

Взаимосвязь полиморфизмов генов *IRF5* (rs2004640), *STAT4* (rs7574865) и *TNFAIP3* (rs6920220, rs2230926) с синдромом Шегрена и его осложнением – MALT-лимфомой

Гусева И.А.¹, Торгашина А.В.¹, Хван Ю.И.¹, Крылов М.Ю.¹, Самаркина Е.Ю.¹,
Коновалова Н.В.², Варламов Д.А.²

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва;

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

¹Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; ²Россия, 127550, Москва, Тимирязевская ул., 42

Появляется все больше данных, подтверждающих вклад не-HLA-генетических маркеров в предрасположенность к развитию синдрома Шегрена (СШ) и его тяжелого осложнения – MALT-лимфомы.

Цель исследования – изучить ассоциацию полиморфизмов генов *IRF5* (rs2004640), *STAT4* (rs7574865) и *TNFAIP3* (rs6920220, rs2230926) с предрасположенностью к развитию СШ и MALT-лимфомы.

Материал и методы. В исследование включено 80 больных СШ (основная группа) и 103 индивида без аутоиммунной патологии (контрольная группа), сопоставимых по полу и возрасту с больными основной группы. У 16 пациентов была выявлена MALT-лимфома. Генотипирование полиморфизмов генов *IRF5* (rs2004640), *STAT4* (rs7574865), *TNFAIP3* (rs6920220, rs2230926) выполнено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием оригинальных аллель-специфических зондов, меченных различными флуоресцентными метками.

Результаты и обсуждение. Распределение генотипов и аллелей гена *STAT4* статистически значимо различалось в основной и контрольной группах ($p=0,0005$ и $p=0,0001$ соответственно). Наличие гомозиготного генотипа ТТ повышало риск развития СШ более чем в 8 раз по сравнению с генотипами TG+GG (отношение шансов, ОШ 8,2; 95% доверительный интервал, ДИ 2,5–30,0; $p=0,0001$). Полиморфизм гена *TNFAIP3* rs2230926 также был ассоциирован с риском развития СШ: наличие генотипа TG значимо повышало вероятность возникновения СШ по сравнению с генотипом ТТ (ОШ 6,4; 95% ДИ 1,2–44,3; $p=0,01$). Наличие MALT-лимфомы было ассоциировано с полиморфизмом rs6920220 гена *TNFAIP3*. У 10 (62,5%) из 16 больных с MALT-лимфомой имелся хотя бы один минорный аллель А (АА+ГА), в то время как при отсутствии MALT-лимфомы хотя бы один минорный аллель А обнаружен лишь в 32,8% случаев (ОШ 3,4; 95% ДИ 1,1–10,7; $p=0,03$). Кроме того, была выявлена взаимосвязь генотипа rs7574865 ТТ гена *STAT4* с риском развития при СШ тяжелой лейкопении, которая у носителей генотипа ТТ встречалась значимо чаще, чем у лиц с генотипом GG+GT (ОШ 4,9; 95% ДИ 1,7–14,4; $p=0,004$). Полиморфизм гена *IRF5* (rs2004640) не был ассоциирован ни с риском развития СШ, ни с его клиническими проявлениями.

Заключение. Полиморфизмы rs7574865 гена *STAT4*, rs6920220, rs2230926 гена *TNFAIP3* связаны с риском развития либо СШ, либо его тяжелых осложнений – MALT-лимфомы и лейкопении.

Ключевые слова: болезнь Шегрена; синдром Шегрена; MALT-лимфома; лейкопения; генетические полиморфизмы; *STAT4* rs7574865; *TNFAIP3* rs6920220; *TNFAIP3* rs2230926; *IRF5* rs2004640.

Контакты: Ирина Анатольевна Гусева; irrgus@yandex.ru

Для ссылки: Гусева ИА, Торгашина АВ, Хван ЮИ, Крылов МЮ, Самаркина ЕЮ, Коновалова НВ, Варламов ДА. Взаимосвязь полиморфизмов генов *IRF5* (rs2004640), *STAT4* (rs7574865) и *TNFAIP3* (rs6920220, rs2230926) с синдромом Шегрена и его осложнением – MALT-лимфомой. Современная ревматология. 2023;17(5):29–35. DOI: 10.14412/1996-7012-2023-5-29-35

Association of *IRF5* (rs2004640), *STAT4* (rs7574865), and *TNFAIP3* (rs6920220, rs2230926) gene polymorphisms with primary Sjögren's syndrome and its complication, MALT-lymphoma

Guseva I.A.¹, Torgashina A.V.¹, Khvan J.I.¹, Krylov M.Yu.¹, Samarkina E.Yu.¹,
Konovalova N.V.², Varlamov D.A.²

¹V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow;

²Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow

¹34A, Kashirskoye Shosse, Moscow, 115522, Russia; ²42, Timiryazevskaya Street, Moscow, 127550, Russia

In recent years, more and more data have emerged confirming the contribution of non-HLA genetic markers to the predisposition to the development of Sjögren's syndrome (SS) and its severe complication, MALT-lymphoma.

Objective: to study the association of polymorphisms of IRF5 (rs2004640), STAT4 (rs7574865), and TNFAIP3 (rs6920220, rs2230926) genes with predisposition to the development of SS and MALT-lymphoma.

Materials and methods. The study included 80 patients with SS and 103 individuals in the control group. Sixteen patients were diagnosed with MALT-lymphoma. Genotyping of polymorphisms of IRF5 (rs2004640), STAT4 (rs7574865), TNFAIP3 (rs6920220, rs2230926) genes was performed by real-time polymerase chain reaction using original allele-specific probes labeled with different fluorescent labels.

Results and discussion. The distribution of genotypes and alleles of the STAT4 gene differed statistically significantly in the study and control groups of patients ($p=0.0005$ and $p=0.0001$, respectively). The presence of the homozygous TT genotype increased the risk of developing SS more than eightfold compared to TG+GG genotypes (odds ratio, OR=8.2; 95% confidence interval, CI 2.5–30.0; $p=0.0001$). The polymorphism of the TNFAIP3 rs2230926 gene was also associated with the risk of developing SS: the presence of the TG genotype significantly increased the probability of developing SS compared to the TT genotype (OR 6.4; 95% CI 1.2–44.3; $p=0.01$). The development of MALT-lymphoma was associated with the rs6920220 polymorphism of the TNFAIP3 gene. In 10 out of 16 patients with MALT-lymphoma (62.5%) at least one minor A allele (AA+GA) was detected, while in patients without MALT-lymphoma only in 32.8% of patients at least one minor A allele was detected (OR=3.4, CI 1.1–10.7; $p=0.03$). In addition, a correlation was found between the rs7574865 TT genotype of the STAT4 gene and the risk of developing severe leukopenia in SS, which was significantly more frequent in carriers of the TT genotype than in individuals with the GG+GT genotype (OR 4.9; 95% CI 1.7–14.4; $p=0.004$). Polymorphism of the IRF5 gene (rs2004640) was not associated with risk of developing SS or with clinical manifestations of the disease.

Conclusion. Polymorphisms rs7574865 of STAT4 gene, rs6920220, rs2230926 of TNFAIP3 gene are associated either with the risk of developing SS or with severe complications of the disease, MALT-lymphoma and leukopenia.

Keywords: primary Sjögren's syndrome; Sjögren's syndrome; MALT-lymphoma; leukopenia; genetic polymorphisms; STAT4 rs7574865; TNFAIP3 rs6920220; TNFAIP3 rs2230926; IRF5 rs2004640

Contact: Irina Anatolievna Guseva; irrgus@yandex.ru

For reference: Guseva IA, Torgashina AV, Khvan JI, Krylov MYu, Samarkina EYu, Kononova NV, Varlamov DA. Association of IRF5 (rs2004640), STAT4 (rs7574865), and TNFAIP3 (rs6920220, rs2230926) gene polymorphisms with primary Sjögren's syndrome and its complication, MALT-lymphoma. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2023;17(5):29–35. DOI: 10.14412/1996-7012-2023-5-29-35

Синдром Шегрена (СШ) — хроническое аутоиммунное заболевание, сопровождающееся формированием воспалительных инфильтратов в экзокринных железах с развитием их деструкции и выраженной функциональной недостаточности. Основным клиническим проявлением СШ является сухой синдром, приводящий при отсутствии адекватной терапии к тяжёлым осложнениям на поздних стадиях заболевания. У части пациентов развиваются системные внежелудочные изменения, такие как васкулит, интерстициальное заболевание легких, поражение почек, нервной системы, глаз и др. [1, 2]. СШ может протекать как самостоятельное, единственное аутоиммунное заболевание (первичный СШ, или болезнь Шегрена) либо развиваться на фоне другой аутоиммунной патологии, включая ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку и др. (вторичный СШ).

СШ является вторым по частоте после РА системным аутоиммунным заболеванием, его распространенность в общей популяции — около 0,5%, соотношение женщин и мужчин — 9:1. Женщины заболевают преимущественно в период перименопаузы [2].

По сравнению с общей популяцией у пациентов с СШ значительно повышен риск развития В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ), особенно В-клеточной лимфомы с вовлечением лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue, MALT), которая поражает около 5–10% пациентов и приводит к повышению их смертности [3–5].

Механизмы развития СШ до конца не выяснены, однако, исходя из современной патогенетической модели, взаимо-

действие генетических, эпигенетических особенностей и факторов окружающей среды вызывает значительные аутоиммунные нарушения и вовлечение в патологический процесс различных органов и систем [6–9].

Важные методические подходы к пониманию генетических особенностей, лежащих в основе сложных, мультифакторных заболеваний, включают ассоциативные исследования и более редкие семейные исследования. Ассоциативные исследования обычно сосредоточены на конкретных генетических областях с изучением генов-кандидатов (исследования «случай-контроль») либо в них используется непредвзятый подход, реализуемый в крупномасштабных или полногеномных работах (genome-wide association study, GWAS).

В семейных исследованиях показано, что около трети пациентов с СШ имеют родственников с другим заболеванием соединительной ткани [10]. В частности, у близнецов риск развития СШ выше, чем у лиц со спорадическим СШ [11].

Еще в 70-е годы XX в. была выявлена выраженная связь антигенов системы HLA и СШ [12, 13]. Впоследствии установлено, что гены/антигены HLA тесно взаимосвязаны не только с предрасположенностью к развитию СШ, но и с продукцией аутоантител к Ro/SSA и La/SSB. Подробно этот вопрос освещен в обзоре L.Y. Teos и I. Alevizos [14].

В проведенных в последние 10 лет исследованиях «случай-контроль» и геномных исследованиях выявлено значительное число генов, вовлеченных в патогенез СШ. Их можно подразделить на две основные группы. К первой группе относятся гены, связанные с сигнатурой интерферона (ИФН): регуляторный фактор ИФН 5 (IRF5), преобразователь сигнала

и активатор транскрипции 4 (*STAT4*), ген интерлейкина 12A (*IL12A*) и рецептора 3, запускающего естественную цитотоксичность (*NCR3*). Во вторую группу входят гены, регулирующие функцию В- и Т-клеток, включая ген киназы В-лимфоцитов (*BLK*), фактора активации В-клеток (*BAFF*), транскрипционного фактора В-клеток 1 (*EBF1*), фактора транскрипции Π (*GTF2I*), хемокинового рецептора С-Х-С типа 5 (*CXCR5*), члена суперсемейства фактора некроза опухоли (ФНО) 4 (*TNFSF4*), белка 3, индуцируемого ФНО α (*TNFAIP3*), TNFAIP3-взаимодействующего белка 1 (*TNIP1*), лимфотоксина α (*LTA*), хемокина CCL11, кодирующего синтез эотаксина [15–17].

Учитывая относительно небольшой размер нашей выборки пациентов с СШ и его осложнением (МАЛТ-лимфомой), для настоящего исследования были выбраны полиморфизмы генов, наиболее значимо ассоциированные с риском развития не только СШ (*IRF5*, *STAT4*, *TNFAIP3*), но и МАЛТ-лимфомы (*TNFAIP3*).

Цель исследования — изучить взаимосвязь полиморфизмов генов *IRF5* (rs2004640), *STAT4* (rs7574865) и *TNFAIP3* (rs6920220, rs2230926) с предрасположенностью к развитию СШ и МАЛТ-лимфомы.

Материал и методы. В исследование включено 80 больных СШ, соответствовавших критериям ACR/EULAR (American College of Rheumatology / European Alliance of Associations for Rheumatology) 2016 г. (основная группа) [18], наблюдавшихся в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (НИИР им. В.А. Насоновой) в 2020–2022 гг. У 16 из них была выявлена МАЛТ-лимфома. Среди больных преобладали женщины (95%). Средний возраст пациентов составил $48,5 \pm 14,7$ года, медиана длительности заболевания до включения в исследование — 7 [3; 12] лет. Средний возраст появления первых клинических признаков СШ — $39,5 \pm 15,7$ года.

Преимущественно железистое поражение наблюдалось у 33 (41,3%) пациентов, остальные 47 (58,7%) имели системные проявления, включая интерстициальное поражение легких ($n=10$), тяжелую полиневропатию ($n=4$), артрит ($n=11$). Высокая активность заболевания с гиперпротеинемией, гипергаммаглобулинемией, геморрагическими высыпаниями отмечалась в 19 (23,8%) случаях. Тяжелое поражение глаз с эпителиопатией роговицы сформировалось у 24 (30,0%) больных. Высокая активность по ESSDAI (EULAR Sjögren's syndrome disease activity index) наблюдалась у 11 (13,8%) пациентов, средняя — у 18 (22,5%), низкая — у 51 (63,8%). У 23 (28,7%) больных течение СШ сопровождалось глубокой лейкопенией со снижением числа лейкоцитов до $<3000/\text{мкл}$, у 5 (6,3%) — криоглобулинемией.

У 21 (26,3%) пациента СШ сочетался с другими иммуновоспалительными заболеваниями, включая РА ($n=9$), системную склеродермию ($n=4$), идиопатические воспалительные миопатии ($n=3$), кожный псориаз ($n=2$), аутоиммунный гепатит ($n=1$), саркоидоз с поражением легких ($n=1$), гипокплементарный васкулит ($n=1$). Больным этой подгруппы установлен диагноз вторичного СШ.

У 16 (20,0%) пациентов течение СШ сопровождалось развитием ЛПЗ — экстра nodальной лимфомы маргинальной зоны МАЛТ-типа с поражением больших слюнных желез (МАЛТ-лимфомы). Во всех случаях она проявлялась стойким увеличением размеров пораженной железы; выполнялась инцизионная биопсия с гистологической верификацией

ЛПЗ. Диагноз МАЛТ-лимфомы устанавливался на основе патологоанатомического исследования биопсийного материала с применением иммуногистохимических методов в морфологических лабораториях ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Необходимо отметить, что наша выборка была намеренно дополнена пациентами с МАЛТ-лимфомой (20%): 16 (9,5%) таких больных были специально отобраны для данного исследования из общей выборки 168 пациентов с СШ.

У всех больных при поступлении в клинику были взяты образцы венозной крови в пробирки с К2 ЭДТА (4 мл), которые хранились в замороженном виде при -70°C до момента выделения ДНК и проведения генотипирования полиморфизмов генов *IRF5* (rs2004640), *STAT4* (rs7574865) и *TNFAIP3* (rs6920220, rs2230926). Контрольной группой для молекулярно-генетического исследования служили 103 здоровых донора крови без аутоиммунных заболеваний и отягощенной наследственности по ним, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных. Данные о распределении генотипов полиморфизма rs6920220 гена *TNFAIP3* в контрольной группе ($n=309$) использованы из опубликованной нами ранее статьи [19].

ДНК выделена из образцов крови с помощью коммерческих наборов «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Генотипирование выполнено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием оригинальных сиквенс-специфических праймеров и проб, меченных различными флюоресцентными метками (НПК «Синтол», Россия). Автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов проводились на отечественном инновационном детектирующем амплификаторе «ДТпрайм» (ООО «ДНК-Технология»). Генотипирование выполнялось согласно инструкции фирмы-изготовителя наборов.

Статистический анализ проводился с использованием статистической программы SPSS v.17.0. и программы EpiInfo v.7.2. Использовались методы параметрической и непараметрической обработки результатов. Для вариабельностей с нормальным распределением были подсчитаны средние величины (М) и среднеквадратичные отклонения (SD), для сравнения двух выборок использовался t -критерий. При ассиметричном распределении вариабельностей данные были представлены как медиана и интерквартильный интервал (Ме [25-й; 75-й процентиля]). Для сравнения двух независимых выборок применяли критерий Манна–Уитни, трех и более независимых выборок — критерий Краскела–Уоллиса.

Соответствие наблюдаемых распределений частот генотипов теоретически ожидаемым по уравнению Харди–Вайнберга оценивали с помощью критерия независимости χ^2 Пирсона. Различия в распределении генотипов между группами определяли по величине критерия независимости χ^2 . Если в таблице сопряженности хотя бы одно число было менее 5, использовали поправку Йейтса. Для оценки меры риска развития болезни или любого параметра как дихотомической переменной (есть признак, нет признака) вычисляли отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ) посредством логистического регрессионного анализа. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом НИИР им. В.А. Насоновой. Всеми пациентами было подписано информированное согласие.

Результаты. Демографические и клинико-лабораторные показатели больных СШ представлены в табл. 1.

Анализ взаимосвязи «случай-контроль». Распределение частот генотипов исследованных полиморфизмов генов в контрольной группе соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$), следовательно, все рассматриваемые в исследовании полиморфизмы могли быть включены в анализ данных.

Анализ распределения генотипов и аллелей изученных полиморфизмов генов представлен в табл. 2.

Как видно из табл. 2, распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* статистически значимо различалось в основной группе и в контроле. Статистический анализ показал, что наличие гомозиготного минорного генотипа ТТ повышает риск развития СШ более чем в 8 раз по сравнению с генотипами TG+GG (ОШ 8,2; 95% ДИ 2,5–30,0; $p = 0,0001$). В то же время гомозиготный генотип «дикого типа» GG (наиболее часто встречающийся в популяции) является протективным и ассоциируется с меньшей частотой СШ, чем генотипы TG+TT (ОШ 0,24; 95% ДИ 0,2–0,7; $p = 0,002$).

Взаимосвязь полиморфизма rs6920220 гена *TNFAIP3* с предрасположенностью к развитию СШ не выявлена.

Другой полиморфизм гена *TNFAIP3*, rs2230926, несмотря на очень редко встречавшийся в контроле аллель G только в гетерозиготном состоянии (TG), был ассоциирован с более высоким риском развития СШ, чем гомозиготный генотип ТТ (ОШ 6,4; 95% ДИ 1,2–44,3; $p = 0,01$).

Взаимосвязь СШ и полиморфизма rs2004640 гена *IRF5* не обнаружена.

Мы также провели дополнительный анализ распределения генотипов и аллелей исследованных полиморфизмов генов в выборке больных СШ, из которой был исключен 21 пациент с вторичным СШ, имевший другие аутоиммунные заболевания. При обследовании оставшихся 59 пациентов с первичным СШ были получены результаты, аналогичные представленным в табл. 2. Риск развития СШ при отсутствии других аутоиммунных заболеваний был повышен для полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* (ОШ 7,2; 95% ДИ 2,1–27,6; $p = 0,001$) и для полиморфизма rs2230926 гена *TNFAIP3* (ОШ 7,5; 95% ДИ 1,4–53,0; $p = 0,01$). Таким образом, полиморфизмы генов *STAT4* (rs7574865) и *TNFAIP3* (rs2230926) являются маркерами риска развития СШ.

Анализ взаимосвязи «генотип-фенотип». Был проведен анализ взаимосвязи генотипов полиморфизмов исследуемых генов с рядом демографических и клинических показателей у больных СШ: возрастом начала заболевания и на момент включения в исследование, активностью заболевания, формой

Таблица 1. Характеристика больных СШ
Table 1. Characteristics of patients with SS

Показатель	Значение
Пол: женщины/мужчины, n	76/4
Возраст на момент включения в исследование, годы, $M \pm SD$	48,5 $\pm$ 14,7
Длительность заболевания, годы, Me [25-й; 75-й перцентили]	7 [3; 12]
Аутоантитела, n (%):	
АНФ	80 (100)
Ro/SSA	30 (37, 5)
Ro/SSA+La/SSB	37 (46, 3)
IgM-РФ	40 (50,0)
Форма заболевания, n (%):	
преимущественно железистая	33 (41,3)
с системными проявлениями	47 (58,7)
Активность по ESSDAI, n (%):	
высокая	11 (13,7)
средняя	18 (22,5)
низкая	51 (63,8)
Поражение глаз, n (%)	24 (30,0)
Лейкопения, n (%)	23 (28,7)
MALT-лимфома, n (%)	16 (20,0)
Вторичный СШ, n (%)	21 (26,3)

Примечание. АНФ – антинуклеарный фактор; IgM-РФ – IgM-ревматоидный фактор.

СШ (преимущественно железистая или с системными проявлениями), наличием аутоантител, MALT-лимфомы, артрита, поражения глаз, лейкопении.

Распределение генотипов сравнивалось внутри группы пациентов с СШ, а также при СШ и в контрольной группе. В результате были выявлены ассоциации полиморфизмов rs6920220 гена *TNFAIP3* с MALT-лимфомой (табл. 3) и rs7574865 гена *STAT4* с лейкопенией (табл. 4).

У носителей хотя бы одного минорного аллеля А (GA+AA) MALT-лимфома развивалась более чем в 3 раза чаще, чем у носителей гомозиготного генотипа «дикого типа» GG (см. табл. 3). При наличии данного полиморфизма риск развития MALT-лимфомы был повышен также по сравнению с группой контроля.

Минорный гомозиготный генотип ТТ являлся маркером, предрасполагающим к развитию тяжелой лейкопении как внутри группы больных СШ, так и при сравнении с контрольной группой доноров крови, о которых известно, что они не страдали выраженной лейкопенией. Более того, было выявлено, что генотип ТТ повышает риск развития лейкопении при СШ по сравнению с контрольной группой (ОШ 4,6; 95% ДИ 1,2–19,0; $p = 0,02$).

Обсуждение. Наиболее убедительные ассоциации не-HLA-генов с СШ были обнаружены в исследованиях генов-кандидатов более 10 лет назад и связаны с областями генов *IRF5* и *STAT4* [20–22]. Оба этих гена участвуют в передаче сигналов ИФН.

Не исключено, что пусковым фактором развития СШ может стать вирусная инфекция, которая индуцирует выработку ИФН типа I, а имеющаяся у некоторых индивидов генетическая предрасположенность способствует длительной активации системы ИФН. Полиморфные варианты гена

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

Таблица 2. Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов генов *IRF5*, *STAT4* и *TNFAIP3*, n (%)
Table 2. Frequencies of genotypes and alleles of polymorphisms of *IRF5*, *STAT4* and *TNFAIP3* genes, n (%)

Генотипы/аллели	Основная группа	Контрольная группа	p
<i>IRF5</i> (rs2004640):			
	n=80	n=103	
GG	16 (20,0)	28 (27,2)	0,4
GT	40 (50,0)	51 (49,5)	
TT	24 (30,0)	24 (23,3)	
	2n*=100	2n*=206	
G	72 (45,0)	107 (51,9)	0,2
T	88 (55,0)	99 (48,1)	
<i>STAT4</i> (rs7574865):			
	n=80	n=103	
GG	32 (40,0)	65 (63,1)	0,00005
GT	28 (35,0)	34 (33,0)	
TT	20 (25,0)	4 (3,9)	
	2n*=160	2n*=206	
G	92 (57,5)	164 (79,6)	0,0001
T	68 (42,5)	42 (20,4)	
TT vs GT+GG	20 (25,0)	4 (3,9)	0,001
	60 (75,0)	99 (96,1)	
<i>TNFAIP3</i> (rs6920220):			
	n=80	n=309	
GG	49 (61,3)	209 (67,6)	0,45
GA	28 (35,0)	86 (27,9)	
AA	3 (3,8)	14 (4,5)	
	2n*=160	2n*=618	
G	126 (78,8)	504 (81,6)	0,5
A	34 (21,2)	114 (18,4)	
<i>TNFAIP3</i> (rs2230926):			
	n=80	n=103	
TT	71 (88,8)	101 (98,1)	0,01
TG	9 (11,2)	2 (1,9)	
GG	0	0	
	2n*=160	2n*=206	
T	151 (94,4)	204 (99,0)	0,01
G	9 (5,6)	2 (1,0)	

Примечание. 2n* — число хромосом у исследованных лиц.

IRF5 могут предрасполагать к усилению передачи сигналов ИФН за счет конститутивной экспрессии генов, индуцируемых ИФН, или индукции выработки ингибиторов, снижающих функциональную активность в сигнальных путях ИФН. При вирусной инфекции *IRF5* способствует транскрипции ИФН α и других провоспалительных цитокинов, включая субъединицу р40 интерлейкина (ИЛ) 12, ИЛ6 и ФНО α [23].

STAT4 также является критическим фактором транскрипции, участвующим в передаче сигналов, вызываемых ИФН типов I и II. Он необходим для развития Th1-клеток из наивных CD4+ T-клеток и продукции ИФН γ в ответ на ИЛ12 [24, 25].

В нашем исследовании выявлена связь полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* (гомозиготного генотипа TT) с высоким риском развития СШ в российской популяции, причем эта связь прослеживалась как в общей группе 80 больных СШ, так и в подгруппе из 59 пациентов с СШ без других аутоиммунных болезней. Кроме того, была установлена сильная взаимосвязь этого же генотипа с риском развития выраженной и стойкой лейкопении (уровень лейкоцитов <3000/мкл). Наши данные об ассоциации полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* как с риском развития СШ, так и с предрасположенностью к лейкопении у больных СШ согласуются с сообщениями других авторов [21, 26–28].

В то же время, в отличие от французских исследователей, мы не обнаружили связи между полиморфизмом rs2004640 гена *IRF5* и СШ [29]. Возможно, это обусловлено, во-первых, меньшей численностью российской выборки больных СШ и, во-вторых, невыраженной ассоциацией этого полиморфизма с СШ во французской когорте.

Наше исследование подтвердило вклад гена *TNFAIP3* в предрасположенность к развитию и самого заболевания, и его осложнения — MALT-лимфомы.

Ген *TNFAIP3*, как и гены *IRF5* и *STAT4*, является генным локусом, связанным с рядом аутоиммунных заболеваний, в том числе с СШ [30–32]. Кроме того, полиморфизм rs2230926 гена *TNFAIP3* ассоциирован с MALT-лимфомой [30, 33, 34].

Ген *TNFAIP3* кодирует белок A20, фермент с убиквитинирующей активностью, который играет важную роль в регуляции воспаления в сигнальном пути NF- κ B. Белок A20 содержится в низких концентрациях в большинстве клеток, но быстро индуцируется после активации NF- κ B, действуя как негативный регулятор воспаления и апоптоза [35, 36]. Эксперименты на мышах показали, что A20 важен для выживания и нормального развития, поскольку мыши с дефи-

Таблица 3. Распределение частот генотипов полиморфизма rs6920220 гена *TNFAIP3* в группах больных СШ с MALT-лимфомой (MALT+), без MALT-лимфомы (MALT-) и в контрольной группе, n (%)
Table 3. Distribution of genotype frequencies of the rs6920220 polymorphism of the *TNFAIP3* gene in groups of SS patients with MALT lymphoma (MALT+), without MALT lymphoma (MALT-) and in the control group, n (%)

Генотипы/аллели	Больные СШ		Контрольная группа (n=309)	ОШ [95% ДИ] MALT+ vs MALT-	ОШ [95% ДИ] MALT+ vs контроль
	MALT+ (n=16)	MALT- (n=64)			
GG	6 (37,5)	43 (61,2)	209 (67,6)		
GA+AA	10 (62,5)	21 (32,8)	100 (32,4)	3,4 [1,1; 10,7], p=0,035	3,5 [1,1; 11,1], p=0,03

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

Таблица 4. Распределение частот генотипов полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* в группах больных СШ с лейкопенией (лейкопения+), без лейкопении (лейкопения-) и в контрольной группе, n (%)
 Table 4. Distribution of genotype frequencies of the *STAT4* gene rs7574865 polymorphism in groups of SS patients with leukopenia (leukopenia+), without leukopenia (leukopenia-) and in the control group, n (%)

Генотипы/ аллели	Больные СШ лейкопения+ (n=23)	Больные СШ лейкопения- (n=57)	Контрольная группа (n=103)	ОШ [95% ДИ] лейкопения+ vs лейкопения-	ОШ [95% ДИ] лейкопения+ vs контроль
GG+GT	12 (52,2)	48 (84,2)	99 (96,1)		
TT	11 (47,8)	9 (15,8)	4 (3,9)	4,9 [1,7–14,4], p=0,004	22,7 [5,5–102,7], p=0,03

цитом A20 не могут регулировать индуцированную ФНО активацию NF-κB. Они рано умирают из-за мультиорганный воспаления и кахексии в результате чрезмерной ФНО-индуцированной активации NF-κB [37].

Настоящая работа имеет некоторый недостаток, связанный с относительно небольшой выборкой пациентов с СШ и маленькой выборкой больных СШ с MALT-лимфомой, что может являться причиной недостаточной мощности исследования. Вероятно, поэтому наши данные об ассоциации двух полиморфизмов (rs6920220 и rs2230926) гена *TNFAIP3* не совпадают с данными литературы. Так, в зарубежных источниках полиморфизм rs2230926 соотносится с MALT-лимфомой, в нашем же исследовании этот полиморфизм оказался связанным с риском развития СШ.

И наоборот, по имеющимся в литературе сведениям, полиморфный маркер rs6920220 ассоциирован с предрасположенностью к развитию СШ, а в настоящем исследовании он является маркером риска развития MALT-лимфомы. Все это диктует необходимость выполнения молекулярно-генетических исследований при СШ на большей выборке больных.

Заключение. Проведенное в российской популяции молекулярно-генетическое исследование выявило взаимосвязь полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* с высоким риском развития СШ и выраженной лейкопенией; полиморфизм rs2230926 гена *TNFAIP3* также был ассоциирован с предрасположенностью к СШ, а полиморфизм rs6920220 – с тяжелым осложнением болезни (MALT-лимфомой).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Сафонова ТН, Васильев ВИ, Лихванцева ВГ. Синдром Шегрена: Руководство для врачей. Москва: Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова; 2013. 600 с.
[Safonova TN, Vasil'ev VI, Likhvantseva VG. *Sindrom Shegrena: Rukovodstvo dlya vrachei* [Sjögren's Syndrome: A Guide for Physicians]. Moscow: Lomonosov Moscow State University; 2013. 600 p.]
2. Negrini S, Emmi G, Greco M, et al. Sjögren's syndrome: a systemic autoimmune disease. *Clin Exp Med*. 2022 Feb;22(1):9-25. doi: 10.1007/s10238-021-00728-6.
3. Васильев ВИ, Пробатова НА, Тупицын НН и др. MALT-лимфомы при болезни Шегрена. Терапевтический архив. 2006;78(1):45-52.
[Vasil'ev VI, Probatova NA, Tupitsin NN, et al. MALT-lymphomas in Sjögren's disease. *Terapevticheskii arkhiv*. 2006;78(1):45-52. (In Russ.)]
4. Zintzaras E, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM, et al. The risk of lymphoma development in autoimmune diseases: a meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2005 Nov 14;165(20):2337-44. doi: 10.1001/archinte.165.20.2337.
5. Johnsen SJ, Brun JG, Gøransson LG, et al. Risk of non-Hodgkin's lymphoma in primary Sjögren's syndrome: a population-based study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 May;65(5):816-21. doi: 10.1002/acr.21887.
6. Nezos A, Mavragani CP. Contribution of Genetic Factors to Sjögren's Syndrome and Sjögren's Syndrome Related Lymphomagenesis. *J Immunol Res*. 2015;2015:754825. doi: 10.1155/2015/754825. Epub 2015 Oct 15.
7. Björk A, Mofors J, Wahren-Herlenius M, et al. Environmental factors in the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome. *J Intern Med*. 2020 May;287(5):475-492. doi: 10.1111/joim.13032.
8. Bombardieri M, Argyropoulou OD, Ferro F, et al. One year in review 2020: pathogenesis of primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2020 Jul-Aug;38 Suppl 126(4):3-9.
9. Thorlacius GE, Björk A, Wahren-Herlenius M, et al. Genetics and epigenetics of primary Sjögren syndrome: implications for future therapies. *Nat Rev Rheumatol*. 2023 May;19(5):288-306. doi: 10.1038/s41584-023-00932-6.
10. Reveille JD, Wilson RW, Provost TT, et al. Primary Sjögren's syndrome and other autoimmune diseases in families. Prevalence and immunogenetic studies in six kindreds. *Ann Intern Med*. 1984 Dec;101(6):748-56. doi: 10.7326/0003-4819-101-6-748.
11. Kuo CF, Grainge MJ, Valdes AM, et al. Familial Risk of Sjögren's Syndrome and Co-aggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families: A Nationwide Population Study. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Jul;67(7):1904-12. doi: 10.1002/art.39127.
12. Gershwin ME, Terasaki PI, Graw R, Chused TM. Increased frequency of HL-A8 in Sjögren's syndrome. *Tissue Antigens*. 1975 Nov;6(5):342-6. doi: 10.1111/j.1399-0039.1975.tb00653.x.
13. Chused TM, Kassan SS, Opelz G. Sjögren's syndrome associated with HLA Dw3. *N Engl J Med*. 1977 Apr 21;296(16):895-7. doi: 10.1056/NEJM197704212961602.
14. Teos LY, Alevizos I. Genetics of Sjögren's syndrome. *Clin Immunol*. 2017 Sep;182:41-47. doi: 10.1016/j.clim.2017.04.018.
15. Lessard CJ, Li H, Adrianto I, et al. Variants at multiple loci implicated in both innate and adaptive immune responses are associated with Sjögren's syndrome. *Nat Genet*. 2013 Nov;45(11):1284-92. doi: 10.1038/ng.2792.
16. Harris VM, Scofield RH, Sivils KL, et al. Genetics in Sjögren's syndrome: where we are and where we go. *Clin Exp Rheumatol*. 2019 May-Jun;37 Suppl 118(3):234-239.
17. Thorlacius GE, Björk A, Wahren-Herlenius M, et al. Genetics and epigenetics of primary Sjögren syndrome: implications for future therapies. *Nat Rev Rheumatol*. 2023 May;19(5):288-306. doi: 10.1038/s41584-023-00932-6.
18. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, et al. International Sjögren's Syndrome Criteria Working Group. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis*. 2017

- Jan;76(1):9-16. doi: 10.1136/annrheumdis-2016-210571.
19. Гусева ИА, Демидова НВ, Сорока НЕ и др. Исследование полиморфизмов генов-кандидатов иммунного ответа как маркеров риска развития ревматоидного артрита и продукции аутоантител. Научно-практическая ревматология. 2016; 54(1):21-30.
- [Guseva IA, Demidova NV, Soroka NE, et al. Investigation of polymorphisms of candidate genes of the immune response as risk markers for the development of rheumatoid arthritis and the production of autoantibodies. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2016;54(1):21-30. (In Russ.).]
20. Eriksson P, Brun JG, Wang C, et al. Additive effects of the major risk alleles of IRF5 and STAT4 in primary Sjögren's syndrome. *Genes Immun*. 2009 Jan;10(1):68-76. doi: 10.1038/gene.2008.94.
21. Korman BD, Alba MI, Le JM, et al. Variant form of STAT4 is associated with primary Sjögren's syndrome. *Genes Immun*. 2008 Apr;9(3):267-70. doi: 10.1038/gene.2008.1.
22. Li H, Ice JA, Lessard CJ, Sivits KL. Interferons in Sjögren's Syndrome: Genes, Mechanisms, and Effects. *Front Immunol*. 2013 Sep 20;4:290. doi: 10.3389/fimmu.2013.00290.
23. Takaoka A, Yanai H, Kondo S, et al. Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors. *Nature*. 2005 Mar 10;434(7030):243-9. doi: 10.1038/nature03308.
24. Watford WT, Hissong BD, Bream JH, et al. Signaling by IL-12 and IL-23 and the immunoregulatory roles of STAT4. *Immunol Rev*. 2004 Dec;202:139-56. doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00211.x.
25. Kaplan MH. *STAT4*: a critical regulator of inflammation in vivo. *Immunol Res*. 2005; 31(3):231-42. doi: 10.1385/IR:31:3:231.
26. Palomino-Morales RJ, Diaz-Gallo LM, Witte T, et al. Influence of STAT4 polymorphism in primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2010 May;37(5):1016-9. doi: 10.3899/jrheum.091007. Epub 2010 Apr 1.
27. Gestermann N, Mekinian A, Comets E, et al. *STAT4* is a confirmed genetic risk factor for Sjögren's syndrome and could be involved in type 1 interferon pathway signaling. *Genes Immun*. 2010 Jul;11(5):432-8. doi: 10.1038/gene.2010.29. Epub 2010 Jun 10.
28. Colafrancesco S, Ciccacci C, Priori R, et al. STAT4, TRAF3IP2, IL10, and HCP5 Polymorphisms in Sjögren's Syndrome: Association with Disease Susceptibility and Clinical Aspects. *J Immunol Res*. 2019 Feb 10; 2019:7682827. doi: 10.1155/2019/7682827.
29. Miceli-Richard C, Comets E, Loiseau P, et al. Association of an IRF5 gene functional polymorphism with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2007 Dec;56(12):3989-94. doi: 10.1002/art.23142.
30. Ciccacci C, Latini A, Perricone C, et al. TNFAIP3 Gene Polymorphisms in Three Common Autoimmune Diseases: Systemic Lupus Erythematosus, Rheumatoid Arthritis, and Primary Sjögren Syndrome-Association with Disease Susceptibility and Clinical Phenotypes in Italian Patients. *J Immunol Res*. 2019 Aug 27;2019:6728694. doi: 10.1155/2019/6728694.
31. Khatri B, Tessneer KL, Rasmussen A, et al. Genome-wide association study identifies Sjögren's risk loci with functional implications in immune and glandular cells. *Nat Commun*. 2022 Jul 27;13(1):4287. doi: 10.1038/s41467-022-30773-y.
32. Nezos A, Gkioka E, Koutsilieris M, et al. TNFAIP3 F127C Coding Variation in Greek Primary Sjögren's Syndrome Patients. *J Immunol Res*. 2018 Dec 19;2018:6923213. doi: 10.1155/2018/6923213.
33. Nocturne G, Tarn J, Boudaoud S, et al. Germline variation of *TNFAIP3* in primary Sjögren's syndrome-associated lymphoma. *Ann Rheum Dis*. 2016 Apr;75(4):780-3. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-207731. Epub 2015 Sep 2.
34. Velissari A, Vassilakopoulos TP, Angelopoulou MK, et al. Genetic polymorphisms and risk of MALT lymphoma in Greek population. *Curr Res Transl Med*. 2022 May;70(2):103330. doi: 10.1016/j.retram.2021.103330.
35. Vereecke L, Beyaert R, van Loo G. The ubiquitin-editing enzyme A20 (TNFAIP3) is a central regulator of immunopathology. *Trends Immunol*. 2009 Aug;30(8):383-91. doi: 10.1016/j.it.2009.05.007. Epub 2009 Jul 28.
36. Zhang M, Peng LL, Wang Y, et al. Roles of A20 in autoimmune diseases. *Immunol Res*. 2016 Apr;64(2):337-44. doi: 10.1007/s12026-015-8677-6.
37. Lee EG, Boone DL, Chai S, et al. Failure to regulate TNF-induced NF-κB and cell death responses in A20-deficient mice. *Science*. 2000 Sep 29;289(5488):2350-4. doi: 10.1126/science.289.5488.2350.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

21.07.2023/12.09.2023/16.09.2023

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Статья подготовлена в рамках государственного задания по теме №1021051402790-6.

Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The investigation has been conducted within the framework of government task scientific topic №1021051402790-6.

The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Гусева И.А. <https://orcid.org/0000-0002-4906-7148>

Торгашина А.В. <https://orcid.org/0000-0001-8099-2107>

Хван Ю.И. <https://orcid.org/0000-0003-2314-1466>

Крылов М.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-9922-5124>

Самаркина Е.Ю. <https://orcid.org/0000-0001-7501-9185>

Коновалова Н.В. <https://orcid.org/0000-0003-4316-1077>

Варламов Д.А. <https://orcid.org/0000-0001-7004-981X>