

ГЕНОМИКА.
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 575.113:575.174.015.3:57.083.32:616.248

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ С МОЛЕКУЛЯРНЫМИ МАРКЕРАМИ
У РУССКИХ ЖИТЕЛЕЙ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© 2011 г. М. Б. Фрейдin^{1*}, Е. Ю. Брагина¹, О. С. Федорова², И. А. Деев²,
Е. С. Куликов², Л. М. Огородова², В. П. Пузырев^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Сибирского отделения
Российской академии медицинских наук, Томск, 634050

²Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства
по здравоохранению и социальному развитию, Томск, 634050

Поступила в редакцию 02.07.2010 г.

Принята к печати 01.10.2010 г.

Использование полногеномного анализа ассоциаций молекулярно-генетических маркеров с различными фенотипами в настоящее время рассматривается как один из наиболее эффективных методов определения генетических факторов мультифакторных заболеваний. Несколько таких исследований в случае аллергических заболеваний уже опубликовано, но в России такого анализа до сих пор не проводили. Нами впервые проведен полногеномный анализ ассоциации аллергических заболеваний с генетическими маркерами в популяции русских Западной Сибири. Обнаружено два участка генома, ассоциированных с детской бронхиальной астмой (20q13.12, rs2425656, $P = 1.99 \times 10^{-7}$; 1q32.1, rs3817222, rs12734001, $P = 2.18 \times 10^{-7}$ и 2.79×10^{-7} соответственно), а также с аллергическим ринитом (2q36.1, rs1597167, $P = 3.69 \times 10^{-7}$). Гены, расположенные в установленных регионах, — *YWHAB* и *PPP1R12B* (астма) и *KCNE4* (аллергический ринит) — представляют собой новые гены-кандидаты для этих заболеваний. Кроме того, гены *BATI* (6p21.33), *MAGI2* (7q21.11) и *ACPL2* (3q23), возможно, являются общими (синтропными) генами аллергических болезней и атопической сенсibilизации. Не исключено также, что гены *RIT2* (18q12.3) и *FSTL4* (5q31.1) вовлечены в контроль функции внешнего дыхания. Результаты исследования дополняют информацию о генетических факторах аллергий и расширяют список генов, связанных с развитием этих болезней.

Ключевые слова: полногеномный анализ ассоциаций, синтропные гены, аллергические заболевания, бронхиальная астма, аллергический ринит, атопический дерматит, атопическая сенсibilизация, функция внешнего дыхания.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY OF ALLERGIC DISEASES IN RUSSIANS OF WESTERN SIBERIA, by M. B. Freidin^{1*}, E. Yu. Bragina¹, O. S. Fedorova², I. A. Deev², E. S. Kulikov², L. M. Ogorodova², V. P. Puzyrev^{1,2} (¹Research Institute of Medical Genetics, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, 634050 Russia, *e-mail: mfreidin@medgenetics.ru; ²Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia). Genome-wide association studies are currently considered as one of the most powerful tools to establishing the genetic basis of complex diseases. A number of such studies were carried out for allergic diseases; however, in Russian population this analysis has not been performed so far. For the first time, we performed genome-wide association study of allergic diseases in Russian inhabitants of Western Siberia. Two new loci associated with childhood bronchial asthma were identified (20q13.12, rs2425656, $P = 1.99 \times 10^{-7}$; 1q32.1, rs3817222, rs12734001, $P = 2.18 \times 10^{-7}$ and 2.79×10^{-7} , respectively) as well as one locus, associated with allergic rhinitis (2q36.1, rs1597167, $P = 3.69 \times 10^{-7}$). Genes located in the loci, *YWHAB* and *PPP1R12B* for asthma and *KCNE4* for allergic rhinitis, are new candidate genes for these diseases. It was found that *BATI* (6p21.33), *MAGI2* (7q21.11) and *ACPL2* (3q23) genes are, likely, common (syntropic) genes of allergic disease and atopic sensitisation. It was shown that *RIT2* (18q12.3) and *FSTL4* (5q31.1) genes can be involved in the control of lung function. The results of the study enlarge the body of data on genetic factors of allergy and expand the list of genes underlying these diseases.

Keywords: genome-wide association study, syntropic genes, allergic diseases, bronchial asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis, atopic sensitisation, lung function.

Принятые сокращения: АД — атопический дерматит; АЗ — аллергические заболевания; АР — аллергический ринит; БА — бронхиальная астма; ДИ — доверительный интервал; ПГАА — полногеномный анализ ассоциаций; МФЗ — мультифакторные заболевания; ОНП — однонуклеотидный полиморфизм; ОШ — отношение шансов; ОФВ1 — объем форсированного выдоха за первую секунду; TDT (Transmission/Disequilibrium Test) — тест на неравновесие при наследовании.

* Эл. почта: mfreidin@medgenetics.ru

Полногеномный анализ ассоциаций (ПГАА) болезней и признаков с генетическими маркерами становится стандартным методом изучения наследственных основ мультифакторных заболеваний (МФЗ) человека. Это определяется, с одной стороны, появлением и удешевлением технологий масштабного генотипирования, а с другой — более высокой, по сравнению с анализом сцепления, продуктивностью ПГАА в поисках малых фенотипических проявлений генов, при которых величина отношения шансов (ОШ) составляет менее 1.5 [1].

В настоящее время ПГАА с успехом применяется для изучения многих распространенных заболеваний: сердечно-сосудистых, инфекционных, иммуннозависимых, психических. Результаты этих исследований каталогизируются в онлайн-репозитории dbGAP Национального центра биотехнологической информации США и в ряде других хранилищ, являясь ценным источником публичной информации о генетической структуре МФЗ, а также данных для проведения мета-анализа (т.е. обобщенного анализа нескольких исследований) [2, 3].

Аллергические заболевания (АЗ) — группа мультифакторных заболеваний, к которым относятся наиболее частые формы бронхиальной астмы (БА), аллергический ринит (АР), атопический дерматит (АД), пищевая и лекарственная аллергия и ряд других болезней, — также неоднократно изучались с применением ПГАА. Так, опубликованы результаты семи исследований БА [4–10] и одного АД [11]. Опубликованы также данные изучения различных, более общих, количественных и качественных фенотипов: атопии, уровня воспалительных маркеров, уровня общего IgE [12–14].

Результаты полногеномных исследований позволили обнаружить ряд новых локусов и генов, ассоциированных с аллергическими заболеваниями, хотя результаты этих работ противоречивы: в большинстве работ результаты ПГАА не совпадают друг с другом. Возможно, одной из причин этой несогласованности является как этническая компонента генетической составляющей (особенности гаплотипической структуры различных популяций, разные частоты аллелей генов подверженности), так и компонента внешней среды (различия в структуре аллергической сенсибилизации, микробном и гельминтном окружении). Это диктует необходимость проведения ПГАА для изучения АЗ в этнически различных популяциях.

Нами впервые использован метод ПГАА при изучении аллергических заболеваний в российской популяции, представленной славянами Западной Сибири. Исследование выполнено в рамках международного проекта GABRIEL, финансируемого 6-й Рамочной программой Европейского Сообщества. Это исследование, включающее около 40 партнеров из стран Восточной и Западной Европы, Азии, США и Канады, направлено на установление гене-

тических и внешнесредовых причин распространения астмы в Европе (www.gabriel-fpb.org).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследованная семейная выборка сформирована в 1998–2007 гг. на базе клинических учреждений г. Томска и г. Иркутска. Семьи зарегистрированы по пробандам — детям, больным БА. Проведена клиническая и лабораторная диагностика всех членов семей для установления диагноза астмы и других аллергических заболеваний на основе критериев международного документа GINA [15]. Диагностика включала сбор семейного анамнеза, кожное алерготестирование, оценку показателей легочной функции и уровня общего сывороточного IgE. Всего исследовано 196 семей (150 семей из Томска, 46 семей из Иркутска, всего 804 человека). Средний возраст больных БА с проявлением заболевания до 16 лет составил 13.7 ± 9.9 лет (82 девочки, 143 мальчика); средний возраст больных БА с более поздним проявлением заболевания — 38.8 ± 9.4 лет (45 женщин, 18 мужчин). У детей, больных БА, средний уровень сывороточного IgE составил 163.4 ± 20.4 U, а средний уровень объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) — 2.4 ± 0.1 л. У взрослых больных эти показатели составили 79.1 ± 34.5 U и 2.8 ± 0.2 л, а у здоровых лиц — 67.2 ± 16.8 U и 3.2 ± 0.1 л соответственно. Различия между уровнями IgE у больных детей, с одной стороны, и взрослых больных и здоровых лиц, с другой, статистически значимы ($p < 0.05$), что подтверждает атопический характер БА у исследованных детей. Уровень ОФВ1 у здоровых лиц статистически значимо выше, чем у больных БА ($p < 0.05$).

Аллергический дерматит (АД) диагностирован у 151 человека, АР — у 244. У 194 человек БА сочетается с аллергическим дерматитом и/или АР. АЗ, определяемые по наличию любого из таких, как БА, АР и дерматит, крапивница, поллиноз, пищевая и лекарственная аллергия, установлены у 397 человек. Атопическая сенсибилизация по данным кожного алерготестирования диагностирована у 194 человек. Таким образом, для исследованной выборки характерна высокая частота АЗ и клинических проявлений аллергии, что подтверждает семейное накопление этих болезней и их факторов риска.

Для генетического анализа у всех членов семей брали периферическую кровь, из которой выделяли ДНК с использованием стандартных методик. Для генотипирования использовали микрочип Illumina 610-Quad BeadChip, включающий более 600 тыс. однонуклеотидных мутаций (однонуклеотидный полиморфизм, ОНП) и маркеров вариаций по числу копий генов. Работа выполнена в Национальном центре генотипирования Франции в Эври (Centre National de Genotypage, Evry).

По результатам генотипирования анализировали родственность между исследованными индивидами, что позволило выявить несколько случаев ложного отцовства и дубликатов семей (набранных, по ошибке, два раза). В соответствии с этими данными из исследования исключено 40 человек, а также еще 78 человек, которых не удалось генотипировать из-за низкого качества или недостаточной концентрации ДНК. Окончательная выборка составила 686 человек. Из исследования исключены маркеры с частотой редкого аллеля менее 3% и маркеры с отклонением от равновесия Харди–Вайнберга у здоровых неродственных лиц с уровнем значимости менее 0.0001 (тест χ^2 с одной степенью свободы). В итоге проанализировано 538563 ОНП-маркера.

В качестве фенотипов исследовали качественные и количественные признаки: детская БА (с возрастом начала до 16 лет), взрослая БА (с возрастом начала от 16 лет), АР, АД, БА в сочетании с АР или АД, отдельно БА, АЗ (наличие хотя бы одного любого АЗ), бронхиальная гиперреактивность, атопическая сенсibilизация (при получении положительных кожных аллергопроб хотя бы к одному эпидермальному, растительному или животному аллергену), уровень общего IgE, концентрация метахолина в пробе на бронхиальную гиперреактивность (РС20), а также параметры функции внешнего дыхания: жизненная емкость легких (ЖЕЛ), ОФВ1, пиковая скорость выдоха (ПСВ), максимальный поток выдыхаемого воздуха на 25, 50 и 75% ЖЕЛ (МПВ25, МПВ50, МПВ75).

Для анализа ассоциации маркеров с заболеваниями и признаками использовали семейный тест Transmission/Disequilibrium Test (TDT, тест на неравновесие при наследовании). Для расчетов использовали программу PLINK v.1.07 [16]. Геномный уровень значимости ассоциации принят равным $P < 5 \times 10^{-7}$. Это значение предложено на основании ПГАА, проведенного консорциумом Wellcome Trust Case Control Consortium [17], и дополнительно обосновано Сабатти (Sabatti) и соавт. [18]. В соответствии с полученными результатами использование значения $P < 5 \times 10^{-7}$ в проведенном исследовании позволяет установить ассоциации с фенотипами с величиной относительного риска более 2.5.

У всех участников получено информированное согласие на участие в исследовании, протокол которого утвержден Этическими комитетами Сибирского государственного медицинского университета и УРАМН НИИ медицинской генетики СО РАМН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ассоциаций ОНП с бронхиальной астмой и аллергическим ринитом

АЗ – группа синтропных болезней, часто проявляющихся совместно и имеющих как общие, так и

специфические для каждого заболевания гены [19]. С использованием ПГАА сделана попытка проанализировать, перекрываются ли гены различных АЗ, т. е. установить степень синтропности генов этих болезней. Для этого метод ПГАА использовали при изучении как отдельных АЗ (БА, АР, АД), так и при наличии их сочетаний. Кроме того, анализировали ассоциации атопических признаков (наличие атопической сенсibilизации, уровень общего сывороточного IgE), а также показателей функции внешнего дыхания, используемых в клинической диагностике БА.

В результате исследования установлена ассоциация детской БА (возникшей до 16 лет) с тремя ОНП: rs2425656 (хромосома 20q13.12, рядом с геном *YWHAВ*, $P = 1.99 \times 10^{-7}$); rs3817222, rs12734001 (хромосома 1q32.1, рядом с геном *PPP1R12В*, $P = 2.18 \times 10^{-7}$ и 2.79×10^{-7} соответственно) и АР – с одним маркером rs1597167 (хромосома 2q36.1, рядом с геном *KCNE4*, $P = 3.69 \times 10^{-7}$) (табл. 1, рисунок).

Важно отметить, что маркер rs2425656 не уникален в ассоциации с детской БА, так как еще несколько маркеров, находящихся с ним в неравновесии по сцеплению, также проявляют тенденцию к ассоциации с этим фенотипом, хотя и не достигающей уровня статистической значимости (табл. 2). Особенно сильная связь характерна для маркера rs2179069 ($P = 4.23 \times 10^{-6}$), расположенного на расстоянии примерно 1 т.п.н. от rs2425656 и находящегося с ним в полном неравновесии по сцеплению ($D' = 1.000$, $r^2 = 0.955$).

Ассоциация региона 20q13.12 с БА показана впервые, однако ранее установлено сцепление фенотипа этой болезни и ряда родственных фенотипов с локусом в участке 20q13.33, который расположен примерно на 16 млн.п.н. ближе к теломере [20]. Ген *YWHAВ*, вблизи от которого расположены ОНП на хромосоме 20q13.12, ассоциированные с детской астмой, кодирует β -изоформу активаторного белка тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы, относящегося к семейству белков 14-3-3. Эти белки задействованы в реализации нескольких сигнальных путей, в том числе, с участием протеинкиназы С. Повышение уровня этого фермента в ответ на провоспалительные стимулы способствует повышению тонуса гладкомышечных клеток дыхательных путей, более выраженному у больных БА [21]. Уровень протеинкиназы С повышается в лимфоцитах у больных по сравнению со здоровыми лицами; кроме того, имеется отрицательная корреляция между уровнем протеинкиназы С и ОФВ1 [22]. Таким образом, ген *YWHAВ* может быть ассоциирован с БА опосредованно – через регуляцию активности протеинкиназы С. Видимо, он является связующим звеном между воспалением и тонусом гладкомышечных клеток дыхательных путей.

Однонуклеотидные маркеры на хромосоме 1q32.1, ассоциированные с БА, также находятся в

Таблица 1. Однонуклеотидные мутации (ОНП), ассоциированные с бронхиальной астмой детей (с возрастом проявления до 16 лет) и аллергическим ринитом

Фенотип	Хромосома	Ген	ОНП	Позиция ОНП от начала хромосомы, п.н.	Количество трансмиссий*	Аллели**		Частота альтернативного аллеля среди основателей	Отношение шансов*** (95% ДИ)	Достигнутый уровень значимости
						референсный	альтернативный			
Бронхиальная астма	20q13.12	<i>YWHAB</i>	rs2425656	42939661	100	G (76.0%)	A (24.0%)	0.235	0.32 (0.20–0.50)	1.99×10^{-7}
	1q32.1	<i>PPP1R12B</i>	rs3817222	200731383	134	C (27.6%)	T (72.4%)	0.237	2.62 (1.80–3.83)	2.18×10^{-7}
	1q32.1	<i>PPP1R12B</i>	rs12734001	200657537	141	C (28.4%)	T (71.6%)	0.240	2.53 (1.75–3.64)	2.79×10^{-7}
Аллергический ринит	2q36.1	<i>KCNE4</i>	rs1597167	223752494	120	G (27.5%)	A (72.5%)	0.415	2.64 (1.77–3.94)	3.69×10^{-7}

* Число аллелей, унаследованных больными детьми от гетерозиготных родителей.

** В скобках указана частота трансмиссии аллеля от гетерозиготных родителей больным потомкам.

*** Для альтернативного аллеля в отношении риска заболевания; ДИ – доверительный интервал.

полном неравновесии по сцеплению друг с другом ($D' = 1.000$, $r^2 = 0.992$). Недавно в полногеномном исследовании этого региона у гаттеритов (изолированная религиозная община, основанная в Германии Я. Гаттером в 1536 г.) установлена его ассоциация с БА, бронхиальной гиперреактивностью, уровнем параметров легочной функции и уровнем хитиназо-подобного белка UKL-40 [12]. Ассоциированный маркер расположен в промоторе гена *CH13L1*, который находится на расстоянии примерно в 803 т.п.н. от гена *PPP1R12B*. ОНП, ассоциированные с БА у русских жителей Западной Сибири, не находятся в неравновесии по сцеплению с маркерами гаплотипов, связанных с БА в другой популяции. Поэтому можно предполагать, что найденная ассоциация независима, а ген *PPP1R12B* представляет собой новый ген-кандидат детской БА. Белок, кодируемый этим геном, участвует в регуляции тонуса поперечно-полосатых и сердечной мышц. Он может связываться с предшественником интерлейкина-16 [23], хемоаттрактанта лимфоцитов, уровень которого повышается в бронхоальвеолярном лаваже у больных астмой и ринитом [24].

При изучении других популяций показана связь региона 2q36, ассоциированного с АР у жителей Западной Сибири, с астмой и ОФВ1 [25, 26]. Кроме того, в другом регионе, 2q33, расположен главный локус, контролирующий уровень эозинофилов [27]. Однако следует отметить, что с АР связан единственный ОНП, при отсутствии ассоциации или тенденции к ней соседних маркеров. Функция гена *KCNE4*,

который кодирует белок, участвующий в работе калиевых каналов, по отношению к АЗ, не ясна.

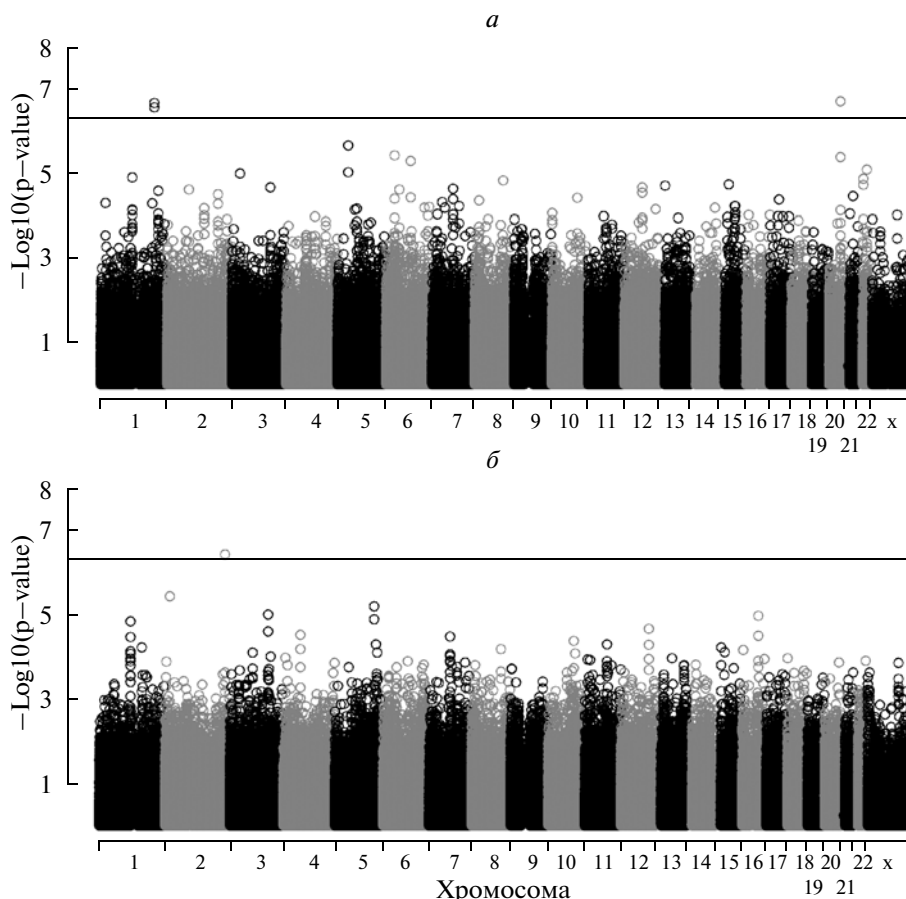
Статистически значимых ассоциаций с другими болезнями и признаками в проведенном исследовании обнаружено не было.

Другие возможные ассоциации

Шестьдесят две однонуклеотидные мутации (ОНП) оказались ассоциированы с исследованными болезнями или признаками на уровне значимости порядка $\times 10^{-6}$ (табл. 2). Хотя эти ассоциации не могут быть признаны статистически значимыми, но некоторые из них представляют интерес для дальнейшего исследования.

Так, два сцепленных маркера (rs36019094 и rs34868670) проявляют тенденцию к ассоциации с детской БА ($P = 2.21 \times 10^{-6}$ и 9.58×10^{-6} соответственно) (табл. 2). Они расположены в регионе 5p13.1, который сцеплен с астмой и бронхиальной гиперреактивностью у гаттеритов и немцев [28]. На участке длиной около 9 млн.п.н. в районе 5p13 расположено несколько генов, связанных с этими патологическими фенотипами, и исследованные ОНП находятся на хромосоме между двумя из этих генов – *LIFR* и *PTGE4*, на расстоянии примерно 1.8 млн.п.н. и 406 т.п.н. соответственно.

С АР связан маркер rs4705227, расположенный вблизи гена *SPINK5* ($P = 6.21 \times 10^{-6}$) (табл. 2), который проявляет воспроизводимые АЗ [29, 30].



Графики Манхеттен для полногеномного анализа ассоциаций для бронхиальной астмы (а) и аллергического ринита (б). Горизонтальная линия соответствует принятому в исследовании геномному уровню значимости 5×10^{-7} .

Мутации, маркирующие гены *ACPL2* (3q23), *BAT1* (6p21.33), *MAGI2* (7q21.11), проявляют тенденцию к ассоциации с несколькими фенотипами — детской БА, АР, атопической сенсibilизацией и другими АЗ (табл. 2). Возможно, эти три гена — общие для этих заболеваний. По нашей терминологии, это — синтропные гены [19, 31]. Функциональная и патологическая сфера компетенции гена *ACPL2* в настоящее время не установлена. В то же время, гены *BAT1* и *MAGI2* связаны с рядом иммуннозависимых и воспалительных заболеваний [32, 33]. При этом ассоциация гена *BAT1* с атопической сенсibilизацией почти достигает принятого уровня статистической значимости ($P = 5.73 \times 10^{-7}$).

Две мутации, проявляющие тенденцию к ассоциации с АД (rs16942401, rs11635176), расположены на хромосоме 15q22 в регионе синтении с хромосомой 9 мыши, где расположен локус этой болезни у мышей [34]. В другом регионе, 8q22, возможно сцепление с БА [35].

Мутации, расположенные вблизи генов *RIT2* и *FSTL4*, проявляют тенденцию к ассоциации с при-

знаками функции внешнего дыхания (ЖЕЛ, ОФВ1, ПСВ, МПВ) (табл. 2). Продукт гена *RIT2* является кальмодулин-связывающим G-белком и может играть существенную роль в кальций-зависимой регуляции мышечных сокращений бронхов. Ген *FSTL4* кодирует фоллистатин-подобный белок; мутации в нем ассоциированы с риском сердечно-сосудистых заболеваний [36, 37]. Ни один из этих генов ранее не исследовали на предмет связи с АЗ и функцией внешнего дыхания, однако ген *FSTL4* расположен в регионе 5q31, который сцеплен с БА, бронхиальной гиперреактивностью, атопией и признаками функции внешнего дыхания [38].

Три сцепленных мутации в регионе 1q41 вблизи гена *GPATCH2* имеют тенденцию к ассоциации с астмой, начавшейся после 16 лет (табл. 2). Ни этот регион, ни ген *GPATCH2* ранее не исследовали по поводу ассоциации с астмой или аллергией. Однако другой локус, 2p16.1, возможно, ассоциированный со взрослой астмой, как установлено в нескольких исследованиях, связан с БА, бронхиальной гиперреактивностью и уровнем IgE [39–41]. Интересно отметить, что локусы взрослой и детской астмы не

Таблица 2. Однонуклеотидные замены (ОНП), ассоциированные с исследованными заболеваниями и признаками на уровне значимости порядка $\times 10^{-6}$

Фенотип	Хромосома	Ген	ОНП	Достигнутый уровень значимости
Атопический дерматит	15q22.2	<i>ANXA2</i>	rs16942401	3.36×10^{-6}
	15q22.2	<i>ANXA2</i>	rs11635176	4.83×10^{-6}
	1p35.3	<i>PTPRU</i>	rs7550930	8.03×10^{-6}
	8q22.1	<i>C8orf37</i>	rs3134211	9.58×10^{-6}
	8q22.1	<i>C8orf37</i>	rs3134236	9.58×10^{-6}
	8q22.1	<i>C8orf37</i>	rs3104961	9.58×10^{-6}
Аллергический ринит	2p24.2	<i>LOC388925</i>	rs7602088	3.67×10^{-6}
	5q32	<i>SPINK5</i>	rs4705227	6.21×10^{-6}
	3q23	<i>ACPL2</i>	rs3796259	9.76×10^{-6}
Бронхиальная астма, возраст проявления до 16 лет	5p13.1	<i>LOC730002</i>	rs36019094	2.21×10^{-6}
	6p21.33	<i>BATI</i>	rs3853601	3.82×10^{-6}
	20q13.12	<i>YWHAБ</i>	rs2179069	4.23×10^{-6}
	6q15	<i>MAP3K7</i>	rs6925314	5.25×10^{-6}
	Xp22.33	<i>CD99</i>	rs35193207	5.85×10^{-6}
	22q12.3	<i>RFPL3</i>	rs5753959	8.24×10^{-6}
	5p13.1	<i>LOC730002</i>	rs34868670	9.58×10^{-6}
	2p16.1	<i>LOC647038</i>	rs2539669	5.52×10^{-6}
Бронхиальная астма, возраст проявления после 16 лет	1q41	<i>GPATCH2</i>	rs4846411	8.05×10^{-6}
	1q41	<i>GPATCH2</i>	rs4846406	8.05×10^{-6}
	1q41	<i>GPATCH2</i>	rs4146799	8.05×10^{-6}
Бронхиальная астма, отягощенная атопическим дерматитом и/или аллергическим ринитом	7q21.11	<i>MAGI2</i>	rs2691546	1.38×10^{-6}
	3q23	<i>ACPL2</i>	rs3796259	3.14×10^{-6}
	6q15	<i>MAP3K7</i>	rs6925314	3.32×10^{-6}
	6p21.33	<i>BATI</i>	rs3853601	5.57×10^{-6}
	7q21.11	<i>MAGI2</i>	rs2075014	6.74×10^{-6}
	7q21.11	<i>MAGI2</i>	rs2075013	6.94×10^{-6}
Аллергические заболевания (бронхиальная астма, аллергический ринит, атопический дерматит, пищевая аллергия, лекарственная аллергия, поллиноз, крапивница/отек Квинке)	6p21.33	<i>BATI</i>	rs3853601	2.20×10^{-6}
	6p21.33	<i>NFKBIL1</i>	rs17200733	2.98×10^{-6}
	1q31.3	<i>LOC647167</i>	rs687523	5.53×10^{-6}
	1p12	<i>LOC343492</i>	rs17185776	5.95×10^{-6}
	3q23	<i>ACPL2</i>	rs6775902	6.56×10^{-6}
	3q23	<i>ACPL2</i>	rs3796259	6.74×10^{-6}
	Xp22.33	<i>PRKY</i>	rs2895159	7.12×10^{-6}
	18q21.33	<i>CDH20</i>	rs17619983	8.24×10^{-6}
	7q21.11	<i>MAGI2</i>	rs2691546	8.69×10^{-6}
	6q25.1	<i>AKAP12</i>	rs13212161	9.37×10^{-6}
	6p21.33	<i>BATI</i>	rs3853601	5.73×10^{-7}
Атопическая сенсibilизация по данным о кожном аллерготестировании	8p23.1	<i>XKR6</i>	rs4841511	4.03×10^{-6}
	7q21.13	<i>ZNF804B</i>	rs38948	6.79×10^{-6}
	3q23	<i>ACPL2</i>	rs2292400	2.60×10^{-6}

Таблица 2. Окончание

Фенотип	Хромосома	Ген	ОНП	Достигнутый уровень значимости
Уровень общего сывороточного IgE	16p13.3	<i>ANKK3</i>	rs17137208	6.00×10^{-6}
	7q36.3	<i>PTPRN2</i>	rs7780849	9.00×10^{-6}
Жизненная емкость легких (ЖЕЛ)	18q12.3	<i>RIT2</i>	rs17694970	2.00×10^{-6}
	6q22.31	<i>GJA1</i>	rs11961755	3.00×10^{-6}
	2q12.3	<i>LOC151234</i>	rs12477830	7.00×10^{-6}
	14q32.12	<i>KIAA1409</i>	rs943323	9.00×10^{-6}
Объем форсированного выдоха за первую секунду	6q13	<i>LOC642681</i>	rs17729195	1.00×10^{-6}
	18q12.3	<i>RIT2</i>	rs17694970	2.00×10^{-6}
	2p23.2	<i>ALK</i>	rs11684392	3.00×10^{-6}
	6q13	<i>LOC642681</i>	rs719830	4.00×10^{-6}
	1q31.2	<i>CDC73</i>	rs1339307	7.00×10^{-6}
	3p14.2	<i>C3orf67</i>	rs11130695	7.00×10^{-6}
	7p21.3	<i>ARL4A</i>	rs6973933	9.00×10^{-6}
Пиковая скорость выдоха	18q12.3	<i>RIT2</i>	rs17694970	1.00×10^{-6}
	16q24.1	<i>ADAD2</i>	rs7185137	7.00×10^{-6}
Максимальный поток выдыхаемого воздуха на 25% ЖЕЛ	5q31.1	<i>FSTL4</i>	rs11242168	1.00×10^{-6}
	5q31.1	<i>FSTL4</i>	rs6865119	2.00×10^{-6}
	4q27	<i>MAD2L1</i>	rs10006038	5.00×10^{-6}
	16q12.2	<i>CRNDE</i>	rs4440156	7.00×10^{-6}
Максимальный поток выдыхаемого воздуха на 50% ЖЕЛ	5q31.1	<i>FSTL4</i>	rs6865119	1.00×10^{-6}
	5q31.1	<i>FSTL4</i>	rs11242168	2.00×10^{-6}
	6p22.1	<i>ZFP57</i>	rs2747454	2.00×10^{-6}
	15q21.1	<i>SLC12A1</i>	rs11633336	5.00×10^{-6}
	2q14.3	<i>MYO7B</i>	rs11693296	7.00×10^{-6}
Максимальный поток выдыхаемого воздуха на 75% ЖЕЛ	20p12.1	<i>MACROD2</i>	rs2208133	8.00×10^{-6}
	20q12	<i>TOP1</i>	rs2223955	2.00×10^{-6}
	10p15.1	<i>LOC338588</i>	rs17133449	4.00×10^{-6}
	10q23.1	<i>NRG3</i>	rs11192402	7.00×10^{-6}
	8q22.3	<i>LRP12</i>	rs1460239	1.00×10^{-6}
Концентрация метахолина в пробе на бронхиальную гиперреактивность (PC20)	11q22.1	<i>CNTN5</i>	rs1039951	5.00×10^{-6}
	14q32.2	<i>LOC730212</i>	rs12883143	5.00×10^{-6}
	16q12.1	<i>hCG_2045437</i>	rs12931290	5.00×10^{-6}

Примечание. Однонуклеотидные замены даны в порядке повышения уровня значимости. Жирным шрифтом выделены мутации и гены, представляющие наибольший интерес.

перекрываются, что свидетельствует о разной генетической основе этих заболеваний. Предполагается, что для развития детской БА, в отличие от взрослой, имеет большое значение атопия. Это косвенно подтверждают наши данные о возможной ассоциации генов *BAT1*, *MAGI2* и *ACPL2* с детской, но не взрослой, астмой, а также с атопическим ринитом и атопической сенсibilизацией.

Ни один из участков, проявивших тенденцию к ассоциации с уровнем общего IgE и PC20, не ассоциирован с другими фенотипами.

Генетические основы АЗ ранее исследованы в нескольких популяциях России с использованием анализа ассоциаций болезней и признаков с отдельными ОНП, в основном, — генов цитокинов и ферментов биотрансформации ксенобиотиков [42–45], однако ПГАА впервые выполнен нами. В результате нашего исследования у русских жителей Западной Сибири обнаружены новые гены-кандидаты, определяющие подверженность детской БА, АР, АЗ и атопической сенсibilизации (*YWHAB*, *PPP1R12B*, *KCNE4*, *BAT1*, *MAGI2*, *ACPL2*). Гены *RIT2* и *FSTL4* представляют также интерес для изучения как факторы, участвующие в формировании особенностей функции внешнего дыхания. Отметим, что вероятные локусы для дерматита, обнаруженные в нашем исследовании, не перекрываются с локусами для других заболеваний. Развитие АД в значительной степени связано с генами, контролирующими барьерную функцию эпителия, а гены подверженности атопии могут быть второстепенными [46]. Наши данные косвенно это подтверждают.

Следует отметить, что полученные статистически значимые ассоциации характеризуются величиной отношения шансов более 2.5; это свидетельствует о том, что в исследованной выборке удалось выявить только достаточно сильные эффекты генов. Это, в свою очередь, означает, что размер использованной выборки, вероятно, недостаточен для обнаружения более слабых эффектов на уровне 1.1–1.5, которые свойственны мультифакторным заболеваниям. Об этом также свидетельствует то, что намечается большое число вероятных ассоциаций, уровень статистической значимости которых недостаточно высок. Тем не менее, учитывая, что представленный анализ — первая попытка полногеномного анализа АЗ в российской популяции, а также то, что многие обнаруженные ассоциации подтверждают данные о локусах АЗ, установленных в других исследованиях, можно полагать, что наши результаты можно рассматривать как существенное дополнение к информации о генетических факторах этих заболеваний. Большой интерес представляет воспроизведение представленных результатов в других российских популяциях, в частности, участвующих в проекте GABRIEL (г. Уфа, г. Курск).

Работа получила финансовую поддержку Европейской комиссии в рамках проекта GABRIEL. “А

multidisciplinary study to identify the genetic and environmental causes of asthma in the European Community” (контракт № 018996 в рамках Программы LSH-2004-1.2.5-1), фонда Wellcome Trust по гранту “A second-generation genome-wide association study for asthma” (№ WT084703MA), а также Федеральной целевой программы “Иммуногенетика и иммуноэпидемиология аллергических заболеваний в мировых очагах инфекций” (№ 02.740.11.0716).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pearson T.A., Manolio T.A. 2008. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA*. **299**, 1335–1344.
2. Hindorf L.A., Sethupathy P., Junkins H.A., et al. 2009. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **106**, 9362–9367.
3. Johnson A.D., O'Donnell C.J. 2009. An open access database of genome-wide association results. *BMC Med. Genet.* **10**, 6.
4. Moffatt M.F., Kabesch M., Liang L., et al. 2007. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature*. **448**, 470–473.
5. Himes B.E., Hunninghake G.M., Baurley J.W., et al. 2009. Genome-wide association analysis identifies PDE4D as an asthma-susceptibility gene. *Am. J. Hum. Genet.* **84**, 581–593.
6. Hancock D.B., Romieu I., Shi M., et al. 2009. Genome-wide association study implicates chromosome 9q21.31 as a susceptibility locus for asthma in Mexican children. *PLoS Genet.* **5**, e1000623.
7. Kim S.H., Cho B.Y., Park C.S., et al. 2009. Alpha-T-catenin (CTNNA3) gene was identified as a risk variant for toluene diisocyanate-induced asthma by genome-wide association analysis. *Clin. Exp. Allergy*. **39**, 203–212.
8. Mathias R.A., Grant A.V., Rafaels N., et al. 2010. A genome-wide association study on African-ancestry populations for asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, 336–346.
9. Sleiman P.M., Flory J., Imielinski M., et al. 2010. Variants of DENND1B associated with asthma in children. *N. Engl. J. Med.* **362**, 36–44.
10. Li X., Howard T.D., Zheng S.L., et al. 2010. Genome-wide association study of asthma identifies RAD50-IL13 and HLA-DR/DQ regions. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, 328–335.
11. Esparza-Gordillo J., Weidinger S., Fölster-Holst R., et al. 2009. A common variant on chromosome 11q13 is associated with atopic dermatitis. *Nature. Genet.* **41**, 596–601.
12. Ober C., Tan Z., Sun Y., et al. 2008. Effect of variation in CHI3L1 on serum YKL-40 level, risk of asthma, and lung function. *N. Engl. J. Med.* **358**, 1682–1691.
13. Castro-Giner F., Bustamante M., Ramon González J., et al. 2009. A pooling-based genome-wide analysis identifies new potential candidate genes for atopy in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). *BMC Med. Genet.* **10**, 128.
14. Gudbjartsson D.F., Bjornsdottir U.S., Halapi E., et al. 2009. Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction. *Nature Genet.* **41**, 342–347.

15. GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Доступен по адресу <http://www.ginasthma.org/Guidelineitem.asp?i1=2&i2=1&intId=1561>
16. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Am. J. Hum. Genet.* **81**, 559–575.
17. The Wellcome Trust Case Control Consortium. 2007. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* **447**, 661–678.
18. Sabatti C., Service S.K., Hartikainen A.L. et al. 2009. Genome-wide association analysis of metabolic traits in a birth cohort from a founder population. *Nature Genet.* **41**, 35–46.
19. Фрейдин М.Б., Пузырев В.П. 2010. Синтропные гены аллергических заболеваний. *Генетика.* **46**, 255–261.
20. Ferreira M.A.R., O’Gorman L., Le Souëf P., et al. 2005. Robust estimation of experimentwise *P* values applied to a genome scan of multiple asthma traits identifies a new region of significant linkage on chromosome 20q13. *Am. J. Hum. Genet.* **77**, 1075–1085.
21. Cheng D., Xu Y., Liu X., Zhao L., Xiong S., Zhang Z. 2007. The effects of protein kinase C (PKC) on the tension of normal and passively sensitized human airway smooth muscle and the activity of voltage-dependent delayed rectifier potassium channel (Kv). *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* **27**, 153–156.
22. Bansal S.K., Jha A., Jaiswal A.S., Chhabra S.K. 1997. Increased levels of protein kinase C in lymphocytes in asthma: possible mechanism of regulation. *Eur. Respir. J.* **10**, 308–313.
23. Bannert N., Vollhardt K., Asomuddinov B., et al. 2003. PDZ domain-mediated interaction of interleukin-16 precursor proteins with myosin phosphatase targeting subunits. *J. Biol. Chem.* **278**, 42190–42199.
24. Afifi S.S., ElArab A.E., Mostafa S.Y. 2004. Interleukin 16 (IL-16) in asthma and allergic rhinitis. A comparison between upper and lower airways. *Egypt. J. Immunol.* **11**, 31–36.
25. Bouzigon E., Siroux V., Dizier M.-H., et al. 2007. Scores of asthma and asthma severity reveal new regions of linkage in EGEA study families. *Eur. Respir. J.* **30**, 253–259.
26. Choudhry S., Taub M., Mei R. 2008. Genome-wide screen for asthma in Puerto Ricans: evidence for association with 5q23 region. *Hum. Genet.* **123**, 455–468.
27. Evans D.M., Zhu G., Duffy D.L., Montgomery G.W., Frazer I.H., Martin N.G. 2004. Major quantitative trait locus for eosinophil count is located on chromosome 2q. *J. Allergy Clin. Immunol.* **114**, 826–830.
28. Kurz T., Hoffjan S., Hayes M.G., et al. 2006. Fine mapping and positional candidate studies on chromosome 5p13 identify multiple asthma susceptibility loci. *J. Allergy Clin. Immunol.* **118**, 396–402.
29. Kato A., Fukai K., Oiso N., Hosomi N., Murakami T., Ishi M. 2003. Association of SPINK5 gene polymorphisms with atopic dermatitis in the Japanese population. *Br. J. Dermatol.* **148**, 665–669.
30. Nishio Y., Noguchi E., Shibasaki M. 2003. Association between polymorphisms in the SPINK5 gene and atopic dermatitis in the Japanese. *Genes Immun.* **4**, 515–517.
31. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б. 2009. Генетический взгляд на феномен сочетанных болезней у человека. *Acta Naturae.* **3**, 57–63.
32. Quicones-Lombraca A., Lopez-Soto A., Ballina-Garcia F.J., et al. 2008. BAT1 promoter polymorphism is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *J. Rheumatol.* **35**, 741–744.
33. McGovern D.P., Taylor K.D., Landers C., et al. 2009. MAGI2 genetic variation and inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* **15**, 75–83.
34. Kohara Y., Tanabe K., Matsuoka K., et al. 2001. A major determinant quantitative-trait locus responsible for atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice is located on Chromosome 9. *Immunogenetics.* **53**, 15–21.
35. Dizier M.H., Besse-Schmittler C., Guilloud-Bataille M., et al. 2000. Genome screen for asthma and related phenotypes in the French EGEA study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **162**, 1812–1818.
36. Shiffman D., O’Meara E.S., Bare L.A., et al. 2008. Association of gene variants with incident myocardial infarction in the cardiovascular health study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28**, 173–179.
37. Luke M.M., O’Meara E.S., Rowland C., et al. 2008. Gene variants associated with ischemic stroke: the cardiovascular health study. *Stroke.* **40**, 363–368.
38. Aschard H., Bouzigon E., Corda E., et al. 2009. Sex-specific effect of IL9 polymorphisms on lung function and polysensitization. *Genes Immun.* **10**, 559–565.
39. Wjst M., Fischer G., Immervoll T., et al. 1999. A genome-wide search for linkage to asthma. *Genomics.* **58**, 1–8.
40. Immervoll T., Loesgen S., Dutsch G., et al. 2001. Fine mapping and single nucleotide polymorphism association results of candidate genes for asthma and related phenotypes. *Hum. Mutat.* **18**, 327–336.
41. Pillai S.G., Chiano M.N., White N.J., et al. 2006. A genome-wide search for linkage to asthma phenotypes in the genetics of asthma international network families: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 2p. *Europ. J. Hum. Genet.* **14**, 307–316.
42. Иващенко Т.Э., Сиделева О.Г., Петрова М.А. и др. 2001. Генетические факторы предрасположенности к бронхиальной астме. *Генетика.* **37**, 107–111.
43. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Огородова Л.М., Пузырев В.П. 2002. Полиморфизм генов глутатионтрансфераз $\theta 1$ и $\mu 1$ (*GSTT1* и *GSTM1*) у больных atopической бронхиальной астмой в Западно-Сибирском регионе. *Молекуляр. биология.* **36**, 630–634.
44. Фрейдин М.Б., Пузырев В.П., Огородова Л.М., Кобякова О.С., Кулманаква И.М. 2002. Полиморфизм генов интерлейкинов и их рецепторов: популяционная распространенность и связь с atopической бронхиальной астмой. *Генетика.* **38**, 1710–1718.
45. Федорова Ю.Ю., Гра О.А., Карунас А.С. и соавт. 2009. Ассоциация полиморфных вариантов генов системы биотрансформации с atopическими заболеваниями у русских детей из Республики Башкортостан. *Молекуляр. биология.* **43**, 1032–1039.
46. Barnes K.C. 2010. An update on the genetics of atopic dermatitis: Scratching the surface in 2009. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, 16–29.