

# **Badanie związku genów *KIR* i *HLA* oraz maszynerii prezentującej antygen z podatnością i przebiegiem atopowego zapalenia skóry**

## **STRESZCZENIE**

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest jedną z najczęstszych dermatoz. Na AZS cierpi około jedna piąta całej ludzkości, ale częstość występowania tej choroby jest odmienna w różnych rejonach świata. Patogeneza tej jednostki chorobowej nadal pozostaje niejasna, chociaż wyniki ostatnich badań podkreślają znaczenie predyspozycji genetycznych w rozwoju AZS. Wzrost liczby zachorowań na atopowe zapalenie skóry w krajach rozwiniętych, który zbiegł się ze wzrostem uprzemysłowienia, sugeruje udział czynników środowiskowych w rozwoju AZS. Pomimo dość dokładnie poznanych mechanizmów immunologicznych AZS, rola komórek NK w rozwoju tej choroby jest słabo poznana. Najważniejszymi receptorami hamującymi lub pobudzającymi aktywność tych komórek są cząsteczki KIR, których ligandami są cząsteczki HLA klasy I. Cząsteczki KIR występują też na powierzchni niektórych limfocytów T, regulując ich działanie. Obecność cząsteczek HLA klasy I na powierzchni komórki i skuteczna prezentacja antygenów w postaci peptydów związanych przez HLA klasy I zależy od działania białek wchodzących w skład tzw. maszynerii prezentacji antygenów (APM). Polimorfizm genów APM: *LMP2*, *LMP7*, *TAP1*, *TAP2*, *ERAP1* i *ERAP2* wpływa na aktywność kodowanych przez nie cząsteczek i w ten sposób może wpływać na skuteczność prezentacji antygenów.

Celem mojej pracy było zbadanie związku genów *KIR* i ich ligandów HLA oraz polimorficznych wariantów genów wchodzących w skład APM z podatnością na atopowe zapalenie skóry i przebiegiem klinicznym tej choroby.

Geny receptorów KIR są głównym czynnikiem wpływającym na zmienność fenotypu i funkcję komórek NK. Analiza związku aktywujących i hamujących receptorów KIR i ich ligandów z ryzykiem zachorowania na AZS wykazała ochronne działanie tylko dla genu *KIR2DS1*. W przypadku pozostałych genów *KIR* oraz epitopów HLA-C (C1 i C2) i epitopów HLA-B Bw4 i HLA-A Bw4 będących ligandami receptorów KIR nie wykazano związku z AZS. Ponadto zaobserwowano, że ochronny efekt genu *KIR2DS1* w AZS nie zależy od obecności czy też braku epitopu C2, który jest ligandem dla produktu tego genu. Większość znanych ligandów dla receptorów KIR, to cząsteczki HLA-C.

Analiza ich polimorfizmów wykazała, że osoby nieposiadające allelu *HLA-C\*05* mają ponad dwukrotnie większe ryzyko zachorowania na AZS niż osoby posiadające ten allel.

Repertuar peptydów wiązanych przez daną cząsteczkę HLA klasy I zależy nie tylko od preferencji wiązania peptydów przez daną cząsteczkę, ale także od aktywności APM. Przeanalizowano trzynaście polimorfizmów wybranych genów kodujących białka maszynerii prezentującej antygen: *LMP2*, *LMP7*, *TAP1*, *TAP2*, *ERAP1*, *ERAP2*. Wykazano, że spośród badanych polimorfizmów tylko *rs26618* w genie *ERAP1* był związany z ryzykiem zachorowania na AZS. Osoby będące nosicielami allelu *C* (*C/C* i *C/T*) w porównaniu z homozygotami *T/T* miały wyższe ryzyko zachorowania na atopowe zapalenie skóry. Dodatkowo wykazano, że w grupie osób nieposiadających genu *KIR2DS1*, heterozygoty *C/T* miały 1,5 razy większe ryzyko zachorowania niż osoby posiadające genotyp homozygotyczny *T/T*. Natomiast u osób z genotypem homozygotycznym *C/C* ryzyko zachorowania było ponad 2-krotnie wyższe. Związek polimorfizmu *rs26618* z ryzykiem zachorowania na AZS i dodatkowo z ujemnym wynikiem dla *KIR2DS1* wykazany w badanej populacji jest trudny do wyjaśnienia, ponieważ funkcjonalne znaczenie tego polimorfizmu nie było dotąd opisane, mimo iż powoduje zamianę izoleucyny na metioninę w pozycji 276 białka *ERAP1*. W celu zbadania wpływu *rs26618* na biologiczną aktywność aminopeptydazy *ERAP1* przetestowano aktywność enzymatyczną dwóch wariantów aminopeptydazy różniących się tylko w pozycji 276 (Ile lub Met) wobec prekursora epitopu *HLA-C\*05:01*. Oba warianty *ERAP1* były w stanie skutecznie wygenerować epitop *IVDRPVTLV* z prekursorowego peptydu *LIVDRPVTLV*. Jednak allotyp z izoleucyną w pozycji 276 był w stanie wygenerować ten epitop około 50% szybciej. Oba warianty były mniej skuteczne w przycinaniu dojrzałego epitopu do mniejszych peptydów. Kinytyka ich była 100-krotnie wolniejsza w porównaniu do generowania epitopu, ale z bardzo podobną wydajnością przycinania dla obu wariantów. Dla wszystkich pozostałych badanych wariantów polimorficznych genów kodujących białka wchodzące w skład AMP nie wykazano związku z podatnością na AZS. Natomiast analiza wpływu polimorfizmu *rs2248374* *ERAP2*, dla którego wykazano związek z ekspresją białka *ERAP2* na polimorfizm *rs26618* *ERAP1* związany z ryzykiem zachorowania na AZS, wykazała synergistyczny efekt jedynie dla genotypu *ERAP2 rs2248374\*A/A* - *ERAP1 rs26618\*C/C*. Osoby z tym genotypem miały ponad trzykrotnie większe ryzyko zachorowania na AZS niż osoby z pozostałymi genotypami.

Przeanalizowano również związek badanych genów z wybranymi cechami klinicznymi pacjentów. Zaobserwowano wpływ niektórych wariantów polimorficznych w genach *KIR*, *HLA*, *LMP2*, *TAP1*, *ERAP1* na wiek diagnozy, stopień zaawansowania

choroby mierzony współczynnikiem SCORAD oraz związek z chorobami współistniejącymi takimi jak astma czy alergiczny nieżyt nosa.

Wyniki uzyskane w ramach niniejszej pracy wskazują na związek badanych wariantów genetycznych - z ryzykiem wystąpienia oraz przebiegiem atopowego zapalenia skóry. Badania te mają charakter nowatorski i stanowią pierwsze doniesienie na temat udziału genów *KIR* i *HLA-C* oraz wariantów polimorficznych w regionie genów *ERAP (1 i 2)* z ryzykiem wystąpienia i przebiegiem AZS. Wyniki te należy jednak potwierdzić na większych grupach badanych, zarówno w populacji europejskiej jak i innych populacjach. W zróżnicowanych etnicznie populacjach pochodzących z różnych regionów geograficznych mogą bowiem istnieć dodatkowe czynniki sprzyjające rozwojowi AZS. Omówione wyniki stanowią również pierwszy dowód na biologiczne znaczenie polimorfizmu *rs26618\*C>T* (Ile276Met).