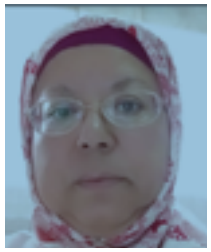
دراسات الارتباط الجيني للسل الرئوي عند البالغين في المغرب

Genetic Association Studies of Adult Pulmonary Tuberculosis in Morocco



ذة. جميلة البغدادي

وحدة الوراثة، المستشفى العسكري الدراسي محمد الخامس، الرباط، المغرب.

EL Baghdadi J[1] , Sabri A[1] , Abderrahmani Rhorfi I[2] , Souhi H[2] , Zegmout [2] , Rafik A[2] , Ouzzif Z[3] , Rafik A[2] , El Azbaoui S[1] , Manessouri M[4] , Belkheiri S[4] , Zaid S[4] , Bouraqadi A[4] , Orlova M[5] , Grant AV [6] , Casanova JL[6], Bousfiha AA[7], Schurr E[5] , Abel L[6] , Agader A[8] , Abid A[2]

1. Genetics Unit, Military Hospital Mohamed V, Rabat, Morocco.
2. Department of Pulmonology, Military Hospital Mohammed V, and Medical and Pharmacy School of Rabat, Mohammed V University, Rabat, Morocco.
3. Laboratories Pole , Military Hospital Mohamed V, Rabat, Morocco.
4. Diagnosis center for tuberculosis and respiratory diseases CDTMR, Salé, Morocco.
5. Infectious Diseases and Immunity in Global Health Program, Research Institute of the McGill University Health Centre, Montreal, Quebec, Canada.
6. Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, Necker Branch, INSERM U1163, Imagine Institute, Paris Descartes University, Paris, France, St. Giles and Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, Rockefeller Branch, The Rockefeller University, New York, New York, United States of America.
7. Laboratory of Clinical Immunology, Inflammation and Allergy LICIA, Faculty of Medicine and Pharmacy, King Hassan II University, Casablanca, Department of pediatric infectious and immunological diseases, Abderrahim El Harouchi Children Hospital, University Hospital Center Ibn Rochd, Casablanca, Morocco.
8. Department of Paediatrics, Military Hospital Mohammed V, Rabat, Morocco and Medical and Pharmacy School of Rabat, Mohammed V University, Rabat, Morocco.

الملخص

من بين الأشخاص اللذين يصابون بالمتفطرة السلية (Mycobacterium tuberculosis)، تطور الأقلية فقط مرض السل السريري (TB). وتشير الأدلة الوبائية الوراثية إلى أن السل الرئوي له مكون وراثي قوي.

قمنا بإجراء دراسة ربط على مستوى الجينوم (GLWS : genome-wide linkage analysis) عند 96 عائلة مغربية بها عدة حالات مصابة بالسل، بما فيهم 227 شقيقا تأكدت إصابتهم بالسل الرئوي من خلال الأدلة الميكروبيولوجية والإشعاعية. وقد حدد المسح الأولي الذي شمل 48 عائلة خمس مناطق صبغية توحي بوجود صلة (LOD score >1.17 ; P<0.01). حدد الرسم الدقيق للخرائط الجينومية عند إجمالي العينة المكونة من 96 عائلة وجود ارتباط معتبر على المنطقة الصبغية 8q12-q13 (LOD score = 3.49 ; $P=3\times10^{-5}$) ، مما يشير إلى وجود جين رئيسي للإصابة بالسل. كان الارتباط أقوى ضمن العائلات التي بها أحد الأبوين مصاب (LOD score=3.94 ; $P=10^{-5}$)، مما يثير احتمال وجود نمط توريث سائد، بينما كان أقل بكثير عند العائلات التي ليس بها آباء مصابين (درجة LOD = 0.79). توفر هذه النتائج أدلة جزيئية قوية على وجود أساس وراثي للسل، يتضمن موضعا رئيسيا واحدا على الأقل مع حليل قابلية ذي وراثة سائدة.

قمنا بالتنميط الجيني لـ 3,216 تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) في عينة عائلية مغربية من 286 فردا مصابا بالسل الرئوي، وحددنا 44 SNPs مرتبطة بالإصابة بالمرض (p<0.01) في الموضع 8q12-q13. قمنا بعد ذلك باختبار هذه SNPs عند مجموعة مستقلة من 317 مريضا و 650

شاهدا من المغرب. أظهرت اثنتان من SNPs الموجودة بالقرب من الجين TOX، rs1568952 و rs2726600، ارتباطا كبيرا بالمرض ($p=1.1\times10^{-5}$ و $p=9.2\times10^{-5}$)على التوالي. وقد كان الارتباط أقوى عند الأفراد الذين طوروا السل الرئوي قبل سن 25 (بالنسبة لـ $p=4.4\times10^{-8}$، rs1568952 ؛ odds ratio for AA vs. AG/GG = 3.09 (1.99–4.78)). تم تكرار الارتباط الخاص بـ rs2726600 (p=0.04) في دراسة أجريت عند 243 عائلة نووية من مدغشقر، مع تحديد SNPs إضافية في اختلال توازن الارتباط القوي الذي يؤكد الإشارة (p=0.003 بالنسبة لـ rs2726597). وهكذا، حددنا مجموعة من التعددات SNPs حول rs1568952 و rs2726600 والتي كانت مرتبطة بقوة بالسل الرئوي المبكر في المغرب ومدغشقر. ويقع التعدد SNP rs2726600 في موقع ربط عامل النسخ في المنطقة 3' للجين TOX، مما يستدعي المزيد من الدراسات الوظيفية على الخلايا اللمفاوية التائية CD4

أبرزت النتائج السابقة حول القابلية المندلية لعداوى المتفطرات الشديدة أهمية مسار الانترلوكين 12 (IL-12)/الانترفيرون غاما (IFN-γ) في المناعة المضادة للمتفطرات. أجرينا دراسة ارتباط (GWAS) في المغرب، لفحص العلاقة بين السل الرئوي وتعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs) في 14 جينا أساسيا من جينات المحور IL-12/IFN-γ. بدأت الدراسة بعينة عائلية وأعقبها تكرار عند مجموعة من الحالات والشواهد. من بين 228 SNPs التي تم اختبارها في العينة العائلية، ارتبطت 6 SNPs في الجين STAT4 بالسل الرئوي (p=.0013-.01). تم تكرار الارتباط لمجموعة من 3 SNPs موجودة ضمن منطقة المحفز (promoter) للجين STAT4. في العينة المجمعة، كان الارتباط أقوى عند الأشخاص الأصغر سنا (ظهور المرض قبل 25 عاما)، مع نسبة أرجحية (OR) بلغت 1.47 (GG مقابل AG/AA في rs897200). كما أظهرت التجارب الوظيفية من قبل أن الأليل G لـ rs897200 كان مرتبطا بإنتاج منخفض للبروتين STAT4.

في دراستنا GWAS التي أجريت على 550,352 من SNPs الجسدية (autosomal) عند عينة عائلية مغربية، بما في ذلك المرضى الذين تم تشخيص إصابتهم بالسل الرئوي قبل سن 25، حددنا 143 SNPs ذات صلة مع $p<1\times10^{-4}$. حددت دراسة تكرار عند عينة مستقلة من الحالات والشواهد أربعة SNPs مع p<0.01 لنفس أليل الاختطار. في العينة المجمعة المكونة من 556 مريضا بالسل الرئوي و 650 شاهدا، أظهرت هذه SNPs الأربعة ارتباطات إيحائية ($2\times10^{-6}< p <4\times10^{-5}$): وتوجد rs358793 و rs17590261 بين الجينات، بينما تتموضع rs6786408 و rs916943 في إنترونات الجينات FOXP1 و AGMO، على التوالي. يشارك كلا الجينين في وظيفة الخلايا البلعمية، وهو أمر حاسم لكمون المتفطرة السلية وإعادة تنشيطها. وكان الارتباط الأكثر أهمية ($p =2\times10^{-6}$) يخص SNP لـ AGMO عند المجموعة الفرعية للمرضى المبكرين، مما يسلط الضوء على أهمية مراعاة عمر بداية الأعراض في الدراسات الجينية للسل الرئوي. هذه النتائج، على الرغم من أنها إيحائية، إلا أنها تقدم اتجاهات واعدة للبحث المستقبلي في الوراثة البشرية للسل الرئوي.

Abstract

Only a minority of individuals infected with Mycobacterium tuberculosis develop clinical tuberculosis (TB). Genetic epidemiological evidence suggests that pulmonary TB has a strong genetic component.

We studied a genome-wide linkage analysis in 96 Moroccan families with multiple cases of TB, including 227 siblings confirmed to have pulmonary TB through microbiological and radiological evidence. An initial scan of 48 families identified five regions with suggestive linkage (LOD score >1.17 ; P<0.01). Fine-mapping in the full sample of 96 families pinpointed a significant linkage on chromosome 8q12-q13 (LOD score = 3.49 ; $P=3\times10^{-5}$), indicating a major TB susceptibility gene. The linkage was stronger in families with an affected parent (LOD score = 3.94 ; $P = 10^{-5}$), suggesting a dominant inheritance pattern, while it was much lower in families without affected parents (LOD score = 0.79). These findings provide strong molecular evidence for a genetic basis of TB, involving at least one major locus with a dominant susceptibility allele.

We genotyped 3,216 SNPs in a Moroccan family-based sample of 286 PTB-affected individuals, identifying 44 associated SNPs (p<0.01) on 8q12-q13 locus. These SNPs were then tested in an independent set of 317 cases and 650 controls from Morocco. Two correlated SNPs near the TOX gene, rs1568952 and rs2726600, showed significant association (combined $p=1.1\times10^{-5}$ and 9.2×10^{-5}, respectively). The association was stronger in individuals who developed PTB before age 25 (combined p for rs1568952 $=4.4\times10^{-8}$; odds ratio for AA vs. AG/GG = 3.09 [1.99–4.78]). The asso-

ciation with rs2726600 (p=0.04) was replicated in a study of 243 nuclear families from Madagascar, with additional SNPs in strong linkage disequilibrium confirming the signal (p=0.003 for rs2726597). Thus, we identified a cluster of SNPs around rs1568952 and rs2726600 strongly associated with early-onset PTB in Morocco and Madagascar. SNP rs2726600 is located in a transcription-factor binding site in the 3' region of TOX, warranting further functional studies on CD4 T lymphocytes.

Previous findings on Mendelian predisposition to severe mycobacterial infections highlighted the importance of the interleukin 12 (IL-12)/interferon gamma (IFN-γ) pathway in antimycobacterial immunity. We conducted an association study in Morocco, examining the link between pulmonary TB and single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in 14 core IL-12/IFN-γ circuit genes. The study began with a family-based sample and was followed by replication in a case-control population. Out of 228 SNPs tested in the family-based sample, 6 SNPs in the STAT4 gene were associated with pulmonary TB (P = .0013–.01). The association for a cluster of 3 SNPs in the STAT4 promoter region was replicated. In the combined sample, the association was stronger among younger subjects (onset <25 years), with an odds ratio of 1.47 (GG vs. AG/AA at rs897200). Functional experiments previously showed that the G allele of rs897200 was linked to lower STAT4 expression.

In our GWA study of 550,352 autosomal SNPs in a Moroccan family-based sample, including those diagnosed with PTB before age 25, we found 143 SNPs with p<1×10−4. A replication study in an independent case-control sample identified four SNPs with p<0.01 for the same risk allele. In the combined sample of 556 PTB subjects and 650 controls, these four SNPs showed suggestive associations ($2\times10^{-6} < p < 4\times10^{-5}$): rs358793 and rs17590261 were intergenic, while rs6786408 and rs916943 were in the introns of FOXP1 and AGMO, respectively. Both genes are involved in macrophage function, crucial for Mycobacterium tuberculosis latency and reactivation. The most significant association ($p=2\times10^{-6}$) was for the AGMO SNP in the early-onset subset, highlighting the importance of considering age at onset in genetic studies of PTB. These findings, though suggestive, offer promising directions for future research into the genetics of PTB.

Réferences

1. EL Baghdadi J, Orlova M, Alter A, Ranque B, Chentoufi M, Lazrak F, Archane MI, Casanova JL, Benslimane A, Schurr E, Abel L. An autosomal dominant major gene confers predisposition to pulmonary tuberculosis in adults. J Exp Med. 2006 Jul 10;203(7):1679-84. doi: 10.1084/jem.20060269. Epub 2006 Jun 26. PMID: 16801399; PMCID: PMC2118352.
2. El Baghdadi J*, Grant AV*, Sabri A, El Azbaoui S, Alaoui-Tahiri K, Abderrahmani Rhorfi I, Gharbaoui Y, Abid A, Benkirane M, Raharimanga V, Richard V, Orlova M, Boland A, Migaud M, Okada S, Nolan DK, Bustamante J, Barreiro LB, Schurr E, Boisson-Dupuis S, Rasolofo V, Casanova JL, Abel L. Age-dependent association between pulmonary tuberculosis and common TOX variants in the 8q12-13 linkage region. Am J Hum Genet. 2013 Mar 7;92(3):407- 14. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.01.013. Epub 2013 Feb 14. PMID: 23415668; PMCID: PMC3591857.
3. Abel L, El-Baghdadi J, Bousfiha AA, Casanova JL, Schurr E. Human genetics of tuberculosis: a long and winding road. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2014 May 12;369(1645):20130428. doi: 10.1098/rstb.2013.0428. PMID: 24821915; PMCID: PMC4024222.
4. Sabri A, Grant AV, Cosker K, El Azbaoui S, Abid A, Abderrahmani Rhorfi I, Souhi H, Janah H, Alaoui-Tahiri K, Gharbaoui Y, Benkirane M, Orlova M, Boland A, Deswarte C, Migaud M, Bustamante J, Schurr E, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Abel L, El Baghdadi J. Association study of genes controlling IL-12-dependent IFN-γ immunity: STAT4 alleles increase risk of pulmonary tuberculosis in Morocco. J Infect Dis. 2014 Aug 15;210(4):611-8. doi: 10.1093/infdis/jiu140. Epub 2014 Mar 8. PMID: 24610875; PMCID: PMC4111910.
5. Grant AV, Sabri A, Abid A, Abderrahmani Rhorfi I, Benkirane M, Souhi H, Naji Amrani H, Alaoui-Tahiri K, Gharbaoui Y, Lazrak F, Sentissi I, Manessouri M, Belkheiri S, Zaid S, Bouraqadi A, El Amraoui N, Hakam M, Belkadi A, Orlova M, Boland A, Deswarte C, Amar L, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Schurr E, Abel L*, El Baghdadi J*, Abel L. A genome-wide association study of pulmonary tuberculosis in Morocco. Hum Genet. 2016 Mar;135(3):299- 307.