

# Новые иммунологические методы диагностики аутоиммунного полиэндокринного синдрома 1-го типа

А.С. СОЗАЕВА

ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия

Аутоиммунный полигланулярный синдром 1-го типа (АПС 1-го типа) — редкое генетическое заболевание, причиной которого являются мутации в гене *AIRE*. Наряду с генетическими исследованиями для диагностики заболевания возможно исследование уровня антител к интерферонам 1-го типа, в частности к интерферонам- $\omega$  и - $\alpha_2$ . Приведен обзор литературы, касающейся интерферонов 1-го типа, антител к ним и патофизиологии процессов, индуцируемых антителами к интерферонам.

Ключевые слова: аутоиммунный полигланулярный синдром 1-го типа, тимомы, алопеция, интерфероны- $\omega$ , интерфероны- $\alpha_2$ , радиоиммунный анализ, метод HEK-blue cells.

## The new immunological methods for diagnostics of type 1 autoimmune polyendocrine syndrome

L.S. SOZAEVA

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Type 1 autoimmune polyglandular syndrome (type 1APS) is a rare genetic disease resulting from mutations in the *AIRE* gene. Diagnostics of this pathology is based not only on the results of genetic studies but also on the measurement of the level of antibodies against type 1 interferons, such as interferon- $\omega$  and interferon- $\alpha_2$ . The present review of the literature is focused on type 1 interferons, anti-interferon antibodies, and pathophysiological characteristics of the processes induced by these antibodies.

Keywords: autoimmune polyglandular syndrome, thymoma, alopecia, interferon- $\omega$ , interferon- $\alpha_2$ , radioimmunoassay, HEK-Blue cell technique.

doi: 10.14341/probl201561343-46

Аутоиммунный полигланулярный синдром 1-го типа (АПС 1-го типа) — редкое наследственное моногенное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, сопровождающееся аутоиммунным поражением органов эндокринной и других систем [1, 2]. Синдром обусловлен мутациями в гене *AIRE* (*AutoImmuneREgulator*), который кодирует одноименный белок [2—4]. Патогенез заболевания до конца не изучен, однако предполагается, что белок «аутоиммунный регулятор» играет важную роль в негативной селекции Т-лимфоцитов. Отсутствие этого белка приводит к снижению экспрессии аутоантигенов в тимусе и нарушению негативной селекции Т-лимфоцитов, что способствует развитию аутоиммунных поражений.

АПС 1-го типа характеризуется сочетанием трех основных клинических компонентов: хронического кожно-слизистого кандидоза, гипопаратиреоза и первичной хронической надпочечниковой недостаточности. Эти компоненты считаются «классическими» клиническими критериями диагноза АПС 1-го типа, но проявления могут быть значительно многообразнее, включая аутоиммунные поражения ряда других органов и тканей. Типичными «малыми» компонентами АПС 1-го типа являются алопе-

ция, витилиго, гипоплазия зубов, синдром мальабсорбции, инсулинозависимый сахарный диабет, аутоиммунный тиреоидит, преждевременное истощение яичников, аутоиммунный гепатит, аутоиммунный кератит и блефарит и др. Иногда «малые» компоненты являются первыми признаками заболевания, а «основные» манифестируют позже [5].

Диагноз может быть установлен клинически при наличии у пациента как минимум двух из трех «основных» компонентов заболевания («классическая диада или триада»), а также при наличии одного из них в случае присутствия заболевания у родственника первого порядка. Для генетической диагностики необходимо выявление мутации в гене *AIRE*.

С момента появления первого компонента заболевания до формирования «классической диады» или «триады» АПС 1-го типа может пройти много лет. Нередко наблюдается «неклассическое», или «стертое», течение заболевания, в связи с чем генетический анализ в последние годы стал основным методом ранней и доклинической диагностики АПС 1-го типа [1, 6].

Для гена *AIRE* характерно наличие частых мутаций, и для каждой популяции — своя частая мута-

ция. В российской популяции пациентов с АПС 1-го типа самой частой является мутация R257X, которая выявляется в 70% аллелей [6]. Та же мутация преобладает в финской популяции, где и была впервые обнаружена («финская мутация»). Наличие частых мутаций облегчает и удешевляет генетическую диагностику заболевания, так как позволяет исследованием только одного соответствующего экзона установить диагноз у значительного числа пациентов. Однако отсутствие частой мутации не исключает диагноза. В таких случаях необходимо полное секвенирование гена *AIRE*, состоящего из 14 экзонов, которое также не всегда дает точный ответ, поскольку у 5–10% пациентов мутации выявить путем прямого секвенирования не удается.

В 2006 г. было показано, что антитела (АТ) к группе интерферонов (ИФН) 1-го типа определяют только у пациентов с тимомой и АПС 1-го типа и не определяются у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями [7].

ИФН впервые были открыты в 1957 г. как агенты, защищающие клетки от вирусной инфекции. Выделяют две группы ИФН, а также группы ИФН-подобных цитокинов. К группе ИФН 1-го типа относятся: ИФН- $\alpha$ , ИФН- $\beta$ , ИФН- $\epsilon$ , ИФН- $\kappa$ , ИФН- $\omega$ , ИФН- $\delta$ , ИФН- $\tau$ , а к ИФН 2-го типа только ИФН- $\gamma$ . Группа ИФН-подобных цитокинов включает лимитин, ИЛ-28А, ИЛ-28В, ИЛ-29 [3]. В последнее время выделяют группу ИФН 3-го типа, к которой относят ИФН- $\lambda 1$ , ИФН- $\lambda 2$  и ИФН- $\lambda 3$  [8]. Все ИФН оказывают противовирусное, антипролиферативное действие, стимулируют цитотоксичную активность клеток иммунной системы (Т-лимфоцитов, НК-клеток, моноцитов, макрофагов и дендритных клеток) в ответ на повышение экспрессии опухолевых ассоциированных поверхностных антигенов, стимулируют экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости класса I, индуцируют и активируют проапоптотические гены и протеины, ингибируют антиапоптотические гены и ангиогенез [9].

АТ к различным цитокинам (ИФН- $\alpha$ , ИФН- $\omega$  и ряду интерлейкинов) впервые были описаны у пациентов с тимомой и миастенией [10]. Для этого применялся метод нейтрализации противовирусных ИФН (AVINA — AntiViral Interferon Neutrolization Assay). В основе метода лежит заражение клеток глиобластомы человека вирусом миоэнцефалита в присутствии сыворотки пациента и специфического ИФН; при наличии в сыворотке пациента антител к данному ИФН происходит гибель клеток, что можно зафиксировать с помощью специального красителя и абсорбционного анализа.

В исследование были включены 60 пациентов из Финляндии и 16 пациентов из Норвегии с генетически подтвержденным диагнозом АПС 1-го типа, 9 пациентов с АПС 2-го типа и 16 пациентов с изоли-

рованными надпочечниковой недостаточностью, гипопаратиреозом и хроническим кожно-слизистым кандидозом. У пациентов с АПС 1-го типа были выявлены высокие титры АТ к большинству подтипов ИФН- $\alpha$ , особенно к ИФН- $\alpha_2$  и ИФН- $\omega$  (у 100% пациентов). Ни у одного из пациентов с АПС 2-го типа или изолированными аутоиммунными заболеваниями эти АТ обнаружены не были. В более низких титрах и в меньшем проценте случаев АПС 1-го типа были обнаружены АТ к ИФН- $\beta$  (22%). АТ к ИФН 3-го типа выявлялись в очень низких титрах, а к ИФН 2-го типа выявлялись крайне редко. Эти АТ не относились к группе нейтрализующих АТ [7]. У пациентов с тимомой также обнаруживались АТ к ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\omega$ , но в меньших титрах и в меньшем проценте случаев (60%) [10].

Таким образом, АТ к ИФН- $\omega$  оказались высокоспецифичными для синдрома АПС 1-го типа независимо от спектра манифестировавших компонентов. Интересно, что, несмотря на высокие титры АТ к ИФН- $\omega$  и ИФН- $\alpha_2$ , у пациентов не отмечалось повышенной предрасположенности к вирусным инфекциям. Предполагают, что в организме присутствуют ИФН многих различных типов и подтипов, отвечающих за противовирусную защиту, а нейтрализующие АТ обнаруживаются только к определенным подтипам ИФН. Остальные их типы остаются незатронутыми данным процессом и сохраняют свои функции [11]. Невысокая частота вирусных инфекций у этой группы пациентов может быть связана с тем, что ИФН вырабатываются локально, оставаясь недоступными для воздействия аутоантител [11].

В работе К. Kisand и соавт. [11] показано влияние этих АТ на экспрессию ИФН-стимулирующих генов (ИСГ) в моноцитах и дендритных клетках. У пациентов с АПС 1-го типа и высокими титрами АТ к ИФН- $\omega$  и ИФН- $\alpha_2$  экспрессия ИСГ была гораздо ниже, чем у лиц контрольной группы. В то же время у пациентов, имеющих АТ только к ИФН- $\omega$ , напротив, отмечалось усиление экспрессии данных генов. После культивирования моноцитов и дендритных клеток пациентов с АПС 1-го типа в фетальной телячьей сыворотке, не содержащей АТ, экспрессия ИСГ восстанавливалась. Было показано также, что в ответ на стимуляцию вирусами плазматические и дендритные клетки пациентов с АПС 1-го типа вырабатывают нормальные количества ИФН 1-го типа при нормальной экспрессии генов этих ИФН. Из 2 пациентов без АТ к ИФН- $\alpha_2$  у одного имел место аутоиммунный тиреоидит, а у второго выявлялись высокие титры АТ к тиреопероксидазе. Эти данные представляют особый интерес, поскольку побочным эффектом терапии препаратами ИФН- $\alpha$  является аутоиммунное поражение щитовидной железы [11].

Эффективность метода определения АТ к ИФН- $\omega$  для диагностики АПС 1-го типа была под-

тверждена в 2008 г. на группе из 174 пациентов с АПС 1-го типа из разных стран (Италия, Великобритания, Финляндия и Норвегия), у которых нейтрализующие антитела к ИФН- $\omega$  выявлялись в 100% случаев. Исключение составила одна пациентка с классическими проявлениями АПС 1-го типа, в первом образце сыворотки которой АТ к ИФН- $\omega$  и ИФН- $\alpha_2$  не обнаруживались, но в образцах, полученных позднее, присутствовали АТ обоих видов [7, 12]. АТ к ИФН- $\alpha_2$  выявлялись у 94% пациентов, т.е. их специфичность достаточно высока, но уступает таковой АТ к ИФН- $\omega$ . Не было выявлено никакой взаимосвязи между титром АТ, различными мутациями в гене *AIRE*, продолжительностью и количеством компонентов заболевания.

Предложено использовать АТ к ИФН- $\omega$  и к ИФН- $\alpha_2$  в качестве диагностического критерия заболевания [10]. В настоящий момент такой подход является основным методом диагностики заболевания в Норвегии, Швеции, Эстонии и ряде других европейских стран [12].

В 2009 г. было проведено исследование АТ к ИФН- $\omega$  у пациентов с АПС 1-го типа не методом AVINA, а другим — радиоиммунным (РИА) [13]. Метод отличается высокой точностью, позволяет определять АТ не только к ИФН, но и к цитокинам и органам-мишеням. В исследование были включены 32 пациента из Норвегии, 7 из Швеции, 6 из Финляндии и 3 из Северной Америки. У всех 48 пациентов с АПС 1-го типа был выявлен высокий титр АТ к ИФН- $\omega$ , тогда как у здоровых лиц и больных с изолированной надпочечниковой недостаточностью, сахарным диабетом 1-го типа, синдромом Дауна, а также у родственников пациентов с АПС 1-го типа эти АТ отсутствовали.

После того как было показано диагностическое значение АТ к ИФН- $\omega$  у пациентов с АПС 1-го типа, возник вопрос о сроках появления этих АТ при

АПС 1-го типа. В исследование А. Wolff и соавт. [14] были включены 13 пациентов в возрасте до 5 лет, у 3 из которых имелись мутации в гене *AIRE*, но отсутствовали какие-либо клинические проявления. В работе принимала участие наша исследовательская группа и российские пациенты. У некоторых пациентов АТ к ИФН- $\omega$  обнаруживались уже на 6—7-м месяце жизни даже при отсутствии клиники заболевания. Таким образом, такой подход можно использовать для доклинической диагностики АПС 1-го типа, и его эффективность не уступает генетическим методам диагностики этого синдрома.

Относительно недавно разработан новый простой и сравнительно недорогой метод определения АТ к ИФН — «НЕКblue cells assay» (с использованием культуры клеток человеческой эмбриональной почки, трансфицированных специфическими плазмидами), который обладает специфичностью и чувствительностью сопоставимыми с таковыми РИА [15].

В настоящее время экспресс-метод «НЕКblue cells assay», как и другие методы определения АТ к ИФН- $\omega$ , занял свое место в лабораторной практике.

Присутствие АТ к ИФН- $\omega$  является диагностическим критерием АПС 1-го типа. Секвенирование гена *AIRE* по-прежнему остается важным этапом диагностики этого синдрома, поскольку позволяет проводить генетическое консультирование и осуществлять планирование семьи.

В заключение следует подчеркнуть, что метод определения АТ к ИФН- $\omega$  «НЕКblue cells assay» является относительно простым, быстрым и экономически эффективным и в то же время высокоспецифичным и высокочувствительным. Он может применяться для диагностики классических и нетипичных форм АПС 1-го типа, для обследования семьи пациента, а также для скрининга на этот синдром среди пациентов с изолированными аутоиммунными заболеваниями.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Jääskeläinen J, Perheentupa J. Autoimmune polyendocrinopathy-candidosis-ectodermal dystrophy (apeced)—a diagnostic and therapeutic challenge. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2009;7(2):95-108.
2. Ahonen P. Autoimmune polyendocrinopathy — candidosis — ectodermal dystrophy (apeced): autosomal recessive inheritance. *Clin Genet.* 2008;27(6):535-542. doi: 10.1111/j.1399-0004.1985.tb02037.x.
3. Anderson MS. Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science.* 2002;298(5597):1395-1401. doi: 10.1126/science.1075958.
4. Kyewski B, Klein L. A central role for central tolerance. *Annu Rev Immunol.* 2006;24(1):571-606. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115601.
5. Орлова ЕМ. Генетические основы и клинические варианты аутоиммунного полигланулярного синдрома 1-го типа: Дис. ... канд. мед. наук. М.; 2005. [Orlova EM. *Geneticheskie osnovy i klinicheskie varianty autoimmunnogo poliglandulyarnogo sindroma 1 tipa* [PhD dissertation]. Moscow; 2005. (In Russ.)].
6. Orlova EM, Bukina AM, Kuznetsova ES, et al. Autoimmune polyglandular syndrome type I in russian patients: clinical variants and autoimmune regulator mutations. *Horm Res Paediatr.* 2010;73(6):449-457. doi: 10.1159/000313585.
7. Meager A, Visvalingam K, Peterson P, et al. Anti-interferon autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy syndrome type I. *Plos Med.* 2006;3(7):e289. doi: 10.1371/journal.pmed.0030289.
8. Vilcek J. Novel interferons. *Nat Immunol.* 2003;4(1):8-9. doi: 10.1038/ni0103-8.
9. Pestka S, Krause CD, Walter MR. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev.* 2004;202(1):8-32. doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00204.x.

10. Meager A, Wadhwa M, Dilger P, et al. Anti-cytokine autoantibodies in autoimmunity: preponderance of neutralizing autoantibodies against interferon-alpha, interferon-omega and interleukin-12 in patients with thymoma and/or myasthenia gravis. *Clin Exp Immunol.* 2003;132(1):128-136.  
doi: 10.1046/j.1365-2249.2003.02113.x.
11. Kisand K, Link M, Wolff ASB, et al. Interferon autoantibodies associated with aire deficiency decrease the expression of ifn-stimulated genes. *Blood.* 2008;112(7):2657-2666.  
doi: 10.1182/blood-2008-03-144634.
12. Meloni A, Furcas M, Cetani F, et al. Autoantibodies against type I interferons as an additional diagnostic criterion for autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4389-4397.  
doi: 10.1210/jc.2008-0935.
13. Oftedal BE, Bøe Wolff AS, Bratland E, et al. Radioimmunoassay for autoantibodies against interferon omega; its use in the diagnosis of autoimmune polyendocrine syndrome type I. *Clin Immunol.* 2008;129(1):163-169.  
doi: 10.1016/j.clim.2008.07.002.
14. Wolff ASB, Sarkadi AK, Maródi L, et al. Anti-cytokine autoantibodies preceding onset of autoimmune polyendocrine syndrome type I features in early childhood. *J Clin Immunol.* 2013;33(8):1341-1348.  
doi: 10.1007/s10875-013-9938-6.
15. Breivik L, Oftedal BEV, Bøe Wolff AS, et al. A novel cell-based assay for measuring neutralizing autoantibodies against type I interferons in patients with autoimmune polyendocrine syndrome type I. *Clin Immunol.* 2014;153(1):220-227.  
doi: 10.1016/j.clim.2014.04.013.