

Эра post-GWAS в генетике шизофрении

Голимбет В.Е.¹, Голов А.К.¹, Кондратьев Н.В.¹
¹Научный центр психического здоровья, Москва

Резюме. Использование методологии широкомасштабного сканирования генома (GWAS от англ. genome-wide association study) позволило выявить регионы, ассоциированные с шизофренией. Следующий этап исследований (пост-GWAS анализ), предполагает выявление в регионах GWAS полиморфизмов, которые связаны с заболеванием причинно-следственной связью (каузальные полиморфизмы). В работе рассматриваются такие стратегии поиска каузальных вариантов как изучение процессов регуляции транскрипции в нейрональных клетках человека и использование эпигеномных данных для поиска регуляторных участков генома, связанных с патогенезом шизофрении. В рамках первого подхода возможно обнаружение нейрональных энхансеров, картирование их потенциальных генов-мишеней и проверка функциональной значимости обнаруженных промотор-энхансерных пар. В рамках второго — интерес представляет изучение транскрипционных факторов, которые могут быть мастер-регуляторами экспрессии.

Ключевые слова: шизофрения, GWAS, каузальные варианты, энхансеры, экспрессия, мастер-регуляторы.

Post-GWAS era in genetics of schizophrenia

Golimbet V.E.¹, Golov A.K.¹, Kondratyev N.V.¹
 Mental Health Research Center, Moscow

Summary. Genome-wide association studies (GWASs) discovered multiple genetic variants associated with schizophrenia. The next step (post-GWAS analysis) is aimed at identifying the causal genetic variants and biological mechanisms underlying the associations with disease risk. The following strategies are considered: the study of transcriptional regulation in neuronal human cells and the use of epigenomic information for searching for regulatory elements involved in the pathogenesis of schizophrenia. The first strategy includes identification of neuronal enhancers, mapping of potential target genes and functional confirmation of enhancer-promoter interactions. The second approach is focused on the identification of transcriptional factors, which appear to be master regulators of expression.

Keywords: schizophrenia, GWAS, causal variants, enhancer, expression, master-regulator.

Шизофрения является заболеванием, в развитии которого генетическим факторам отводится ведущая роль. Поиск генов, связанных с шизофренией, ведется на протяжении многих лет, однако ощутимые успехи достигнуты лишь в последнее время во многом за счет использования методологии широкомасштабного сканирования генома (GWAS от англ. genome-wide association study). Этот анализ предполагает, что тотальное скринирование генома без заранее сформулированных гипотез позволяет найти ассоциированные с болезнью («индексные») полиморфизмы, или регионы GWAS. Результаты исследований показали, что регионы GWAS на шизофрению включают в себя не только гены, функции которых имеют прямое отношение к патогенезу этого заболевания, но и участки, в которых не обнаружены кодирующие последовательности. Для таких регионов сложно предположить, какие конкретно гены или другие функциональные участки генома вовлечены в патологические процессы, поскольку сам регион может содержать несколько генов с разной функцией или гены с неизвестными функциями, а может находиться внутри большой «геной пустыни», т.е. не содержать генов вообще. Поэтому следующий этап исследований, т.н. пост-GWAS анализ, направлен на прицельное из-

учение генетической изменчивости внутри регионов GWAS, что поможет приблизиться к пониманию биологических механизмов патогенеза шизофрении. Он предполагает выявление в регионах GWAS полиморфизмов, которые связаны с заболеванием причинно-следственной связью (каузальные полиморфизмы). В настоящий момент существует несколько пост-GWAS стратегий для выявления каузальных вариантов в регионах сцепления, из числа которых можно отметить 1) изучение процессов регуляции транскрипции в нейрональных клетках человека и 2) использование эпигеномных данных для поиска регуляторных участков генома, в том числе, связанных с патогенезом болезни. Перспективность первого подхода определяется результатами биоинформатического анализа регионов GWAS на шизофрению, которые указывают на то, что каузальные варианты преимущественно расположены не в кодирующей части генома, а в удаленных регуляторных элементах (энхансерах), активных в клетках головного мозга. Эти результаты привели к предположению о том, что шизофрения и другие многофакторные болезни с точки зрения молекулярной генетики являются по преимуществу «энхансеропатиями». В рамках данной модели считается, что каузальные варианты, расположенные в регу-

ляторных последовательностях, оказывают влияние на связывание транскрипционных факторов с этими участками генома, что приводит к изменениям в уровне экспрессии генов. Поскольку каузальная изменчивость шизофрении расположена преимущественно в удаленных от сайтов инициации транскрипции регуляторных элементах генома, считается, что для ее обнаружения можно ограничиться проверкой функциональной активности тех ассоциированных с болезнью полиморфизмов, которые расположены в нейрональных энхансерах. Суммарно активные энхансеры покрывают не более нескольких процентов последовательности генома, поэтому изучение влияния распространенной изменчивости, расположенной внутри них, позволяет радикально уменьшить круг потенциальных каузальных вариантов. Методы функциональной генетики позволяют осуществлять поиск как нейрональных энхансеров, содержащих потенциальные каузальные варианты, так и генов, которые этими энхансерами регулируются. В качестве одного из возможных путей поиска каузальной изменчивости и генов шизофрении можно предложить стратегию, включающую в себя: 1) обнаружение нейрональных энхансеров в регионах GWAS на основании данных о распределении по геному в релевантных клеточных линиях активных хроматиновых меток; 2) исследование промоторного интерактома изучаемых нейронов для картирования всех потенциальных генов мишеней обнаруженных энхансеров; 3) проверку функциональной значимости обнаруженных промотор-энхансерных пар с применением эпигеномного редактирования энхансеров. Полученные данные могут быть использованы для изучения энхансеров из регионов GWAS шизофрении в культивируемых клетках нейробластомы человека и нейрональных моделях, перспективных для исследования патогенеза шизофрении — пирамидальных нейронах коры и шипиковых нейронах стриатума, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека. В рамках второй стратегии интерес представляет изучение транскрипционных регуляторов, гены которых попадают в регионы GWAS. Данные системного анализа транскриптомных данных указывают на то, что гены, с сопряженными уровнями экспрессии образуют функциональные группы (модули), соответствующие сигнальным путям или молекулярным ка-

скадам. В пределах модулей могут присутствовать гены, чья экспрессия лучше остальных предсказывает уровень экспрессии других генов данного модуля, т.н. узловые гены. Такие гены часто являются мастер-регуляторами экспрессии остальных генов модуля. В организме они регулируют важные процессы, связанные с его развитием, однако можно предположить наличие «мастер-регуляторных» факторов патологических процессов, в том числе имеющих место при шизофрении. Таким образом, возможен подбор кандидатов на роль транскрипционных мастер-регуляторов с последующей экспериментальной проверкой, обладают ли они ожидаемым набором характеристик, что позволит получить данные о каузальных вариантах и о генах, контролируемых этими вариантами и мастер-регуляторными факторами. Анализ литературных источников и доступных биоинформатических данных показывает, что применительно к шизофрении в качестве кандидатов могут быть выбраны следующие транскрипционные факторы: *ASCL1* (Achaete-Scute Complex-Like homolog 1), являющийся членом содержащих домен bHLH (basic helixloop-helix) семейства транскрипционных факторов, гомологичным Achaete-Scute комплексу дрозофилы; *EGR1*, относящийся к семейству цинк-пальцевых транскрипционных факторов и являющийся пионерным транскрипционным фактором и геном раннего ответа, в частности, на стимуляцию нейронов; *FOXP1*, который является репрессором транскрипции и играет важную роль в дифференциации моноцитов и функции макрофагов; *SATB2*, или «второй специальный белок, связывающий AT-богатую ДНК», являющийся важным транскрипционным фактором, принимающим участие в организации и функционировании неокортекса; *ZNF281*, один из генов, который отвечает за баланс между стволовыми и дифференцированными клетками в головном мозге, контролируя недифференцированное состояние клеток с помощью деметилазы TET1; *RBFox1*, кодирующий нейрональный регулятор сплайсинга; транскрипционный фактор *TCF4*; *FMRP* — РНК-связывающий белок, негативный регулятор трансляции, ингибирующий ее инициацию.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов №17-29-02164 и №19-015-00501.

Сведения об авторах

Голимбет Вера Евгеньевна — д.б.н., профессор, зав. лаб. клинической генетики, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр психического здоровья». E-mail: golimbet@mail.ru

Голов Аркадий Константинович — младший научный сотрудник, лаб. клинической генетики, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр психического здоровья». E-mail: golova-n@yandex.ru

Кондратьев Николай Витальевич — научный сотрудник, лаб. клинической генетики, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр психического здоровья». E-mail: nikolay.quadrat@gmail.com