

Związek polimorfizmu promotora genu interleukiny 13 z atopowym zapaleniem skóry

Association of interleukin 13 promoter gene polymorphism with atopic dermatitis

Jolanta Gleń, Bogusław Nedoszytko, Elżbieta Jasiel-Walikowska, Aleksandra Wilkowska, Monika Zabłotna, Jadwiga Roszkiewicz

Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. med. Jadwiga Roszkiewicz

Post Dermatol Alergol 2007; XXIV, 2: 65–68

Streszczenie

Interleukina 13 (IL-13) to cytokina, która bierze udział w syntezie IgE i odpowiada za podwyższone jej stężenie, obserwowane u większości pacjentów z atopowym zapaleniem skóry (AZS). Gen dla IL-13 zlokalizowany jest w chromosomie 5., w regionie 5q31-33. Region ten wykazuje asocjację z rozwojem chorób atopowych. Określono liczne jednonukleotydowe polimorfizmy (SNP) genu IL-13, wykazujące związek z poziomem IgE i/lub chorobami alergicznymi. Opisany w literaturze polimorfizm promotora genu IL-13 w pozycji -1024 C/T wskazuje na związek tego polimorfizmu z astmą alergiczną oraz zmienną regulacją produkcji IL-13. Celem tej pracy była analiza związku polimorfizmu genu IL-13 w pozycji -1024 C/T z AZS. Badaniem objęto 111 pacjentów z AZS i 65 osób zdrowych. Polimorfizm -1024 C/T genu IL-13 oznaczono za pomocą allelospecyficjnej reakcji cyklicznej polimerazy ARMS-PCR. Wykazano, że heterozygotyczny genotyp CT występuje statystycznie częściej u osób z AZS w porównaniu z osobami zdrowymi (55% i 31%; OR, 2, 1, $p < 0,028$). Uzyskane wyniki wskazują na asocjację polimorfizmu -1024 C/T promotora genu IL-13 z podwyższonym ryzykiem wystąpienia AZS i nie odbiegają od wyników uzyskanych w innych populacjach rasy kaukaskiej. Badania te są pierwszymi tego typu badaniami wykonanymi u chorych na AZS w populacji północnej Polski.

Słowa kluczowe: AZS, interleukina 13, polimorfizm promotora genu.

Abstract

Interleukin 13 (IL-13) is a major cytokine involved in IgE synthesis, increased levels of which are observed in the majority of atopic dermatitis (AD) patients. The IL-13 gene has been mapped to the cytokine cluster on chromosome 5q31-33, which has been associated with atopic conditions. Numerous single-nucleotide polymorphisms (SNP) have been identified in the IL-13 gene and have been found to be associated with IgE levels and/or allergic diseases. Recently, polymorphism (C to T exchange) at position -1024 of the promoter region in the IL-13 gene has been described. Some reports indicate that these polymorphisms are associated with allergic asthma, altered regulation of IL-13 production and increased binding of nuclear proteins to this region. The aim of this study was to analyse the association of IL-13 gene polymorphism at position -1024 C/T in patients with atopic dermatitis. In our study we analysed 111 patients with AD and 65 healthy controls. The polymorphism -1024 C/T in the promoter region of the IL-13 gene was typed using ARMS-PCR method. We found that -1024T allele and CT genotypes frequency were significantly higher among patients with atopic dermatitis in comparison with control subjects (55% vs 31%; OR, 2, 1, $p < 0.028$).

In conclusion, our results indicate that presence of -1024 C/T polymorphism of IL-13 gene may predispose to the development of atopic dermatitis in the northern Polish population.

Key words: AD, interleukin 13, promoter gene polymorphism.

Adres do korespondencji: mgr Jolanta Gleń, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii, Akademia Medyczna w Gdańsku, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest uwarunkowaną genetycznie, przewlekłą i nawrotową chorobą zapalną, z charakterystycznymi zmianami wypryskowymi, którym towarzyszy uporczywy świąd i suchość skóry. AZS należy do najczęstszych chorób skóry i występuje u 10–30% populacji [1–3].

W zmianach skórnych u pacjentów z AZS obserwuje się nacieki złożone z aktywowanych limfocytów T, eozynofili oraz mastocytów i komórek Langerhansa (KL) [2, 4].

W przebiegu choroby wyróżnia się 2 fazy – ostrą i przewlekłą. Faza ostra charakteryzuje się wzrostem liczby KL z immunoglobuliną E (IgE) i wzrostem ekspresji receptora FcεRI o wysokim powinowactwie do IgE oraz dominacją limfocytów Th2, które wydzielają IL-4, IL-5 i IL-13. W fazie tej występuje również wzmożone wytwarzanie IgE przez limfocyty B. Fazę przewlekłą charakteryzuje natomiast aktywacja limfocytów Th1 wytwarzających interferon gamma (IFN-γ), czynnik martwicy nowotworów (TNF-α), interleukinę (IL) 8, IL-12 i wiele innych prozapalnych cytokin [4]. Wykazano także, że obniżona w tej fazie produkcja TNF-α i IFN-γ przy jednoczesnym zwiększeniu wytwarzania IL-4 i IL-13 może być przyczyną zwiększonej podatności skóry chorych z AZS na infekcje *Staphylococcus aureus* [5, 6]. Kluczową rolę w indukowaniu nadmiernej produkcji przeciwciał IgE w fazie ostrej odgrywają dominujące w skórze limfocyty Th2 i wytwarzane przez nie cytokiny, z których najsilniejszy wpływ na syntezę IgE mają IL-4 i IL-13 [4, 7, 9, 10].

Interleukina 13 jest niezbędna do przetłaczania syntetyzowanych przez limfocyty B przeciwciał w kierunku syntezy IgE i IgG4. Stymuluje ona ponadto różnicowanie i przedłuża czas przeżycia komórek tucznych i eozynofili [4]. Niski poziom IgE obserwowany u chorych na niealergiczną postać AZS wiąże się z obniżoną eks-

presją IL-13 w limfocytach T i brakiem pobudzenia limfocytów B do jej syntezy. W porównaniu z osobami z alergiczną postacią AZS, u chorych z niealergiczną postacią tej dermatozy obserwowano niższą ekspresję mRNA IL-13 zarówno w zmianach skórnych, jak i w limfocytach T izolowanych z tych zmian [2, 15]. Badania sprzężeń z użyciem mikrosatelitarnego DNA wskazują na wielogenowy sposób dziedziczenia AZS. Wykazano, iż geny podatności na tę chorobę zlokalizowane są w różnych chromosomach. Są to chromosomy 2q, 4q, 5q, 6p, 11q, 12q, 13q, 14q, 16q, 17q i 19q [3, 8]. Gen interleukiny 13 leży w regionie 5q31-33 [3, 4, 8, 9, 11, 16, 23, 28] i wykazuje wiele jednonukleotydowych polimorfizmów (SNP) dotyczących regionu promotora, sekwencji kodujących i niekodujących genu. Stwierdzono, iż zamiana cytozyny na tyminę w pozycji –1024 promotora może mieć wpływ na transkrypcję genu IL-13, a także mieć związek z chorobami atopowymi i podwyższoną syntezą IgE [12, 15, 16, 17, 20, 22, 23, 24].

Cel pracy

Celem niniejszej pracy było porównanie częstości występowania wariantów polimorficznych –1024 C/T promotora genu interleukiny 13 u chorych na AZS oraz w kontrolnej grupie zdrowych.

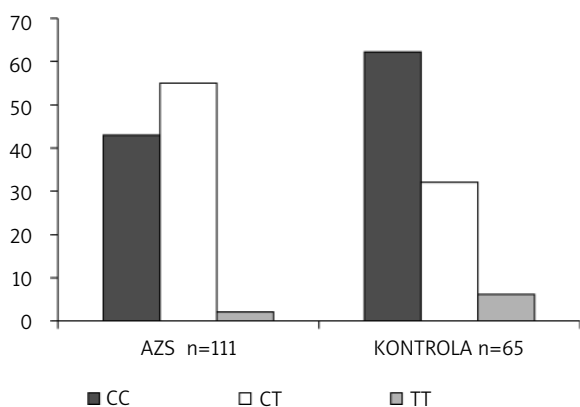
Materiał i metody

Analizie poddano 111 osób chorych na AZS, leczonych w Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku. Rozpoznanie AZS zostało ustalone z uwzględnieniem kryteriów zaproponowanych przez Hanifina i Rajkę [25]. Grupę kontrolną stanowiło 65 osób zdrowych, z ujemnym wywiadem rodzinnym w kierunku chorób atopowych. Od wszystkich badanych pobierano 5 ml krwi w celu wyizolowania genomowego DNA. W celu oznaczenia polimorfizmu –1024 C/T genu IL-13 zastosowano metodę allelospecyficjnej reakcji cyklicznej polimerazy (ARMS-PCR) opisaną w pracy Hummelshoj i wsp. [15].

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu testu χ^2 .

Wyniki

W kontrolnej grupie osób zdrowych najczęściej obserwowano genotyp CC (62%), natomiast genotypy CT i TT występowały odpowiednio z częstością 31% i 6%. W porównaniu z grupą kontrolną, u chorych na AZS statystycznie częściej wykrywano heterozygotyczny genotyp CT, odpowiednio 55% i 31%, OR, 2, 1, $p < 0,028$. Podobnie częściej niż w grupie kontrolnej u chorych z AZS obserwowano nosicieli allele T (genotyp CT + TT); allel T wykryto u 57% pacjentów i 37% osób zdrowych. Uzyskane wyniki przedstawia ryc. 1.



Ryc. 1. Częstości występowania polimorfizmu –1024 C/T genu IL-13 u chorych na atopowe zapalenie skóry oraz w kontrolnej grupie osób zdrowych

Omówienie

Jedną z cech AZS jest nadprodukcja cytokin typu Th2, takich jak IL-4, IL-5 czy IL-13.

Interleukina 13 produkowana jest głównie przez limfocyty Th2, ale także przez eozynofile, komórki tuczne, bazyofile, komórki nabłonka, fibroblasty, makrofagi, komórki mięśni gładkich [9]; w działaniu interleukina ta wykazuje wiele podobieństw do IL-4 poprzez działanie na komórki za pośrednictwem wspólnych dla tych cytokin receptorów. W wyniku związania na powierzchni komórek IL-4 i/lub IL-13 dochodzi do aktywacji czynnika transkrypcji STAT6 (*signal transducer and activator of transcription 6*), czego efektem jest wzrost syntezy IL-4 i IL-13 [7, 19, 20].

Opisano wiele wariantów polimorficznych regionów promotorowych genów cytokin, które odgrywają rolę w podwyższaniu lub obniżaniu aktywności transkrypcyjnej genu oraz warunkują ich zwiększoną syntezę *in vitro* lub *in vivo*. W niektórych chorobach o podłożu zapalnym, takich jak atopowe zapalenie skóry, łuszczyca, reumatoidalne zapalenie stawów, a także u chorych z mastocytozą, częściej niż u osób zdrowych występują warianty polimorficzne genów związanych z podwyższoną transkrypcją genu [21, 26–28].

Badania nad rolą polimorfizmu genu IL-13 w chorobach, w patogenezie których IL-13 odgrywa znaczącą rolę, dały niejednoznaczne wyniki. Hoffjan i wsp. [12] opisali związek AZS z polimorfizmem –1112 C/T promotora genu IL-13 w populacji holenderskiej. Van der Pouw Kraan i wsp. [24] stwierdzili związek wariantu promotora z tyminą w pozycji –1055 z występowaniem podwyższonego ryzyka astmy alergicznej. Zależność polimorfizmu –1112 C/T promotora genu IL-13 z astmą, atopią i zwiększonym poziomem IgE obserwowali również Howard i wsp. [17] oraz Kabesch i wsp. [20]. Związek polimorfizmu promotora w pozycji –1024 z AZS wykazano także w badaniach przeprowadzonych w duńskiej populacji [15], a w Polsce u chorych z mastocytozą [21]. Badacze z Japonii [12] i Chin [23] u chorych z AZS nie potwierdzili takiego związku. Także w przypadkach choroby Gravesa nie wykazano związku polimorfizmu –1112 C/T promotora genu IL-13 z występowaniem choroby [30].

Stwierdzone przez autorów niniejszej pracy różnice w występowaniu poszczególnych genotypów zachodzące pomiędzy chorymi na AZS a osobami zdrowymi wskazują, że opisywana u pacjentów z AZS podwyższona sekrecja IL-13 wydaje się mieć związek z polimorfizmem –1024 C/T promotora genu tej cytokiny.

Wnioski

Częstość występowania genotypów genu IL-13 w grupie kontrolnej nie odbiegała od obserwowanej w populacjach rasy kaukaskiej, co wskazywałoby na właściwy dobór grupy do badań [15, 22]. Uzyskane wyniki wskazują na asocjację polimorfizmu –1024 C/T promotora genu IL-13

z podwyższonym ryzykiem wystąpienia AZS i nie odbiegają od wyników uzyskanych w innych populacjach rasy kaukaskiej. Badania te są pierwszymi tego typu badaniami wykonanymi u chorych na AZS w populacji północnej Polski.

Piśmiennictwo

1. Silny W, Czarnecka-Operacz M. Epidemiologia uczulenia na roztocze: częstość występowania, obraz kliniczny, sezonowość objawów. *Alergia* 1999; 3: 1-6.
2. Jeong CW, Ahn KS, Rho NK, et al. Differential *in vivo* cytokine mRNA expression in lesional skin of intrinsic vs. extrinsic atopic dermatitis patients using semiquantitative RT-PCR. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1717-24.
3. Kędzierska A, Kapińska-Mrowiecka M, Czubak-Macugowska M i wsp. Produkcja cytokin typu Th1 i Th2 przez aktywowane jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PBMC₃) u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry – związek ze stanem klinicznym i kolonizacją skóry przez *Staphylococcus aureus*. *Post Dermatol Alergol* 2004; 4: 180-9.
4. Leung DY, Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet* 2003; 361: 151-60.
5. Kędzierska A, Kaszuba-Zwoińska J, Słodowska-Hajduk Z, et al. SEB-induced T cell apoptosis in atopic patients-correlation to clinical status and skin colonization by *Staphylococcus aureus*. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2005; 53: 63-70.
6. Nomura I, Goleva E, Howell MD, et al. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol* 2003; 171: 3262-9.
7. Shirakawa I, Deichmann KA, Izuhara I, et al. Atopy and asthma: genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. *Immunol Today* 2000; 21: 60-4.
8. Celedon JC, Soto-Quiros ME, Palmer LJ, et al. Lack of association between a polymorphism in the interleukin-13 gene and total serum immunoglobulin E level among nuclear families in Costa Rica. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 387-90.
9. Wynn TA. IL-13 effector functions. *Ann Rev Immunol* 2003; 21: 425-56.
10. Meagher LJ, Wines NY, Cooper AJ. Atopic dermatitis: review of immunopathogenesis and advances in immunosuppressive therapy. *Australas J Dermatol* 2002; 43: 247-54.
11. Akdis CA, Akdis M, Simon D, et al. T cells and T cell-derived cytokines as pathogenic factors in the nonallergic form of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 628-34.
12. Hoffjan S, Epplen JT. The genetics of atopic dermatitis: recent findings and future options. *J Mol Med* 2005; 83: 682-92.
13. Söderhäll C, Bradley M, Kockum I, et al. Linkage and association to candidate regions in Swedish atopic dermatitis families. *Hum Genet* 2001; 109: 129-35.
14. Beyer K, Nickel R, Freidhoff L, et al. Association and linkage of atopic dermatitis with chromosome 13q12-14 and 5q31-33 markers. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 906-8.
15. Hummelshoj T, Bodtger U, Datta P, et al. Association between an interleukin-13 promoter polymorphism and atopy. *Eur J Immunogenet* 2003; 30: 355-9.
16. Vercelli D. Genetics of IL-13 and functional relevance of IL-13 variants. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2: 389-93.
17. Howard TD, Whittaker PA, Zaiman AL, et al. Identification and association of polymorphisms in the interleukin-13 gene with asthma and atopy in a Dutch population. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25: 377-84.

18. Kouriba B, Chevillard Ch, Bream JH, et al. Analysis of the 5q31-p33 locus shows an association between IL13-1055C/T IL-13-591A/G polymorphisms and *Schistosoma haematobium* infections. *J Immunol* 2005; 174: 6274-81.
19. Wills-Karp M. The gene encoding interleukin-13: a susceptibility locus for asthma and related traits. *Respir Res* 2000; 1: 19-23.
20. Kabesch M, Schedel M, Carr D, et al. IL-4/IL-13 pathway genetics strongly influence serum IgE levels and childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 269-74.
21. Nedoszytko B, Lange M, van Doormaal JJ, et al. Interleukin 13 promoter gene polymorphism in mastocytosis-results the preliminary study. Annual Meeting of European Competence Network on Mastocytosis. Nepal, Włochy 2006.
22. Graves PE, Kabesch M, Halonen M, et al. A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 506-13.
23. Chang YT, Lee WR, Yu CW, et al. No association of cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 2006; 31: 419-23.
24. van der Pouw Kraan TC, van Veen A, Boeije LC, et al. An IL-13 promoter polymorphism associated with increased risk of allergic asthma. *Genes Immun* 1999; 1: 61-5.
25. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1980; 92: 44-7.
26. Hamid Q, Naseer T, Minshall EM, et al. In vivo expression of IL-12 and IL-13 in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 225-31.
27. Hamid Q, Boguniewicz M, Leung DY, et al. Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1994; 94: 870-6.
28. Humbert M, Durham SR, Kimmitt P, et al. Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 657-65.
29. Vladich FD, Brazille SM, Stern D, et al. IL-13 R130Q, a common variant associated with allergy and asthma, enhances effector mechanisms essential for human allergic inflammation. *J Clin Invest* 2005; 115: 747-54.
30. Bednarczuk T, Placha G, Jazdzewski K, et al. Interleukin-13 gene polymorphisms in patients with Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 59: 519-25.