

Korelacja allelu HLA-Cw*06 z wczesnym początkiem łuszczycowego zapalenia stawów

HLA-Cw*06 allele correlation with early onset of psoriatic arthritis

Aneta Szczerkowska-Dobosz¹, Krzysztof Rębała², Magdalena Lange¹, Małgorzata Sokołowska-Wojdyło¹, Michał Sobjanek¹

¹ Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. med. Jadwiga Roszkiewicz

² Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. med. Zbigniew Jankowski

Post Dermatol Alergol 2006; XXIII, 4: 175–178

Streszczenie

Łuszczycza stawowa jest chorobą uwarunkowaną genetycznie, wykazującą znamienne asocjacje z antygenami zgodności tkankowej (HLA). Allel Cw6 jest głównym markerem genetycznym zarówno łuszczycy zwyczajnej, jak i łuszczycowego zapalenia stawów. Celem niniejszej pracy było porównanie częstości występowania alleli HLA locus C ocenianych z wykorzystaniem metody PCR-SSP w populacji chorych na łuszczycowe zapalenie stawów (41 osób) i w grupie kontrolnej (80 osób) oraz ich korelacja z wiekiem chorych, w którym po raz pierwszy pojawiły się zmiany łuszczycowe na skórze i zapalenie stawów. Przeprowadzone badania wykazały, że w grupie chorych z łuszczycowym zapaleniem stawów częściej niż w populacji zdrowej występował allel Cw*06 (56% vs 18,7%; $\chi^2 = 12,91$; $p=0,0003$; $pc=0,004$, $RR=5,54$, $OR=3,76$). W grupie chorych z ekspresją Cw*06 przeciętny wiek, w którym rozpoczęła się łuszczycza i zapalenie stawów, był znamienne niższy (21,4 roku, $p=0,01$ i 25,7 lat, $p=0,008$) w porównaniu z chorymi Cw*06-ujemnymi (29 i 33,8 roku). Uzyskane wyniki potwierdzają korelację allelu Cw*06 z łuszczycowym zapaleniem stawów w populacji Polski północnej i sugerują, że allel Cw*06 odgrywa rolę nie tylko w zwiększonej podatności na łuszczycowe zapalenie stawów, lecz wpływa także na kliniczną ekspresję choroby.

Słowa kluczowe: Cw6, HLA, łuszczycza, PSORS-1, wczesny początek, zapalenie stawów.

Abstract

Psoriatic arthritis is a genetically inherited disease with significant associations with human leukocyte antigens (HLA). Similarly to psoriasis vulgaris Cw6 antigen has been repeatedly indicated to be the most significant marker for risk prediction of psoriatic arthritis. The aim of the study was to compare the frequency of HLA-C locus alleles in patients with psoriatic arthritis and healthy controls in the same ethnic group in Poland and to correlate them with age of onset of psoriatic skin changes and joint symptoms. HLA-C locus alleles of forty-one patients and eighty controls were determined by a PCR low resolution method. The Cw*06 allele occurred more frequently (56% vs 18.7%; $\chi^2=12.91$; $p=0.0003$; $pc=0.004$, $RR=5.54$, $OR=3.76$) in patients with psoriatic arthritis than in controls. Patients who carried the HLA-Cw*06 allele had a significantly earlier mean age of onset of both psoriasis (21.4 years, $p=0.01$) and arthritis (25.7 years, $p=0.008$) compared with Cw*06-negative patients. Our results confirm the association between Cw*06 allele and psoriatic arthritis in the northern Poland population and suggest that the HLA-Cw*06 may determine not only disease susceptibility, but also the age of onset of psoriatic arthritis.

Key words: Cw6, HLA, psoriasis, PSORS-1, early onset, arthritis.

Łuszczycowe zapalenie stawów (ŁZS) definiuje się jako seronegatywne zapalenie stawów współistniejące z łuszczycą [1]. Częstość występowania zapalenia stawów u chorych na łuszczycę waha się od 10 do 42%. Patoge-

neza ŁZS jest złożona i nie w pełni poznana; składają się na nią czynniki genetyczne, immunologiczne, zaburzenia angiogenezy i układu nerwowego [2]. Za znaczeniem predyspozycji genetycznej przemawiają dane epidemiolo-

Adres do korespondencji: dr med. Aneta Szczerkowska Dobosz, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii, Akademia Medyczna, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk, tel. +48 58 349 25 80, e-mail: aneta_dobosz@wp.pl

giczne, wskazujące na rodzinne występowanie choroby, badania bliźniąt oraz zidentyfikowanie, jak dotąd, kilku loci genowych na różnych chromosomach, wykazujących związek z chorobą (PSORS1-9). Wśród nich najsilniejszą korelację opisano dla locus PSORS-1 (*psoriasis susceptibility 1*) w obrębie regionu MHC (*major histocompatibility complex*) na chromosomie 6p21, dlatego uważa się, że główny czynnik odpowiedzialny za powstanie łuszczycy i jej odmian, w tym łuszczycowego zapalenia stawów, jest zlokalizowany właśnie w tym rejonie. Szacuje się, że gen/geny podatności na łuszczycę umiejscowione w obrębie PSORS-1 odpowiadają za 35–50% genetycznej predyspozycji do choroby [3]. Rejon ten obejmuje ok. 300 kb (kilo-base, tysiąc par zasad). Wśród licznych genów zlokalizowanych w obrębie PSORS-1 szczególną uwagę kieruje się na allel HLA Cw6 i jego specyficzny wariant – HLA-Cw*06, który jest jednym z najbardziej intensywnie badanych genów związanych z powstaniem łuszczycy, szczególnie rozpoczynającej się w młodym wieku (łuszczycy typu I). Doniesienia dotyczące częstości występowania allelu Cw*06 u chorych z łuszczycowym zapaleniem stawów są mniej liczne. Wyniki większości badań wskazują na związek allelu Cw*06 z wczesnym początkiem tej ciężkiej odmiany łuszczycy [4, 5].

Produkty genów HLA-C stanowią glikozylowany łańcuch ciężki (45 kDa) niekowalencyjnie powiązany z β_2 -mikroglobuliną (12 kDa). Każde z loci tej klasy koduje łań-

cuch ciężki antygeny klasy I, a cały region obejmuje ponad 1,5 mln zasad. Do oznaczania produktów genów HLA stosuje się obecnie metody molekularne, przewyższające pod względem czułości i swoistości metody serologiczne. W praktyce najczęściej stosowane są 2 techniki PCR: PCR-SSP (*sequence specific primer*) i PCR-SSO (*sequence specific oligonukleotide*).

Celem niniejszej pracy była ocena i porównanie częstości występowania alleli HLA locus C z wykorzystaniem metody PCR-SSP w populacji chorych na łuszczycowe zapalenie stawów i w grupie kontrolnej, oraz ich korelacja z wiekiem chorych, w którym po raz pierwszy pojawiły się zmiany łuszczycowe i zapalenie stawów.

Materiał i metody

Badaniami objęto 41 niespokrewnionych osób z łuszczycowym zapaleniem stawów (25 kobiet i 16 mężczyzn), leczonych w Klinice Dermatologii, Alergologii i Wenerologii Akademii Medycznej w Gdańsku w latach 2002–2004. Łuszczycowe zapalenie stawów definiowano jako seronegatywne zapalenie stawów współistniejące z łuszczycą [1]. U wszystkich pacjentów rozpoznanie łuszczycowego zapalenia stawów było potwierdzone przez lekarza reumatologa. Zmiany skórne klinicznie odpowiadały obrazowi łuszczycy zwyczajnej o różnym stopniu ciężkości.

Genomowy DNA izolowano z 5 ml krwi obwodowej pacjentów za pomocą metody nieenzymatycznej wg Laghri i Nurnbergera [6]. Stężenie wyizolowanego DNA oceniano metodą fluorometryczną. Do amplifikacji wybranego odcinka DNA locus-C zastosowano zestaw odczynników firmy Dynal AllSet HLA-Cw-low resolution z 23 parami starterów. Amplifikację DNA prowadzono w aparacie Mastercycler Gradient firmy Zeiss. Produkty reakcji PCR poddano rozdziałowi elektroforetycznemu na 1,5% żelu agarozowym w obecności bromku etydyny. Wyniki odczytywano w transiluminatorze w świetle UV.

Do porównania częstości antygenów HLA-locus C w populacji chorych oraz w grupie kontrolnej zastosowano test χ^2 z poprawką Yatesa. Wartości *P* skorygowano (p_{corr}), mnożąc je przez liczbę porównań w locus HLA-C (15 porównań).

Do oceny różnic wieku, w którym rozpoczęła się łuszczycy i zapalenie stawów u chorych Cw*06-dodatnich i Cw*06-ujemnych, zastosowano test U Manna-Whitneya. Wartości względnego ryzyka (RR – *relative risk*) obliczono, stosując metodę Woolfa.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Gdańsku.

Wyniki

Tabela 1. przedstawia wyniki typowania alleli HLA-locus C u 41 pacjentów z ŁZS oraz u 80 osób z grupy kontrolnej. Wyniki wskazują, że w grupie chorych z łuszczycowym zapaleniem stawów częściej niż w populacji zdrowej

Tab. 1. Wyniki typowania alleli HLA-locus C u 41 pacjentów z ŁZS oraz u 80 osób z grupy kontrolnej (procenty w nawiasach)

Allele Cw	Chorzy z ŁZS (n=41)	kontrola (n=80)
Cw*01	1 (2,4)	4 (5)
*02	3 (7,3)	8 (10)
*03	8 (19,5)	18 (22,5)
*04	7 (17)	17 (10,62)
*05	4 (9,8)	10 (12,5)
*06†	23 (56)	15 (18,7)
*07	26 (63,4)	53 (66,2)
*08	0	2 (2,5)
*12	8 (19,5)	18 (22,5)
*13	0	0
*14	0	1 (1,25)
*15	1 (2,4)	2 (2,5)
*16	0	4 (5)
*17	1 (2,4)	6 (7,5)
*18	0	2 (2,4)

$p=0,0003$, $p_{corr}=0,0046$, $RR=5,54$, $OR=3,76$ (95% CI 1,8390–7,220)

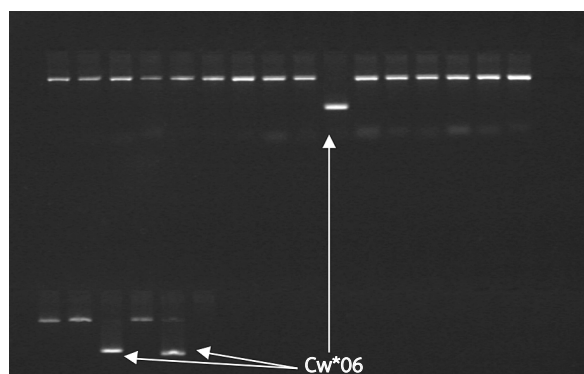
Tab. 2. Średnia i odchylenie standardowe wieku chorych, w którym rozpoznano tłuszczycę i tłuszczycowe zapalenie stawów u pacjentów Cw6(+) i Cw6(-)

	Wiek chorych, w którym rozpoczęła się tłuszczycza		Wiek chorych, w którym pojawiło się zapalenie stawów	
	Cw6(+)	Cw6(-)	Cw6(+)	Cw6(-)
średnia	21,4	29,0	25,7	33,8
odchylenie standardowe	8,8	11,3	10,2	10,6

występuje allel Cw*06 (56 vs 18,7%; $\chi^2=12,91$; $p=0,0003$; $pc=0,004$, $RR=5,54$, $OR=3,76$). Na ryc. 1. przedstawiono przykład fenotypu chorego z tłuszczycowym zapaleniem stawów, homozygoty Cw*06 (obraz elektroforetyczny).

Częstości pozostałych 14 alleli *HLA-locus C* były podobne w obu badanych populacjach.

Średni wiek, w którym pojawiły się zmiany tłuszczycowe na skórze w grupie chorych z ekspresją allelu Cw*06, wynosił $21,4 \pm 8,8$ lat i był znamienne niższy niż w grupie chorych Cw*06 ujemnych ($29,0 \pm 11,3$ lat) ($p=0,001$) (tab. 2). Średni wiek chorych, w którym po raz pierwszy pojawiło się zapalenie stawów, był znamienne niższy u chorych Cw*06-dodatnich w porównaniu z chorymi Cw*06-ujemnymi ($25,7 \pm 10,2$ vs $33,8 \pm 10,6$; $p=0,008$).

**Ryc. 1.** Przykład fenotypu chorego na ŁZS – homozygoty HLA-Cw*06

Omówienie wyników

Korelacja tłuszczycy zwyczajnej z antygenami zgodności tkankowej (HLA – *human leukocyte antigens*) jest znana od dawna i potwierdzona w badaniach dotyczących odmiennych populacji. Mniej liczne doniesienia dotyczą związku układu HLA z rzadziej występującymi odmianami tłuszczycy, w tym z tłuszczycą stawową. W tej postaci choroby, ze względu na jej różnorodną kliniczną ekspresję, interpretacja wyników badań genetycznych jest bardziej złożona. U chorych z tłuszczycowym zapaleniem stawów częściej niż w całej populacji występują antygeny HLA klasy I: B13, B16 (B38/B39), B17, B27 i Cw6 i klasy II: DR4, DR7, DQw3 [2, 4, 7–9]. Badania dowodzą, że najsilniejsza korelacja dotyczy antygeny Cw6 [4, 7, 10–12]. Jednak związek częstszego występowania tego allelu z tłuszczycowym zapaleniem stawów wydaje się zależeć w większym stopniu od współistnienia tłuszczycy niż zapalenia stawów. W badanej populacji chorych częstość allelu Cw*06 była znamienne wyższa w porównaniu z częstością jego występowania w grupie kontrolnej. Obserwacja ta jest zgodna z innymi doniesieniami [4, 10]. Wyniki tylko nielicznych prac nie potwierdzają tej korelacji [8, 13]. Badania zapoczątkowane przez Henselera i Christophersa w 1984 r., a potwierdzone przez różnych badaczy w odmiennych populacjach chorych na tłuszczycę wykazały, że antygen Cw6 jest nie tylko markerem genetycznym tłuszczycy. Jego występowanie zwiększa ryzyko zachorowania na chorobę u osób młodych – w 2. i 3. dekadzie życia. Występowanie antygeny Cw6 w fenotypie HLA chorych na tłuszczycę stało się jed-

nym z kryteriów wprowadzonego podziału tłuszczycy zwyczajnej na typ I i II [12]. Typ I choroby reprezentują chorzy Cw6(+), z wczesnym początkiem choroby, zaś typ II chorzy Cw6(-), z późnym jej początkiem.

Związek występowania antygeny Cw6 z wczesnym początkiem zmian skórnych w tłuszczycowym zapaleniu stawów po raz pierwszy zaobserwowała Gladman, badając populację 94 chorych z ŁZS. Autorka nie stwierdziła korelacji występowania Cw6 z wiekiem chorych, w którym po raz pierwszy pojawiły się zmiany stawowe, i wysunęła sugestię, że ekspresja allelu Cw6 predysponuje do wczesnego pojawienia się zmian skórnych, nie ma natomiast wpływu na wiek chorych, w którym rozpoczyna się zapalenie stawów [4]. Podobne wyniki uzyskali Al-Heresh i wsp. [5]. W analizowanej grupie chorych stwierdzono wyraźny związek ekspresji allelu Cw*06 z wczesnym pojawieniem się tłuszczycowych zmian na skórze. Średni wiek, w którym pojawiła się tłuszczycza u chorych Cw6-dodatnich, wynosił 21,4 roku, zaś u chorych Cw6-ujemnych 26 lat ($p=0,001$). Podobną korelację zanotowano także w odniesieniu do wieku chorych, w którym po raz pierwszy pojawiło się zapalenie stawów. Średni wiek chorych Cw6-dodatnich, w którym pojawiły się bóle stawowe, wynosił 25,7 roku, zaś u chorych Cw6-ujemnych 33,8 roku ($p=0,008$). Ze względu na małą liczebność populacji chorych poddanych badaniu obserwacja ta wymaga dalszego potwierdzenia w oparciu o analizę większej populacji chorych na ŁZS.

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdzają korelację allelu Cw*06 z łuszczycowym zapaleniem stawów, wskazując także, że ekspresja allelu Cw*06 wiąże się nie tylko z większą podatnością na ŁZS, lecz wpływa również na kliniczną ekspresję choroby.

Piśmiennictwo

1. Gladman DD. Psoriatic arthritis. *Rheum Dis Clin N Am* 1998; 24: 829-44.
2. Bowcock A, Cookson W. The genetics of psoriasis, psoriatic arthritis and atopic dermatitis. *Hum Mol Genet* 2004; 13: 43-55.
3. Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL, et al. Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 813-20.
4. Gladman DD, Cheung C, Chang-Ming N, et al. HLA-C locus alleles in patients with psoriatic arthritis (PsA). *Hum Immunol* 1999; 60: 259-61.
5. Al-Heresh A, Proctor J, Jones S, et al. Tumor necrosis factor- α polymorphism and the HLA-Cw*0602 allele in psoriatic arthritis. *Rheumatol* 2002; 41: 525-30.
6. Lahiri DK, Nurnberger J. A rapid non-enzymatic non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19: 5444.
7. Alenius G, Jidell E, Nordmark L, et al. Disease manifestation and HLA antigens in psoriatic arthritis in Northern Sweden. *Clin Rheumatol* 2002; 21: 357-62.
8. Ansell B, Beeson M, Hall P, et al. HLA and juvenile psoriatic arthritis. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 836-7.
9. Queiro R, Torre J, Gonzales S, et al. HLA antigens may influence the age of onset of psoriasis and psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 505-12.
10. Szczerkowska-Dobosz A, Placek W, Szczerkowska Z, et al. Psoriasis vulgaris with the early and late onset-HLA phenotype correlations. *Arch Immunol Ther Exp* 1996; 44: 265-69.
11. Gudjonsson J, Karason A., Antonsdottir A, et al. Psoriasis patients who are homozygous for the HLA-Cw*0602 allele have a 2.5 fold increased risk of developing psoriasis compared with Cw6 heterozygotes. *Br J Dermatol* 2003; 148: 233-5.
12. Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset-characterisation of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1984; 13: 450-6.
13. Gonzales S, Brautbar C, Martinez-Borra J, et al. Polymorphism in MICA rather than HLA-B/C genes is associated with psoriatic arthritis in the Jewish population. *Hum Immunol* 2001; 62: 632-8.