедре физиологии Института биомедицины и трансляционной медицины Тартуского университета. SNPlex технология основана на методе лигирования синтетических олигонуклеотидных зондов (OLA). Электрофоретический анализ меченных одонитевых фрагментов ДНК провели на автоматическом секвенаторе ABI 3730xl DNA Analyzer ("Applied Biosystems").

Соответствие наблюдаемого распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению по закону Харди–Вайнберга оценивали с помощью точного критерия Фишера [22] в программе FINNETI. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ PLINK [37], FINNETI и MS Excel 2013 (Microsoft).

При сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и здоровых лиц применяли критерий χ^2 , точный критерий Фишера и кри-

терий χ^2 с поправкой Йетса для таблиц сопряженности 2×2 . Силу ассоциаций генотипических характеристик с риском развития псориаза оценивали по значениям показателя отношения шансов (odds ratio, OR). Для коррекции множественных сравнений применяли поправку Бонферрони.

Результаты и обсуждение

Проведен анализ ассоциаций 5 полиморфных вариантов (табл. 2) гена *TLR7* с риском развития псориаза у 138 татар Волго-Уральского региона. Для проверки соответствия наблюдаемого распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению по закону Харди–Вайнберга использовался критерий χ^2 . Результаты анализа распределения частот аллелей полиморфных локусов гена *TLR7* у больных псориазом и здоровых доноров представлены в таблице 2, с учетом возраста манифестации в таблице 3 и семейной отягощенности в таблице 4.

Сравнение распределения частот аллелей SNPs локусов rs179003, rs179008, rs179020,

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА *TLR7* У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ В ЦЕЛОМ

TABLE 2. ASSOCIATION ANALYSIS OF SNPs FROM *TLR7* GENE CLUSTER WITH DISEASE IN ENTIRE PSORIASIS

Полиморфный вариант, rs Polymorphic variant, rs	Частота у больных Allele frequency in cases p n = 138	Частота у здоровых доноров Allele frequency in controls p n = 317	P-value	Pbonf-value	^a OR (95%CI)
rs179003	0,257	0,253	0,899	–	–
rs179008	0,360	0,230	$8,4 \times 10^{-5}$	0,0065	1,95 (CI 1,39-2,73)
rs179020	0,330	0,260	0,041	0,2038	–
rs850632	0,338	0,354	0,643	–	–
rs12013728	0,419	0,449	0,448	–	–

Примечание. Здесь и далее: p – частота аллеля, P – оценка достоверности различий по распределению частот генотипов между двумя группами, OR – отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал, жирным выделены статистически значимые различия.

Note. Here and elsewhere, p, allele frequency; P, significance value of the genotype difference between the two groups; OR, odds ratio; 95% CI, confidence interval. Statistically significant differences are shown in bold.

ТАБЛИЦА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА *TLR7* У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ С УЧЕТОМ МАНИФЕСТАЦИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

TABLE 3. ASSOCIATION ANALYSIS OF SNPs FROM *TLR7* GENE CLUSTER WITH PSORIASIS IN ONSET DISEASE SUBGROUP

Полиморфный вариант, rs Polymorphic variant, rs	Частота у больных Allele frequency in cases p n = 138	Частота у здоровых доноров Allele frequency in controls p n = 138	P-value	Pbonf-value	OR (95%CI)
Тип I < 40 лет Type I < 40 years old					
rs179003	0,317	0,253	0,216	–	–
rs179008	0,220	0,230	0,982	–	–
rs179020	0,325	0,258	0,203	–	–
rs850632	0,329	0,354	0,658	–	–
rs12013728	0,348	0,449	0,117	–	–
Тип II > 40 лет Type II > 40 years old					
rs179003	0,232	0,253	0,549	–	–
rs179008	0,42	0,23	1,5 × 10⁻⁶	0,0004	2,50 (CI 1,70-3,56)
rs179020	0,326	0,258	0,070	–	–
rs850632	0,342	0,354	0,754	–	–
rs12013728	0,451	0,449	0,961	–	–

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. See note to table 2.

ТАБЛИЦА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА *TLR7* У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ С УЧЕТОМ СЕМЕЙНОЙ ОТЯГОЩЕННОСТИ

TABLE 4. ASSOCIATION ANALYSIS OF SNPs FROM *TLR7* GENE CLUSTER WITH PSORIASIS IN FAMILY AND SPORADIC SUBGROUPS

Полиморфный вариант, rs Polymorphic variant, rs	Частота у больных Allele frequency in cases p n = 138	Частота у здоровых доноров Allele frequency in controls p n = 138	P-value	Pbonf-value	OR (95%CI)
Семейная форма Familial form					
rs179003	0,229	0,253	0,651	–	–
rs179008	0,301	0,230	0,240	–	–
rs179020	0,309	0,258	0,368	–	–
rs850632	0,319	0,354	0,560	–	–
rs12013728	0,538	0,449	0,214	–	–
Спорадическая форма Sporadic form					
rs179003	0,270	0,253	0,6439	–	–
rs179008	0,401	0,230	8,7×10⁻⁵	0,0078	2,2 (CI 1,43-3,00)
rs179020	0,330	0,258	0,051	–	–
rs850632	0,343	0,354	0,776	–	–
rs12013728	0,380	0,449	0,116	–	–

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. See note to table 1.

rs850632 и rs12013728 гена *TLR7* между группой больных псориазом и контрольной выборкой в целом, а также с учетом манифестации болезни (I тип — до 40 лет и II тип — после 40 лет) и семейной отягощенности показало статистически значимые различия ($p < 0,05$) (табл. 1, 3, 4) для полиморфных локусов rs179008 и rs179020.

В общей выборке больных псориазом обнаружена ассоциация аллеля Т rs179008 и аллеля А rs179020 гена *TLR7* с повышенным риском развития псориаза ($P = 8,4 \times 10^{-5}$; OR = 1,95 и $P = 0,041$; OR = 1,21 соответственно). Также нами было установлено, что носительство аллеля Т rs179008 гена *TLR7* повышает риск развития заболевания у больных с поздним началом развития псориаза ($P = 1,5 \times 10^{-6}$, OR = 2,50). Кроме того, показана ассоциация аллеля Т rs179008 с псориазом в группе со спорадической формой ($P = 8,7 \times 10^{-5}$, OR = 2,2). После введения поправки Бонферрони на множественность сравнений ассоциация rs179020 гена *TLR7* с псориазом не остается статистически значимой.

Ген *TLR7* кодирует трансмембранный белок из 1049 аминокислот. Ген картирован в области хромосомы X 12.87–12.89 и содержит один экзон. *TLR7* активирует транскрипционные факторы NF- κ B и IRF, которые запускают каскады иммунной защиты и воспаления, тем самым приводя к повышению продукции цитокинов и хемокинов. Исследователями Fitzgerald и соавт. было показано, что при нанесении на поверхность кожи, пораженной псориазом, агониста *TLR7* (Imiquimod, код CAS 99011-02-6) происходило ухудшение состояния пациента и увеличение площади поражений [20]. Таким образом, активация TLRs играет при обострении псориаза важную роль.

В соответствии с предлагаемой ролью этого рецептора *TLR7* в различных иммуноопосредованных заболеваниях, полиморфные варианты *TLR7* гена были ассоциированы со многими заболеваниями, в том числе с заболеванием Грейвса [45], системной красной волчанкой [18, 40], бронхиальной астмой [35], рассеянным склерозом [19] и витилиго [44]. Какие-либо опубликованные данные по результатам ассоциаций гена *TLR7* с псориазом отсутствуют. Ассоциация полиморфного варианта rs179008 гена *TLR7* была описана группой бразильских ученых, которые

провели генотипирование европейской популяции, и при сравнении распределения частот аллелей полиморфного варианта rs179008 гена *TLR7* (OR = 1,74, $P = 0,003$) между группой больных системной красной волчанкой и контрольной выборкой были выявлены статистически значимые различия [18]. Møller-Larsen и соавт. при исследовании больных с бронхиальной астмой европейского происхождения идентифицировали ассоциацию SNP rs179008 гена *TLR7* с заболеванием (OR = 1,53, $P = 0,0004$) [35]. Была обнаружена ассоциация rs179008 гена *TLR7* (OR = 1,25, $P = 0,03$) с временем прогрессирования заболевания у больных рассеянным склерозом европейского происхождения [19]. Traks и соавт. обнаружили, что rs179008 ($P = 0,041$, OR = 1,39) маркирует повышенный риск витилиго в эстонской популяции (OR = 1,39, $P = 0,041$) [44].

Полиморфный вариант rs179008 гена *TLR7* представляет собой миссенс-мутацию, при которой происходит замена аминокислоты глицина на лейцин в структуре белка *TLR7* (Gln11Leu). Møller-Larsen и соавт. *in silico* установили, что замена Gln11 на Leu приводит к укорачиванию N-региона и удлинению H-региона *TLR7*, что может влиять на посттрансляционную модификацию белка [35]. Определенные миссенс-мутации влияют на гидрофобность белка, его водородные, электростатические и сульфидные связи. Примечательно, что функциональность таких белков может сильно варьировать от практически нейтрального эффекта генетического полиморфизма до полного нарушения функции соответствующего белкового продукта [2, 3].

Настоящим исследованием впервые установлена ассоциация полиморфного варианта rs179008 (Gln11Leu) гена *TLR7* с развитием псориаза у индивидов татарской этнической принадлежности. Таким образом, выявленный эффект генетического маркера может быть обусловлен функциональной ролью белка *TLR7* и его патогенетическим влиянием на иммунные реакции, связанные с развитием псориаза. Исследования с применением современных методов генетического анализа вносят вклад в понимание этиопатогенеза многофакторных заболеваний, позволяют разрабатывать алгоритмы ДНК-диагностики с целью их профилактики и определять новые мишени для лекарственных препаратов.

Список литературы / References

1. Ахметова В.Л., Галимова Э.С., Юнусбаев Б.Б., Хуснутдинова Э.К. Анализ генов предрасположенности к развитию псориаза в республике Башкортостан и Хакасия // Медицинская генетика, 2009. Т. 8, № 8. С. 29–35. [Akhmetova V.L., Galimova E.S., Yunusbaev B.B., Khusnutdinova E.K. The analysis of the genes responsible for susceptibility to psoriasis in Bashkortostan and Khakasia republics. *Meditsinskaya genetika = Medical Genetics*, 2009, Vol. 8, no. 8, pp. 29–35. (In Russ.)]
2. Баранов В.С. Проблемы системной генетики некоторых частых многофакторных заболеваний // Медицинская генетика, 2014. Т. 13, № 3 (141). С. 3–10. [Baranov V.S. Systemic Genetic of some common complex disorders. *Meditsinskaya genetika = Medical Genetics*, 2014, Vol. 13, no. 3 (141), pp. 3–10. (In Russ.)]
3. Баранов В.С. Геномика – медицине. М.: ИКИЦ «Академкнига», 2005. 63 с. [Baranov V.S. Genomics to the medicine]. Moscow: Academbook, 2005. 63 p.

4. Галимова Э.С., Ахметова В.Л., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-генетические основы предрасположенности к псориазу // Генетика, 2008. Т. 44, № 5. С. 594-605. [Galimova E.S., Akhmetova V.L., Khusnutdinova E.K. Molecular genetic basis of predisposition to psoriasis. *Genetika = Russian Journal of Genetics*, 2008, Vol. 44, no. 5, pp. 594-605. (In Russ.)]
5. Галимова Э.С., Ахметова В.Л., Юнусбаев Б.Б., Латыпов Б.Г., Султанова З.З., Газизова Л.Р., Галина Р.З., Котюшев В.М., Кызласова М.Х., Шушеначева Е.Е., Хуснутдинова Э.К. Гаплотипический анализ локуса *PSORS1* у больных псориазом в России. [Galimova E.S., Akhmetova V.L., Latipov B.G., Sultanova Z.Z., Gazizova L.R., Galina R.Z., Kotyshev V.M., Kizlasova M.K., Shushenakova E.E., Khusnutdinova E.K. Haplotype analysis of the *PSORS1* locus in the psoriasis patients. *Meditinskaya genetika = Medical Genetics*, 2008, Vol. 7, no. 2, pp. 26-31. (In Russ.)]
6. Галимова Э.С., Хайрутдинов В.Р., Смирнова Т.С., Лихонос Л.М., Михайличенко А.Ф., Латыпов Б.Г., Султанова З.З., Хуснутдинова Э. К. Вклад гена интерферона лямбда 1 в патогенез псориаза: репликативное исследование // Медицинская генетика, 2015. Т. 14, № 9. С. 37-43. [Galimova E.S., Khairutdinov V.R., Smirnova T.S., Likhonos L.M., Mikhailichenko A.F., Latipov B.G., Sultanova Z.Z., Khusnutdinova E.K. Contribution of Interferon lambda 1 gene in pathogenesis of psoriasis: replicative investigation. *Meditinskaya genetika = Medical Genetics*, 2015, Vol. 14, no. 9, pp. 37-43. (In Russ.)]
7. Галимова Э.С., Хуснутдинова Э.К. Ген рецептора интерлейкина 28 альфа *IL28RA* и псориаз: ассоциация с тяжестью болезни и возрастом манифестации // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 6. С. 567-572. [Galimova E.S., Khusnutdinova E.K. Interleukin 28 receptor gene alpha *IL28RA* and psoriasis: association with disease severity and age at onset. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 6, pp. 567-572. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-6-567-572
8. Галимова Э.С., Хуснутдинова Э.К. Анализ ассоциаций гена *IL20* с псориазом // Цитокины и воспаление, 2015, Т. 14, № 3, С. 103-107. [Galimova E.S., Khusnutdinova E.K. Analysis of gene *IL20* association with psoriasis. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2015, Vol. 14, no. 3, pp. 103-107. (In Russ.)]
9. Галимова Э.С., Хуснутдинова Э.К. Влияние полиморфизма гена *IL10* на манифестацию и тяжесть течения псориаза // Вестник Российского государственного медицинского университета им. Н.И. Пирогова, 2015. № 4. С. 15-18. [Galimova E.S., Khusnutdinova E.K. The impact of *IL10* gene polymorphism on manifestations and severity of psoriasis. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. N.I. Pirogova = Bulletin of Pirogov Russian State Medical University*, 2015, Vol. 4, pp. 15-19. (In Russ.)]
10. Akira S. Toll-like receptor signaling. *J. Biol. Chem.*, 2003, Vol. 278, pp. 38105-38108.
11. Akira S., Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunol. Lett.*, 2003, Vol. 85, pp. 85-95.
12. Baker B., Ovigne J., Powles A., Corcoran S., Fry L. Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 2003, Vol. 148, pp. 670-679.
13. Barrat F., Coffman R. Development of TLR inhibitors for the treatment of autoimmune diseases. *Immunol. Rev.*, 2008, Vol. 223, pp. 271-283.
14. Begon E., Michel L., Flageul B., Beadoin I., Jean-Louis F., Bachelez H., Dubertret L., Musette P. Expression, subcellular localization and cytokinic modulation of Toll-like receptors (TLRs) in normal human keratinocytes: TLR2 up-regulation in psoriatic skin. *Eur. J. Dermatol.*, 2007, Vol. 17, no. 6, pp. 497-506.
15. Cario E., Brown D., McKee M., Lynch-Devaney K., Gerken G., Podolsky D.K. Commensal-associated molecular pattern induce selective Toll-like receptor-traffic from apical membrane to cytoplasmic compartments in polarized intestinal epithelium. *Am. J. Pathol.* 2002. Vol. 160, pp. 165-173.
16. Curry J., Qin J., Bonish B., Carrick R., Bacon P., Panella J., Robinson J., Nickoloff B.J. Innate immune-related receptors in normal and psoriatic skin. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2003, Vol. 127, pp. 178-186.
17. Denny M., Thacker S., Mehta H., Somers E.C., Dodick T., Barrat F.J., McCune WJ., Kaplan M.J. Interferon-alpha promotes abnormal vasculogenesis in lupus: a potential pathway for premature atherosclerosis. *Blood*, 2007, Vol. 110, pp. 2907-2915.
18. dos Santos B.P., Valverde J.V., Rohr P., Monticelo O.A., Brenol J.C., Xavier R.M., Chies J.A. TLR7/8/9 polymorphisms and their associations in systemic lupus erythematosus patients from southern Brazil. *Lupus*, 2012, Vol. 21, pp. 302-309.
19. Enevold C., Oturai A.B., Sørensen P.S., Ryder L.P., Koch-Henriksen N., Bendtzen K. Polymorphisms of innate pattern recognition receptors, response to interferon-beta and development of neutralizing antibodies in multiple sclerosis patients. *Mult. Scler.*, 2010, Vol. 16, pp. 942-949.
20. Fitzgerald K.A., O'Neill L.A. The role of the interleukin-1/Toll-like receptor superfamily in inflammation and host defence. *Microbes. Infect.*, 2000, Vol. 2, no. 8, pp. 933-943.
21. Galimova E., Akhmetova V., Latipov B., Kingo K., Rätsep R., Traks T., Kõks S., Khusnutdinova E. Analysis of genetic variants of class II cytokine and their receptor genes in psoriasis patients of two ethnic groups from the Volga-Ural region of Russia. *J. Dermatol. Sci.*, 2012, Vol. 68, no. 1, pp. 9-18.
22. Guo S.W., Thompson E.A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*, 1992, Vol. 48, pp. 361-372.
23. Hasan U., Chaffois C., Gaillard C., Saulnier V., Merck E., Tancredi S., Guiet C., Briere F., Vlach J., Lebecque S., Trinchieri G., Bates E.E. Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cell and plasmacytoid dendritic cell, which activates gene transcription through MyD88. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 174, pp. 2942-2950.
24. Janeway C., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.*, 2002, Vol. 20, pp. 197-216.
25. Janssens S., Beyaert R. Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2003, Vol. 14, pp. 637-646.
26. Kanzler H., Barrat F., Hessel E., Coffman R. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor agonist and antagonist. *Nat. Med.*, 2007, Vol. 13, pp. 552-559.

27. Kawai K., Shimura H., Minagawa M.E., Ito E.A., Tomiyama K., Ito M. Expression of functional Toll-like receptor 2 on human epidermal keratinocytes. *J. Dermatol. Sci.*, 2002, Vol. 30, pp. 185-194.
28. Kollisch G., Kalali B., Voelcker V., Wallich R., Behrendt H., Ring J., Bauer S., Jakob T., Mempel M., Ollert M. Various members of the Toll-like receptor family contribute to the innate immune response of human epidermal keratinocytes. *Immunology*, 2005, Vol. 114, pp. 531-541.
29. Kumagai Y., Takeuchi O., Akira S. Pathogen recognition by innate receptors. *J. Infect. Chemother.*, 2008, Vol. 14, pp. 86-92.
30. Lande R., Gregorio J., Facchinetti V., Chatterjee B., Wang Y.H., Homey B., Cao W., Wang Y.H., Su B., Nestle F.O., Zai T., Mellman I., Schroder J.M., Liu Y.J., Gilliet M. Plasmacytoid dendritic cell sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature*, 2007, Vol. 449, pp. 564-569.
31. Mahil S.K., Capon F., Barker J.N. Genetics of psoriasis. *Dermatologic clinics*, 2015, Vol. 33, no. 1, pp. 1-11.
32. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA. *Methods in Molecular Biology. Human Press*, 1984, no. 2, pp. 31-34.
33. McIntuff J., Modlin R., Kim J. The role of Toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J. Invest. Dermatol.*, 2005, Vol. 125, pp. 1-8.
34. Mempel M., Voelcker V., Kollisch G., Plank C., Rad R., Gerhard M., Schnopp C., Fraunberger P., Walli A.K., Ring J., Abeck D., Ollert M. Toll-like receptor expression in human keratinocytes: Nuclear factor κ B-controlled gene activation by *Staphylococcus aureus* is TLR2- but not TLR4- or platelet activating factor receptor (PAFR) -depend. *J. Invest. Dermatol.*, 2003, Vol. 121, pp. 1389-1396.
35. Møller-Larsen S., Nyegaard M., Haagerup A., Vestbo J., Kruse T.A., Borglum A.D. Association analysis identifies TLR7 and TLR8 as novel risk genes in asthma and related disorders. *Thorax*, 2008, Vol. 63, pp. 1064-1069.
36. Oka A., Mabuchi T., Ozawa A., Inoko H. Current understanding of human genetics and genetic analysis of psoriasis. *J. Dermatology*, 2012, Vol. 39, pp. 231-241.
37. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I., Daly M.J., Sham P.C. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.*, 2007, Vol. 81, no. 3, pp. 559-575.
38. Rifkin I., Leadbetter E., Busconi L., Viglianti G., Marshak-Rothstein A. Toll-like receptors endogenous ligands, and systemic autoimmune disease. *Immunol. Rev.*, 2005, Vol. 204, pp. 27-42.
39. Seung N., Park E., Kim C. Comparison of expression of heat-shock protein 60, Toll-like receptors 2 and 4, and T-cell receptor $\gamma\delta$ in plaque and guttate psoriasis. *J. Cutan. Pathology*, 2007, Vol. 34, pp. 903-911.
40. Shen N., Fu Q., Deng Y., Qian X., Zhao J., Kaufman K. M., Wud Y. L., Yud C. Y., Tanga Y., Chene J., Yangf W., Wongb M., Kawasakig A., Tsuchiyag N., Sumidag T., Kawaguchih Y., Howei H.S., Mokj M.Y., Bangk S., Liul F., Changm D., Takasakin Y., Hashimoton H., Harleyc J.B., Guthridgeo J.M., Grossmanb J.M., Cantorp R.M., Songq Y.W., Baek S., Chena S., Hahn B.H., Lauf Y.L., Tsaob B.P. Sex-specific association of X-linked Toll-like receptor 7 (TLR7) with male systemic lupus erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, Vol. 107, pp. 15838-15843.
41. Siren J., Pirhonen J., Julkunen I., Matikainen S. IFN- α regulates TLR-dependent gene expression of IFN- α , IFN- β , IL-28, and IL-29. *The J. Immunology*, 2005, Vol. 174, pp. 1932-1937.
42. Song P., Park Y., Abraham T., Harten B., Zivony A., Neparidze N., Armstrong C.A., Ansel J.C. Human keratinocytes express functional CD14 and toll-like receptor 4. *J. Invest. Dermatol.*, 2002, Vol. 119, pp. 424-432.
43. Taylor W., Taylor W., Gladman D., Helliwell P., Marchesoni A., Mease P., Mielants H; CASPAR Study Group. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis and Rheumatism*, 2006, Vol. 54, no. 8, pp. 2665-2673.
44. Traks T., Keermann M., Karelsen M., Rätsep R., Reimann E., Silm H., Vasar E., Kõks S., Kingo K. Polymorphisms in Toll-like receptor genes are associated with vitiligo. *Front Genet.*, 2015, Vol. 9, no. 6, p. 278.
45. Xiao W., Liu Z., Lin J., Li J., Wu K., Ma Y., Xiong C., Gong Y., Liu Z. Association of Toll-like receptor 7 and 8 gene polymorphisms with Graves' disease in Chinese Cantonese population. *Tissue Antigens*, 2015, Vol. 85, pp. 29-34.

Авторы:

Галимова Э.С. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУН «Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра» РАН, г. Уфа, Россия

Кюлли Кинго — профессор, заведующий кафедрой дерматологии и венерологии Института клинической медицины, факультет медицины Тартуского университета, Тарту, Эстония

Сулев Кокс — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии Института биомедицины и трансляционной медицины, факультет медицины Тартуского университета, г. Тарту, Эстония

Authors:

Galimova E.S., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation

Küllli Kingo, Professor, Head, Department of Dermatology and Venerology, Institute of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonia

Sulev Kõks, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathophysiology, Institute of Biomedicine and Translation Medicine, Faculty of Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonia

Поступила 03.12.2016

Отправлена на доработку 13.12.2016

Принята к печати 26.01.2017

Received 03.12.2016

Revision received 13.12.2016

Accepted 26.01.2017