

В течение последних десятилетий был отмечен высокий рост заболеваемости сахарным диабетом 2 типа (СД 2). Изучением СД 2 занимаются уже много лет, но до настоящего времени факторы, приводящие к этому заболеванию, и их взаимодействие между собой до конца не изучены. Изучение генетических факторов развития СД 2 является первостепенной задачей.

Путем полногеномного ассоциативного исследования (genome-wide association study, GWAS) были выявлены гены-кандидаты, часть из которых представлены в табл. №1.

Как видно из данной таблицы, ген TCF7L2 имеет наибольшую ассоциацию с развитием СД 2. TCF7L2, в качестве компонента двустороннего транскрипционного комплекса β -catenin/TCF, играет важную роль в передаче Wnt сигнального пути во время эмбрионального развития и в регуляции экспрессии гена во взрослом возрасте. Хотя до сих пор еще не ясно, какими механизмами полиморфизмы в регионах интрона TCF7L2 влияют на риск развития СД 2 типа, участие этого транскрипционного регулятора было показано в стимуляции пролиферации панкреатических β -клеток и выработку гормона-инкретина глюкагон-подобного пептида-1 (ГПП-1) в эндокринных L-клетках кишечника. В этом обзоре, мы предлагаем рассмотреть базовые знания о гене TCF7L2, как компоненте сигнального пути Wnt, обобщаем последние выводы, указывающие на связь между полиморфизмами TCF7L2 и риском СД 2, описываем экспериментальные данные о потенциальной функции TCF7L2 в поджелудочной железе и кишечных эндокринных клетках.

Сигнальный путь Wnt и функция гена TCF7L2

Сигнальный путь Wnt впервые изучался в исследованиях по раку толстой кишки и эмбриональном развитии *Drosophila*, *Xenopus* и других организмов [1]. Wnt сигнальный путь оказывает много важных физиологических и патофизиологических функций в различных клетках и органах, в том числе органогенеза, развития и прогрессирования опухоли [2, 22]. Гены, кодирующие белки семейства Wnt, идентифицированы в геноме как позвоночных, так и беспозвоночных. Для передачи сигнала внутрь клетки белки семейства Wnt должны связать соответствующий рецептор или группу рецеп-

торов на поверхности клетки. Среди многообразия трансмембранных молекул, выполняющих функцию рецепторов для Wnt-лигандов, первыми были открыты рецепторы семейства Frizzled (Fz). Помимо Fz-рецепторов на поверхности клетки расположены и другие белки, способные акцептировать лиганды Wnt. Среди них — семейство рецепторных молекул LRP (LDL(low-density lipoprotein) - receptor-related protein). Белки LRP содержат единственный трансмембранный домен, который и обеспечивает передачу Wnt-сигнала внутрь клетки. У позвоночных выделены два члена семейства LRP (LRP5 и LRP6), способные связывать белки Wnt. LRP5/6 считается участником канонического сигнального каскада Wnt, одного из наиболее изученных и интересующих нас сигнального каскада. [1].

Канонический сигнальный путь Wnt на клеточном уровне вовлечен в регуляцию пролиферации и дифференцировки, а также в поддержание популяции стволовых клеток. Ключевым событием при активации канонического сигнального каскада Wnt является стабилизация β -катенина (β -cat), в связи с чем данный сигнальный путь также называют β -катениновым сигнальным путем. В отсутствие активирующего сигнала концентрация β -катенина в ядре и цитоплазме поддерживается на сравнительно низком уровне. Это достигается при помощи специального белкового комплекса «деструкции», включающего белки Axin и APC (adenomatous polyposis coli) и протеинкиназу GSK-3 β (glycogen synthase kinase 3 β) [8]. В составе комплекса β -cat подвергается фосфорилированию, что служит сигналом для его последующей деградации. Активация канонического сигнального пути Wnt связана с образованием тройственного комплекса, состоящего из Wnt-лиганда, рецептора из семейства Fz и корецептора LRP5/6. Формирование тройственного комплекса приводит к транслокации на мембрану ряда белков, среди которых Disheveled (Dvl), Axin и GSK-3 β , приводящее к разрушению комплекса «деструкции» и ингибированию фосфорилирования β -катенина [22]. Стабилизированный β -cat накапливается в цитоплазме, после чего транслоцируется в ядро, где становится частью двустороннего транскрипционного фактора β -cat/TCF, являющегося ключевым эффектором Wnt сигнального пути.

Табл. №1

Ген	Полиморфизм	Хромосома	Аллель	Частота	OR
TCF7L2	rs7903146	10	T/ C	0.25	1.37
PPARG	rs18012824	3	C/ G	0.92	1.14
K C N J 1 1 / ABCC8	rs5219/ rs757110	11	T/ C G/ T	0.50 0.40	1.15
FTO	rs805013615	16	A/ C	0.45	1.15
KCNQ1	rs2237892	11	C/ T	0.61	1.4
DUSP9 X	rs594532665	8	G/ A	0.12	1.27
CDKAL1	rs7754840	6	C/ G	0.31	1.12

Хотя опытный образец семьи TCF, TCF7 (TCF-1), был первоначально выделен как лимфатический транскрипционный фактор, члены этого семейства являются транскрипционными регуляторами многих процессов развития [29]. Вскоре после идентификации TCF-1/TCF7 [29], Кастроп и др. [3] выделили комплементарные ДНК для TCF7L1 и TCF7L2, которые они назвали TCF3 и TCF4, соответственно. Поскольку домены групп высокой подвижности (HMG-high mobility group) TCF7L1, TCF7L2 и последовательностей TCF7 очень похожи, Кастроп и др. [3] предложил объединить их в подсемейство TCF7-подобных транскрипционных факторов HMG. В 2000 Дюваль и др. [9] представили геномную структуру человеческого гена TCF7L2 и картировали его на хромосоме 10q25.3.

При отсутствии передачи сигналов Wnt домены HMG TCF белков функционируют в ядре как транскрипционные репрессоры генов-мишеней Wnt. TCF формирует комплекс с транскрипционными корепрессорами, включая Groucho и С-терминально-связывающийся белок-1 (CtBP-1- C-terminal binding protein 1). Как Groucho, так и CtBP-1 способны мобилизовать ядерный корепрессор, такой как histone deacetylases (HDACs) на промотор генов-мишеней Wnt. β -cat, однако, конвертирует TCF в транскрипционный активатор для той же самой группы генов, которые репрессируются TCF в случае отсутствия β -катенина. Также известно, что β -cat/TCF взаимодействует с Smad4, являющийся необходимым посредником сигналов, инициируемых членами суперсемейства фактора роста TGF β ((transforming growth factor β) через рецепторы TGF β [20].

Было показано, что доминантно-негативная форма TCF7L2 (TCF-4), так называемая, Tcf-4 Δ N31, ингибирует способность конституционно активного β -cat стимулировать TCF-зависимую транскрипцию. Она же блокирует базальную и стимулируемую литием экспрессию проглюкагона и

продукцию ГПП-1 у мышей в эндокринных L-клетках кишечника. [30].

Связь между полиморфизмами TCF7L2 и риском развития сахарного диабета 2 типа

Еще в 1999 году, Duggirala и соавт. [7] сообщили, что регион на хромосоме 10q ассоциирован с СД 2 у американцев мексиканского происхождения. Reynisdottir и соавт. [23] также нашли свидетельства предполагаемой ассоциации СД 2 с 10q в исландской популяции. В 2006 году Grant et al. [13] сделали сообщение об открытии потенциальной связи между полиморфизмом TCF7L2 и риском СД 2. Они генотипировали 228 микросателлитных маркеров на длинном плече 10 хромосомы на протяжении участка длиной 10.5-Mb в исландской популяции у лиц, страдающих СД 2 типа, а также здоровых лиц контрольной группы. Было обнаружено, что микросателлит DG10S478, расположенный в пределах 3 интрона гена TCF7L2, сильно ассоциирован с сахарным диабетом 2 типа. Это наблюдение было воспроизведено в датской и американской когорте [13]. Были выявлено, что 2 однонуклеотидных полиморфизма (ОНП), rs12255372 и rs7903146 находятся в сильном неравновесном сцеплении с DG10S478, а также показали сходную стабильную ассоциацию с сахарным диабетом 2 типа [12]. Гетерозиготные и гомозиготные носители мутантного аллеля (38% и 7% населения, соответственно), в сравнении с неносителями, имеют относительный риск сахарного диабета 2 типа равный 1,45 и 2,41 соответственно. Это открытие привлекло внимание многих исследователей [4, 5, 6, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17].

Florez и др. [12] провел оценку о возможности двух ОНП, rs12255372 и rs7903146, предсказывать развитие диабета у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе в рамках программы профилактики диабета, в которой изменение образа жизни или лечение метформином сравнивались с плацебо. Оба ОНП, были ассоциированы с повышенным

риском развития диабета 2 типа у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе. Sladek и др. [27] в исследовании случай-контроль занимались поиском генов-кандидатов, влияющих на развитие СД 2, во французской когорте изучили 392,935 SNPs. Эта группа идентифицировала пять локусов, которые содержали варианты, увеличивающие риск развития СД 2 типа, включая подтверждение ассоциации с TCF7L2 [27].

На сегодняшний день большинство исследований с TCF7L2 были сосредоточены на SNP, опубликованных Grant и др. [13], игнорируя ОНП, находящихся в других участках гена. В азиатских популяциях, частота встречаемости ОНП rs7903146 и rs12255372 является довольно низкой, хотя ассоциация сахарного диабета 2 типа этих двух полиморфизмов была идентифицирована в двух крупных японских когортах [14, 15]. Chang и соавт. [6] обнаружили новый полиморфизм гена TCF7L2 (rs290487) в популяции китайцев на Тайване, ассоциированный с развитием СД 2 типа. Ng и соавт. [18] выявили связь между другим новым ОНП, rs11196218, и риском развития диабета типа 2 у китайцев Гонг Конга.

Также был изучен вклад полиморфизмов TCF7L2 в другие метаболические заболевания и комбинированный эффект генетических и экологических факторов. Duan и соавт. [10] на примере кардиологических больных канадцев французского происхождения, сообщили о сочетанном эффекте ожирения и ОНП, rs12255372 в прогнозировании риска развития СД 2. Sale и соавт. [24] обнаружили, что 2 полиморфизма (rs7903146, rs7901695) ассоциированы с сахарным диабетом 2 типа, осложненным нефропатией у афро-американцев. Huertas-Bаскес и др. [16] выявили значительную связь между двумя ОНП (rs7903146 и rs12255372) и генетической предрасположенностью к дислипидемии. Недавно была выявлена связь между полиморфизмом TCF7L2 и колоректальным раком. [28].

Экспрессия и функция TCF7L2 в панкреатических и кишечных эндокринных клетках.

TCF7L2 в эндокринных L-клетках кишечника

В L клетках экспрессия гена проглюкагона приводит к продукции гормона-инкретина ГПП-1. В 2003 году, Ni и др. [19] исследовали, является ли проглюкагон геном-мишенью Wnt сигнального пути. Они обнаружили, что как литий (который имитирует функции Wnt лигандов), так и постоянно активный β -катенин (S33Y мутант) стимулируют активность промотора проглюкагона. Также было показано, что литий стимулирует эндогенную экспрессию проглюкагона мРНК и продукцию ГПП-1 у мышей [19]. Yi и соавт. [30] выявили, что стимулирующий эффект лития на экспрессию проглюкагона происходит только в эндокринных

кишечных L-клетках, а не в панкреатических α -клетках. Активизация деятельности промотора проглюкагона зависит от связывающего сайта TCF в пределах элемента G2 энхансер от промотора гена проглюкагона [30].

Известно, что инсулин ингибирует экспрессию проглюкагона в поджелудочных α -клетках, и это торможение физиологически важно, потому что экспрессия проглюкагона в поджелудочной железе приводит к образованию глюкагона, основного контринсулярного гормона. Yi и соавт. [30] обнаружили, что гиперинсулинемия приводит к значительной стимуляции экспрессии проглюкагона мРНК и продукцию ГПП-1 в L клетках кишечника. Во-первых, они выявили, что инсулин использует те же цис-и транс-элементы, которые работают в Wnt сигнализации, для стимуляции кишечной экспрессии проглюкагона. Во-вторых, и искусственное снижение экспрессии (нок-даун) β -катенина, и экспрессия доминантно-негативного TCF7L2 блокирует инсулин-стимулированную экспрессию проглюкагона мРНК в GLUTag клетках [30]. Путем количественной хроматиновой иммунопреципитации было показан стимулирующий эффект инсулина на связывание β -cat/TCF7L2 к элементу G2 энхансер от промотора гена проглюкагона. Наконец, они обнаружили, что в состоянии гиперинсулинемии и инсулинорезистентности у MKR мышей, как кишечная экспрессия проглюкагона мРНК, так и продукция ГПП-1 были значительно выше, чем у равнозначных контрольных мышей [30]. Эти наблюдения позволяют предположить, что повышение уровня инсулина влияет на гомеостаз продукции ГПП-1, посредством Wnt сигнального пути [30].

Функция TCF7L2 в β -клетках поджелудочной железы

Чтобы исследовать, как полиморфизмы гена TCF7L2 повышают риск СД 2 типа, Шефер и соавт. [25] генотипировали 1100 здоровых немецких участников на пять известных ОНП TCF7L2 и провели глюкозотолерантные тесты. Затем они измерили секрецию ГПП-1 во время глюкозотолерантного теста (ГТТ) у части участников [25]. Их результаты подтвердили, что полиморфизмы TCF7L2 связаны с пониженной выработкой инсулина. Существенных различий плазменных концентраций ГПП-1 во время ГТТ выявлено не было [25]. В исследовании скандинавской популяции, Лысенко и соавт. [17] обнаружили, что наличие СТ/ТТ генотипов ОНП rs7903146 предсказывает прогрессирование СД 2 типа в двух независимых когортах. Наличие аллеля Т ассоциировано с нарушением секреции инсулина, инкретина и повышением продукции глюкозы печенью [17]. Кроме того, эти исследователи обнаружили, что носители аллели ТТ показывают 5-кратное увеличение экс-

прессии TCF7L2 мРНК в своих островках Лангерганса.

Для исследования роли TCF7L2 в панкреатических β -клетках, Шу и др. [26] провели искусственное истощение TCF7L2, что привело к 5,1-кратному увеличению апоптоза β -клеток, 2,2-кратному уменьшению пролиферации β -клеток, а также 2,6-кратному снижению глюкозостимулированной секреции инсулина. Подобные эффекты наблюдались и у мышей [26]. И наоборот, в случае гиперэкспрессии TCF7L2, островки были защищены от глюкоз- и цитокин-опосредованного апоптоза панкреатических β -клеток [26].

Заключение

Исходя из вышеизложенного, очевидно, что между полиморфизмами гена TCF7L2 и развитием СД 2 существует прямая и сильная связь. Данные свидетельствуют, что этот фактор транскрипции, влияя на секрецию инсулина, играет ключевую

роль в гомеостазе глюкозы и является одним из главных детерминант риска диабета типа 2.

В Узбекистане количество зарегистрированных больных СД типа 2 составляет более 120 тысяч человек. Основную массу больных этим типом диабета (более 98%) составляют пациенты, у которых диабет развивается сравнительно поздно, в основном, после 35-летнего возраста. Главная проблема СД 2 заключается в том, что это заболевание приводит к развитию ряда сосудистых осложнений, что является одной из основных причин инвалидизации и смертности у пациентов.

Изучение взаимосвязи основных компонентов метаболического синдрома (таких как - ИБС, АГ, СД 2 типа, ожирение) и распространенности полиморфизмов гена TCF7L2 в предрасположенности к сахарному диабету 2 типа в узбекской популяции является актуальным и мало изученным аспектом диабетологии.

Использованная литература:

1. Куликова К.В., Кибардин А.В. и др 2012 // Сигнальный путь Wnt и его значение для развития меланомы // СТМ - 3 107-112.
2. an Es JH, Barker N, Clevers H 2003 You Wnt some, you lose some: oncogenes in the Wnt signaling pathway. *Curr Opin Genet Dev* 13:28–33 2.
3. Castrop J, van Norren K, Clevers H 1992 //A gene family of HMG-box transcription factors with homology to TCF-1//. *Nucleic Acids Res*20:611.
4. Cauchi S, Choquet H, Gutierrez-Aguilar R, Capel F, Grau K, Proenca C, Dina C, Duval A, Balkau B, Marre M, Potoczna N, Langin D, Horber F, Sorensen TI, Charpentier G, Meyre D, Froguel P 2008 //Effects of TCF7L2 polymorphisms on obesity in European populations//. *Obesity (Silver Spring)* 16:476–482
5. Cauchi S, El Achhab Y, Choquet H, Dina C, Kremler F, Weitgasser R, Nejjar C, Patsch W, Chikri M, Meyre D, Froguel P2007 //TCF7L2 is reproducibly associated with type 2 diabetes in various ethnic groups: a global meta-analysis//. *J Mol Med* 85:777–782.
6. Chang YC, Chang TJ, Jiang YD, Kuo SS, Lee KC, Chiu KC, Chuang LM 2007 //Association study of the genetic polymorphisms of the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and type 2 diabetes in the Chinese population//. *Diabetes* 56:2631–2637.
7. Duggirala R, Blangero J, Almasy L, Dyer TD, Williams KL, Leach RJ, O'Connell P, Stern MP 1999 //Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic location on chromosome 10q in Mexican Americans//. *Am J Hum Genet* 64:1127–1140.
8. Doble BW, Woodgett JR 2003 GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *J Cell Sci* 116:1175–1186.
9. Duval A, Busson-Leconiat M, Berger R, Hamelin R 2000 //Assignment of the TCF-4 gene (TCF7L2) to human chromosome band 10q25.3//. *Cytogenet Cell Genet* 88:264–265.
10. Duan QL, Dube MP, Frasure-Smith N, Barhdadi A, Lesperance F, Theroux P, St-Onge J, Rouleau GA, McCaffery JM 2007 //Additive effects of obesity and TCF7L2 variants on risk for type 2 diabetes among cardiac patients//. *Diabetes Care* 30:1621–1623.
11. Elbein SC 2007 //Evaluation of polymorphisms known to contribute to risk for diabetes in African and African-American populations//. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10:415–419.
12. Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, Pollin TI, de Bakker PI, Shuldiner AR, Knowler WC, Nathan DM, Altshuler D 2006 //TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program//. *N Engl J Med* 355:241–250.
13. Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J et al. 2006 //Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes//. *Nat Genet*38:320–323.
14. Horikoshi M, Hara K, Ito C, Nagai R, Froguel P, Kadowaki T 2007//A genetic variation of the transcription factor 7-like 2 gene is associated with risk of type 2 diabetes in the Japanese population//. *Diabetologia* 50:747–751.
15. Hayashi T, Iwamoto Y, Kaku K, Hirose H, Maeda S 2007//Replication study for the association of TCF7L2 with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population//. *Diabetologia* 50:980–984.
16. Huertas-Vazquez A, Plaisier C, Weissglas-Volkov D, Sinsheimer J, Canizales-Quinteros S, Cruz-Bautista I, Nikkola E, Herrera-Hernandez M, Davila-Cervantes A, Tusie-Luna T, Taskinen MR, Aguilar-Salinas C,

- Pajukanta P 2008 //TCF7L2 is associated with high serum triacylglycerol and differentially expressed in adipose tissue in families with familial combined hyperlipidaemia//. *Diabetologia* 51:62–69.
17. Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Del Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P, Sjogren M, Ling C, Eriksson KF, Lethagen AL, Mancarella R, Berglund G, Tuomi T, Nilsson P, Del Prato S, Groop L 2007 //Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes//. *J Clin Invest* 117:2155–2163.
 18. Ng MC, Tam CH, Lam VK, So WY, Ma RC, Chan JC 2007 //Replication and identification of novel variants at TCF7L2 associated with type 2 diabetes in Hong Kong Chinese//. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3733–3737.
 19. Ni Z, Anini Y, Fang X, Mills G, Brubaker PL, Jin T 2003//Transcriptional activation of the proglucagon gene by lithium and β -catenin in intestinal endocrine L cells//. *J Biol Chem* 278:1380–1387.
 20. Nishita M, Hashimoto MK, Ogata S, Laurent MN, Ueno N, Shibuya H, Cho KW 2000 Interaction between Wnt and TGF- β signalling pathways during formation of Spemann's organizer. *Nature* 403:781–785.
 21. Owen KR, McCarthy MI 2007 //Genetics of type 2 diabetes// *Curr Opin Genet Dev* 17:239–244.
 22. Peifer M, Polakis P 2000 Wnt signaling in oncogenesis and embryogenesis—a look outside the nucleus. *Science* 287:1606–1609.
 23. Reynisdottir I, Thorleifsson G, Benediktsson R, Sigurdsson G, Emilsson V, Einarsson AS, Hjorleifsdottir EE, Orlygsdottir GT, Bjornsdottir GT, Saemundsdottir J, Halldorsson S, Hrafnkelsdottir S, Sigurjonsdottir SB, Steinsdottir S, Martin M, Kochan JP, Rhee BK, Grant SF, Frigge ML, Kong A, Gudnason V, Stefansson K, Gulcher JR 2003 //Localization of a susceptibility gene for type 2 diabetes to chromosome 5q34–q35.2//. *Am J Hum Genet* 73:323–335.
 24. Sale MM, Smith SG, Mychaleckyj JC, Keene KL, Langefeld CD, Leak TS, Hicks PJ, Bowden DW, Rich SS, Freedman BI 2007//Variants of the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene are associated with type 2 diabetes in an African-American population enriched for nephropathy//. *Diabetes* 56:2638–2642.
 25. Schafer SA, Tschrutter O, Machicao F, Thamer C, Stefan N, Gallwitz B, Holst JJ, Dekker JM, T'Hart L M, Nijpels G, van Haeften TW, Haring HU, Fritsche A 2007 //Impaired glucagon-like peptide-1-induced insulin secretion in carriers of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphisms//. *Diabetologia* 50:2443–2450.
 26. Shu L, Sauter NS, Schulthess FT, Matveyenko AV, Oberholzer J, Maedler K 2008 //Transcription factor 7-like 2 regulates β -cell survival and function in human pancreatic islets//. *Diabetes* 57:645–653.
 27. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, Boutin P, Vincent D, Belisle A, Hadjadj S, Balkau B, Heude B, Charpentier G, Hudson TJ, Montpetit A, Pshezhetsky AV, Prentki M, Posner BI, Balding DJ, Meyre D, Polychronakos C, Froguel P 2007 //A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes//. *Nature* 445:881–885.
 28. Slattery ML, Folsom AR, Wolff R, Herrick J, Caan BJ, Potter JD 2008 //Transcription factor 7-like 2 polymorphism and colon cancer//. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17:978–982.
 29. van de Wetering M, Oosterwegel M, Dooijes D, Clevers H 1991 Identification and cloning of TCF-1, a T lymphocyte-specific transcription factor containing a sequence-specific HMG box. *EMBO J* 10:123–132.
 30. Yi F, Brubaker PL, Jin T 2005 TCF-4 mediates cell type-specific regulation of proglucagon gene expression by β -catenin and glycogen synthase kinase-3 β . *J Biol Chem* 280:1457–1464.