

## A rheumatoid arthritis genetikája és genomikája. I. Patogenetikai vonatkozások

Soós Boglárka dr. <sup>1</sup>, Kurkó Júlia dr. <sup>1,3</sup>, Besenyei Tímea dr. <sup>1,3</sup>, Szabó Zoltán dr. <sup>1</sup>, Szántó Sándor dr. <sup>1</sup>, Meskó Bertalan dr. <sup>1,2</sup>, Poliska Szilárd dr. <sup>1,2</sup>, Nagy László dr. <sup>1,2</sup>, Laki Judit dr. <sup>4</sup>, Glant Tibor dr. <sup>3</sup>, Mikecz Katalin dr. <sup>3</sup>, Szekanecz Zoltán dr. <sup>1</sup>

1 Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Debrecen

2 Klinikai Genomikai és Személyreszabott Orvoslási Központ, Debrecen

3 Section of Molecular Medicine, Departments of Orthopedic Surgery, Biochemistry, and Rheumatology, Rush University Medical Center, Chicago, IL, USA

4 Emberi Erőforrások Minisztériuma, Budapest

A genetika, környezet és autoimmunitás „Bermuda háromszöge” fontos szerepet játszik a rheumatoid arthritis (RA) patogenezisében. RA-ben az örökletes tényezők szerepe 60%-ra, míg önmagában a HLA szerepe 11–37%-ra becsülhető. Az ún. shared epitóp (SE) allélok közül a HLA-DRB1\*01 és DRB1\*04, míg a nem SE jellegű gének közül a HLA-DRB1\*13 és DRB1\*15 is szerepet játszik a RA iránti fogékonyságban. A legfontosabb RA-re hajlamosító non-HLA-génekben leírt egyes nukleotid polimorfizmusok (SNP) többek között a PTPN22, IL23R, TRAF1, CTLA4, IRF5, STAT4, CCR6, PADI4. A nagy genomasszociációs vizsgálatokban (GWAS) több mint 30 lókuszt azonosítottak, melyek szerepet játszanak a RA patogenezisében. A HLA és non-HLA-gének ugyancsak meghatározzák az anti-citrullinált protein antitestek (ACPA) termelődését és az ezen alapuló ACPA-pozitív, illetve szeronegatív kórfarmákat. A betegség kialakulásában a genetikai tényezőkön kívül környezeti-életmódi faktorok – elsődlegesen a dohányzás – is szerepet játszanak. Néhány GWAS-tanulmány arthritis-állatmodellekben igazolta a humán RA-ben azonosított gének szerepét. Például a kollagénindukált (CIA), illetve a proteoglikán-indukált arthritis (PglA) modellekben két fontos lókuszt, a Pgia26/Cia5-t, illetve Pgia2/Cia2/Cia3-t sikerült azonosítani, melyek megfelelnek a humán PTPN22/CD2, illetve TRAF1/C5 lókuszeknek. A genetika és genomika igen hasznos a RA patogenezisének jobb megértése szempontjából.

**KULCSSZAVAK:** rheumatoid arthritis, arthritis-állatmodellek, genetika, SNP, genomika, GWAS, génpolimorfizmus, HLA-DR, shared epitóp

### Bevezetés

A rheumatoid arthritis (RA) autoimmun gyulladásoos reumatológiai kórkép, amely a populáció kb. 0,5–1%-át érinti, és krónikus ízületi gyulladást okoz, ami végül, megfelelő terápia és gondozás hiányában az ízület károsodásához és mozgáskorlátozottsághoz vezethet [1]. A genetikai faktorok, környezeti tényezők és az autoimmunitás „Bermuda háromszöge” játszik

### GENETICS AND GENOMICS OF RHEUMATOID ARTHRITIS. I. PATHOGENETIC ASPECTS

The “Bermuda triangle” of genetics, environment and autoimmunity contributes to the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA). The hereditary factors account for about 60%, while the role of HLA is estimated between 11–37%. Shared epitope (SE) alleles, such as HLA-DRB1\*01 and DRB1\*04, as well as non-SE alleles including HLA-DRB1\*13 and DRB1\*15 are important in RA susceptibility. The most relevant non-HLA gene single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with RA include PTPN22, IL23R, TRAF1, CTLA4, IRF5, STAT4, CCR6, PADI4. Genome-wide association studies (GWAS) have identified more than 30 loci involved in the pathogenesis of RA. HLA and some non-HLA genes may differentiate between anti-citrullinated protein antibody (ACPA) positive and seronegative RA. Genetic susceptibility has also been associated with environmental factors, primarily smoking. Some GWAS studies carried out in animal models have confirmed the role of human genes. For example, in the collagen-induced (CIA) and proteoglycan-induced arthritis (PglA) models, two important loci – Pgia26/Cia5 and Pgia2/Cia2/Cia3, corresponding the human PTPN22/CD2 and TRAF1/C5 loci, respectively – have been identified. Genetics and genomics are useful tools to study the pathogenesis and prognosis of RA.

**KEY-WORDS:** Rheumatoid Arthritis, Arthritis, Animal models, Genetics, SNP, Genomics, GWAS, HLA-DR, Shared epitope

szerepet a RA elindításában [2–10]. A korai diagnózis és az azonnali, effektív terápia kritikus szerepet játszik az ízületi degeneráció, a mozgáskorlátozottság és a betegség kedvezőtlen kimenetelének megelőzésében [1, 11]. Optimális esetben a hatékony kezelésnek a betegség megjelenését követő 3–6 hónapon belül meg kell kezdődnie, ezt az időszakot nevezzük „terápiás ablaknak”, amikor még esély van a remisszió elérésére [11, 12].

A RA kialakulásában az örökletes tényezők részvétele becslések szerint kb. 60%-ra tehető [6, 13]. A genetikai faktorok, ezen belül a II. osztályú fő hisztokompatibilitási antigének (MHC-II.) más néven humán leukocytá antigének (HLA-DR), illetve néhány non-HLA-gén, jelentős szerepet játszanak a RA patogenezisében [3, 5, 6, 9, 14, 15]. Mint látni fogjuk, számos HLA-, illetve non-HLA-gén, valamint a dohányzás ugyancsak fontos tényező a citrullinált fehérje antigénekkel szembeni autoantitest-termelés (ACPA) kialakulásában is. Röviden, a dohányzás és valószínűleg más környezeti, illetve életmódi tényezők kiváltják a szöveti citrullinációt és az ACPA képződését, ezáltal ACPA-szeropozitív RA kialakulását [7, 10, 14, 16–19]. A genetikai tényezőknek prognosztikai szerepe is lehet [5], és bizonyos génexpressziós profilok szintén összefüggést mutatnak a terápiára adott válasszal (farmakogenomika) [20–23].

Egy vagy több betegségasszociált kromoszómális régió a lehetséges patogenetikai hatását korábban külön-külön vizsgálták. Ezek az asszociációs tanulmányok gyakran ellentmondásokhoz vezettek, mivel néhány munkacsoport bizonyos egyes (single) nukleotid polimorfizmusokat (SNP) összefüggésbe hozták a RA-szel, míg mások ezt cáfolták [6, 24]. Újabban a teljes genomasszociációs vizsgálatok (genome-wide association studies, GWAS) és különösen a nagyméretű, többmillió populáción végzett kohorsz-adatbázisok (pl. Wellcome Trust Case Control Consortium; WTCCC) több ezer gén egyidejű vizsgálatát is lehetővé teszik, ezáltal pedig a genetikai kapcsoltság még inkább egyértelműsíthető [6, 24–26].

Miután technikailag és főleg etikailag nem minden vizsgálat folytatható le emberben, az arthritis állapotmodellekben végzett GWAS-vizsgálatok pótolhatják a humán RA-ben végzett megfigyelések hiányosságait. Ezen állatkísérletek lehetővé tehetik a gének szerepének még teljesebb feltérképezését kongenikus törzsek, illetve funkcionális vizsgálatok révén [27–30]. A klinikai, immunológiai és genetikai tényezőket figyelembe véve a legalkalmasabb állapotmodellek a RA tanulmányozására azok lehetnek, amelyek genetikailag meghatározott artritiszsel járnak, melyekben mind a T- és B-sejtek szerepet játszanak, és amelyekben lehetőség van porc eredetű vagy synovialis autoantigénnel arthritist provokálni [30–32].

Jelen összefoglalóban áttekintjük a RA genetikai hátterére vonatkozó legfrissebb álláspontokat. Röviden összefoglaljuk a RA öröklődését, a HLA- és non-HLA-gének patogenetikai és prognosztikai szerepével kapcsolatos legújabb és legfontosabb információk segítségével. A gének, ACPA és környezeti tényezők „Bermuda háromszöge” részletesebben is tárgyalásra kerül. Terjedelmi korlátok miatt összegzésünk valószínűleg nem lehet teljes. A terápiára adott válasz genetikai, genomikai vonatkozásairól, azaz a farmakogenomikáról ezen cikksorozat második eleme ad majd részletes tájékoztatást.

## A RA öröklődése

Összességében tekintve, az ACPA-pozitív és az ACPA-negatív RA kialakulásában az örökletes tényezők részvétele azonos, 60–70% [6, 14]. Korábban a HLA szerepét az összes genetikai tényezőt tekintve 37%-ra becsülték [33]. Az újabb tanulmányok szerint ez túlbecsült érték, és a „shared epitóp” (SE), azaz HLA-DRB1-allélok részaránya csupán 11% [34]. A két megítélés közti különbség egyik magyarázata az lehet, hogy a RA-re való hajlam protektív allélokkal is összefüggést mutat (ld. később) [6, 35]. A szeropozitivitást tekintve, a HLA hozzájárulása az öröklődéshez ACPA-pozitív esetekben 40%, míg ACPA-negatív betegekben csupán 2% [6].

## A HLA-gének patogenetikai és prognosztikai szerepe

Bizonyos HLA-DRB1\*01- (HLA-DR1) és HLA-DRB1\*04- (HLA-DR4) allélok mint SE-ok, szoros kapcsoltságot mutatnak a RA iránti fogékonysággal [36]. Ismeretes, hogy a QKRAA-, QQRAA- és KKRAA-aminosav-szekvenciák az antigénfelismerésért és a fogékonysággért felelősek, míg a DERAA-szekvencia inkább protektív hatást közvetít [3, 6]. A HLA-DRB1\*1001 szintén SE-ot tartalmazó allél, amelynek antigénkötő helye citrullint ismer fel, így képes stimulálni a citrullinált fehérjespecifikus T-sejt-választ [7, 37].

Mostanra világossá vált, hogy a genetikai hajlam tekintetében a HLA-DRB1 genotípusoknak egyfajta hierarchiája figyelhető meg. Mint láttuk, a SE allélok (HLA-DRB1\*01, DRB1\*04, DRB1\*10) mutatják a legerősebb kapcsolatot a betegségre való hajlammal [6, 14, 36, 38]. Újabban egyre több adat jelenik meg két nem SE jellegű HLA-DRB1 alléllal, a HLA-DRB1\*13-mal (HLA-DR13) és a DRB\*15-tel (HLA-DR15) kapcsolatban. Ezek közül a HLA-DRB1\*1301, \*1302 és \*1304 allélok a fent említett DERAA szekvenciához kapcsolódtak [39, 40]. Bár munkacsoportunk a HLA-DRB1\*13 és az ACPA-termelődség, a termelt ACPA-mennyiség között kapcsolatot írt le magyar RA-es betegekben [18], újabb nyugat- és észak-európai [34, 41], valamint japán [42] vizsgálatokban arra a következtetésre jutottak, hogy a HLA-DRB1\*13 allél protektív lehet a RA-szel szemben. A HLA-DRB1\*15 szerepe egyelőre vita tárgyát képezi. Korábbi japán és finn vizsgálatokban a HLA-DRB1\*15 allél protektív hatást mutatott RA-szel szemben [42, 43]. Mi azonban magasabb keringő ACPA-szinteket mértünk a DRB1\*15-öt hordozó betegekben [18]. Újabb vizsgálatok megerősítették, hogy a HLA-DRB1\*15-pozitivitás fokozott ACPA-termeléssel jár, így ez a genotípus összefüggést mutat az ACPA szeropozitív RA-szel [44]. Továbbá megfigyeltünk egy családot, amelynek 6 tagja RA-ben szenved. Érdekes, hogy a 6 érintettből 4 beteg HLA-DRB1\*15-genotípus-hordozó (l. táblázat) [45].

Jelölt gén	Kódolt fehérje
HLA-DRB1	II. típusú Humán Leukocita Antigén // fő hisztokompatibilitási komplex
PTPN22	fehérje tirozin foszfatáz, 22. típusú nem receptor
TRAF1/C5	tumor nekrosis faktorhoz kapcsolt 1-es faktor
STAT4	szignál transzducer és transzkripció aktivátor-4
PADI4	peptidilarginin-deimináz-4
IRF5	interferonhoz kapcsolt faktor-5
FCGR	Fc-gamma receptor
IL2RA, IL2RB	interleukin-2-A és -B
CD40	CD40
CCL21	CC kemokin-ligand-21
CCR6	CC kemokin-receptor-6

### I. táblázat. A legfontosabb hajlamosító allélok rheumatoid arthritisben

A SE hipotézis felülvizsgálatára törekedve új klaszifikációs rendszert javasoltak és validáltak francia kutatók [39, 40]. Röviden, az RAA szekvencia által közvetített öröklődési hajlamban a 70-es és 71-es pozícióban lévő aminosavak játszanak kulcsszerepet. Így, a 71-es pozícióban levő lizin (K) nagyobb rizikót, míg az arginin (R) közepes, az alanin (A) és a glutaminsav (E) pedig alacsony rizikót jelent. A 70-es pozícióban, a glutamin (Q) és arginin (R) magasabb rizikót közvetít [39]. A 70-es és 71-es pozícióban lévő aminosavak típusa alapján az új klaszifikációs rendszer a SE allélokat S1, S2, S3P és S3D csoportokra osztja, és az összes non-RAA motívumot pedig X-szel jelöli. Az S2 és S3P allélt hordozók pozitív összefüggést mutattak a RA öröklődési hajlamával, míg az S3D- és az X-allélok alacsony rizikót jelentenek [39, 40]. Az új rendszert sikeresen validálták más francia kohorszokban [40], illetve több nagy kaukázusi, ázsiai és afroamerikai betegcsoportokban [46]. Az S2 vagy S3P alléltípusok megjelenése összefüggést mutatott az ACPA termelődésével, míg az S3D és S1 allélok, úgy tűnik, védő funkcióval rendelkeznek [47]. Munkacsoportunk megvizsgálta az S1, S2, S3P és S3D allélok hatását az ACPA-pozitív RA kialakulására. Azt találtuk, hogy nemcsak az S2 és S3P, de, kisebb mértékben, az S1 és S3D allélok is hajlamosítanak ACPA (anti-CCP és anti-CV) termelődésére [48]. A fent említett nem-SE jellegű allélok, mint HLA-DRB1\*15, továbbá HLA-DRB1\*13, \*1301, \*1302 és \*1304 variánsai szintén az S1 csoport tagjai, ami szorosabb kapcsolatot mutat a RA kialakulásának hajlamával [48].

A prognózis és klinikai lefolyás tekintetében a SE hordozása olyan rizikófaktor, ami súlyosabb és destruktívabb RA-hez, illetve extraarticularis manifesztációk kialakulásához vezet [3, 49, 50]. Valószínű, hogy a SE maga nem közvetlenül felelős a rosszabb prognózisért, hanem, mint később részletesebben tárgyaljuk, indirekt módon, az ACPA-termelésen keresztül befolyásolja a kimenetelt [3, 51, 52].

Ellentétben az eddig említett HLA-DRB1 allélokkal, a HLA-DRB\*03 (HLA-DR3) inkább az ACPA

negatív RA-hez és enyhébb betegségfolyáshoz kötődik [3]. Összességében, ahogy később is látni fogjuk, a HLA-DRB1-asszociációk túlnyomórészt az ACPA-pozitív RA-re jellemzőek [38, 53].

### Nem HLA jellegű hajlamosító gének

A HLA-DR allélokon kívül számos tanulmány igazolta a non-HLA gének szerepét a RA iránti fogékonyságban. Több mint 30 olyan non-HLA locus ismert, melyeket összefüggésbe hoztak a betegséggel [6, 50, 54–57]. Közülük valószínűleg a legerősebb kapcsolatot a PTPN22- és IL3R-gének jelentik [5, 6, 38, 56, 58–60]. A magyarországi betegek esetében is megfigyelhettük a kapcsolatot ezekkel a locusokon bekövetkező génpolimorfizmusokkal [58, 59]. A peptidil-arginin-deimináz-enzim 4-es variánsát (PADI4) kódoló PADI4-gén részt vesz a fehérje citrullinációban, ami a RA patogenezisének egyik kulcsmomentuma. A PADI4-haplotípus kapcsolatát a RA-szel az ázsiai vizsgálatokban ki tudták mutatni [61, 62], azonban a kaukázusi populációban, köztük magyar csoportokban nem tudták ezt az összefüggést megfigyelni [63, 64]. A GWAS-tanulmányokhoz kapcsolódóan később láthatjuk, hogy vannak további, a RA-szel kapcsolatba hozható locusok, többek között, a TRAF1, CTLA4, IRF5, STAT4, IL6ST, IL2RA, IL2RB, CCL21, CCR6, CD40 és mások (I. táblázat) [6, 38, 54, 55, 57].

Most röviden áttekintjük a legfontosabb locusok főbb tulajdonságait. Az intracelluláris foszfo-tirozin-foszfatáz non-receptor típus 22-t (PTPN22) kódoló gén (PTPN22) a SE (HLA-DRB1) után a második legerősebb kapcsolatot mutatja a RA-szel. Ez az allél más autoimmun betegségek, így az I. típusú diabetes mellitus, Graves-Basedow-kór, myasthenia gravis, szisztémás sclerosis, lupus, Addison-kór és mások kialakulásában is részt vesz. A PTPN22-gén C1885T polimorfizmusa egy Arg-Trp aminosavcseréhez vezet a 620-as pozícióban, ami – elsősorban a kaukázusi populációban – a betegség kialakulásának rizikóját

fokozza. Ez a SNP az ACPA- és reumafaktor (RF) pozitív RA alcsoporthoz kötődik, és valószínűleg rosszabb prognózist jelent [5, 50, 60, 65–67]. A SE-pal ellenben a PTPN22 nem mutat olyan szoros kapcsolatot a dohányzással [68–71].

Az újabb GWAS-adatok alapján a TRAF1 a TRAF-C5 régióban lehet a harmadik legerősebb RA-szel kapcsolt locus. Ez a régió elsősorban ACPA-pozitív RA-szel mutat összefüggést. A TNF-receptor asszociált faktor-1 (TRAF1) olyan adapter fehérje, amely a TNF-család tagja, és mint a TNF- $\alpha$ -nak, feladata a szignalizációs folyamat lassítása. A TRAF1 szerepet játszik a sejtnövekedésben és -proliferációban, apoptózisban, csontátépülésben, a citokin-aktivációban és összességében a RA patogenezisének több lépésében. A TRAF1 összefüggést mutat a fokozott radiológiai progresszióval, de nem mutat kapcsolatot a RA halálózásával [38, 50, 72–74]. A TRAF1-C5 régió a RA mellett a SLE-szal is összefüggést mutat [75].

A STAT4 kapcsolata a RA-szel – az eddig tárgyalt génekhez képest – meglehetősen szerény. Ez a locus a lupusszal, sclerodermával, autoimmun diabetes-szel, juvenilis idiopathiás arthritisszel és valószínűleg gyulladásos bélbetegségekkel is kapcsolt. A szignál transzducer és transzkripció aktivátor 4 (STAT4) kiemelt szerepet játszik a citokinek szignalizációjában, elsősorban a JAK2-n keresztül. Érdekes, hogy a STAT4-génben leírt különböző SNP-k mind az ACPA-pozitív, mind a szeronegatív RA rizikóját megnövelik [38, 76–78].

Mint láttuk, a fehérjék citrullinációját (az Arg-citrullin-átalakulást) a PADI4-enzim katalizálja. A RA és PADI4 polimorfizmus közötti kapcsolatot először nagy ázsiai, japán és koreai kohorszokban mutatták ki. Ez a genetikai összefüggés sokkal gyengébb volt a kaukázusi populációkban. Ahogy korábban leírtuk, a PADI4 és RA közötti kapcsolatot magyar betegekben sem sikerült igazolni [38, 62, 64, 79–81].

Az Fc $\gamma$ -receptorok kulcsszerepet játszanak az antigén-prezentációban és a gyulladásban. Egy 945 RA betegből álló kohorszban az Fc $\gamma$ -receptor IIIA-génjének (FCGR3A) 158V/F polimorfizmusát vizsgálták. A VV-genotípus és az ACPA szeropozitív RA között kapcsolatot figyeltek meg kaukázusi népcsoportokban, azonban ázsiai populációkban ezt nem lehetett kimutatni [82–84].

A CD40-gén olyan fehérjét kódol, amely tagja a TNF-receptor szupercsaládnak, valamint fontos szerepet játszik az immunválasz számos lépésében, többek között a B-sejt-fejlődésben, illetve a kostimulációban. A CD40 a RA ismert rizikófaktora. A CD40 locuson kialakuló SNP és a RA súlyossága között összefüggés figyelhető meg [50, 85].

Az újabban felismert új rizikó locusok közül a CCR6 kemokin receptor génje (CCR6) került az érdeklődés középpontjába [86]. A CCR6 kemokin receptort a Th17-sejtek expresszálják. Ez a receptor, és ligandja, a CCL20, részt vesznek az IL-17-mediált

gyulladásos folyamatokban, így a RA kialakulásában is [86–88].

Összefoglalva, számos HLA- és non-HLA-gén játszik szerepet a RA iránti fogékonyságban, más gének inkább védő hatásúak. Napjainkig több mint 30, a RA-szel kapcsolatba hozható gén vált ismertté [3, 6, 15, 38, 54, 57].

## A gének, az autoimmunitás és a környezet kölcsönhatásai a betegség kialakulása és progressziója során

Valószínű, hogy a HLA-DR-gének indirekt módon, az autoantitest-termelődés révén vesznek részt a RA kialakulásában és kimenetelében. A SE-ok valószínűleg elsődleges rizikófaktora a fokozott ACPA-termelődésnek. A SE nem csupán az ACPA-pozitivitással mutat összefüggést, hanem az abszolút ACPA-szinttel is [18]. A HLA-DRB1 allélok közül az ACPA-termelődéshez inkább a HLA-DRB1\*01 kapcsolódik, a HLA-DRB1\*04 kevésbé [3, 18, 89]. A HLA-DRB1\*04 szubtypusok közül a DRB1\*0401, \*0404, \*0405 és \*0408 SE-ok mutatják a legszorosabb összefüggést az ACPA-termeléssel és a szeropozitív RA kialakulásával [3, 90]. A MHC régióban lévő 2221 SNP közül 299 szignifikáns összefüggést mutat az ACPA-pozitív RA-szel, azonban ezen SNP-ok egyike sem mutat kapcsolatot a szeronegatív betegséggel [53]. A nem SE jellegű HLA-DRB1 allélok közül a már említett HLA-DRB1\*13 és DRB1\*15 szintén részt vesznek az ACPA termelésében [18, 44]. Újabb tanulmányok szerint a HLA-DRB1\*13 és DRB1\*03, a korábban leírtaknak megfelelően, inkább az ACPA-negatív RA-szel mutat összefüggést [3, 54, 55, 91, 92]. Emellett a HLA-DRB1\*13 protektív hatású is lehet [54, 91] (II. táblázat). A különböző ACPA-típusok vonatkozásában a SE hordozás kapcsolható az anti-ciklikus citrullinált peptid (CCP), anti-citrullinált vimentin (CV), anti-citrullinált fibrinogén (CF), anti-citrullinált  $\alpha$ -enoláz peptid (CEP) és anti-citrullinált myelin bázisú fehérje (MBP) termelődésével is [3, 8, 51, 90, 93–97]. Az autoimmun válasz egyszerre egy vagy több citrullinált epitóp ellen is kialakulhat, és megfigyelhető az „epitóp spreading” is, vagyis a betegség lefolyása során, sőt már a preklinikai fázisban

ACPA-pozitív	ACPA-negatív
HLA-DRB1*01	HLA-DRB1*03
HLA-DRB1*04	HLA-DRB1*13
HLA-DRB1*15	IRF5 (?)
CTLA4	STAT4
STAT4	VTCN1
	CLEC16A

Lásd a szövegben a rövidítéseket és a további magyarázatokat.

## II. táblázat. A fő genetikai különbségek ACPA-pozitív és -negatív RA-ben\*

is, változhat az ACPA-termelést kiváltó epitóp típusa. Összességében azonban az az általános vélemény, hogy az autoimmunitás beindulása és kiterjedése, valamint a gyulladós és radiológiai progresszió nem annyira a finom ACPA-specifitásokkal, mint inkább az ACPA-termelés meglétével vagy hiányával (szeropozitivitás, illetve negativitás) mutat összefüggést [96, 97].

Néhány non-HLA allél esetében is megfigyelhető, hogy inkább ACPA-pozitív vagy szeronegatív RA kialakulásában játszanak-e szerepet. A már említett fontosabb locusok közül a CTL4 inkább az ACPA-pozitív, az IRF5 az ACPA-negatív, míg a STAT4 mind a szeropozitív, mind a szeronegatív formákban szerepet játszhatnak [50, 54, 98, 99]. Újabb vizsgálatokban azt az eredményt találták, hogy a VTCN1-génben kialakuló SNP-ok, amelyek a T-sejt-függő immunválasz negatív szabályozói, az ACPA-negatív RA-hez köthetők [100]. A C-típusú lektin domén család 16 A tagjának génjében (CLEC16A) kialakult SNP-ok rizikót jelentenek autoimmun diabetes mellitusra és sclerosis multiplexre. Úgy tűnik, hogy a CLEC16A-gén 22-es intronjában lévő SNP összefüggést mutat a RA-szel, ez a kapcsolat azonban csupán az ACPA-negatív alcsoportra korlátozódik (*l. táblázat*) [101].

Számos tanulmány készült, melyek a környezeti és életmódbeli tényezők, elsősorban a dohányzás szerepét vizsgálták a RA kialakulásában és a betegségfolyásban. Néhány földrajzi területen a dohányzás és az extraartikuláris manifesztációk, így a nodulosus, cardiovascularis komplikációk, valamint a súlyosabb betegségfolyás között kapcsolatot lehetett megfigyelni [9, 10, 17, 19, 90, 102]. A dohányzás elősegíti a synoviális fehérjék citrullinációját és így az ACPA termelődését is [10, 17, 90, 97, 103, 104]. Skandináv és nyugat-európai tanulmányokban azt figyelték meg, az ACPA-pozitív RA kialakulása jelentősen megnő azon dohányzó betegeknél, akik egy (heterozigóta) vagy 2 (homozigóta) SE-allélt hordoznak [10, 17, 104, 105]. Amint korábban említettük, a dohányzás és a SE allélok közötti kölcsönhatás autoimmun folyamatot válthat ki, amely nem specifikus citrullináció következtében alakul ki [96, 97].

A legtöbb tanulmány, amelyek a genetikai, autoimmun, valamint életmódi tényezők „Bermuda háromszögét” vizsgálta RA-ben, nyugat-európai országokból származott. Munkacsoportunk végezte az első közép-kelet-európai tanulmányt 91 magyar RA-es beteg vizsgálatával. Összefüggést figyeltünk meg a HLA-DRB1, az ACPA-termelődés és az életmódbeli tényezők, így a dohányzás, illetve az alkoholfogyasztás között. A SE tekintetében mind a du Montcel-féle francia SE klasszifikációs rendszert használtuk [39]. Részletes korrelációs analízis révén pozitív kapcsolatot igazoltunk a SE és ACPA-pozitivitás, illetve az anti-CCP abszolút szérumszintje között [39]. A SE-pozitivitás összefüggést mutatott a dohányzással, de az ACPA-pozitivitás nem. Ezzel szemben az abszo-

lút szérum-ACPA-szint korrelált a dohányzással a SE-től függetlenül is [39].

## Genomikai vizsgálatok: egerek és emberek

### Genomikai tanulmányok RA-ben

A már említett, WTCCC konzorciumban végzett GWAS-vizsgálatban nyolc idült gyulladós kórkép, ezen belül a RA genomikai hátterét elemezték. Három a RA-szel összefüggést mutató rizikólocuszt azonosítottak, melyek közül az egyik a HLA volt [26]. Más GWAS-vizsgálatokban és metaanalízisekben összesen 31 non-MHC RA rizikóallélt fedeztek fel [6, 26, 38, 54, 55, 57]. Az egyik nagy GWAS-metaanalízisben 14 központ betegeiből nyert adatokat elemezve 7 új RA rizikólocuszt azonosítottak. Ezek a SNP-ok közel helyezkednek el néhány ismert immunológiai funkciójú génterülethez (pl. IL6ST, SPRED2, CCR6, IRF5, PDK) [55]. Összességében a legfontosabb hajlamosító lokuszok, melyeket több genomikai tanulmányban is összefüggésbe hoztak a RA-szel: PADI4, PTPN22, IL23R, CTLA4, IRF5, STAT4, IL6ST, TRAF1, TNFAIP3, CD40, IL2RB, CCL21, CCR6, CD2 [5, 6, 54, 55, 57]. A leggyakoribb gének főbb jellemzőit fentebb bemutattuk (*l. táblázat*).

Egy komplex, három gyakori gyulladós kórkép közös és specifikus genetikai hátterére irányuló saját kutatásban 96 gén expresszióját tanulmányoztuk egy közös platformon. RA-ben, psoriasisban és gyulladós bélbetegségben (IBD) szenvedő betegek perifériás vér leukocytáit izoláltuk, és TaqMan Low Density Array- (TLDA) módszerrel vizsgáltuk az egyes betegségekre jellemző specifikus, valamint a mindhárom kórképre jellemző „közös gyulladós” génexpressziós mintázatokat. A betegeket egészséges kontrollok mintáihoz hasonlítottuk. Ennek keretében öt közös „gyulladós gént” tudtunk azonosítani, ezek az ADM, AQP9, CXCL2, IL10, és NAMPT, melyek az adrenomedullint, az aquaporin-9-et, a CXCL2-kemokint, az interleukin-10-et (IL-10) és a visfatint kódolják. Ezen 5 génből álló mintázat jól elkülöníti a gyulladós betegségben szenvedőket az egészséges kontrolloktól. Ezenkívül RA-ben 21, psoriasisban 6, IBD-ben 11 „betegség-specifikus” gént azonosítottunk. A RA-re jellemző gének között szerepelnek a fentebb már tárgyalt PTPN22 és IL23R, valamint az ADAM-proteázokat (aggrekanázok) kódoló bizonyos gének (ADAM12, ADAM19, ADAM33), a CXCL8-, CCL4- és CCL5-kemokin gének, a 90 kDa hőszokkfehérje egyik génje (HSP90AA1), illetve a Toll-like receptor-4 (TLR4) ligandját kódoló HMGB1-gén [15].

A humán RA genomikai tanulmányoknak korlátai lehetnek. A SNP-ok csak néhány olyan régióban vannak jelen, ahol ismert funkciójú gének, kódoló szakaszok találhatóak. Emellett néhány SNP, mint például az IL23R-, PTPN22- vagy IRF5-génekben levők, a RA mellett más autoimmun gyulladós kórképekre

való hajlammal is összefüggést mutatnak. Az emberi populáció extrém heterogenitása miatt, különösen az izgalmas korai tanulmányok, inkább a korábban meglévő „frusztrációt” erősítették, mintsem a kérdéseket tisztázták volna. Relatív kis számú egyértelmű, megerősítő jellegű metaanalízist publikáltak az utóbbi években [24, 38, 54, 55, 106, 107].

### GWAS-vizsgálatok kísérletes arthritismodellekben

Az állati arthritismodellekben végzett tanulmányok segíthetnek kitölteni azokat a réseket, amelyeket a humán vizsgálatok említett korlátai okoztak. A RA patogenezisének számos aspektusa, a terápia genomikai hatásai korlátozottan vizsgálhatók emberben. Az autoimmun-válasz, a T- és B-sejtek szerepének számos részletét állatmodellben jól lehet vizsgálni [28, 29]. Az elmúlt évtizedekben a RA számos állatmodelljét ismertük meg, azonban egyik sem egyezik meg teljes mértékben az emberi RA-szel. A legmegfelelőbbnek azon állatmodellek tűnnek, amelyek genetikailag kontrollált autoimmun ízületi megbetegedést okoznak, amelyekben mind a T-, mind a B-sejtek egyértelműen részt vesznek, valamint amelyek lehetővé teszik, hogy a porc és más ízületi szövetek ellen termelt autoantitestek synovialis gyulladást hozzanak létre [28, 29, 108–110]. A RA állatmodelljei közül a porc proteoglikán (PG) (aggrecan) indukált arthritis (PglA) ilyen alkalmasnak bizonyult modell [108, 110, 111].

A humán vizsgálatokkal szemben, ahol heterogén betegpopulációkat vizsgálnak, állatokban lehetőség van az arthritishajlamot növelő faktorok, illetve vele szembeni rezisztenciát okozó veleszületett defektusok vizsgálatára. Ezen GWAS-tanulmányokkal azonosíthatóak a betegség kiváltásában fontos ún. „kvantitatív trait lokuszok” (QTL). Rágcsálómodellekben több mint száz non-HLA rizikóallélt azonosítottak. A humán tanulmányokkal szemben, a felfedezett állati QTL-ok nagy részének funkcionális jelentőségét még nem sikerült teljesen igazolni a különböző laboratóriumokban. Módszertanilag pedig az állatkísérletekben a polimeráz láncreakció (PCR) alapuló szekvencia hossz-polimorfizmus (SSLP) módszert használták a QTL-ok azonosítására, amely technika alapvetően eltér a humán genom vizsgálata során alkalmazott, microarray-n alapuló SNP-szűréstől. Mindezek miatt igen nehéz összevetni az állatmodellekben nyert eredményeket a humán GWAS-vizsgálatok adataival [30, 38, 54, 55].

Az utóbbi években munkacsoportunk számos GWAS-tanulmányt végzett a PglA- és a kollagénindukált arthritis (CIA) modellekben. Összességében több mint 5000 vad típusú szülőt, 500 PglA-ra negatív F1-hibridet, és 3200, hat különböző genetikai keresztezésen átesett F2-hibridet vizsgáltunk, több mint 240 SSLP-marker segítségével. Anélkül, hogy minden részletet ismertetnénk, az utóbbi 15 évben 29 PglA és 14 új Cia lokuszt sikerült azonosítani az

F2-hibrid egerek különböző genetikai kombinációiban [30, 112]. Összesen 13 olyan QTL-t azonosítottunk az 1, 2, 3, 5, 6, 10, 13, 15 egérekromoszómán, melyek legalább egy ismert humán RA rizikóallélnak megfelelőek [111, 112].

Végeredményben két olyan fontos allélt is sikerült azonosítanunk, amelyek a fentebb leírt jelentősebb emberi RA-re hajlamosító non-HLA-géneknek megfelelnek. A 3-as egérekromoszómán levő PglA26/Cia5-allél az emberi 1-es kromoszóma PTPN22/CD2-alléljának; míg a 9-es egérekromoszóma PglA2/Cia2/Cia3-allélja a humán 9-es kromoszóma TRAF1/C5-alléljának felel meg [111–113]. Ezt a két domináns egér QTL-t tovább vizsgáltuk az arthritésre való fogékonyság, klinikai megjelenés és súlyosság tekintetében [113].

### Összefoglalás

A genetikai faktorok, környezeti tényezők és autoimmunitás „Bermuda háromszöge” összefüggést mutat a RA kialakulására való hajlammal, a betegség megjelenésével és kimenetelével is. A RA örökletessége kb. 60%-ra becsülhető. A HLA-DRB1\*01 és HLA-DRB1\*04 SE allélok kivételével egyre több figyelmet irányul két nem SE-jellegű HLA-DRB1 alléllra, a DRB\*13-ra és DRB1\*15-re. Az új du Montcel-féle SE klasszifikációs rendszer a SE allélokot S1-, S2-, S3P- és S3D-csoportokra osztja. Úgy tűnik, hogy főleg az S2 és S3P, de kisebb mértékben az S1 és S3D allélok is hajlamosíthatnak ACPA-pozitív RA kialakulására. A SE-hordozás súlyosabb, destruktívabb és „szisztémás” RA kialakulásával és rosszabb prognózissal is összefüggést mutat. A GWAS-tanulmányok legalább 30 non-HLA lokuszt hozott összefüggésbe a RA kialakulásával. Ezek közül kiemelendő a PTPN22, TRAF1, CTLA4, IRF5, STAT4, IL23R, CCR6, CD40 és PADI4. Szignifikáns összefüggést lehet megfigyelni a gének, ACPA-státus és dohányzás között. Az emberi RA genetikai hátterének finomabb részleteinek megismerésére az állatmodellek nyújtanak lehetőséget. Ilyen, a betegség kialakulására hajlamosító lokuszokat találtak egér-CIA és -PglA arthritismodellekben, melyek megfelelnek a humán PTPN22/CD2- és TRAF1/C5-alléloknak. Még további nagyszabású megerősítő tanulmányokra van szükség a genetika és genomika területén, hogy a gyulladásos reumatológiai betegségek kialakulása, lefolyása és prognózisa még jobban megismerhető legyen.

### Köszönetnyilvánítás

A munka a 315/2009 jelű ETT-pályázat (Sz.Z.); az Európai Unió által finanszírozott TÁMOP 4.2.1/B-09/1/KONV-2010-0007 és TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0031 számú pályázatok (Sz. Z.), a DEOEC Bridging Fund (Sz. Z.), valamint a National Institute of Health (NIH) (USA) R01-AR059356 grant (G. T.) támogatásával készült.

## Irodalom

- [1] Alamanos, Y., Drosos, A. A.: Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2005, 4, 3, 130–136.
- [2] Klareskog, L., Padyukov, L., Alfredsson, L.: Smoking as a trigger for inflammatory rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2007, 19, 1, 49–54.
- [3] van der Helm-van Mil, A. H., Wesoly, J. Z., Huizinga, T. W.: Understanding the genetic contribution to rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2005, 17, 3, 299–304.
- [4] van der Woude, D., Alemayehu, W. G., Verduijn, W., de Vries, R. R., Houwing-Duistermaat, J. J., Huizinga, T. W., et al.: Gene-environment interaction influences the reactivity of autoantibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2010, 42, 10, 814–816.
- [5] Szodoray, P., Szabó, Z., Kapitány, A., Gyetvai, A., Lakos, G., Szántó, S., et al.: Anti-citrullinated protein/peptide autoantibodies in association with genetic and environmental factors as indicators of disease outcome in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2010, 9, 3, 140–143.
- [6] de Vries, R.: Genetics of rheumatoid arthritis: time for a change! *Curr Opin Rheumatol* 2011, 23, 3, 227–232.
- [7] Cooles, F. A., Isaacs, J. D.: Pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2011, 23, 3, 233–240.
- [8] Szekanecz, Z., Soós, L., Szabó, Z., Fekete, A., Kapitány, A., Végvári, A., et al.: Anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: as good as it gets? *Clin Rev Allergy Immunol* 2008, 34, 1, 26–31.
- [9] Klareskog, L., Padyukov, L., Lorentzen, J., Alfredsson, L.: Mechanisms of disease: Genetic susceptibility and environmental triggers in the development of rheumatoid arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006, 2, 8, 425–433.
- [10] Padyukov, L., Silva, C., Stolt, P., Alfredsson, L., Klareskog, L.: A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004, 50, 10, 3085–3092.
- [11] Raza, K., Buckley, C. E., Salmon, M., Buckley, C. D.: Treating very early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006, 20, 5, 849–863.
- [12] Smolen, J. S., Landewe, R., Breedveld, F. C., Dougados, M., Emery, P., Gaujoux-Viala, C., et al.: EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis* 2010, 69, 6, 964–975.
- [13] MacGregor, A. J., Snieder, H., Rigby, A. S., Koskenvuo, M., Kaprio, J., Aho, K., et al.: Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum* 2000, 43, 1, 30–37.
- [14] de Vries, R. R., van der Woude, D., Houwing, J. J., Toes, R. E.: Genetics of ACPA-positive rheumatoid arthritis: the beginning of the end? *Ann Rheum Dis* 2011, 70 Suppl 1, i51–i54.
- [15] Mesko, B., Poliska, S., Szegedi, A., Szekanecz, Z., Palatka, K., Papp, M., et al.: Peripheral blood gene expression patterns discriminate among chronic inflammatory diseases and healthy controls and identify novel targets. *BMC Med Genomics* 2010, 3, 15.
- [16] Lee, H. S., Irigoyen, P., Kern, M., Lee, A., Batliwalla, F., Khalili, H., et al.: Interaction between smoking, the shared epitope, and anti-cyclic citrullinated peptide: a mixed picture in three large North American rheumatoid arthritis cohorts. *Arthritis Rheum* 2007, 56, 6, 1745–1753.
- [17] Pedersen, M., Jacobsen, S., Garred, P., Madsen, H. O., Klarlund, M., Svejgaard, A., et al.: Strong combined gene-environment effects in anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis: a nationwide case-control study in Denmark. *Arthritis Rheum* 2007, 56, 5, 1446–1453.
- [18] Kapitány, A., Szabó, Z., Lakos, G., Aleksza, M., Végvári, A., Soós, L., et al.: Associations between serum anti-CCP antibody, rheumatoid factor levels and HLA-DR4 expression in Hungarian patients with rheumatoid arthritis. *Isr Med Assoc J* 2008, 10, 1, 32–36.
- [19] Besenyi, T., Gyetvai, A., Szabó, Z., Fekete, A., Kapitány, A., Szodoray, P., et al.: Associations of HLA-shared epitope, anti-citrullinated peptide antibodies and lifestyle-related factors in Hungarian patients with rheumatoid arthritis: data from the first Central-Eastern European cohort. *Joint Bone Spine* 2011, 78, 6, 652–653.
- [20] Davila, L., Ranganathan, P.: Pharmacogenetics: implications for therapy in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2011, 7, 9, 537–550.
- [21] Marsal, S., Julia, A.: Rheumatoid arthritis pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 2010, 11, 5, 617–619.
- [22] Verweij, C. L.: Pharmacogenetics: Anti-TNF therapy in RA—towards personalized medicine? *Nat Rev Rheumatol* 2011, 7, 3, 136–138.
- [23] Mesko, B., Poliska, S., Szamosi, S., Szekanecz, Z., Podani, J., Váradi, C., et al.: Peripheral blood gene expression and IgG glycosylation profiles as markers of tocilizumab treatment in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2012, 39, 5, 916–928.
- [24] Centola, M., Szekanecz, Z., Kiss, E., Zeher, M., Szegedi, G., Nakken, B., et al.: Gene expression profiles of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol* 2007, 3, 5, 797–806.
- [25] Feng, T., Zhu, X.: Genome-wide searching of rare genetic variants in WTCCC data. *Hum Genet* 2010, 128, 3, 269–280.
- [26] Craddock, N., Hurles, M. E., Cardin, N., Pearson, R. D., Plagnol, V., Robson, S., et al.: Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2010, 464, 7289, 713–720.
- [27] Adarichev, V. A., Vermes, C., Hanyecz, A., Mikecz, K., Bremer, E. G., Glant, T. T.: Gene expression profiling in murine autoimmune arthritis during the initiation and progression of joint inflammation. *Arthritis Res Ther* 2005, 7, 2, R196–207.
- [28] van den Berg, W. B.: Lessons from animal models of arthritis over the past decade. *Arthritis Res Ther* 2009, 11, 5, 250.
- [29] Ahlqvist, E., Hultqvist, M., Holmdahl, R.: The value of animal models in predicting genetic susceptibility to complex diseases such as rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009, 11, 3, 226.

- [30] Glant, T. T., Finnegan, A., Mikecz, K.: Proteoglycan-induced arthritis: immune regulation, cellular mechanisms, and genetics. *Crit Rev Immunol* 2003, 23, 3, 199–250.
- [31] Wooley, P. H.: The usefulness and the limitations of animal models in identifying targets for therapy in arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004, 18, 1, 47–58.
- [32] Wooley, P. H.: Animal models of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1991, 3, 3, 407–420.
- [33] Deighton, C. M., Walker, D. J., Griffiths, I. D., Roberts, D. F.: The contribution of HLA to rheumatoid arthritis. *Clin Genet* 1989, 36, 3, 178–182.
- [34] van der Woude, D., Houwing-Duistermaat, J. J., Toes, R. E., Huizinga, T. W., Thomson, W., Worthington, J., et al.: Quantitative heritability of anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009, 60, 4, 916–923.
- [35] van der Helm-van Mil, A. H., Huizinga, T. W., Schreuder, G. M., Breedveld, F. C., de Vries, R. R., Toes, R. E.: An independent role of protective HLA class II alleles in rheumatoid arthritis severity and susceptibility. *Arthritis Rheum* 2005, 52, 9, 2637–2644.
- [36] Gregersen, P. K., Silver, J., Winchester, R. J.: The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987, 30, 11, 1205–1213.
- [37] James, E. A., Moustakas, A. K., Bui, J., Papadopoulos, G. K., Bondinas, G., Buckner, J. H., et al.: HLA-DR1001 presents „altered-self” peptides derived from joint-associated proteins by accepting citrulline in three of its binding pockets. *Arthritis Rheum* 2010, 62, 10, 2909–2918.
- [38] Coenen, M. J., Gregersen, P. K.: Rheumatoid arthritis: a view of the current genetic landscape. *Genes Immun* 2009, 10, 2, 101–111.
- [39] du Montcel, S. T., Michou, L., Petit-Teixeira, E., Osorio, J., Lemaire, I., Lasbleiz, S., et al.: New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis Rheum* 2005, 52, 4, 1063–1068.
- [40] Michou, L., Croiseau, P., Petit-Teixeira, E., du Montcel, S. T., Lemaire, I., Pierlot, C., et al.: Validation of the reshaped shared epitope HLA-DRB1 classification in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2006, 8, 3, R79.
- [41] Tuokko, J., Nejentsev, S., Luukkainen, R., Toivanen, A., Ilonen, J.: HLA haplotype analysis in Finnish patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001, 44, 2, 315–22.
- [42] Terao, C., Ohmura, K., Kochi, Y., Ikari, K., Maruya, E., Katayama, M., et al.: A large-scale association study identified multiple HLA-DRB1 alleles associated with ACPA-negative rheumatoid arthritis in Japanese subjects. *Ann Rheum Dis* 2011, 70, 2134–2139.
- [43] Laivoranta-Nyman, S., Mottonen, T., Hermann, R., Tuokko, J., Luukkainen, R., Hakala, M., et al.: HLA-DR-DQ haplotypes and genotypes in Finnish patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004, 63, 11, 1406–1412.
- [44] Laki, J., Lundstrom, E., Snir, O., Ronnelid, J., Ganji, I., Catrina, A. I., et al.: Very high levels of anti-citrullinated protein antibodies are associated with HLA-DRB1\*15 non-shared epitope allele in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2012, 64, 7, 2078–2084.
- [45] Zsilak, S., Gal, J., Hodinka, L., Rajczy, K., Balog, A., Sipka, S., et al.: HLA-DR genotypes in familial rheumatoid arthritis: increased frequency of protective and neutral alleles in a multicase family. *J Rheumatol* 2005, 32, 12, 2299–2302.
- [46] Barnetche, T., Constantin, A., Cantagrel, A., Cambon-Thomsen, A., Gourraud PA. New classification of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis susceptibility: a combined analysis of worldwide samples. *Arthritis Res Ther* 2008, 10, 1, R26.
- [47] Gourraud, P. A., Dieude, P., Boyer, J. F., Nogueira, L., Cambon-Thomsen, A., Mazieres, B., et al.: A new classification of HLA-DRB1 alleles differentiates predisposing and protective alleles for autoantibody production in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2007, 9, 2, R27.
- [48] Gyetvai, A., Szekanecz, Z., Soós, L., Szabó, Z., Fekete, A., Kapitány, A., et al.: New classification of the shared epitope in rheumatoid arthritis: impact on the production of various anti-citrullinated protein antibodies. *Rheumatology (Oxford)* 2010, 49, 25–33.
- [49] Huizinga, T. W., Amos, C. I., van der Helm-van Mil, A. H., Chen, W., van Gaalen, F. A., Jawaheer, D., et al.: Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005, 52, 11, 3433–3438.
- [50] Scott, I. C., Steer, S., Lewis, C. M., Cope, A. P.: Precipitating and perpetuating factors of rheumatoid arthritis immunopathology: linking the triad of genetic predisposition, environmental risk factors and autoimmunity to disease pathogenesis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2011, 25, 4, 447–468.
- [51] Klareskog, L., Widhe, M., Hermansson, M., Ronnelid, J.: Antibodies to citrullinated proteins in arthritis: pathology and promise. *Curr Opin Rheumatol* 2008, 20, 3, 300–305.
- [52] de Vries, R. R., Huizinga, T. W., Toes, R. E.: Redefining the HLA and RA association: to be or not to be anti-CCP positive. *J Autoimmun* 2005, 25, Suppl 21, 5.
- [53] Ding, B., Padyukov, L., Lundstrom, E., Seielstad, M., Plenge, R. M., Oksenberg, J. R., et al.: Different patterns of associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in the extended major histocompatibility complex region. *Arthritis Rheum* 2009, 60, 1, 30–38.
- [54] Bax, M., van Heemst, J., Huizinga, T. W., Toes, R. E.: Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Immunogenetics* 2011, 63, 8, 459–466.
- [55] Stahl, E. A., Raychaudhuri, S., Remmers, E. F., Xie, G., Eyre, S., Thomson, B. P., et al.: Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet* 2010, 42, 6, 508–514.
- [56] Barton, A., Worthington, J.: Genetic susceptibility to rheumatoid arthritis: an emerging picture. *Arthritis Rheum* 2009, 61, 10, 1441–1446.



- [57] Perricone, C., Ceccarelli, F., Valesini, G.: An overview on the genetic of rheumatoid arthritis: a never-ending story. *Autoimmun Rev* 2011, 10, 10, 599–608.
- [58] Faragó, B., Magyar, L., Sáfrány, E., Csöngéi, V., Jaromi, L., Horvatovich, K., et al.: Functional variants of interleukin-23 receptor gene confer risk for rheumatoid arthritis but not for systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2008, 67, 2, 248–250.
- [59] Faragó, B., Talian, G. C., Komlosi, K., Nagy, G., Berki, T., Gyetvai, A., et al.: Protein tyrosine phosphatase gene C1858T allele confers risk for rheumatoid arthritis in Hungarian subjects. *Rheumatol Int* 2009, 29, 7, 793–796.
- [60] Goeb, V., Dieude, P., Daveau, R., Thomas-L'otellier, M., Jouen, F., Hau, F., et al.: Contribution of PTPN22 1858T, TNFR11 196R and HLA-shared epitope alleles with rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibodies to very early rheumatoid arthritis diagnosis. *Rheumatology (Oxford)* 2008, 47, 8, 1208–1212.
- [61] Bang, S. Y., Han, T. U., Choi, C. B., Sung, Y. K., Bae, S. C., Kang, C.: Peptidyl arginine deiminase type IV (PADI4) haplotypes interact with shared epitope regardless of anti-cyclic citrullinated peptide antibody or erosive joint status in rheumatoid arthritis: a case control study. *Arthritis Res Ther* 2010, 12, 3, R115.
- [62] Cha, S., Choi, C. B., Han, T. U., Kang, C. P., Kang, C., Bae, S. C.: Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibody levels with PADI4 haplotypes in early rheumatoid arthritis and with shared epitope alleles in very late rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007, 56, 5, 1454–1463.
- [63] Cantaert, T., Coucke, P., De Rycke, L., Veys, E. M., De Keyser, F., Baeten, D.: Functional haplotypes of PADI4: relevance for rheumatoid arthritis specific synovial intracellular citrullinated proteins and anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis* 2005, 64, 9, 1316–1320.
- [64] Poór, Gy., Nagy, Z. B., Schmidt, Zs., Brózik, M., Mérétey, K., Gergely, P., Jr.: Genetic background of anticyclic citrullinated peptide autoantibody production in Hungarian patients with rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2007, 1110, 23–32.
- [65] Lie, B. A., Viken, M. K., Odegard, S., van der Heijde, D., Landewe, R., Uhlig, T., et al.: Associations between the PTPN22 1858C->T polymorphism and radiographic joint destruction in patients with rheumatoid arthritis: results from a 10-year longitudinal study. *Ann Rheum Dis* 2007, 66, 12, 1604–1609.
- [66] Faragó, B., Talian, G. C., Komlosi, K., Nagy, G., Berki, T., Gyetvai, A., et al.: Protein tyrosine phosphatase gene C1858T allele confers risk for rheumatoid arthritis in Hungarian subjects. *Rheumatol Int* 2009, 29, 7, 793–796.
- [67] Feitsma, A. L., Toes, R. E., Begovich, A. B., Chokalingam, A. P., de Vries, R. R., Huizinga, T. W., et al.: Risk of progression from undifferentiated arthritis to rheumatoid arthritis: the effect of the PTPN22 1858T-allele in anti-citrullinated peptide antibody positive patients. *Rheumatology (Oxford)* 2007, 46, 7, 1092–1095.
- [68] Vittecoq, O., Lequerre, T., Goeb, V., Le Loet, X., Abdesselam, T. A., Klemmer, N.: Smoking and inflammatory diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008, 22, 5, 923–935.
- [69] Salliot, C., Dawidowicz, K., Lukas, C., Guédj, M., Paccard, C., Benessiano, J., et al.: PTPN22 R620W genotype-phenotype correlation analysis and gene-environment interaction study in early rheumatoid arthritis: results from the ESPOIR cohort. *Rheumatology (Oxford)* 2011, 50, 10, 1802–1808.
- [70] Morgan, A. W., Thomson, W., Martin, S. G., Carter, A. M., Erlich, H. A., Barton, A., et al.: Reevaluation of the interaction between HLA-DRB1 shared epitope alleles, PTPN22, and smoking in determining susceptibility to autoantibody-positive and autoantibody-negative rheumatoid arthritis in a large UK Caucasian population. *Arthritis Rheum* 2009, 60, 9, 2565–2576.
- [71] Kokkonen, H., Johansson, M., Innala, L., Jidell, E., Rantapaa-Dahlqvist, S.: The PTPN22 1858C/T polymorphism is associated with anti-cyclic citrullinated peptide antibody-positive early rheumatoid arthritis in northern Sweden. *Arthritis Res Ther* 2007, 9, 3, R56.
- [72] Plant, D., Bowes, J., Potter, C., Hyrich, K. L., Morgan, A. W., Wilson, A. G., et al.: Genome-wide association study of genetic predictors of anti-tumor necrosis factor treatment efficacy in rheumatoid arthritis identifies associations with polymorphisms at seven loci. *Arthritis Rheum* 2011, 63, 3, 645–653.
- [73] van Nies, J. A., Marques, R. B., Trompet, S., de Jong, Z., Kurreeman, F. A., Toes, R. E., et al.: TRAF1/C5 polymorphism is not associated with increased mortality in rheumatoid arthritis: two large longitudinal studies. *Arthritis Res Ther* 2010, 12, 2, R38.
- [74] Plenge, R. M., Seielstad, M., Padyukov, L., Lee, A. T., Remmers, E. F., Ding, B., et al.: TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis – a genomewide study. *N Engl J Med* 2007, 357, 12, 1199–209.
- [75] Kurreeman, F. A., Goulielmos, G. N., Alizadeh, B. Z., Rueda, B., Houwing-Duistermaat, J., Sanchez, E., et al.: The TRAF1-C5 region on chromosome 9q33 is associated with multiple autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* 2010, 69, 4, 696–699.
- [76] Liang, Y. L., Wu, H., Shen, X., Li, P. Q., Yang, X. Q., Liang, L., et al.: Association of STAT4 rs7574865 polymorphism with autoimmune diseases: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012, 39, 8873–8882.
- [77] Li, H., Zou, Q., Xie, Z., Liu, Y., Zhong, B., Yang, S., et al.: A haplotype in STAT4 gene associated with rheumatoid arthritis in Caucasians is not associated in the Han Chinese population, but with the presence of rheumatoid factor. *Rheumatology (Oxford)* 2009, 48, 11, 1363–1368.
- [78] Seddighzadeh, M., Gonzalez, A., Ding, B., Ferreiro-Iglesias, A., Gomez-Reino, J. J., Klareskog, L., et al.: Variants within STAT genes reveal association with anticitrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in 2 European populations. *J Rheumatol* 2012, 39, 1509–1516.
- [79] Barton, A., Bowes, J., Eyre, S., Spreckley, K., Hinks, A., John, S., et al.: A functional haplotype of the PADI4 gene associated with rheumatoid arthritis in a Japanese population is not associated in a United Kingdom population. *Arthritis Rheum* 2004, 50, 4, 1117–1121.
- [80] Suzuki, A., Yamada, R., Chang, X., Tokuhira, S., Sawada, T., Suzuki, M., et al.: Functional haplotypes of

- PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003, 34, 4, 395–402.
- [81] Martinez, A., Valdivia, A., Pascual-Salcedo, D., Lamas, J. R., Fernandez-Arquero, M., Balsa, A., et al.: PADI4 polymorphisms are not associated with rheumatoid arthritis in the Spanish population. *Rheumatology (Oxford)* 2005, 44, 10, 1263–1266.
- [82] Thabet, M. M., Huizinga, T. W., Marques, R. B., Stoeken-Rijsbergen, G., Bakker, A. M., Kurreeman, F. A., et al.: The contribution of Fc gamma receptor IIIA gene 158V/F polymorphism and copy number variation to the risk of ACPA positive rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009, 68, 1775–1780.
- [83] Robinson, J. I., Barrett, J. H., Taylor, J. C., Naven, M., Corscadden, D., Barton, A., et al.: Dissection of the FCGR3A association with RA: increased association in men and with autoantibody positive disease. *Ann Rheum Dis* 2010, 69, 6, 1054–1057.
- [84] Lee, Y. H., Ji, J. D., Song, G. G.: Associations between FCGR3A polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2008, 35, 11, 2129–2135.
- [85] van der Linden, M. P., Feitsma, A. L., le Cessie, S., Kern, M., Olsson, L. M., Raychaudhuri, S., et al.: Association of a single-nucleotide polymorphism in CD40 with the rate of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009, 60, 8, 2242–2247.
- [86] Kochi, Y., Okada, Y., Suzuki, A., Ikari, K., Terao, C., Takahashi, A., et al.: A regulatory variant in CCR6 is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Nat Genet* 2010, 42, 6, 515–519.
- [87] Szekanecz, Z., Pákozdi, A., Szentpétery, A., Besenyei, T., Koch, A. E.: Chemokines and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Front Biosci (Elite Ed)* 2009, 1, 44–51.
- [88] Szekanecz, Z., Koch, A. E., Tak, P. P.: Chemokine and chemokine receptor blockade in arthritis, a prototype of immune-mediated inflammatory diseases. *Neth J Med* 2011, 69, 9, 356–366.
- [89] Snir, O., Widhe, M., von Spee, C., Lindberg, J., Padyukov, L., Lundberg, K., et al.: Multiple antibody reactivities to citrullinated antigens in sera from patients with rheumatoid arthritis: association with HLA-DRB1 alleles. *Ann Rheum Dis* 2009, 68, 5, 736–743.
- [90] van der Helm-van Mil, A. H., Verpoort, K. N., le Cessie, S., Huizinga, T. W., de Vries, R. R., Toes, R. E.: The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2007, 56, 2, 425–432.
- [91] van der Woude, D., Lie, B. A., Lundstrom, E., Balsa, A., Feitsma, A. L., Houwing-Duistermaat, J. J., et al.: Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1\*1301: a meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations. *Arthritis Rheum* 2010, 62, 5, 1236–1245.
- [92] Lundstrom, E., Kallberg, H., Smolnikova, M., Ding, B., Ronnelid, J., Alfredsson, L., et al.: Opposing effects of HLA-DRB1\*13 alleles on the risk of developing anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009, 60, 4, 924–930.
- [93] Verpoort, K. N., Cheung, K., Ioan-Facsinay, A., van der Helm-van Mil, A. H., de Vries-Bouwstra, J. K., Allaart, C. F., et al.: Fine specificity of the anti-citrullinated protein antibody response is influenced by the shared epitope alleles. *Arthritis Rheum* 2007, 56, 12, 3949–3952.
- [94] Sebbag, M., Moinard, N., Auger, I., Clavel, C., Arnaud, J., Nogueira, L., et al.: Epitopes of human fibrin recognized by the rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins. *Eur J Immunol* 2006, 36, 8, 2250–2263.
- [95] van Beers, J. J., Willemze, A., Stammen-Vogelzangs, J., Drijfhout, J. W., Toes, R. E., GJ M. P.: Anti-citrullinated fibronectin antibodies in rheumatoid arthritis are associated with human leukocyte antigen-DRB1 shared epitope alleles. *Arthritis Res Ther* 2012, 14, 1, R35.
- [96] Scherer, H. U., van der Woude, D., Willemze, A., Trouw, L. A., Knevel, R., Syversen, S. W., et al.: Distinct ACPA fine specificities, formed under the influence of HLA shared epitope alleles, have no effect on radiographic joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011, 70, 8, 1461–1464.
- [97] Willemze, A., van der Woude, D., Ghiddey, W., Levarht, E. W., Stoeken-Rijsbergen, G., Verduyn, W., et al.: The interaction between HLA shared epitope alleles and smoking and its contribution to autoimmunity against several citrullinated antigens. *Arthritis Rheum* 2011, 63, 7, 1823–1832.
- [98] Padyukov, L., Seielstad, M., Ong, R. T., Ding, B., Ronnelid, J., Seddighzadeh, M., et al.: A genome-wide association study suggests contrasting associations in ACPA-positive versus ACPA-negative rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011, 70, 2, 259–265.
- [99] Daha, N. A., Toes, R. E.: Rheumatoid arthritis: Are ACPA-positive and ACPA-negative RA the same disease? *Nat Rev Rheumatol* 2011, 7, 4, 202–203.
- [100] Daha, N. A., Lie, B. A., Trouw, L. A., Stoeken, G., Schonkeren, J. J., Ding, B., et al.: Novel genetic association of the VTCN1 region with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2012, 71, 567–571.
- [101] Skiningsrud, B., Lie, B. A., Husebye, E. S., Kvien, T. K., Forre, O., Flato, B., et al.: A CLEC16A variant confers risk for juvenile idiopathic arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide antibody negative rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010, 69, 8, 1471–1474.
- [102] Lee, D. M., Phillips, R., Hagan, E. M., Chibnik, L. B., Costenbader, K. H., Schur, P. H.: Quantifying anti-cyclic citrullinated peptide titres: clinical utility and association with tobacco exposure in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009, 68, 2, 201–208.
- [103] Verpoort, K. N., Papendrecht-van der Voort, E. A., van der Helm-van Mil, A. H., Jol-van der Zijde, C. M., van Tol, M. J., Drijfhout, J. W., et al.: Association of smoking with the constitution of the anti-cyclic citrullinated peptide response in the absence of HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Arthritis Rheum* 2007, 56, 9, 2913–2918.
- [104] Pedersen, M., Jacobsen, S., Klarlund, M., Pedersen, B. V., Wiik, A., Wohlfahrt, J., et al.: Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and

- without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Res Ther* 2006, 8, 4, R133.
- [105] Linn-Rasker, S. P., van der Helm-van Mil, A. H., van Gaalen, F. A., Kloppenburg, M., de Vries, R. R., le Cessie, S., et al.: Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Ann Rheum Dis* 2006, 65, 3, 366–371.
- [106] Criswell, L. A., Pfeiffer, K. A., Lum, R. F., Gonzales, B., Novitzke, J., Kern, M., et al.: Analysis of families in the multiple autoimmune disease genetics consortium (MADGC) collection: the PTPN22 620W allele associates with multiple autoimmune phenotypes. *Am J Hum Genet* 2005, 76, 4, 561–571.
- [107] Hinks, A., Worthington, J., Thomson, W.: The association of PTPN22 with rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006, 45, 4, 365–368.
- [108] Buzas, E. I., Brennan, F. R., Mikecz, K., Garzo, M., Negroiu, G., Hollo, K., et al.: A proteoglycan (aggrecan)-specific T cell hybridoma induces arthritis in BALB/c mice. *J Immunol* 1995, 155, 5, 2679–2687.
- [109] Dayer, E., Mathai, L., Glant, T. T., Mikecz, K., Poole, A. R.: Cartilage proteoglycan-induced arthritis in BALB/c mice. Antibodies that recognize human and mouse cartilage proteoglycan and can cause depletion of cartilage proteoglycan with little or no synovitis. *Arthritis Rheum* 1990, 33, 9, 1394–1405.
- [110] Glant, T. T., Mikecz, K., Arzoumanian, A., Poole, A. R.: Proteoglycan-induced arthritis in BALB/c mice. Clinical features and histopathology. *Arthritis Rheum* 1987, 30, 2, 201–212.
- [111] Glant, T. T., Mikecz, K.: Proteoglycan aggrecan-induced arthritis: a murine autoimmune model of rheumatoid arthritis. *Methods Mol Med* 2004, 102, 313–338.
- [112] Glant, T. T., Adarichev, V. A., Nesterovitch, A. B., Szántó, S., Oswald, J. P., Jacobs, J. J., et al.: Disease-associated qualitative and quantitative trait loci in proteoglycan-induced arthritis and collagen-induced arthritis. *Am J Med Sci* 2004, 327, 4, 188–195.
- [113] Glant, T. T., Adarichev, V. A., Boldizsár, F., Besenyi, T., László, A., Mikecz, K., et al.: Disease-promoting and -protective genomic loci on mouse chromosomes 3 and 19 control the incidence and severity of autoimmune arthritis. *Genes Immun* 2012, 13, 4, 336–345.

Levelezés: Szekanecz Zoltán prof. dr., Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Belgyógyászati Intézet, Reumatológiai Tanszék, 4032 Debrecen, Nagyterdei krt 98., telefon/fax: (06-52) 255-091  
e-mail: szekanecz.zoltan@med.unideb.hu  
weblap: www.rheumatology.hu