

Вариации числа копий в геноме — новая страница в генетических исследованиях в области психиатрии: международный проект PsychCNVs

Д.Б.Н. В.Е. ГОЛИМБЕТ¹, к.м.н. Е.В. КОРЕНЬ²

Copy number variations in the human genome — a new page in psychiatric genetics: the collaborative project PsychCNVs

V.E. GOLIMBET, E.V. KOREN

¹Научный центр психического здоровья РАМН, Москва; ²Московский НИИ психиатрии

Ключевые слова: молекулярная генетика, психиатрия, международные проекты.

Key words: molecular genetic, psychiatry, international projects.

Вариации в геноме человека, связанные с изменением числа копий отдельных фрагментов, всегда являлись объектом пристального внимания медицинских генетиков. Во второй половине XX века их выявляли с помощью цитогенетических методов. Известно, что анеуплоидия хромосом, т.е. фактически изменение числа копий всех генов, расположенных на выпавшей или лишней хромосоме, имеет критические последствия для фенотипа (классический пример — синдром Дауна, или трисомия по хромосоме 21). В конце XX века благодаря осуществлению большой международной научной программы «Геном человека» был открыт еще один тип генетических вариаций. Цель программы заключалась в полной расшифровке нуклеотидной последовательности генома. Одним из основных достижений проекта было обнаружение полиморфизма генов, т.е. межиндивидуальных различий в последовательности ДНК, которые имели место на уровне отдельных нуклеотидов¹, а также были обусловлены небольшими по размерам вставками (инсерциями) или выпадениями (делециями) нескольких нуклеотидов, организованными в виде примыкающих друг к другу (тандемных) повторов. Доля межиндивидуальных вариаций, обусловленных такими заменами², была значительной (до 10%). Данные о полиморфизмах в отдельных генах оказались очень ценными для медицинской генетики. Стало возможным выявлять молекулярно-генетические маркеры различных заболеваний, в основном широко распространенных, в развитии которых принимает участие несколько генов. В период 2002—2006 гг. был реализован еще один международный проект — «НарМар». В его рамках была создана база данных полиморфизмов в геноме человека, которая в настоящее время является источником важных сведений в процессе поиска генов, ассоциированных с широко распространенными заболеваниями.

В 2006 г. в журнале Nature были опубликованы результаты работы R. Redon и соавт. [10], в которой было проведено картирование геномов 270 людей, относящихся к различным расам, с использованием специально разработанного метода (по сравнению с методом изучения хромосом с помощью микроскопа его можно рассматривать как субмикроскопический). Авторы обнаружили новый тип вариаций в геноме человека — CNVs³. Было выявлено около 1500 участков, в которых присутствовали значительные по длине (от нескольких тысяч до нескольких миллионов пар нуклеотидов) дупликации (удвоение) и делеции фрагментов ДНК. Эти фрагменты могут включать в себя отдельные гены, в этом случае при дупликации появляется лишняя копия этого гена, а при делеции, наоборот, одной копией гена становится меньше. Они также могут встраиваться в нуклеотидную последовательность гена или выпадать из нее, вызывая разрыв. Протяженность этих участков довольно велика — в целом, по оценке авторов работы, она составляет до 12% всего генома, т.е. вклад CNVs в вариативность генома сопоставим с вкладом однонуклеотидных полиморфизмов или даже превышает его. Описывая важность своего открытия для будущего геномики, R. Radon и соавт. [10] образно сравнили геном с текстом книги, содержащим уникальную для каждого индивида информацию о его собственной жизни: если однонуклеотидные полиморфизмы и короткие последовательности ДНК — это буквы и предложения, то вариации копий генов — параграфы или даже це-

¹ В англоязычной литературе их сокращенно называют SNPs (от англ. single nucleotide polymorphisms). В русском варианте наиболее часто используется термин полиморфизм(ы).

² В литературе по молекулярной генетике для их обозначения используют термин *полиморфизмы*.

³ От англ. copy number variations.

© В.Е. Голимбет, Е.В. Корень, 2010

Zh Nevrol Psikhiatr Im SS Korsakova 2010;110:1:107

e-mail: golimbet@mail.ru

лые страницы. Причем эти фрагменты текста могут содержать крайне важную информацию в области эволюции и медицины.

Было высказано предположение, что обнаруженные участки генома содержат большое число генов⁴, а также локусы, связанные с различными заболеваниями, и функциональные элементы. Было показано, что ряд мутаций, обусловленных CNVs, может не только наследоваться, но и возникать *de novo*. Этот факт обнаружили при сравнении геномов родителей и ребенка. Несмотря на то, что мы наследуем одну копию каждого гена от отца и одну — от матери, оказалось, что число копий у разных людей может отличаться от положенных двух и процент такой вариативности гораздо выше ожидаемого. Причины, вызывающие вариации числа копий, пока не выяснены. Возможно, что CNVs возникают в участках генома, которые включают в себя повторяющиеся последовательности или же эти последовательности примыкают к ним в виде дублированных или многократных копий. В таких участках чаще могут возникать сбои при сближении родительских хромосом в процессе обмена генетическим материалом.

Вариации числа копий изучают с точки зрения эволюции человечества и медицинской генетики. К настоящему времени обнаружено, что CNVs могут быть причиной нескольких десятков спорадических заболеваний, вызванных геномными перестройками [7]. Кроме того, они были найдены в семьях с моногенными наследственными болезнями [6]. Что касается широко распространенных заболеваний, то за небольшой период, прошедший со времени открытия CNVs, появились сообщения об их связи с 17 болезнями человека, в том числе системными аутоиммунными и психическими [8]. В настоящее время проведены полногеномные исследования CNVs и ведется создание базы данных, как это было сделано ранее для полиморфизмов в рамках проекта «НарМар».

Эндогенные психические заболевания (шизофрения, расстройства аутистического спектра, биполярное аффективное расстройство) одними из первых попали в фокус исследований, направленных на поиск вариаций числа копий, так как ранее полученные данные указывали на то, что кариотипические аномалии могут быть критическими для их развития.

Так, было установлено, что у больных с синдромом ДиДжорджи, представляющим собой X-сцепленное заболевание, при котором на одной из гемизигот наблюдается делеция участка 22q11.2, психотические расстройства могут иметь место в 25% случаев [1]. Картирование этого участка для выявления возможных генов-кандидатов шизофрении выявило 2 перспективных гена — катехол-О-метил-трансферазы (COMT) и пролиндегидрогеназы (PRODH). Ассоциация аллельных вариантов этих генов с шизофренией была в дальнейшем обнаружена в ряде исследований. С изучением хромосомных aberrаций было связано и выявление другого гена — DISC1⁵ — функция которого нарушена при шизофрении. Его впервые идентифицировали D. Blackwood и соавт. [2] в одной из шотландских семей, у членов которой психические расстройства сочетались с хромосомной транслокацией с точкой разрыва в участке 1q42.2. В результате разрыва поврежденными оказались два гена, которые назвали DISC1 и DISC2. При аутизме обнаружение цитогенетических аномалий, связанных с хромосомным участком 15q11-q13, позволило выявить гены-кандидаты, которые могут быть

вовлечены в патогенез этого заболевания. Это гены, кодирующие рецепторы γ -аминомасляной кислоты (ГАМК), важного нейротрансмиттера, связанного с процессами торможения в мозге, а также ген UBE3A (убиквитин лигаза E3A), активность которого проявляется преимущественно в головном мозге. Недавно J. Glessner и соавт. [3] было обнаружено, что этот ген и другие, связанные с метаболизмом убиквитина, содержат CNVs, которые присутствуют только у больных, но не в контрольной группе психически здоровых людей.

Дальнейшее изучение участков с вариациями числа копий у больных психическими заболеваниями может способствовать открытию новых генов кандидатов. Первые исследования в этом направлении были выполнены G. Wilson [14] и соавт., которые установили, что вариация числа копий у больных шизофренией наблюдалась в генах, связанных с глутаматергической системой (GRK3, EFNA5, AKAP5 и CACNG2). Однако эти результаты не были подтверждены в работе S. Suturala и соавт. [13]. Н. Моон и соавт. [9] сообщили, что у больных шизофренией имеет место вставка или потеря фрагментов ДНК в нескольких хромосомных участках: вставки наиболее часто отмечены на хромосоме Xq23 (52%), потери — на 3q13.12 (32%). Н. Lachman и соавт. [5] предложили другой подход к изучению вариаций числа копий, предположив, что полиморфные CNVs могут разрывать последовательность ДНК кодирующих элементов генов-кандидатов и таким образом непосредственно участвовать в патогенезе заболевания. В этом случае определенный вариант CNVs может являться маркером заболевания. В частности, у больных с биполярным психозом был изучен ген киназы гликогенсинтазы 3 β (GSK3 β), расположенный на хромосомном участке 3q13.3, который служит мишенью для солей лития. В 3'-кодирующих элементах гена может иметь место дупликация. Оказалось, что частота генетических вариантов, несущих дупликацию, была значимо выше в группе больных по сравнению с контролем [5]. Две хромосомных aberrации были найдены у больных шизофренией в работе G. Kirou и соавт. [4], одна из них представляла собой делецию в участке 2p16.3, разрывающую последовательность гена нейрексина 1 (NRXN1), другая — вновь образованную дупликацию в гене белка, связывающего предшественник амилоида A2 (APBA2). Оба гена играют важную роль в образовании и функционировании синапсов.

Интерес представляет поиск редких вариантов CNVs, по сути являющихся мутациями, которые могут быть причиной развития психических заболеваний. Для поиска таких вариантов необходимы значительные по размеру выборки, которые не под силу сформировать отдельным научным коллективам. Поэтому ученые объединили свои усилия, создав «Консорциум по шизофрении». Первые результаты исследований были опубликованы в J. Stone и соавт. [12]. В этой публикации сообщается о полногеномном исследовании редких вариантов CNVs у 3391 больного шизофренией и 3181 человека из контрольной группы. У 1% всех обследованных обнаружены участки CNVs длиной более 100 тысяч пар оснований. При этом у больных они встречались чаще, чем в контроле. Различия были бо-

⁴ Среднее число нуклеотидов в одном гене составляет 3000.

⁵ От англ. disrupted in schizophrenia.

лее выраженными для редких, единичных CNVs или тех CNVs, которые включали в себя отдельные гены. Делеции у больных шизофренией были обнаружены на хромосоме 22q11.2. Делеции большего размера были найдены на участках 15q13.3 и 1q21.1. В исследовании Н. Stefansson и соавт. [11] был проведен скрининг 1433 больных и 33 250 психически здоровых людей, который позволил выявить 66 вновь образованных мутаций. Из них 3 мутации, представленные делециями на участках 1q21.1, 15q11.2 и 15q13.3, были связаны с шизофренией и расстройствами шизофренического спектра.

В 2008 г. была создана еще одна международная группа, в которую вошли коллективы исследователей из 7 стран (Великобритания, Исландия, Россия, Украина, Грузия, Македония и Сербия). Цель предложенного этой группой проекта (сокращенное название «PsychCNVs») — поиск вариаций числа копий у больных аутизмом и психозами с ранним началом. Исследование предполагается провести на большой выборке, численность которой составит не менее 4000 больных и 30 000 человек контрольной группы. В 2009 г. проект получил финансовую поддержку в рамках Седьмой рамочной программы научно-технологического развития Европейского Союза (FP7). Возможность эффективного поиска редких вариабельных последовательностей появилась после разработки фирмой «deCODE genetics», являющейся координатором проекта, микрочипа HumanCNV370, который позволяет выявлять десятки тысяч последовательностей ДНК. Это уникальная разработка, включающая в себя высокотехнологичное программное обеспечение (вплоть до роботов) является одной из наиболее эффективных в мире для анализа вариабельных последовательностей ДНК. На первом этапе исследования предполагается формирование группы больных шизофренией, биполярными аффективными психозами и расстройствами аутистического спектра. При этом участники исследования должны будут использовать унифицированный набор диагностических инструментов:

интервью для диагностики аутизма (Autism Diagnostic Interview — ADI-R), шкалу адаптивного поведения (Vineland Adaptive Behavior Scale), интервью для диагностики шизофрении и аффективных расстройств у детей и взрослых (Schizophrenia and Affective Disorders Scale — K-SADS-L, SADS-L и др.). Все диагностические инструменты будут переведены на языки стран-участниц, а исследователи из этих стран пройдут специальный курс, обучающий применению диагностических инструментов. Далее предполагается проведение широкомасштабного генотипирования образцов ДНК больных и людей контрольной группы с использованием технологии микрочипов. Это позволит выявить 40 тысяч редких вариантов CNVs, потенциально представляющих высокий риск для развития исследуемых психопатологий, а также 5000 распространенных CNVs и 320 тысяч однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с умеренным риском. Далее будет отобран 1% от всех изученных вариабельных последовательностей для более подробного исследования с применением самых современных молекулярно- и цитогенетических методов. И, наконец, будет сделана попытка установить причинно-следственную связь между вариантами повышенного риска и фенотипическими проявлениями. Далее предполагается изучение экспрессии выявленных генов, а также проведение исследований на животных с выключенной функцией этих генов.

С точки зрения размера исследуемой группы и молекулярно-генетических методов последнее исследование не имеет мировых аналогов. Оно позволит обнаружить новые генетические варианты, связанные с риском возникновения аутизма и эндогенных психозов с ранним началом, что имеет огромное значение для ранней диагностики этих заболеваний и разработки новых лекарственных средств для их лечения, а также для понимания биологических основ происхождения психических расстройств, связанных с нарушениями на ранних стадиях развития головного мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bassett A.S., Chow E.W.C., Husted J. et al. Clinical features of 78 adults with 22q11 Deletion Syndrome. *Am J Med Genet A* 2005; 138: 307—313.
2. Blackwood D.H., Fordyce A., Walker M.T. et al. Schizophrenia and affective disorders—co-segregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 2: 428—433.
3. Glessner J.T., Wang K., Cai G. et al. Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes. *Nature* 2009; 459: 7246: 569—573.
4. Kirov G., Gumus D., Chen W. et al. Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 3: 458—465.
5. Lachman H.M., Pedrosa E., Petruolo O.A. et al. Increase in GSK3beta gene copy number variation in bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144B: 3: 259—265.
6. Lee J.A., Lupski J.R. Genomic rearrangements and gene copy-number alterations as a cause of nervous system disorders. *Neuron* 2006; 52: 103—121.
7. Lupski J.R. Genomic rearrangements and sporadic disease. *Nat Genet* 2007; 39: 43—47.
8. McCarroll S.A., Altshuler D.M. Copy-number variation and association studies of human disease. *Nature Genetics* 2007; 39: 37—42.
9. Moon H.J., Yim S.V., Lee W.K. et al. Identification of DNA copy-number aberrations by array-comparative genomic hybridization in patients with schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 344: 2: 531—539.
10. Redon R., Ishikawa S., Fitch K. et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006; 444: 444—454.
11. Stefansson H., Rujescu D., Cichon S. et al. Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 2008; 455: 7210: 232—236.
12. Stone J.L., O'Donovan M.C., Gurling H. et al. Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature* 2008; 455: 7210: 237—241.
13. Sutrala S.R., Goossens D., Williams N.M. et al. Gene copy number variation in schizophrenia. *Schizophr Res* 2007; 96: 93—99.
14. Wilson G.M., Flibotte S., Chopra V. et al. DNA copy-number analysis in bipolar disorder and schizophrenia reveals aberrations in genes involved in glutamate signaling. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 743—749.