


DOI 10.18699/vjgb-24-85

Транскрипционный фактор TCF4: структура, функции и ассоциированные заболевания

Р.Р. Савченко , Н.А. Скрыбин 

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

 renata.savchenko@medgenetics.ru

Аннотация. На сегодняшний день имеются ограниченные знания об основных характеристиках генов человека, их структуре, функции и механизмах регуляции экспрессии. Биологическая роль около 20 % белковых продуктов генов до сих пор не установлена, а молекулярные функции известной части протеома остаются недостаточно изученными. Данное обстоятельство ограничивает прогресс как фундаментальных, так и прикладных биологических и медицинских наук, в особенности в случае терапии наследственных болезней, патогенез которых обусловлен наличием вариантов в нуклеотидной последовательности отдельных генов. В связи с этим возрастает необходимость проведения исследований, направленных на изучение функций генов, а также молекулярных патогенетических путей, связанных с развитием моногенных заболеваний. Наша статья посвящена гену *TCF4*, кодирующему широко экспрессируемый фактор транскрипции, важный для развития и функционирования нервной системы. К настоящему времени установлено, что патогенные варианты в этом гене приводят к развитию редкого генетического заболевания, известного как синдром Питта–Хопкинса, а полиморфные варианты в *TCF4* ассоциированы с рядом социально значимых заболеваний, представленных различными психическими расстройствами. Молекулярные механизмы патогенеза подобных состояний по-прежнему остаются неизученными, а знания о вышестоящей регуляции TCF4 и его нижестоящих генах-мишенях ограничены. Сложность структурной организации и особенности регуляции экспрессии гена обеспечивают многообразие изоформ TCF4, что затрудняет понимание молекулярных функций белка. В обзоре рассмотрены известные данные о структуре и функциях фактора транскрипции TCF4. Обсуждаются потенциальные гены-мишени и возможные патогенетические механизмы, обусловленные потерей функции этого белка, выявленные в исследованиях на животных и клеточных моделях синдрома Питта–Хопкинса. Рассмотрены преимущества и ограничения потенциальных стратегий терапии указанного синдрома, основанные на компенсации дозы TCF4 или воздействии на молекулярные мишени изучаемого транскрипционного фактора.

Ключевые слова: TCF4; синдром Питта–Хопкинса; bHLH; психические расстройства; расстройства аутистического спектра; терапия синдрома Питта–Хопкинса.


Для цитирования: Савченко Р.Р., Скрыбин Н.А. Транскрипционный фактор TCF4: структура, функции и ассоциированные заболевания. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(7):770-779. DOI 10.18699/vjgb-24-85

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 23-75-01138.

Transcription factor TCF4: structure, function, and associated diseases

R.R. Savchenko , N.A. Skryabin 

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

 renata.savchenko@medgenetics.ru

Abstract. Our understanding of human genes – particularly their structure, functions, and regulatory mechanisms – is still limited. The biological role of approximately 20 % of human proteins has not been established yet, and the molecular functions of the known part of the proteome remain poorly understood. This hinders progress in basic and applied biological and medical sciences, especially in treating hereditary diseases, which are caused by mutations and polymorphic variants in individual genes. Therefore, it is crucial to comprehend the mechanisms of protein functioning to address this problem. This further emphasizes the importance of investigating gene functions and molecular pathogenic pathways associated with single-gene inherited diseases. This review focuses on the *TCF4* gene that encodes a transcription factor crucial for nervous system development and functioning. Pathogenic variants in this gene have been linked to a rare genetic disorder, Pitt–Hopkins syndrome, and *TCF4* polymorphic variants are associated with several socially significant diseases, including various psychiatric disorders. The pathogenetic mechanisms of these conditions remain unexplored, and the knowledge about *TCF4* upregulation and its target genes is limited. TCF4 can be expressed in various isoforms due to the complex structure and regulation of its gene, which complicates the investigation of the protein's functions. Here, we consider the structure and functions of the TCF4 transcription factor. We discuss

its potential target genes and the possible loss-of-function pathogenetic mechanisms identified in animal and cellular models of Pitt–Hopkins syndrome. The review also examines the advantages and limitations of potential therapies for Pitt–Hopkins syndrome that are based on TCF4 dosage compensation or altering the activity of TCF4 target genes.

Key words: TCF4; Pitt–Hopkins syndrome; bHLH; mental disorders; autism spectrum disorders; Pitt–Hopkins syndrome therapy.

For citation: Savchenko R.R., Skryabin N.A. Transcription factor TCF4: structure, function, and associated diseases. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(7):770–779. DOI 10.18699/vjgb-24-85

Введение

На сегодняшний день одна из важнейших проблем медицинской генетики связана с недостаточным пониманием роли белковых продуктов генов, которые вовлечены в молекулярные пути, лежащие в основе развития ряда наследственных болезней. Эта проблема становится особенно актуальной в случае транскрипционных факторов, поскольку белки данной группы регулируют экспрессию многих других генов, обладают плейотропными эффектами и имеют критическое значение для нормального протекания различных биологических процессов. Один из подобных транскрипционных факторов кодируется геном *TCF4*. Патогенные варианты в этом гене служат причиной развития синдрома Питта–Хопкинса (Amiel et al., 2007; Brockschmidt et al., 2007; Zweier et al., 2007), а полиморфные варианты ассоциированы с различными психическими расстройствами, включая шизофрению, биполярное расстройство, большое депрессивное расстройство и посттравматическое стрессовое расстройство (Stefansson et al., 2009; Smoller et al., 2013; Wray et al., 2018).

Белок TCF4 имеет критическое значение для развития и функционирования мозга, участвуя в дифференцировке и миграции нервных клеток, регуляции возбудимости нейронов, нейрональной пластичности и некоторых других процессах (Imayoshi, Kageyama, 2014; Kennedy et al., 2016; Li H. et al., 2019; Mesman et al., 2020; Phan et al., 2020). Несмотря на большое количество данных, указывающих на важную роль *TCF4*, молекулярные механизмы, посредством которых патогенные варианты в этом гене приводят к нарушению развития и функционирования клеток нервной системы, остаются практически неизученными. Настоящий обзор направлен на обобщение информации в области структуры и функций TCF4, его известных молекулярных мишеней, заболеваний, связанных с вариантами в *TCF4*, а также возможных подходов к их терапии.

Структура TCF4, особенности экспрессии и известные функции

Ген *TCF4* (также известный как *ITF2*, *PTHS*) локализован на хромосоме 18 в регионе 18q21.2 и содержит 41 экзон, из которых 20 экзонов являются альтернативными 5'-экзонами (некодирующие белок экзоны, включение или исключение которых из зрелой мРНК регулирует экспрессию более длинных или коротких изоформ белка), 20 – внутренними белок-кодирующими экзонами и один – 3'-некодирующим экзоном (Sepp et al., 2011). *TCF4* кодирует фактор транскрипции, содержащий основной структурный мотив спираль-петля-спираль (от англ. basic helix-loop-helix, bHLH). Белки этой группы содержат ДНК-связывающий домен и, образуя гомо- и гетеродимеры, регулируют экспрессию генов. В зависимости от

типов образуемых ими димеров, паттерна экспрессии и специфичности связывания ДНК, белки, содержащие bHLH, подразделяют на шесть групп. Транскрипционный фактор TCF4 относится к группе E-белков (или bHLH-белков класса I), распознающих последовательности E-box (CANNTG), расположенные в промоторных и энхансерных областях генов-мишеней (Schoof et al., 2020). Домен bHLH представляет собой высококонсервативный мотив, состоящий из региона основных аминокислот, за которым следует две амфипатические α -спирали, соединенные петлей. Регион основных аминокислот напрямую связывается с последовательностью E-box, в то время как α -спирали обеспечивают димеризацию.

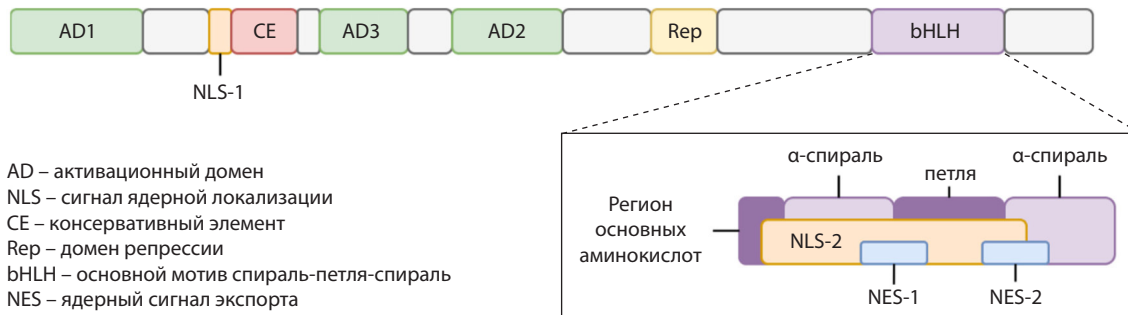
Наличие альтернативных сайтов инициации транскрипции, расположенных перед некодирующими экзонами 1, 3, 4, 5, 7, 8 и 10, определяет по меньшей мере 18 изоформ TCF4, содержащих относительно консервативные C-концевые домены основного структурного мотива спираль-петля-спираль и отличающихся N-концевыми участками, ответственными за регуляцию транскрипции. Однако следует отметить, что разнообразие транскриптов *TCF4* еще выше за счет альтернативного сплайсинга внутренних кодирующих экзонов (Teixeira et al., 2021).

Полноразмерные транскрипты *TCF4* включают следующие структурные элементы: bHLH-домен, активационные домены (AD1, AD2 и AD3), внутримолекулярные регуляторные домены CE и Rep, сигналы ядерной локализации NLS-1 и NLS-2, ядерные сигналы экспорта NES-1 и NES-2, последовательность из четырех аминокислотных остатков RSRS (рис. 1).

Помимо домена bHLH, активационные домены AD1, AD2 и AD3 могут совместно или независимо друг от друга регулировать экспрессию генов-мишеней в зависимости от типа клеток. Показано, что домен AD1 связывает коактиваторы и корепрессоры транскрипции. Домен AD2 обладает способностью связывать коактиваторы транскрипции, однако о взаимодействии с корепрессорами данных нет. Коактиваторы и корепрессоры транскрипции конкурируют за связывание с доменом AD1, в результате чего TCF4 способен как активировать, так и подавлять экспрессию генов (Teixeira et al., 2021).

Домен AD3 напрямую взаимодействует с субъединицей TAF4 общего транскрипционного фактора II D, что приводит к усилению преинициации РНК-полимеразы II на генах-мишенях, однако как именно AD3 участвует в регуляции экспрессии генов, осуществляемой TCF4, пока неясно (Teixeira et al., 2021).

Транскрипционная активность *TCF4* регулируется также упомянутыми ранее доменами CE и Rep. Консервативный элемент (conserved element, CE), расположенный между активационными доменами AD1 и AD3, может



AD – активационный домен
NLS – сигнал ядерной локализации
CE – консервативный элемент
Rep – домен репрессии
bHLH – основной мотив спираль-петля-спираль
NES – ядерный сигнал экспорта

Рис. 1. Схематическое изображение структуры полноразмерного белка TCF4.

Рисунок взят из статьи (Teixeira et al., 2021), с изменениями.

подавлять активность AD1. Домен репрессии (repression domain, Rep), расположенный между AD2 и bHLH, способен подавлять активность AD1 и AD2. Вероятно, оба этих домена могут предотвращать рекрутирование транскрипционных кофакторов и, как следствие, подавлять AD1-опосредованную активацию или репрессию транскрипции (Teixeira et al., 2021).

Наконец, наличие мотива из четырех аминокислотных остатков RSRS (Arg-Ser-Arg-Ser), расположенного между доменами Rep и bHLH, тоже может приводить к снижению транскрипционной активности.

Сложность структурной организации *TCF4*, а также особенности регуляции экспрессии данного гена обеспечивают многообразие изоформ TCF4, которые могут содержать разные структурные домены. Поскольку все транскрипты *TCF4* включают экзоны 10–20, все изоформы кодируемого белка содержат активационные домены AD2 и AD3, а также домены bHLH, Rep, NLS-2, NES-1 и NES-2. Только четыре более длинные изоформы белка содержат полный активационный домен AD1, в то время как другие изоформы содержат только его часть либо не содержат вообще (Sepp et al., 2011). Кроме того, в литературе описаны так называемые Δ-изоформы, которые отличаются отсутствием доменов NLS-1 и CE. Наконец, наличие альтернативных сайтов сплайсинга в экзоне 18 приводит к включению или исключению сегмента, кодирующего последовательность RSRS, присутствующего в положительных (+) и отсутствующего в отрицательных (–) изоформах белка (Sepp et al., 2011). Вопрос о том, чем различные изоформы отличаются друг от друга с точки зрения регуляции транскрипции, на сегодняшний день остается открытым.

Как и для большинства генов, кодирующих E-белки, экспрессия *TCF4* характерна практически для всех тканей организма и достигает максимальных значений в структурах головного мозга (The Human Protein Atlas, <https://www.proteinatlas.org>). Некоторые транскрипты *TCF4* являются тканеспецифичными, тогда как другие имеют широкий пространственный паттерн экспрессии. Более того, количественное соотношение одних и тех же транскриптов может варьировать в разных тканях. Анализ экспрессии, проведенный с помощью ОТ-ПЦР, показал, что большинство транскриптов *TCF4* экспрессируются в головном мозге, за исключением пяти, обнаруженных в семенниках (Sepp et al., 2011). Экспрессия *TCF4* регули-

руется также в процессе онтогенеза, причем максимальная активность наблюдается в период внутриутробного развития (Sepp et al., 2011). Показано, что экспрессия *TCF4* в головном мозге значительно возрастает в конце пренатального периода и снижается до базового уровня, сохраняющегося на протяжении всей жизни, у новорожденных (Li M. et al., 2018).

У человека белок TCF4 экспрессируется в переднем мозге и желудочковой системе головного мозга во время развития плода и сохраняется в переднем мозге и мозжечке у взрослых. Кроме головного мозга, TCF4 обнаруживается в олигодендроцитах спинного мозга (Chen H.Y. et al., 2021).

Большое количество изоформ TCF4 осложняет понимание молекулярных функций данного белка. Функциональные особенности конкретных изоформ TCF4 зависят от того, какой 5'-экзон и внутренние экзоны включены в транслируемый транскрипт. В зависимости от структуры изоформ осуществляется дифференциальная регуляция как субклеточной локализации, так и особенностей транскрипционной регуляции. Например, изоформы, содержащие NLS, локализованы в ядре, в то время как изоформам, не имеющим NLS, требуется партнер по гетеродимеризации, чтобы получить доступ к ядру (Chen H.Y. et al., 2021).

Как было отмечено ранее, TCF4 является транскрипционным фактором. Его связывают с регуляцией гемопоэза, миогенеза, нейрогенеза, меланоцитогенеза, остеогенеза, а также с дифференцировкой эндотелиальных клеток, клеток молочной железы и клеток Сертоли (Teixeira et al., 2021). Помимо регуляции транскрипции, TCF4, по-видимому, имеет критическое значение для нормального развития и функционирования нервной системы. Данный белок образует гетеродимеры с транскрипционными факторами ATOH1, ASCL1, NEUROD1 и NEUROD2, играющими важную роль в развитии нервной системы (Wittmann, Häberle, 2018). Известно, что продукт гена *TCF4* важен для развития и нормального функционирования головного мозга, участвуя в таких процессах, как дифференцировка нейрональных клеток-предшественников в нейроны, олигодендроциты и астроциты (Imayoshi, Kageyama, 2014), созревание, миграция и функционирование нейронов, миелинизация олигодендроцитов, синаптическая пластичность и др. (Kennedy et al., 2016; Li H. et al., 2019; Mesman et al., 2020; Phan et al., 2020).

Заболевания, ассоциированные с полиморфными вариантами в TCF4

Вариант	Частота	ОШ (95 % ДИ)	Заболевание	Литературный источник
rs9960767[C]	0.06	1.3 (1.11–1.51), $p = 0.001$	Шизофрения	Stefansson et al., 2009
rs17512836[C]	0.02	1.23 (1.14–1.31), $p = 1.05 \times 10^{-6}$	Шизофрения, БР, РАС	Ripke et al., 2011; Smoller et al., 2013
rs4309482[A]	0.58	1.09 (1.06–1.12), $p = 7.8 \times 10^{-9}$	Шизофрения	Steinberg et al., 2011
rs9960767[C]	0.03	0.68 (0.41–1.13), $p = 0.134$		Bocharova et al., 2017
rs17594526[T]	0.01	0.60 (0.25–1.42), $p = 0.238$		Bocharova et al., 2017
rs12958048 [A]	0.33	1.03 (н. д.), $p < 1 \times 10^{-5}$	Большое депрессивное расстройство	Wray et al., 2018
rs2123392 [C]	Н. д.	Н. д.	ПТСР	Gelernter et al., 2019
rs613872 [G]	0.37	5.47 (3.75–7.99), $p = 1 \times 10^{-18}$	Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса	Baratz et al., 2010
rs784257[G]	0.48	4.94 (4.45–5.58), $p = 2.5 \times 10^{-200}$		Afshari et al., 2017
rs1452787[G]	0.23	0.75 (0.68–0.83), $p = 2.61 \times 10^{-8}$	Склерозирующий холангит	Ellinghaus et al., 2013

Примечание. ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; БР – биполярное расстройство; РАС – расстройства аутистического спектра; ПТСР – посттравматическое стрессовое расстройство; н. д. – нет данных.

Заболевания, ассоциированные с TCF4

В ряде исследований говорится о возможной роли *TCF4* в патогенезе различных социально значимых заболеваний. Широкогеномные ассоциативные исследования показывают, что полиморфные варианты в *TCF4*, преимущественно локализованные в некодирующих областях гена, ассоциированы с разными психическими расстройствами, включая шизофрению (Stefansson et al., 2009; Ripke et al., 2011; Steinberg et al., 2011; Smoller et al., 2013; Bocharova et al., 2017), биполярное расстройство и расстройства аутистического спектра (Smoller et al., 2013), большое депрессивное расстройство (Wray et al., 2018) и посттравматическое стрессовое расстройство (Gelernter et al., 2019). Кроме того, варианты в *TCF4* ассоциированы с эндотелиальной дистрофией роговицы Фукса (Afshari et al., 2017; Fautsch et al., 2021) и склерозирующим холангитом (Ellinghaus et al., 2013). Однако на сегодняшний день неизвестно, являются ли данные полиморфные варианты причиной развития указанных заболеваний. Исключение составляет эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса; большинство пациентов с этим диагнозом характеризуются экспансией тринуклеотидного повтора (СТG)n в интроне 3 гена *TCF4*, приводящей к ошибкам сплайсинга (Du et al., 2015; Папанян и др., 2019) (см. таблицу).

В 2007 г. в нескольких независимых исследованиях было показано, что гетерозиготное носительство патогенных вариантов в гене *TCF4* приводит к развитию редкого наследственного заболевания – синдрома Питта–Хопкинса (СПХ) (Amiel et al., 2007; Brockschmidt et al., 2007; Zweier et al., 2007). Несмотря на фенотипические различия, для большинства пациентов с данным синдромом характерен специфический набор дисморфических черт лица в сочетании с умственной отсталостью, нарушениями сенсомоторной активности, задержкой речи, а также генерализованной мышечной гипотонией. Около 78 % пациентов часто совершают стереотипные и интенсивные повторяющиеся движения, что позволяет отнести СПХ к расстройствам аутистического спектра. Приблизительно у половины пациентов с СПХ наблюдаются аномальные паттерны дыхания и примерно у трети развиваются эпилептические припадки. Кроме того, с помощью магнит-

но-резонансной томографии у пациентов с СПХ был выявлен ряд аномалий головного мозга, включая маленькое или отсутствующее мозолистое тело, большие желудочки и аномальную форму задней черепной ямки (Teixeira et al., 2021).

Спектр мутаций в *TCF4*, обнаруженных у пациентов с СПХ, включает миссенс- (~15 % случаев), нонсенс- (~15 %) и точечные мутации сайта сплайсинга (~10 %), небольшие инсерции или делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания (~30 %), а также транслокации и большие делеции, частично или полностью охватывающие *TCF4* (~30 %) (Teixeira et al., 2021). По некоторым оценкам, распространенность СПХ, обусловленного хромосомными делециями, в мире составляет 1/34000–1/41000 (Rosenfeld et al., 2009).

В зависимости от локализации и типа мутации белковые продукты *TCF4* поражаются по-разному. Большинство миссенс-мутаций затрагивают экзон 19, кодирующий домен bHLH. Часть миссенс-мутаций затрагивает экзоны 15 и 18, кодирующие активационный домен AD2 и регуляторный домен Rep соответственно. Поскольку все транскрипты *TCF4* содержат данные экзоны, описанные выше патогенные варианты приводят к нарушению всех изоформ белка. Большинство нонсенс-мутаций, мутаций сдвига рамки считывания и мутаций сайтов сплайсинга тоже приводят к повреждению всех изоформ белка, однако если перечисленные мутации поражают 8-й и 9-й экзоны или локализуются до экзона 10a-с, то Δ-изоформы и более короткие изоформы TCF4 сохраняются неизменными. Некоторые транслокации и делеции охватывают только начальные экзоны (с 1-го по 4-й) или промежуточные экзоны (с 5-го по 9-й), сохраняя промежуточные и более короткие изоформы соответственно (Sepp et al., 2012).

Влияние структурного разнообразия и специфического для разных клеток паттерна экспрессии TCF4 на физиологические процессы остается недостаточно изученным, однако предполагается, что разные типы мутаций *TCF4* у индивидов с СПХ могут по-разному влиять на кодируемый белок, обеспечивая фенотипическую изменчивость, наблюдаемую среди пациентов (Bedeschi et al., 2017). К примеру, миссенс-мутации в области, кодирующей

основной структурный мотив «спираль-петля-спираль», или инсерции, приводящие к сдвигу рамки считывания и удлинению аминокислотной последовательности белка, приводят к нарушениям ДНК-связывающей или транскрипционной функций в зависимости от партнера по димеризации (Sepp et al., 2012). Патогенные варианты, затрагивающие область bHLH-домена, ответственную за димеризацию, дестабилизируют белок, тогда как миссенс-мутации вне домена bHLH не вызывают явных функциональных нарушений (Chen H.Y. et al., 2021).

Большинство патогенных вариантов в *TCF4*, встречающихся у пациентов с СПХ, приводят к состоянию гаплогенодефицита, поскольку ограничивают экспрессию определенных или всех транскриптов белка только одним аллелем. В то же время некоторые миссенс-мутации служат причиной частичной или полной потери функции TCF4 в качестве регулятора транскрипции, не влияя при этом на способность к димеризации *in vitro*, что, по-видимому, свидетельствует о доминантно-негативном эффекте данных патогенных вариантов (Forrest et al., 2013). Имеет ли место наблюдаемый эффект *in vivo*, на сегодняшний день неясно; предположительно, он будет очень слабым из-за нестабильности димеров с мутантным TCF4 (Teixeira et al., 2021). Таким образом, очевидно, что СПХ возникает в результате нарушений регуляции экспрессии генов, опосредованной TCF4. Вопрос о том, как именно подобные нарушения могут запускать патофизиологический процесс, остается открытым. J.R. Teixeira с коллегами (2021) предполагают, что этот процесс может быть связан с общими функциями E-белков в регуляции клеточного цикла и специфической ролью TCF4 в процессе дифференцировки клеток.

Молекулярные пути и потенциальные гены-мишени, регулируемые TCF4

К настоящему времени достигнут существенный прогресс в области идентификации вышестоящих регуляторов и нижестоящих генов-мишеней транскрипционного фактора TCF4. Показано, что фармакологическая активация сигнального пути WNT/ β -катенин в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (ИПСК), полученных из нейрональных прогениторных клеток и нейронов пациентов с СПХ, влечет за собой возрастание экспрессии *TCF4* (Hennig et al., 2017). К аналогичному эффекту приводит модификация хроматина, опосредованная ингибированием гистоновых деацетилаз I класса (Kennedy et al., 2016; Hennig et al., 2017). Другими вышестоящими регуляторами, повышающим экспрессию *Tcf4*, выступают TCF3, являющийся членом подгруппы E-белков, и транскрипционный фактор ZAC1 (Schmidt-Edelkraut et al., 2014; Li H. et al., 2019). Авторы предполагают, что регуляция *Tcf4* с помощью TCF3 и других неидентифицированных факторов транскрипции имеет решающее значение для нормального развития коры головного мозга (Li H. et al., 2019) (рис. 2).

В нескольких работах с использованием технологии ChIP-Seq были выявлены прямые мишени TCF4, среди которых *Bmp7* (Chen T. et al., 2016), *Nrxn1* (D'Rozario et al., 2016), *Gadd45g* (Sepp et al., 2017), *Gjb2* и *Plp1* (Wedel et al., 2020). В ряде экспериментов, проведенных на кле-

точных и животных моделях, обнаружены следующие молекулярные мишени TCF4: *Scn10a* (*Nav1.8*) и *Kcnq1* (*Kv7.1*) (Rannals et al., 2016; Martinowich et al., 2022), *Wnt7b* (Wang et al., 2020), *Gadd45g*, *Syn* и *Dlg1* (Tamberg et al., 2020). В совокупности результаты данных исследований указывают на то, что TCF4 является регулятором генов, экспрессирующихся и участвующих в развитии мозга, дифференцировке нервных клеток, возбудимости нейронов, функционировании синапсов и выживании (см. рис. 2).

В то же время, согласно данным литературы, TCF4 имеет более 10000 сайтов связывания в геноме, которые могут быть отнесены к более чем 5000 генов (Forrest et al., 2018; Xia et al., 2018). В свете этого становится очевидным, что подавляющее большинство молекулярных мишеней изучаемого транскрипционного фактора по-прежнему остаются неидентифицированными. Поэтому задача выявления молекулярных путей и потенциальных мишеней, регулируемых TCF4, имеет большое значение с фундаментальной точки зрения для изучения процессов, регулируемых транскрипционными факторами. Кроме того, понимание механизмов функционирования генных сетей и поиск ключевых молекулярных мишеней TCF4 могут существенно повлиять на разработку терапевтических стратегий в случаях *TCF4*-ассоциированных заболеваний.

На сегодняшний день известно несколько исследований с использованием животных моделей, в которых были предприняты попытки оценить изменения транскрипционного профиля, обусловленные мутациями *TCF4*. В работах, выполненных на модельных системах грызунов, в качестве нижестоящих мишеней TCF4 рассматриваются гены, кодирующие калиевые и натриевые ионные каналы – *Kcnq1* и *Scn10a* (Rannals et al., 2016; Martinowich et al., 2022). Оба исследования демонстрируют возрастание экспрессии данных генов на фоне потери функции TCF4, что позволяет рассматривать этот транскрипционный фактор в качестве регулятора процессов возбудимости нейронов. В других работах сообщается о снижении экспрессии гена *Arc*, белковый продукт которого важен для процессов синаптической пластичности, обработки информации и памяти (Kennedy et al., 2016), а также гена *Wnt7b*, который рассматривается как ключевая мишень TCF4 в регуляции миграции нейрональных клеток-предшественников во время развития зубчатой извилины гиппокампа (Wang et al., 2020) (см. рис. 2).

Несколько исследований демонстрируют, что для мышей с мутациями *Tcf4* характерны возрастание экспрессии генов, связанных с пролиферацией клеток-предшественников нейронов, и подавление экспрессии генов, вовлеченных в нейрональную дифференцировку и миграцию (Li H. et al., 2019), нейрогенез и созревание нейронов (Mesman et al., 2020). B.D.N. Phan с коллегами (2020) сообщают также о нарушении паттерна экспрессии генов, характерного для олигодендроцитов, в частности генов, вовлеченных в критически важный для обеспечения нормальной функции данного типа клеток процесс миелинизации (см. рис. 2).

Таким образом, проведенные исследования позволяют утверждать, что TCF4 имеет критическое значение для развития и функционирования мозга, и предлагают потенциальные мишени, регулируемые этим транскрипци-

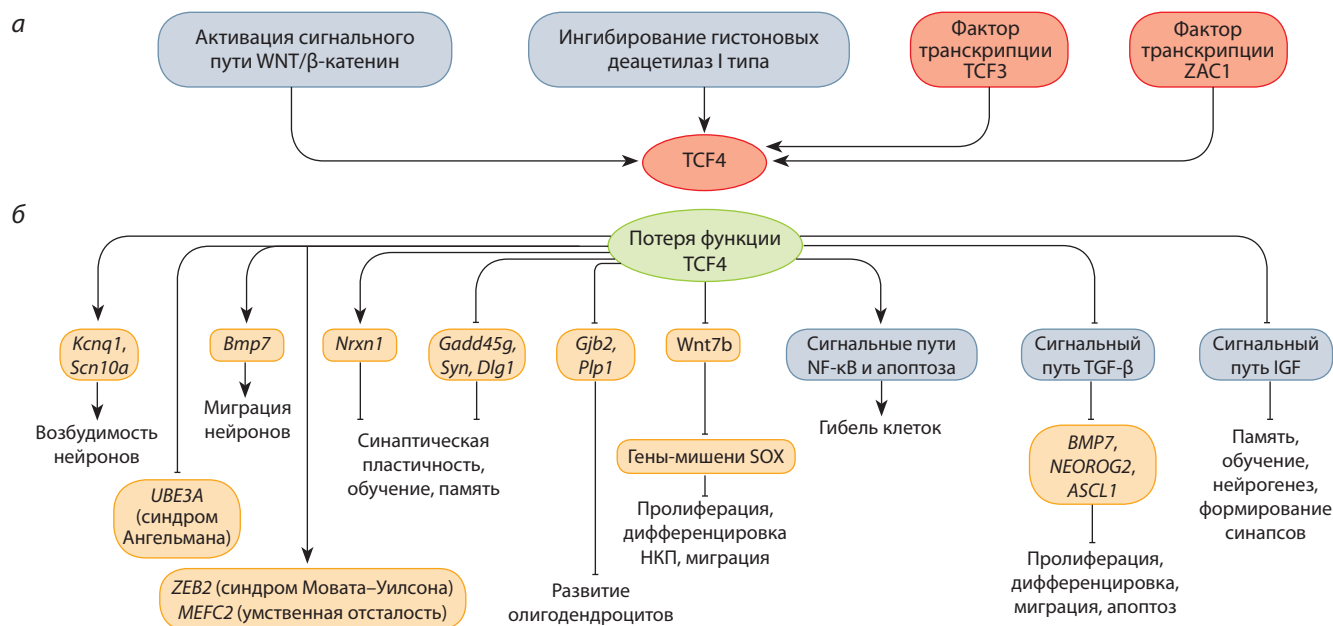


Рис. 2. Вышестоящая регуляция TCF4 и его потенциальные молекулярные мишени.

а – вышестоящая регуляция TCF4; **б** – молекулярные пути и потенциальные гены-мишени, регулируемые TCF4. НКП – нейрональные клетки-предшественники. Стрелки с заостренными концами – активация, с тупыми – ингибирование.

онным фактором. Однако животные модельные системы имеют ряд недостатков, связанных с ограничениями экстраполяции результатов, полученных в подобных моделях, на человека. К примеру, известно, что гаплонедостаточность TCF4 у пациентов с СПХ приводит к развитию клинической картины, тогда как мыши, гетерозиготные по мутациям *Tcf4* (*wt/Tcf4*), как правило, демонстрируют более мягкие фенотипы (Thaxton et al., 2018; Li H. et al., 2019; Mesman et al., 2020; Wang et al., 2020). По-видимому, эти различия обусловлены существенными отличиями между строением и развитием мозга грызунов и человека, которые не должны игнорироваться. Это обстоятельство диктует необходимость проведения исследований на нервных клетках человека.

В работе (Papes et al., 2022) фибробласты, полученные от пациентов с СПХ, были репрограммированы в ИПСК с последующей дифференцировкой в нейрональные клетки-предшественники, нейроны и органоиды головного мозга. Авторы показали, что нейрональные клетки-предшественники с мутациями в *TCF4* характеризуются сниженной пролиферацией и нарушением процесса дифференцировки в нейроны, а органоиды головного мозга – аномальным клеточным составом и размерами (Papes et al., 2022). На основании результатов РНК-секвенирования авторы предполагают, что потеря функции TCF4 приводит к нарушениям сигнального пути Wnt и, как следствие, к снижению экспрессии генов-мишеней SOX, что в конечном итоге снижает пролиферацию клеток-предшественников (Papes et al., 2022). Восстановление экспрессии *TCF4* или фармакологическая коррекция нарушений сигнального пути Wnt способствует частичной коррекции аберрантных фенотипов. Полученные результаты указывают на возможные терапевтические стратегии генетических нарушений, связанных с *TCF4*.

В литературе описано несколько экспериментов, моделирующих нарушения функции TCF4 с использованием SH-SY5Y, интересных с точки зрения понимания молекулярных механизмов, регулируемых этим транскрипционным фактором. Микроматричный анализ транскрипционного профиля, проведенный в клеточной линии SH-SY5Y на фоне нокадауна *TCF4*, позволил выявить ДЭГ, вовлеченные в сигнальный путь TGFβ, эпителиально-мезенхимальный переход, нейрональную дифференцировку и апоптоз (Forrest et al., 2013). При этом наиболее выраженной дифференциальной экспрессией характеризовались гены, кодирующие транскрипционные факторы EMT, SNAI2 и DEC1, а также пронеуральные гены *NEUROG2* и *ASCL1* и гены, связанные с умственной отсталостью, такие как *UBE3A* (синдром Ангельмана), *ZEB2* (синдром Мовата-Уилсона). Полученные данные свидетельствуют о том, что TCF4 регулирует ряд молекулярных путей, связанных с дифференцировкой и выживанием нервных клеток, а также клинически значимых для патогенеза умственной отсталости генов.

В другом исследовании (Xia et al., 2018) был проведен анализ ДНК-белковых взаимодействий с помощью технологии ChIP-seq в клетках SH-SY5Y, чтобы идентифицировать сайты связывания TCF4 по всему геному. Такой подход позволил выявить более 10000 сайтов связывания, которые могут быть отнесены к более чем 5500 генам. Анализ обогащения потенциальных генов-мишеней выявил пути, связанные с развитием нейронов, а также перекрывания с генами, посмертно гипохспрессирующимися в мозге пациентов с шизофренией. Эта информация в очередной раз подчеркивает важность TCF4 для развития и функционирования мозга и указывает на существование общих для СПХ и шизофрении патогенетических молекулярных путей (Xia et al., 2018).

Таким образом, исследования, проведенные на животных моделях СПХ, выявили множество фенотипов, дающих важную биологическую информацию об этом заболевании. Описанные фенотипы наблюдаются на протяжении всей жизни, начиная с нарушений в развитии коры головного мозга, дифференцировки и созревания нервных клеток и заканчивая нарушениями процессов возбудимости нейронов, синаптической пластичности и поведенческих функций у взрослых животных. Несмотря на то что эксперименты с использованием микроматричного анализа транскрипционного профиля и РНК-секвенирования не указывают на прямые гены-мишени TCF4, они подчеркивают важную роль этого транскрипционного фактора в процессах нейрогенеза и демонстрируют крупномасштабную картину генных сетей, потенциально находящихся под влиянием TCF4. Понимание молекулярных путей и выявление генов-мишеней, регулируемых TCF4, важно не только с фундаментальной точки зрения, но имеет также решающее значение для понимания патогенеза ассоциированных с данным геном заболеваний и поиска потенциальных терапевтических мишеней.

Возможные пути терапии синдрома Питта–Хопкинса

Пациенты с синдромом Питта–Хопкинса нуждаются в медицинской помощи на протяжении всей жизни, однако современные подходы к терапии заболевания направлены на симптоматическое лечение. Несмотря на то что эффективного способа лечения СПХ не существует, продолжают исследования, направленные на понимание молекулярных механизмов патогенеза данного заболевания и поиск потенциальных терапевтических мишеней. К настоящему времени в доклинических исследованиях на мышинных моделях СПХ было проверено несколько потенциальных терапевтических подходов. Первый связан с коррекцией транскрипционной активности генов с помощью ингибиторов деацетилаз гистонов, использование которых связывают с улучшением памяти и обучаемости. Введение ингибитора деацетилаз гистонов SANA мышам с гетерозиготными мутациями *Tcf4* (делеция экзона, кодирующего bHLH-домен) приводило к улучшению когнитивных функций и памяти (Kennedy et al., 2016). В других работах в качестве терапевтической мишени выбран натриевый потенциал-зависимый канал NaV1.8, кодируемый геном *SCN10A*. Нарушение функции TCF4 приводит к эктопической сверхэкспрессии *Scn10a*, а фармакологическое ингибирование NaV1.8 в мышинных моделях СПХ эффективно в отношении восстановления некоторых физиологических и поведенческих функций (Ekins et al., 2020; Cleary et al., 2021; Martinowich et al., 2022). В частности, S. Ekins с коллегами использовали в качестве ингибитора NaV1.8 препарат никардипин, одобренный управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) и применяемый в кардиологии (Ekins et al., 2020). Существуют и другие селективные ингибиторы NaV1.8, безопасность которых для человека доказана в клинических исследованиях (Hijma et al., 2021, 2022). С учетом данных фактов тестирование антагонистов NaV1.8 для терапии СПХ имеет значительный потенциал.

Обсуждаемые стратегии выбирают в качестве терапевтических мишеней либо вышестоящие регуляторы активности TCF4, либо нижестоящие гены-мишени этого транскрипционного фактора. Несмотря на успехи перечисленных подходов в животных моделях, они имеют некоторые ограничения. Воздействие на вышестоящие регуляторы TCF4, вероятно, не будет обладать достаточной специфичностью и повлечет за собой нежелательные побочные реакции, возникающие из-за нецелевых транскрипционных эффектов. Ограничения второго подхода связаны с тем, что TCF4 регулирует экспрессию сотен или тысяч других генов (Forrest et al., 2013; Hill et al., 2017; Xia et al., 2018; Torshizi et al., 2019), что в значительной степени усложняет поиск ключевых генов-модификаторов транскрипции и коррекцию их уровня экспрессии.

Поскольку основная причина заболевания связана с потерей функции *TCF4*, можно предположить, что восстановление экспрессии гена с помощью антисмысловых олигонуклеотидов или генотерапии окажется наиболее эффективным способом лечения. Однако с учетом того, что пик экспрессии *TCF4* у человека приходится на пренатальный период, после чего снижается до базального уровня, который поддерживается на протяжении всей жизни (Rannals et al., 2016; Phan et al., 2020), возникает вопрос о возможности восстановления физиологических и поведенческих функций пациентов с СПХ в результате нормализации экспрессии данного гена в постнатальном периоде. Помимо того, остается неясным, до какой степени необходимо повышать экспрессию *TCF4*. Регулирование дозы гена чрезвычайно важно, поскольку заболевание может развиваться как из-за слишком низкого, так и из-за слишком высокого уровня экспрессии. Патогенные варианты в *TCF4*, приводящие к гаплонедостаточности, могут вызывать нарушения нервного развития, в то время как полиморфные варианты, локализованные в некодирующих регионах гена, приводят к сверхэкспрессии и, по-видимому, связаны с шизофренией.

В недавнем исследовании Н. Kim с коллегами (2022), проведенном с использованием мышинной модели СПХ, было показано, что развитие фенотипов, характерных для данного синдрома, можно предотвратить или частично скорректировать путем нормализации экспрессии *Tcf4*, причем степень эффективности терапевтического вмешательства зависит от времени воздействия и его специфичности в отношении типа клеток. Панклеточное восстановление экспрессии *Tcf4* в эмбриональном периоде полностью предотвращало развитие фенотипов, характерных для СПХ. Селективное восстановление экспрессии гена в возбуждающих или тормозных нейронах в эмбриональном периоде приводило к восстановлению ряда поведенческих функций. Наконец, постнатальное восстановление экспрессии *Tcf4* с помощью аденоассоциированных вирусных векторов в нейронах снижало тревожно-подобное поведение, стимулировало активность, врожденное поведение и способствовало улучшению памяти. Кроме того, благодаря этому подходу частично восстанавливались показатели ЭЭГ и корректировались уровни экспрессии ряда генов-мишеней *Tcf4* (Kim et al., 2022).

Генная терапия на основе вирусных векторов имеет большие перспективы в части лечения заболеваний, кото-

рые ранее считались неизлечимыми. Согласно базе Gene Therapy Clinical Trials Worldwide, на март 2023 г. наиболее часто в клинических исследованиях использовались векторы на основе аденовирусов, ретровирусов, лентивирусов и аденоассоциированных вирусов (<https://a873679.fmphost.com/fmi/webd/GTCT>; дата обращения 29.06.2024). Использование каждой векторной системы на основе вирусов имеет преимущества и нежелательные эффекты. К последним можно отнести развитие иммунного ответа, цитотоксичность, риски геномной интеграции, а также риски, связанные с возникновением *de novo* репликативно-компетентных вирусов (Ertl, 2022; Leikas et al., 2023; Lundstrom, 2023).

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что генотерапевтические подходы к восстановлению экспрессии *TCF4* могут быть эффективны для пациентов с СПХ. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования, позволяющие определить, в какой степени восстановление экспрессии *Tcf4* в разные периоды онтогенеза может помочь скорректировать нарушение поведенческих и физиологических функций. Результаты подобных работ могут пролить свет на понимание эффективности терапии для разных возрастных групп пациентов с СПХ. Кроме того, потенциальные методы лечения с помощью коррекции уровня экспрессии *TCF4* должны будут обеспечить соответствующее биораспределение кодируемого белка, поскольку проведенные исследования показывают, что восстановление активности гена лишь в определенных клетках и структурах головного мозга может приводить к нормализации ряда поведенческих и физиологических функций у лабораторных животных (Kim et al., 2022). Один из основных плюсов генной терапии СПХ заключается в том, что данный подход не требует понимания молекулярных механизмов патогенеза, так как воздействует на основную причину заболевания – нарушение или потерю функции TCF4. Тем не менее, если подходы генной терапии для человека в постнатальном периоде окажутся неэффективными или не будут реализованы внутриутробно, по-видимому, основной фокус исследований необходимо будет сместить на поиск стратегий лечения, воздействующих на регулируемые TCF4 молекулярные пути и нижестоящие гены-мишени.

Заключение

К настоящему времени накоплено значительное количество экспериментальных данных, демонстрирующих важную роль транскрипционного фактора TCF4 в развитии и функционировании нервной системы. Показано, что нарушения структуры и функций *TCF4* приводят к развитию синдрома Питта–Хопкинса, а варианты в гене ассоциированы с рядом психических расстройств. Тем не менее молекулярные механизмы патогенеза подобных состояний по-прежнему остаются неизученными, а наши знания о вышестоящей регуляции TCF4 и его нижестоящих генах-мишенях ограничены. Более того, на сегодняшний день не хватает сведений о динамической экспрессии и функции *TCF4* в ходе онтогенеза. Неясно также, каким образом изменяется активность кодируемого транскрипционного фактора в зависимости от партнеров по димеризации.

Принимая во внимание широкий паттерн экспрессии *TCF4*, а также его участие в развитии нервной системы, можно предположить, что патогенные варианты, затрагивающие данный ген, могут быть связаны и с другими патологическими состояниями. В поддержку этой идеи свидетельствуют работы по анализу транскрипционного профиля генов на фоне потери функции TCF4, а также исследования ДНК-белковых взаимодействий с использованием технологии ChIP-Seq, указывающие на то, что в патогенезе СПХ и некоторых психических расстройств, по-видимому, задействованы общие патогенетические пути (Xia et al., 2018; Phan et al., 2020).

Несмотря на то что многие аспекты функционирования TCF4 еще предстоит изучить, очевидно, что данный транскрипционный фактор является одним из ключевых белков, ответственных за обучение, память, речевые контакты и коммуникативные функции при психических расстройствах. Дальнейшее изучение TCF4, выявление молекулярных путей и генов-мишеней, регулируемых этим транскрипционным фактором, имеют решающее значение для понимания патогенеза ассоциированных с *TCF4* заболеваний, а также поиска потенциальных стратегий терапии СПХ и, возможно, ряда социально значимых заболеваний, таких как шизофрения, биполярное расстройство и некоторые другие.

Список литературы / References

- Папаян С.С., Астахов С.Ю., Назаров В.Д., Лапин С.В., Новиков С.А., Рикс И.А., Анкина Л.К., Довыденко К.С. Экспансия тринуклеотидных CTG-повторов в гене *TCF4* как маркер эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса. *Офтальмолог. ведомости*. 2019;12(2):11-18. DOI 10.17816/OV2019211-18
- [Papanyan S.S., Astakhov S.Yu., Nazarov V.D., Lapin S.V., Novikov S.A., Riks I.A., Anikina L.K., Dovydenko K.S. Expansion of trinucleotide CTG repeats in the *TCF4* gene as a marker of Fuchs' endothelial corneal dystrophy. *Ophthalmology Journal*. 2019;12(2): 11-18. DOI 10.17816/OV2019211-18]
- Afshari N.A., Igo R.P., Morris N.J., Stambolian D., Sharma S., Pulagam V.L., Dunn S., Stamler J.F., Truitt B.J., Rimmler J., Kuot A., Croasdale C.R., Qin X., Burdon K.P., Riazuddin S.A., Mills R., Klebe S., Minear M.A., Zhao J., Balajonda E., Rosenwasser G.O., Baratz K.H., Mootha V.V., Patel S.V., Gregory S.G., Bailey-Wilson J.E., Price M.O., Price F.W., Craig J.E., Fingert J.H., Gottsch J.D., Aldave A.J., Klintworth G.K., Lass J.H., Li Y.J., Iyengar S.K. Genome-wide association study identifies three novel loci in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Nat. Commun.* 2017;8:14898. DOI 10.1038/NCOMMS14898
- Amiel J., Rio M., De Pontual L., Redon R., Malan V., Boddaert N., Plouin P., Carter N.P., Lyonnet S., Munnich A., Collea L. Mutations in *TCF4*, encoding a class I basic helix-loop-helix transcription factor, are responsible for Pitt-Hopkins syndrome, a severe epileptic encephalopathy associated with autonomic dysfunction. *Am. J. Hum. Genet.* 2007;80(5):988-993. DOI 10.1086/515582
- Baratz K.H., Tosakulwong N., Ryu E., Brown W.L., Branham K., Chen W., Tran K.D., Schmid-Kubista K.E., Heckenlively J.R., Swaroop A., Abecasis G., Bailey K.R., Edwards A.O. E2-2 protein and Fuchs's corneal dystrophy. *N. Engl. J. Med.* 2010;363(11):1016-1024. DOI 10.1056/NEJMoa1007064
- Bedeschi M.F., Marangi G., Calvello M.R., Ricciardi S., Leone F.P.C., Baccarin M., Gueneri S., Orteschi D., Murdolo M., Lattante S., Frangella S., Keena B., Harr M.H., Zackai E., Zollino M. Impairment of different protein domains causes variable clinical presentation within Pitt-Hopkins syndrome and suggests intragenic molecular syndromology of TCF4. *Eur. J. Med. Genet.* 2017;60(11):565-571. DOI 10.1016/J.EJMG.2017.08.004

- Bocharova A.V., Stepanov V.A., Marusin A.V., Kharkov V.N., Vagaitseva K.V., Fedorenko O.Y., Bokhan N.A., Semke A.V., Ivanova S.A. Association study of genetic markers of schizophrenia and its cognitive endophenotypes. *Russ. J. Genet.* 2017;53(1):139-146. DOI 10.1134/S1022795417010033
- Brockschmidt A., Todt U., Ryu S., Hoischen A., Landwehr C., Birnbaum S., Frenck W., Radlwimmer B., Lichter P., Engels H., Driever W., Kubisch C., Weber R.G. Severe mental retardation with breathing abnormalities (Pitt–Hopkins syndrome) is caused by haploinsufficiency of the neuronal bHLH transcription factor *TCF4*. *Hum. Mol. Genet.* 2007;16(12):1488-1494. DOI 10.1093/HMG/DDM099
- Chen H.Y., Bohlen J.F., Maher B.J. Molecular and cellular function of transcription factor 4 in Pitt-Hopkins syndrome. *Dev. Neurosci.* 2021;43(3-4):159-167. DOI 10.1159/000516666
- Chen T., Wu Q., Zhang Y., Lu T., Yue W., Zhang D. *Tcf4* controls neuronal migration of the cerebral cortex through regulation of *Bmp7*. *Front. Mol. Neurosci.* 2016;9:94. DOI 10.3389/FNMOL.2016.00094
- Cleary C.M., James S., Maher B.J., Mulkey D.K. Disordered breathing in a Pitt-Hopkins syndrome model involves *Phox2b*-expressing parafacial neurons and aberrant *Nav1.8* expression. *Nat. Commun.* 2021;12(1):1-15. DOI 10.1038/s41467-021-26263-2
- D’Rozario M., Zhang T., Waddell E.A., Zhang Y., Sahin C., Sharoni M., Hu T., Nayal M., Kutty K., Liebl F., Hu W., Marenda D.R. Type I bHLH proteins *Daughterless* and *TCF4* restrict neurite branching and synapse formation by repressing *Neurexin* in post-mitotic neurons. *Cell Rep.* 2016;15(2):386. DOI 10.1016/J.CELREP.2016.03.034
- Du J., Aleff R.A., Soragni E., Kalari K., Nie J., Tang X., Davila J., Kocher J.P., Patel S.V., Gottesfeld J.M., Baratz K.H., Wieben E.D. RNA toxicity and missplicing in the common eye disease fuchs endothelial corneal dystrophy. *J. Biol. Chem.* 2015;290(10):5979-5990. DOI 10.1074/JBC.M114.621607
- Ekins S., Puhl A.C., Davidov A. Repurposing the dihydropyridine calcium channel inhibitor nifedipine as a *Na_v1.8* inhibitor *in vivo* for Pitt Hopkins syndrome. *Pharm. Res.* 2020;37(7):127. DOI 10.1007/S11095-020-02853-5
- Ellinghaus D., Folseraas T., Holm K., Ellinghaus E., Melum E., Balschun T., Laerdahl J.K., Shiryayev A., Gotthardt D.N., Weismüller T.J., Schramm C., Wittig M., Bergquist A., Björnsson E., Marschall H.U., Vatn M., Teufel A., Rust C., Gieger C., Wichmann H.E., Runz H., Sterneck M., Rupp C., Braun F., Weersma R.K., Wijmenga C., Ponsioen C.Y., Mathew C.G., Rutgeerts P., Vermeire S., Schrupf E., Hov J.R., Manns M.P., Boberg K.M., Schreiber S., Franke A., Karlsen T.H. Genome-wide association analysis in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis identifies risk loci at *GPR35* and *TCF4*. *Hepatology.* 2013;58(3):1074-1083. DOI 10.1002/HEP.25977
- Ertl H.C.J. Immunogenicity and toxicity of AAV gene therapy. *Front. Immunol.* 2022;13:975803. DOI 10.3389/FIMMU.2022.975803
- Fautsch M.P., Wieben E.D., Baratz K.H., Bhattacharyya N., Sadan A.N., Hafford-Tear N.J., Tuft S.J., Davidson A.E. *TCF4*-mediated Fuchs endothelial corneal dystrophy: insights into a common trinucleotide repeat-associated disease. *Prog. Retin. Eye Res.* 2021;81:100883. DOI 10.1016/J.PRETEYERES.2020.100883
- Forrest M.P., Waite A.J., Martin-Rendon E., Blake D.J. Knockdown of human *TCF4* affects multiple signaling pathways involved in cell survival, epithelial to mesenchymal transition and neuronal differentiation. *PLoS One.* 2013;8(8):e73169. DOI 10.1371/JOURNAL.PONE.0073169
- Forrest M.P., Hill M.J., Kavanagh D.H., Tansey K.E., Waite A.J., Blake D.J. The psychiatric risk gene transcription factor 4 (*TCF4*) regulates neurodevelopmental pathways associated with schizophrenia, autism, and intellectual disability. *Schizophr. Bull.* 2018;44(5):1100-1110. DOI 10.1093/SCHBUL/SBX164
- Gelernter J., Sun N., Polimanti R., Pietrzak R., Levey D.F., Bryois J., Lu Q., Hu Y., Li B., Radhakrishnan K., Aslan M., Cheung K.H., Li Y., Rajeevan N., Sayward F., Harrington K., Chen Q., Cho K., Pyarajan S., Sullivan P.F., Quaden R., Shi Y., Hunter-Zinck H., Gaziano J.M., Concato J., Zhao H., Stein M.B. Genome-wide association study of post-traumatic stress disorder reexperiencing symptoms in >165,000 US veterans. *Nat. Neurosci.* 2019;22(9):1394-1401. DOI 10.1038/s41593-019-0447-7
- Hennig K.M., Fass D.M., Zhao W.-N., Sheridan S.D., Fu T., Erdin S., Stortchevoi A., Lucente D., Cody J.D., Sweetser D., Gusella J.F., Talkowski M.E., Haggarty S.J. *WNT/β-catenin* pathway and epigenetic mechanisms regulate the Pitt-Hopkins syndrome and schizophrenia risk gene *TCF4*. *Mol. Neuropsychiatry.* 2017;3(1):53-71. DOI 10.1159/000475666
- Hijma H.J., Siebenga P.S., De Kam M.L., Groeneveld G.J. A phase 1, randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study to evaluate the pharmacodynamic effects of VX-150, a highly selective *Na_v1.8* inhibitor, in healthy male adults. *Pain Med.* 2021;22(8):1814-1826. DOI 10.1093/PM/PNAB032
- Hijma H.J., van Brummelen E.M.J., Siebenga P.S., Groeneveld G.J. A phase I, randomized, double-blind, placebo-controlled, single- and multiple dose escalation study evaluating the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of VX-128, a highly selective *Na_v1.8* inhibitor, in healthy adults. *Clin. Transl. Sci.* 2022;15(4):981-993. DOI 10.1111/CTS.13215
- Hill M.J., Killick R., Navarrete K., Maruszak A., McLaughlin G.M., Williams B.P., Bray N.J. Knockdown of the schizophrenia susceptibility gene *TCF4* alters gene expression and proliferation of progenitor cells from the developing human neocortex. *J. Psychiatry Neurosci.* 2017;42(3):181-188. DOI 10.1503/JPN.160073
- Imayoshi I., Kageyama R. bHLH factors in self-renewal, multipotency, and fate choice of neural progenitor cells. *Neuron.* 2014;82(1):9-23. DOI 10.1016/J.NEURON.2014.03.018
- Kennedy A.J., Rahn E.J., Paulukaitis B.S., Savell K.E., Kordasiewicz H.B., Wang J., Lewis J.W., Posey J., Strange S.K., Guzman-Karlsson M.C., Phillips S.E., Decker K., Motley S.T., Swayze E.E., Ecker D.J., Michael T.P., Day J.J., Sweatt J.D. *Tcf4* regulates synaptic plasticity, DNA methylation, and memory function. *Cell Rep.* 2016;16(10):2666-2685. DOI 10.1016/J.CELREP.2016.08.004
- Kim H., Gao E.B., Draper A., Berens N.C., Vihma H., Zhang X., Higashi-Howard A., Ritola K.D., Simon J.M., Kennedy A.J., Philpot B.D. Rescue of behavioral and electrophysiological phenotypes in a Pitt-Hopkins syndrome mouse model by genetic restoration of *Tcf4* expression. *eLife.* 2022;11:e72290. DOI 10.7554/ELIFE.72290
- Leikas A.J., Ylä-Herttuala S., Hartikainen J.E.K. Adenoviral gene therapy vectors in clinical use – basic aspects with a special reference to replication-competent adenovirus formation and its impact on clinical safety. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(22):16519. DOI 10.3390/IJMS242216519
- Li H., Zhu Y., Morozov Y.M., Chen X., Page S.C., Rannals M.D., Maher B.J., Rakic P. Disruption of *TCF4* regulatory networks leads to abnormal cortical development and mental disabilities. *Mol. Psychiatry.* 2019;24(8):1235-1246. DOI 10.1038/S41380-019-0353-0
- Li M., Santpere G., Kawasawa Y.I., Evgrafov O.V., Gulden F.O., Pochareddy S., Sunkin S.M., Li Z., Shin Y., Zhu Y., ... State M.W., Sanders S.J., Sullivan P.F., Gerstein M.B., Lein E.S., Knowles J.A., Sestan N. Integrative functional genomic analysis of human brain development and neuropsychiatric risks. *Science.* 2018;362(6420):eaat7615. DOI 10.1126/SCIENCE.AAT7615
- Lundstrom K. Viral vectors in gene therapy: where do we stand in 2023? *Viruses.* 2023;15(3):698. DOI 10.3390/V15030698
- Martinowich K., Das D., Sripathy S.R., Mai Y., Kenney R.F., Maher B.J. Evaluation of *Na_v1.8* as a therapeutic target for Pitt Hopkins Syndrome. *Mol. Psychiatry.* 2022;28(1):76-82. DOI 10.1038/s41380-022-01811-4
- Mesman S., Bakker R., Smidt M.P. *Tcf4* is required for correct brain development during embryogenesis. *Mol. Cell. Neurosci.* 2020;106:103502. DOI 10.1016/J.MCN.2020.103502
- Papes F., Camargo A.P., de Souza J.S., Carvalho V.M.A., Szeto R.A., LaMontagne E., Teixeira J.R., Avansini S.H., Sánchez-Sánchez S.M., Nakahara T.S., Santo C.N., Wu W., Yao H., Araújo B.M.P., Vel-

- ho P.E.N.F., Haddad G.G., Muotri A.R. Transcription factor 4 loss-of-function is associated with deficits in progenitor proliferation and cortical neuron content. *Nat. Commun.* 2022;13(1):2387. DOI 10.1038/s41467-022-29942-w
- Phan B.D.N., Bohlen J.F., Davis B.A., Ye Z., Chen H.Y., Mayfield B., Sripathy S.R., Cerceo Page S., Campbell M.N., Smith H.L., Gallop D., Kim H., Thaxton C.L., Simon J.M., Burke E.E., Shin J.H., Kennedy A.J., Sweatt J.D., Philpot B.D., Jaffe A.E., Maher B.J. A myelin-related transcriptomic profile is shared by Pitt-Hopkins syndrome models and human autism spectrum disorder. *Nat. Neurosci.* 2020;23(3):375-385. DOI 10.1038/S41593-019-0578-X
- Rannals M.D.D., Hamersky G.R.R., Page S.C.C., Campbell M.N.N., Briley A., Gallo R.A.A., Phan B.D.N., Hyde T.M.M., Kleinman J.E.E., Shin J.H.H., Jaffe A.E.E., Weinberger D.R.R., Maher B.J.J. Psychiatric Risk Gene Transcription Factor 4 regulates intrinsic excitability of prefrontal neurons via repression of SCN10a and KCNQ1. *Neuron.* 2016;90(1):43-55. DOI 10.1016/J.NEURON.2016.02.021
- Ripke S., Sanders A.R., Kendler K.S., Levinson D.F., Sklar P., Holmans P.A., Lin D.Y., Duan J., Ophoff R.A., Andreassen O.A., ... Williams N.M., Wormley B., Zammit S., Sullivan P.F., O'Donovan M.C., Daly M.J., Gejman P.V. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat. Genet.* 2011;43(10):969-976. DOI 10.1038/ng.940
- Rosenfeld J.A., Leppig K., Ballif B.C., Thiese H., Erdie-Lalena C., Bawle E., Sastry S., Spence J.E., Bandholz A., Surti U., Zonana J., Keller K., Meschino W., Bejjani B.A., Torchia B.S., Shaffer L.G. Genotype-phenotype analysis of *TCF4* mutations causing Pitt-Hopkins syndrome shows increased seizure activity with missense mutations. *Genet. Med.* 2009;11(11):797-805. DOI 10.1097/GIM.0B013E3181BD38A9
- Schmidt-Edelkraut U., Daniel G., Hoffmann A., Spengler D. *Zac1* regulates cell cycle arrest in neuronal progenitors via *Tcf4*. *Mol. Cell Biol.* 2014;34(6):1020. DOI 10.1128/MCB.01195-13
- Schoof M., Hellwig M., Harrison L., Holdhof D., Lauffer M.C., Nielsen J., Virdi S., Indenbirken D., Schüller U. The basic helix-loop-helix transcription factor TCF4 impacts brain architecture as well as neuronal morphology and differentiation. *Eur. J. Neurosci.* 2020; 51(11):2219-2235. DOI 10.1111/EJN.14674
- Sepp M., Kannike K., Eesmaa A., Urb M., Timmusk T. Functional diversity of human basic helix-loop-helix transcription factor TCF4 isoforms generated by alternative 5' exon usage and splicing. *PLoS One.* 2011;6(7):e22138. DOI 10.1371/JOURNAL.PONE.0022138
- Sepp M., Pruunsild P., Timmusk T. Pitt-Hopkins syndrome-associated mutations in *TCF4* lead to variable impairment of the transcription factor function ranging from hypomorphic to dominant-negative effects. *Hum. Mol. Genet.* 2012;21(13):2873-2888. DOI 10.1093/HMG/DDS112
- Sepp M., Vihma H., Nurm K., Urb M., Page S.C., Roots K., Hark A., Maher B.J., Pruunsild P., Timmusk T. The intellectual disability and schizophrenia associated transcription factor TCF4 is regulated by neuronal activity and protein kinase A. *J. Neurosci.* 2017;37(43): 10516-10527. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1151-17.2017
- Smoller J.W., Kendler K.K., Craddock N., Lee P.H., Neale B.M., Nurnberger J.N., Ripke S., Santangelo S., Sullivan P.S., Neale B.N., Purcell S., Anney R., Buitelaar J., Fanous A., Faraone S.F., Hoogendijk W., Lesch K.P., Levinson D.L., Perlis R.P., Rietschel M., Riley B., Sonuga-Barke E., Schachar R., Schulze T.G., Thapar A., Smoller J.S., Neale M., Perlis R., Bender P., Cichon S., Daly M.D., Kelsoe J., Lehner T., Levinson D., O'Donovan M., Gejman P., Sebat J., Sklar P., Devlin B., Sullivan P., O'Donovan Michael. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet.* 2013;381(9875):1371-1379. DOI 10.1016/S0140-6736(12)62129-1
- Stefansson H., Ophoff R.A., Steinberg S., Andreassen O.A., Cichon S., Rujescu D., Werge T., Pietiläinen O.P.H., Mors O., Mortensen P.B., ... Van Os J., Wiersma D., Bruggeman R., Cahn W., De Haan L., Krabbendam L., Myin-Germeys I. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature.* 2009;460(7256):744-747. DOI 10.1038/NATURE08186
- Steinberg S., de Jong S., Andreassen O.A., Werge T., Børglum A.D., Mors O., Mortensen P.B., Gustafsson O., Costas J., Pietiläinen O.P.H., ... Collier D.A., St Clair D., Rietschel M., Cichon S., Stefansson H., Rujescu D., Stefansson K. Common variants at *VRK2* and *TCF4* conferring risk of schizophrenia. *Hum. Mol. Genet.* 2011; 20(20):4076-4081. DOI 10.1093/HMG/DDR325
- Tamberg L., Jaago M., Säälk K., Sirp A., Tuvikene J., Shubina A., Kiir C.S., Nurm K., Sepp M., Timmusk T., Palgi M. Daughterless, the *Drosophila* orthologue of TCF4, is required for associative learning and maintenance of the synaptic proteome. *DMM: Dis. Model. Mech.* 2020;13(7):dmm042747. DOI 10.1242/dmm.042747
- Teixeira J.R., Szeto R.A., Carvalho V.M.A., Muotri A.R., Papes F. Transcription factor 4 and its association with psychiatric disorders. *Transl. Psychiatry.* 2021;11(1):19. DOI 10.1038/s41398-020-01138-0
- Thaxton C., Kloth A.D., Clark E.P., Moy S.S., Chitwood R.A., Philpot B.D. Common pathophysiology in multiple mouse models of Pitt-Hopkins syndrome. *J. Neurosci.* 2018;38(4):918-936. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1305-17.2017
- Torshizi A.D., Armoskus C., Zhang H., Forrest M.P., Zhang S., Souaiaia T., Evgrafov O.V., Knowles J.A., Duan J., Wang K. Deconvolution of transcriptional networks identifies TCF4 as a master regulator in schizophrenia. *Sci. Adv.* 2019;5(9):eaau4139. DOI 10.1126/SCIADV.AAU4139
- Wang Y., Lu Z., Zhang Yilan, Cai Y., Yun D., Tang T., Cai Z., Wang C., Zhang Yandong, Fang F., Yang Z., Behnisch T., Xie Y. Transcription factor 4 safeguards hippocampal dentate gyrus development by regulating neural progenitor migration. *Cereb. Cortex.* 2020;30(5): 3102-3115. DOI 10.1093/CERCOR/BHZ297
- Wedel M., Fröb F., Elsesser O., Wittmann M.T., Lie D.C., Reis A., Wegner M. Transcription factor Tcf4 is the preferred heterodimerization partner for Olig2 in oligodendrocytes and required for differentiation. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(9):4839-4857. DOI 10.1093/NAR/GKAA218
- Wittmann M.T., Häberle B.M. Linking the neuropsychiatric disease gene *TCF4* to neuronal activity-dependent regulatory networks. *J. Neurosci.* 2018;38(11):2653. DOI 10.1523/JNEUROSCI.3475-17.2018
- Wray N.R., Ripke S., Mattheisen M., Trzaskowski M., Byrne E.M., Abdellaoui A., Adams M.J., Agerbo E., Air T.M., Andlauer T.M.F., ... Werge T., Winslow A.R., Lewis C.M., Levinson D.F., Breen G., Børglum A.D., Sullivan P.F. Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nat. Genet.* 2018;50(5):668-681. DOI 10.1038/s41588-018-0090-3
- Xia H., Jahr F.M., Kim N.K., Xie L., Shabalin A.A., Bryois J., Sweet D.H., Kronfol M.M., Palasuberniam P., McRae M.P., Riley B.P., Sullivan P.F., Van Den Oord E.J., McClay J.L. Building a schizophrenia genetic network: transcription factor 4 regulates genes involved in neuronal development and schizophrenia risk. *Hum. Mol. Genet.* 2018;27(18):3246-3256. DOI 10.1093/HMG/DDY222
- Zweier C., Peippo M.M., Hoyer J., Sousa S., Bottani A., Clayton-Smith J., Reardon W., Saraiva J., Cabral A., Göhring I., Devriendt K., De Ravel T., Bijlsma E.K., Hennekam R.C.M., Orrico A., Cohen M., Dreweke A., Reis A., Nurnberg P., Rauch A. Haploinsufficiency of *TCF4* causes syndromal mental retardation with intermittent hyperventilation (Pitt-Hopkins syndrome). *Am. J. Hum. Genet.* 2007; 80(5):994-1001. DOI 10.1086/515583

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.01.2024. После доработки 30.06.2024. Принята к публикации 23.07.2024.