

Ο ρόλος του HLA-B27 στην παθογένεια των σπονδυλοαρθροπαθειών: νεότερα δεδομένα

Σ. ΑΠΟΣΤΟΛΙΔΗΣ
Π.Π. ΣΦΗΚΑΚΗΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το αντιγόνο ιστοσυμβατότητας HLA-B27 ανήκει στα μόρια του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας κλάσεως-I (MHC-I) και η ισχυρή συσχέτισή του με την εμφάνιση σπονδυλοαρθροπαθειών είναι γνωστή για περισσότερο από τριάντα έτη. Ωστόσο, οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για τη σχέση αυτή δεν είναι πλήρως γνωστοί. Στην παρούσα ανασκόπηση αναφέρονται και συζητούνται οι τρεις κύριες θεωρίες που έχουν προταθεί για να εξηγήσουν το ρόλο του HLA-B27 στην παθογένεια των σπονδυλοαρθροπαθειών. Η θεωρία του «αρθριτογόνου πεπτιδίου» εμφανίστηκε πρώτη, το 1990, βασίζεται στο μηχανισμό της ανοσολογικής μίμησης και αναφέρεται στις μοναδικές ιδιότητες του HLA-B27 σε μοριακό επίπεδο, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την εκλεκτικότητα που εμφανίζει στην παρουσίαση συγκεκριμένων αντιγονικών πεπτιδίων. Η θεωρία της διαταραγμένης αναδίπλωσης και η θεωρία των ομοδιμερών των βαρέων αλυσίδων του HLA-B27, εμφανίστηκαν ανεξάρτητα το 1999. Η πρώτη αναφέρεται στην τάση που παρουσιάζει το HLA-B27 να αναδιπλώνεται λανθασμένα στο ενδοπλασματικό δίκτυο, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση σ' αυτό βαρέων αλυσίδων HLA-B27 με λανθασμένη στερεοτακτική διαμόρφωση, κάτι το οποίο προκαλεί στρες στο κύτταρο καταλήγοντας στην απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτταροκινών. Η θεωρία των ομοδιμερών των βαρέων αλυσίδων του HLA-B27 αναφέρεται στην ικανότητα που έχει το μόριο να σχηματίζει σταθερά ομοδιμερή χωρίς την παρουσία β2-μικροσφαιρίνης. Τα ομοδιμερή αυτά στην κυτταρική επιφάνεια προσδένονται με υποδοχείς των NK (natural killer) - και CD4 (helper) + T-κυττάρων αναστέλλοντας την απόπτωσή τους. Στις τρεις αυτές θεωρίες υπάρχουν κάποια σημεία όπου αλληλοσυμπληρώνονται, ωστόσο απαιτούνται περισσότερες μελέτες για τη διαμόρφωση μιας και μόνης καταληκτικής θεωρίας

Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική και Ρευματολογικό-Ανοσολογικό Εργαστήριο, Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Π.Γ.Ν «Λαϊκό»

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Η ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΤΟΥ HLA-B27 ΣΤΙΣ ΣΠΟΝΔΥΛΟΑΡΘΡΟΠΑΘΕΙΕΣ ΚΑΙ ΣΤΟ ΓΕΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Αγκυλοποιητική Σπονδυλίτιδα	~90%
Αντιδραστική αρθρίτιδα	30-70%
ΣΑ σχετιζόμενη με ΙΦΝΕ	30-70%
Ψωριασική Αρθρίτιδα	40-50%
Αρθρίτιδα σχετιζόμενη με νεανική ενθεσίτιδα	~70%
Αδιαφοροποίητη αρθρίτιδα	~70%
Οξεία πρόσθια ιριδοκυκλίτιδα	~50%
Κολποκοιλιακός αποκλεισμός + αορτική ανεπάρκεια	~88%
Γενικός Πληθυσμός	~8%

για την ερμηνεία του ρόλου του HLA-B27 στην παθογένεια των σπονδυλοαρθροπαθειών.

Ελληνική Ρευματολογία 2008, 19 (2):129-138

Όροι ευρετηρίου: HLA-B27, σπονδυλοαρθροπάθεια, αρθριτογόνο πεπτίδιο, μοριακή μίμηση.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο Νορβηγός Erik Thorsby ήταν ο πρώτος που περιέγραψε την ύπαρξη του HLA-B27¹ το 1969, ενώ λίγα χρόνια αργότερα παρατηρήθηκε η ισχυρή συσχέτισή του με την εμφάνιση σπονδυλοαρθροπαθειών (ΣΑ). Ο όρος σπονδυλοαρθροπάθειες αναφέρεται σε ένα σύνολο ρευματικών παθήσεων, όπου περιλαμβάνονται η αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα (ΑΣ), η αντιδραστική αρθρίτιδα, η σχετιζόμενη με ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου αρθρίτιδα, η ψωριασική αρθρίτιδα, η αδιαφοροποίητη ΣΑ καθώς και δευτερεύουσες παθολογικές καταστάσεις, όπως η οξεία πρόσθια ιριδοκυκλίτιδα, η αρθρίτιδα η σχετιζόμενη με νεανική ενθεσίτιδα και το σύνδρομο διαταραχών του ερεθισματογωγού συστήματος της καρδιάς με ανεπάρκεια της αορτικής βαλβίδας. Το HLA-B27 ανήκει στα μόρια MHC κλάσεως I, ανευρίσκεται στο 90-95% των ασθενών με αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα στις ΗΠΑ, Ευρώπη και Κίνα, και η συχνότητα εμφάνισής του είναι 3-8%, 9% και 8%

στους αντίστοιχους γενικούς πληθυσμούς.

Οι ασθενείς με ΑΣ με HLA-B27 (+) έχουν υψηλότερους δείκτες ενεργότητας της νόσου, φτωχότερη λειτουργικότητα, χειρότερη ποιότητα ζωής και περισσότερες εξωαρθρικές εκδηλώσεις. Η συνεισφορά του HLA-B27 στο γενετικό κίνδυνο για εμφάνιση ΑΣ εκτιμάται μεταξύ 16-40%. Η σχέση του με όλες τις ΣΑ φαίνεται στον Πίνακα 1². Παρόλα αυτά, για περισσότερα από 30 έτη δεν έχει διαμορφωθεί μία καταληκτική θεωρία αναφορικά με τον παθογενετικό ρόλο του HLA-B27 στην εμφάνιση των ΣΑ^{3,4,5}.

Ο κύριος ρόλος του HLA-B27 στο ανοσοποιητικό σύστημα, όπως και όλων των MHC κλάσεως I μορίων, είναι η παρουσίαση αντιγονικών πεπτιδίων στους κυτταρικούς υποδοχείς των CD8+ T-λεμφοκυττάρων. Τα πεπτίδια αυτά προέρχονται από ενδογενείς πρωτεΐνες των κυττάρων και από πρωτεΐνες ιών και βακτηρίων που έχουν εισβάλει στα κύτταρα. Το μόριο του HLA-B27 αποτελείται από μια 45kDa πολυμορφική βαριά αλυσίδα, η οποία υποδιαιρείται σε 3 επιμέρους τμήματα (α1, α2 και α3) και η οποία συνδέεται μη ομοιοπολικά με ένα μόριο β2-μικροσφαιρίνης. Μέχρι σήμερα έχουν εντοπιστεί περισσότερα από 40 διαφορετικά αλληλόμορφα γονίδια υπεύθυνα για το HLA-B27 και η λίστα συνεχώς αυξάνεται (Πίνακας 2). Από τους ανωτέρω υποτύπους HLA-B27 άλλοι σχετίζονται περισσότερο και άλλοι λιγότερο

με την εμφάνιση σπονδυλοαρθροπαθειών και συγκεκριμένα:

- Τα B27_02, B27_04 και B27_05, από τα οποία το τελευταίο είναι και το συχνότερο, ανευρίσκονται στη συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών με ΑΣ.
- Τα B27_06 και B27_09 αντίθετα δε φαίνεται να συσχετίζονται με σπονδυλοαρθροπάθειες.

Το 1990 άρχισε μία έντονη ερευνητική δραστηριότητα στην επιστημονική κοινότητα για την ανεύρεση των αιτιών για τις οποίες το HLA-B27 εμφανίζεται σε τόσο μεγάλη συχνότητα στους ασθενείς με σπονδυλοαρθροπάθειες, και έκτοτε διάφορες θεωρίες έχουν προταθεί από τις οποίες οι τρεις επικρατέστερες είναι:

- Η θεωρία του «αρθριτογόνου πεπτιδίου»
- Η θεωρία της διαταραγμένης αναδίπλωσης του HLA-B27 (misfolding)
- Η θεωρία των ομοδιμερών των βαρέων αλυσίδων του HLA-B27 (heavy chain homodimers)

1. Η ΘΕΩΡΙΑ ΤΟΥ ΑΡΘΡΙΤΟΓΟΝΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ

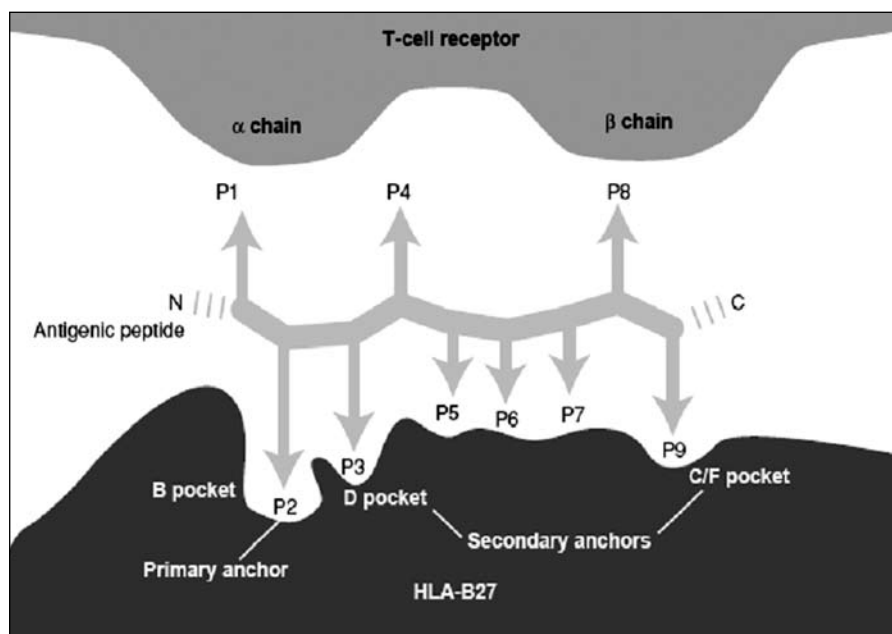
Η θεωρία αυτή βασίζεται στον κλασικό μηχανισμό της ανοσολογικής μίμησης. Η ανοσολογική ανοχή στον ανθρώπινο οργανισμό έναντι αυτοαντιγόνων που παρουσιάζονται στα μόρια MHC-I επιτυγχάνεται κυρίως με την T-κυτταρική επιλογή που συμβαίνει στο θύμο αδένα. Ένα εξωγενές πεπτίδιο εισερχόμενο στον οργανισμό είναι δυνατόν να προκαλέσει μια HLA-B27-εξαρτώμενη T-κυτταρική απάντηση. Αν ταυτόχρονα αυτό το πεπτίδιο παρουσιάζει μοριακή μίμηση (ταυτόσημη κατά περιοχές δομική αλληλουχία αμινοξέων) με ένα ενδογενές πεπτίδιο, το οποίο αναγνωρίζεται από το ανοσολογικό σύστημα μέσω του HLA-B27, είναι δυνατό η αρχική ανοσολογική απάντηση στο εξωγενές πεπτίδιο να καταλύσει την αυτό-ανοχή και να έχουμε απάντηση και ως προς το ενδογενές πεπτίδιο που συμπεριφέρεται πλέον ως αυτό-αντιγόνο.

Η υπόθεση όμως αυτή όφειλε να εξηγήσει και την αιτία για την οποία το HLA-B27 παρουσιάζεται σε τόσο μεγάλο ποσοστό στους ασθενείς με

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. HLA-B27 ΥΠΟΤΥΠΟΙ (ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2008)

HLA-B27_01	HLA-B27_22
HLA-B27_02	HLA-B27_23
HLA-B27_03	HLA-B27_24
HLA-B27_04	HLA-B27_25
B2704_01 και _02	
HLA-B27_05	HLA-B27_26
B2705_01 έως _10	
HLA-B27_06	HLA-B27_27
HLA-B27_07	HLA-B27_28
HLA-B27_08	HLA-B27_29
HLA-B27_09	HLA-B27_30
HLA-B27_10	HLA-B27_31
HLA-B27_11	HLA-B27_32
HLA-B27_12	HLA-B27_33
HLA-B27_13	HLA-B27_34
HLA-B27_14	HLA-B27_35
HLA-B27_15	HLA-B27_36
HLA-B27_16	HLA-B27_37
HLA-B27_17	HLA-B27_38
HLA-B27_18	HLA-B27_39
HLA-B27_19	HLA-B27_40
HLA-B27_20	HLA-B27_41
HLA-B27_21	HLA-B27_42

σπονδυλοαρθροπάθειες, και για το λόγο αυτό, η έρευνα στράφηκε στη διερεύνηση των διαφορών μεταξύ του HLA-B27 και των υπόλοιπων MHC-I μορίων. Κρυσταλλογραφικά δεδομένα^{6,7} που απεικόνιζαν το σύμπλοκο HLA-B27/πεπτίδιο κατέδειξαν τη μοναδική για το HLA-B27 προτίμησή του να προσδένει πεπτίδια που έχουν το αμινοξύ Αργινίνη (Arg) στη θέση P₂. Η ιδιότητά του αυτή οφείλεται στο συνδυασμό αμινοξέων που έχει στη B υποδοχή του -μία από τις συνολικά 6 υποδοχές που έχουν τα MHC-I στο χώρο (Εικόνα 1). Για την ιδιότητα αυτή^{8,9} είναι υπεύθυνα τα αμινοξέα γλουταμικό οξύ (Glu) και κυστεΐνη (Cys), που βρίσκονται αντίστοιχα στη θέση 45 και στη θέση 67 της B υποδοχής του μορίου (Εικόνα 2). Η ανακάλυψη αυτή



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση του συμπλόκου HLA-B27/αντιγονικού πεπτιδίου και του T-κυτταρικού υποδοχέα. Φαίνεται η σύνδεση του P2 αμινοξέος στη B υποδοχή του HLA-B27.

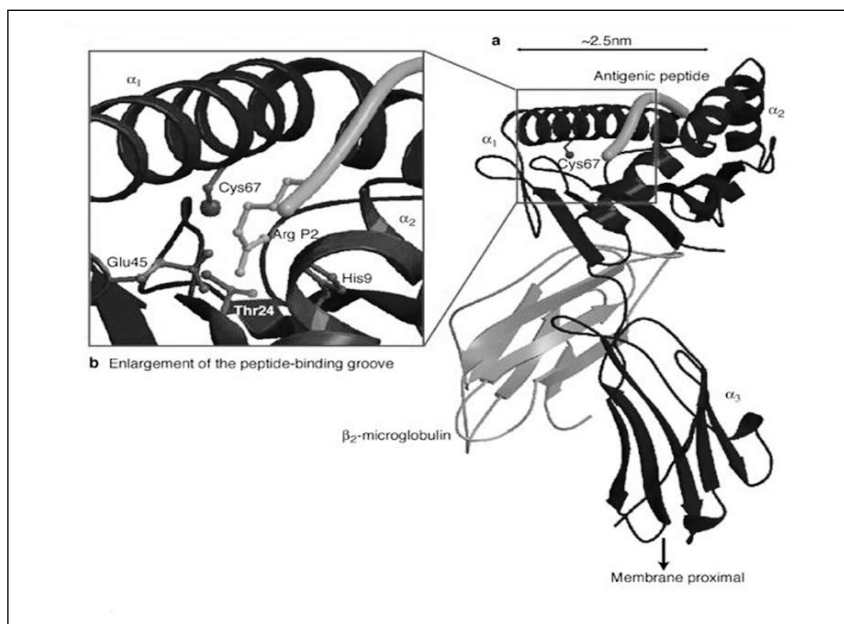
[Πηγή: Bowness, Zaccai, Bird and Jones. HLA-B27 and disease pathogenesis: new structural and functional insights. *Exp. Rev. Mol. Med.* 1999 (<http://www.expertreviews.org/99001118h.htm>)].

έδωσε για πρώτη φορά πληροφορίες για τις ιδιότητες του HLA-B27 που το συσχετίζουν με τις σπονδυλοαρθροπάθειες. Η έρευνα συνεχίστηκε στους υποτύπους του HLA-B27 καθώς αυτοί διαφέρουν σημαντικά στη συχνότητα με την οποία παρουσιάζονται στις σπονδυλοαρθροπάθειες. Η μοναδική διαφορά που υπάρχει ανάμεσα στον κύριο σχετιζόμενο με τις ΣΑ υπότυπο B27_05 και το μη σχετιζόμενο με τις ΣΑ B27_09 είναι στο αμινοξύ της θέσης 116¹⁰. Συγκεκριμένα, στον B27_05 είναι ασπαρτικό οξύ (Asp), ενώ στον B27_09 ιστιδίνη (His). Έχουν προταθεί δύο ερμηνείες για τη σημασία του διαφορετικού αμινοξέος στην παραπάνω θέση:

A) Η αλλαγή στη θέση 116 περιορίζει τον τύπο του C-τελικού καταλοίπου του αντιγονικού πεπτιδίου που μπορεί να υποδεχτεί η F θέση του HLA-B27. Τα βασικά αμινοξέα και η τυροσίνη δεν παρατηρούνται ως C-τελικά κατάλοιπα σε πεπτίδια που προσδέονται στο μη σχετιζόμενο με ΣΑ B27_09. Αντίθετα, βασικά, αλειφατικά και αρωματικά αμινοξέα μπορούν να βρίσκονται στο C-τελικό άκρο του πεπτιδίου που συνδέεται με το B27_05, καθώς το ασπαρτικό οξύ της F υποδοχής

μπορεί να τα δεχτεί. Οι περιορισμοί αυτοί (B και F υποδοχή) οδήγησαν σε προσπάθεια ανεύρεσης των εξωγενών αντιγονικών πεπτιδίων που αφενός να τους πληρούν, αφετέρου να παρουσιάζουν και ανοσολογική μίμηση με αυτό-αντιγόνα. Ένα αξιόλογο παράδειγμα είναι μια DNA-πριμάση των *Chlamydia trachomatis* που παρουσιάζει εξαιρετική ομοιότητα με ένα πεπτιδικό κλάσμα της κυτταροπλασματικής ουράς των HLA κλάσης I μορίων, και εκφράζεται στην επιφάνεια κυττάρων που είναι B27_05, B27_04 ή B27_02 θετικά, αλλά όχι στα κύτταρα με υποτύπους B27_09 ή B27_06¹¹⁻¹³.

B) Η διαφορά στη θέση 116 επηρεάζει τη στερεοτακτική διαμόρφωση του πεπτιδίου που συνδέεται με το HLA-B27. Έτσι, μια λιγότερο σταθερή διαμόρφωση ενός αυτό-αντιγόνου, συνδεδεμένη με τα συσχετιζόμενα με τις ΣΑ HLA-B27 είναι δυνατόν να μη δημιουργήσει συνθήκες αυτο-ανοχής, κατά τη διάρκεια της θυμικής επεξεργασίας¹⁴. Επομένως, ένα εξωγενές πεπτίδιο που παρουσιάζει μοριακή μίμηση με το αυτό-αντιγόνο, όταν αυτό βρίσκεται στη μερικώς σταθερή στερεοτακτική διαμόρφωση του, θα δημιουργήσει τις συνθήκες αυτό-ανοσίας στους



Εικόνα 2. Τρισδιάστατη απεικόνιση του HLA-B27 όπου παρουσιάζεται η αλληλεπίδραση της P2 Arg του πεπτιδίου και του Glu45 και Cys67 του HLA-B27.

[Πηγή: Bowness, Zaccai, Bird and Jones. HLA-B27 and disease pathogenesis: new structural and functional insights. *Exp. Rev. Mol. Med.* 1999 (<http://www.expertreviews.org/99001118h.htm>)]

ασθενείς που φέρουν τα σχετιζόμενα με τις ΣΑ HLA-B27 μόρια. Έχουν παρατηρηθεί ζευγάρια με τις ανωτέρω ιδιότητες με κυριότερο το ζεύγος VIPR1-LMP2¹⁵. Το VIPR1 είναι ένα αυτό-αντιγόνο με πολύ μεγάλη ομοιότητα με ένα αντιγόνο του ιού Epstein-Barr, το LMP2, το οποίο φυσιολογικά παρουσιάζεται στον οργανισμό μέσω HLA-B μορίων. Κρυσταλλογραφικά αναδείχτηκε^{16,17} ότι το VIPR1 συνδέεται με το B27_09 μόνο σε μια στερεοτακτική διαμόρφωση, η οποία ονομάζεται r4alpha ή κανονική μορφή, ενώ με το B27_05 συνδέεται αναδιπλούμενο σε δύο διαφορετικές διαμορφώσεις, την r4alpha και την r6alpha ή μη-κανονική. Αντίθετα, το LMP2 συνδέεται με το B27_09 μόνο στην r4alpha διαμόρφωση και με το B27_05 στην r6alpha. Κρυσταλλογραφικά όμως, το LMP2 μοιάζει με το VIPR1 μόνο όταν το τελευταίο βρίσκεται στην r6alpha διαμόρφωση. Γίνεται φανερό, λοιπόν, ότι η μη-κανονική r6alpha διαμόρφωση είναι αυτή που συνδέει αυτά τα δύο μόρια και δημιουργεί τις προϋποθέσεις για κατάλυση της αυτο-ανοχής. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι ενώ έχουμε T-κυτταρική αντίδραση απέναντι στο αντιγόνο LMP2 του EBV

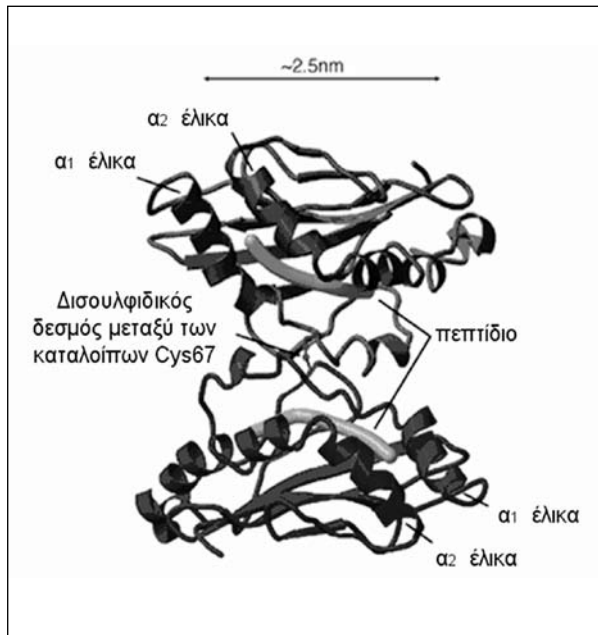
τόσο στα B27_05, όσο και στα B27_09 θετικά άτομα (όπως αναμένεται), μόνο τα B27_05 θετικά άτομα έδειξαν T-κυτταρική αντίδραση στο VIPR1 και μάλιστα αυτή ήταν ισχυρότερη στους ασθενείς με ΑΣ και B27_05 θετικό υπότυπο.

Η θεωρία του «αρθριτογόνου πεπτιδίου» είναι η πρώτη που προσπάθησε να εξηγήσει τη συσχέτιση του HLA-B27 με τις ΣΑ. Εντούτοις, παραμένει ανεπαρκής εξαιτίας των παρακάτω προβλημάτων που ακόμη δεν έχει επιλύσει:

- Δεν έχει βρεθεί ακόμη το πραγματικό αρθριτογόνο πεπτίδιο/α.
- Υπάρχουν και άλλοι HLA υπότυποι που σχετίζονται με τις ΣΑ, όπως ο B14_03, που ελάχιστα μοιάζουν με τους συσχετιζόμενους με τις ΣΑ B27 υποτύπους.
- Η εμφάνιση κλινικής εικόνας όμοιας με HLA-B27-σχετιζόμενη ΣΑ σε διαγονιδιακά ποντίκια χωρίς τη διαμεσολάβηση των CD8+ T-κυττάρων.

2. Η ΘΕΩΡΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΑΡΑΓΜΕΝΗΣ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗΣ ΤΟΥ HLA-B27 (MISFOLDING)

Τα HLA μόρια ωριμάζουν εντός του ενδοπλασματικού δικτύου (ΕΔ), και αφού παραχθούν οι



Εικόνα 3. Τα ομοδιμερή των HLA-B27 αλυσών συγκροτούνται με δισουλφιδικό δεσμό μεταξύ των καταλοίπων κυστεΐνης στη θέση 67.

[Πηγή: Bowness, Zaccai, Bird and Jones. HLA-B27 and disease pathogenesis: new structural and functional insights. *Exp. Rev. Mol. Med.* 1999 (<http://www.expertreviews.org/99001118h.htm>)]

βαριές αλυσίδες τους, αλληλεπιδρούν με συνοδευτικά μόρια, τα οποία ονομάζονται σαπερόνια, προκειμένου να αποφύγουν πιθανές διαταραχές στην αναδίπλωσή τους. Τα σαπερόνια είναι πρωτεΐνες του κυττάρου που φροντίζουν η αναδίπλωση των μακρομοριακών δομών στο χώρο να γίνεται αποτελεσματικά και οι μη-ομοιοπολικοί δεσμοί που συγκροτούν τη στερεοδομή των μορίων αυτών να είναι οι ενδεδειγμένοι. Με τη βοήθεια των σαπερονίων, οι βαριές αλυσίδες των HLA μορίων συνδέονται μη-ομοιοπολικά με το μόριο της β2-μικροσφαιρίνης, για να ολοκληρωθεί το σύμπλεγμα με την προσθήκη στο τέλος του αντιγονικού πεπτιδίου. Αν σε οποιοδήποτε από τα αρχικά στάδια η αναδίπλωση του HLA-B27 διαταραχτεί, τότε οι βαριές αλυσίδες δεν ενώνονται με τη β2-μικροσφαιρίνη, αλλά αρχίζουν

να συσσωρεύονται εντός του ΕΔ¹⁸. Οι άτυπα αναδιπλωμένες βαριές αλυσίδες είναι δυνατόν να σχηματίζουν ομοδιμερή και πολυμερή εντός του ΕΔ¹⁹, και η συσσώρευσή τους αυτή έχει ως αποτέλεσμα την πυροδότηση ενός σήματος συναγερμού ER από το κύτταρο, το οποίο ονομάζεται UPR (Unfolded Protein Response, απάντηση μη αναδιπλωμένης πρωτεΐνης). Το UPR ενεργοποιείται από την παρατεταμένη αλληλεπίδραση των άτυπα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών στο ΕΔ με το σαπερόνιο BiP. Στη συνέχεια, διαμεμβρανικές πρωτεΐνες του ΕΔ μεταφέρουν το σήμα στο κυτταρόπλασμα, όπου η ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων οδηγεί τελικά σε αυξημένη παραγωγή σαπερονίων, ταχύτερη πρωτεϊνική αποσύνθεση εντός του ΕΔ και ενίοτε απόπτωση του κυττάρου. Είναι δυνατόν όμως το ενδοπλασματικό στρες να οδηγήσει και σε ενεργοποίηση ενός βιοχημικού μονοπατιού, το οποίο καταλήγει στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κappa B²⁰. Ο μεταγραφικός αυτός παράγοντας οδηγεί στην αύξηση της κυτταρικής έκφρασης των φλεγμονωδών κυτταροκινών TNF-α, IL-1 και IL-6.

Το HLA-B27 διαφέρει από τα υπόλοιπα HLA μόρια στο ότι έχει πολύ χαμηλότερο ρυθμό αναδίπλωσης, με αποτέλεσμα αυτή να διαταράσσεται πολύ ευκολότερα και να συσσωρεύονται βαριές αλυσίδες στο ΕΔ. Η υπόθεση αυτή συνάδει και με τα πειραματικά δεδομένα που προέκυψαν από HLA-B27 (+) διαγονιδιακά ποντίκια που εμφάνισαν αρθρίτιδα όμοια με τις ΣΑ²¹. Στα ποντίκια αυτά ανευρέθηκε συσσώρευση άτυπα αναδιπλωμένων βαριών αλυσίδων HLA-B27 στο ΕΔ των μακροφάγων και των σπληνοκυττάρων τους. Επιπρόσθετα, δεν ανευρέθηκε συσσώρευση και UPR στα νεότερα, μη προσβεβλημένα ακόμη από αρθρίτιδα, διαγονιδιακά ποντίκια. Μάλιστα, οι Galocha και Lopez de Castro έδειξαν πρόσφατα²², ότι οι μη συσχετιζόμενα με τις ΣΑ υπότυποι B27_09 και B27_06 αναδιπλώνονται πολύ αποτελεσματικότερα από τους συσχετιζόμενους με τις ΣΑ B27_05, B27_04 και B27_02 (όχι όμως και από το B27_07 που επίσης σχετίζεται με τις ΣΑ), ενισχύοντας τη θεωρία της διαταραγμένης αναδίπλωσης.

3. Η ΘΕΩΡΙΑ ΤΩΝ ΟΜΟΔΙΜΕΡΩΝ ΤΩΝ ΒΑΡΕΩΝ ΑΛΥΣΙΔΩΝ ΤΟΥ HLA-B27 (HEAVY CHAIN HOMODIMERS)

Η πειραματική ανακάλυψη²³ ότι διαγονιδιακά ποντίκια τα οποία εκφράζουν το ανθρώπινο γονίδιο για τις βαριές αλυσίδες του HLA-B27, χωρίς όμως την παρουσία της β2-μικροσφαιρίνης, αναπτύσσουν εικόνα ΣΑ, εναντιώνεται πλήρως με τη θεωρία του «αρθριτογόνου πεπτιδίου». Η τελευταία στηρίζεται άμεσα στην αναγνώριση του HLA-B27 από τα CD8+ T-κύτταρα, κάτι το οποίο όμως δε μπορεί να γίνει χωρίς την παρουσία της β2-μικροσφαιρίνης. Αντίθετα, στα διαγονιδιακά ποντίκια τον κύριο ρόλο στην ανοσολογική απάντηση φαίνεται να παίζουν τα CD4+ T-κύτταρα²⁴. Η έρευνα σχετικά με τον τρόπο που οι βαριές αλυσίδες του HLA-B27 οδηγούν σε νόσο κατέληξε στη θεωρία των ομοδιμερών των βαριών αλυσίδων²⁵.

Στη θεωρία της διαταραγμένης αναδίπλωσης αναφέρθηκε ότι οι άτυπα αναδιπλούμενες βαριές αλυσίδες σχηματίζουν ομοδιμερή και πολυμερή. Εντούτοις, τα ομοδιμερή αυτά εξαιρετικά σπάνια καταλήγουν στην κυτταρική επιφάνεια ώστε να αλληλεπιδράσουν με άλλα μόρια²⁶. Αντίθετα, τα ομοδιμερή των βαριών αλυσίδων της κυτταρικής επιφάνειας φαίνεται να σχηματίζονται τοπικά στην κυτταρική επιφάνεια. Πιθανόν η αποσύνδεση του συμπλόκου HLA-B27/πεπτιδίου μέσω ενδοσωματικής ανακύκλωσης να οδηγεί τις αλυσίδες στο να σχηματίζουν ομοδιμερή²⁶. Η διαφορά του HLA-B27 από τα υπόλοιπα HLA μόρια όσον αφορά στο σχηματισμό ομοδιμερών έγκειται στο αμινοξύ 67, την κυστεΐνη. Η κυστεΐνη 67 επιτρέπει στις HLA-B27 βαριές αλυσίδες να σχηματίζουν σταθερά ομοδιμερή στην επιφάνεια του κυττάρου, τα οποία θεωρητικά θα μπορούσαν να παρουσιάσουν αντιγονικά πεπτιδία στο ανοσολογικό σύστημα. Ένα υποθετικό μοντέλο φαίνεται στην Εικόνα 3, καθώς δεν έχει ακόμη εξακριβωθεί η στερεοτακτική διαμόρφωση αυτών των ομοδιμερών. Βρέθηκε ότι αυτά τα ομοδιμερή των HLA-B27 βαριών αλυσίδων αναγνωρίζονται από μια σειρά υποδοχέων KIR των NK κυττάρων. Από τους υποδοχείς αυτούς ο πιο σημαντικός είναι ο KIRDL2, διότι σε αντίθεση με τους υπόλοιπους υποδοχείς (KIRDL1, LILRB2

και LILRA1), συνδέεται μόνο με HLA-B27 ομοδιμερή και όχι με ετεροδιμερή. Η επίδραση των KIR υποδοχέων στην εμφάνιση ΑΣ σε HLA-B27 (+) άτομα ήταν ήδη γνωστή από πληθυσμιακές έρευνες, οι οποίες σύγκριναν την εμφάνιση ΑΣ σε HLA-B27 (+) άτομα μεταξύ δύο ομάδων: α) μιας θετικής για τουλάχιστον ένα εκ των KIR3DS1 και KIR3DL1 και β) μιας αρνητικής και για τους δύο παράγοντες²⁷. Έτσι, ο KIRDL2 παράγοντας ήρθε να συσχετιστεί το εύρημα αυτό με τα HLA-B27 ομοδιμερή, και μάλιστα να εστιάσει σε αυτά εξαιτίας της εκλεκτικότητας που παρουσιάζει. Ο KIR3DL2 υποδοχέας εκφράζεται στα NK κύτταρα, αλλά έχει ανευρεθεί και στα CD4+ T-κύτταρα, και όταν ενεργοποιείται αναστέλλει την απόπτωση. Οι Chan και συν.²⁸ έδειξαν ότι οι ασθενείς με ΑΣ και αρθρίτιδα σχετιζόμενη με νεανική ενθεοσίτιδα έχουν αυξημένο αριθμό KIRDL2+ NK και CD4+ T-κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά είναι ενεργοποιημένα, ανθίστανται στην απόπτωση και πιθανώς να έχουν άμεσο παθογενετικό ρόλο στην εκδήλωση των νοσημάτων.

Η θεωρία αυτή, λοιπόν, εάν επαληθευτεί μπορεί να εξηγήσει και την CD4+ T-κυτταρική εξαρτώμενη εμφάνιση αρθρίτιδας στα διαγονιδιακά ποντίκια που εκφράζουν τις βαριές αλυσίδες του HLA-B27 άλλα όχι και τη β2-μικροσφαιρίνη. Έχουν βρεθεί 3 ασθενείς με ΑΣ²⁹ οι οποίοι φέρουν CD4+ T-κύτταρα τα οποία αντιδρούν με HLA-B27 μόρια, κάτι το οποίο δεν παρατηρήθηκε σε HLA-B27 (+) μη ασθενείς, καταργώντας τον κλασικό MHC περιορισμό των CD8 και CD4 T-κυττάρων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Καμία από τις τρεις θεωρίες που αναφέρθηκαν δεν έχει καταφέρει μέχρι σήμερα να παρουσιάσει έναν πλήρη παθογενετικό μηχανισμό για το ρόλο του HLA-B27 στην εκδήλωση των ΣΑ. Η μη ανεύρεση σημαντικών μορίων διαμεσολαβητών των θεωριών (π.χ. αρθριτογόνο πεπτιδίο), τα ενίοτε αντικρουόμενα δεδομένα (π.χ. ΣΑ χωρίς την παρουσία CD8+ T-κυττάρων σε διαγονιδιακά ποντίκια, ή η φυσιολογική σε ρυθμό αναδίπλωση του σχετιζόμενου με ΣΑ B27_07) και η χρησιμοποίηση

κάποιων υποθετικών βημάτων για την ολοκλήρωση των θεωρητικών μοντέλων, αποτελούν ακόμη τα κύρια εμπόδια για τους ερευνητές. Παρά το γεγονός ότι οι τρεις αυτές θεωρίες αναπτύχθηκαν ανεξάρτητα, χρονικά και κυρίως ερευνητικά, έχουν σημεία στα οποία βαίνουν εφραπτόμενες. Έτσι, στη θεωρία της διαταραγμένης αναδίπλωσης, η συσσώρευση άτυπα αναδιπλωμένων βαρέων αλυσίδων και η απάντηση στρες του κυττάρου μπορεί να είναι αποτέλεσμα υπέρμετρης παραγωγής βαρέων αλυσίδων HLA-B27 από το κύτταρο μετά από ανοσολογική διέγερση, όπως συμβαίνει στα μακροφάγα με την επίδραση της ιντερφερόνης- γ , στοιχείο που τη συνδέει άμεσα με τη θεωρία του αρθριτογόνου πεπτιδίου. Είναι δυνατόν, επίσης, συγκεκριμένα «αρθριτογόνα πεπτίδια» που συνδέονται χαλαρά με το HLA-B27 (κάτι που, όπως αναφέρθηκε, αυξάνει τις πιθανότητες κατάλυσης της αυτο-ανοχής) να αποδεσμεύονται ευκολότερα από το HLA μόριο στην κυτταρική επιφάνεια, δημιουργώντας τις προϋποθέσεις για το σχηματισμό ομοδιμερών των HLA-B27 βαρέων αλυσίδων.

Από την έναρξη της αναζήτησης του παθογενετικού ρόλου του HLA-B27 στις ΣΑ, από το 1990 έως και σήμερα, οι απόψεις μας έχουν μεταβληθεί σε σημαντικό βαθμό. Παρόλα αυτά, το μόριο δεν μας έχει αποκαλύψει όλα του τα μυστικά. Έχει γίνει αποδεκτό ότι η πλήρης κατανόηση της σημασίας του στην εμφάνιση των ΣΑ θα προέλθει από συγκερασμό των γνώσεων από τις επιμέρους θεωρίες, καθώς και από την ευρύτερη κατανόηση του HLA-B27 τόσο σε μοριακό, όσο και σε λειτουργικό επίπεδο.

ABSTRACT

The role of HLA-B27 in the pathogenesis of spondylarthropathies: new developments

S. Apostolides, P. Sfikakis

1st Dept. of Propedeutic Medicine, Laikon Hospital, University Medical School, Laikon General Hospital, Athens, Greece

HLA-B27 is one of the Major Histocompatibility Complex class I molecules and its strong association

with seronegative spondyloarthropathies (SpA) is well-known over the last 30 years. However, the pathogenetic processes responsible for this association remain largely unclear and hereby we discuss and review the major theories that are formulated in order to explain its role in the pathogenesis of these diseases. The “arthritogenic peptid theory”, was the first to be proposed in 1990, based on the mechanism of molecular mimicry referring to HLA-B27 molecular characteristics which are responsible for its specificity for antigen presentation. The “HLA-B27 misfolding theory” developed later in 1999, was based on the molecule’s tendency to misfold and accumulate with its heavy chains in the endoplasmic reticulum causing cellular stress and release of pro-inflammatory cytokines. The “HLA-B27 heavy chain homodimers theory”, again in 1999, was referring to the molecule’s ability to form stable heavy chain homodimers, without the presence of β 2-microglobulin. These homodimers, bind to natural killer (NK) cell and T-cell receptors on the cell surface, inhibiting their apoptosis. In these three theories, there are certain areas where it seems that they are supplemental to each other, but still more research is required to reach one conclusive theory for the pathogenetic role of HLA-B27 in spondyloarthropathies.

Hellenic Rheumatology 2008, 19 (2):129-138

Key words: HLA-B27, spondyloarthropathies, arthritogenic peptid, molecular mimicry.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Thorsby E, Kissmeyer-Nielsen F. HL-A antigens and genes. III. Production of HLA typing antisera of desired specificity. *Vox Sang.* 1969; 17:102-111.
2. Weisman MH, Reveille JD, van der Heijde D, eds. *Ankylosing Spondylitis and the Spondyloarthropathies: A Companion to Rheumatology.* London, Mosby: Elsevier; 2006:117-131.
3. Lopez de Castro J. HLA-B27 and the pathogenesis of spondyloarthropathies. *Immunol Lett.* 2007;

- 108:27–33.
4. M. F. Shamji, M. Bafaquh, E. Tsai, The pathogenesis of ankylosing spondylitis, *Neurosurg Focus* 24 (1):E3, 2008.
 5. R. L. Allen, P. Bowness, A. J. McMichael, The role of HLA-B27 in spondyloarthritis, *Immunogenetics* (1999) 50: 220–227.
 6. Benjamin R, Parham P. Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol today* 1990; 11:137–42.
 7. Hermann E, Yu DT, Meyer zum Buschenfelde KH, Fleischer B. HLA-B27-restricted CD8 T cells derived from synovial fluids of patients with reactive arthritis and ankylosing spondylitis. *Lancet* 1993; 342:646–50.
 8. Yamaguchi, A, Tsuchiya, N, Mitsui, H, et al. Association of HLA-B39 with HLA-B27-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* 1995; 38:1672.
 9. Madden, DR, Gorga, JC, Strominger, JL, Wiley, DC. The three-dimensional structure of HLA-B27 at 2.1 Å resolution suggests a general mechanism for tight peptide binding to MHC. *Cell* 1992; 70:1035.
 10. D'Amato, M, Fiorillo, MT, Carcassi, C, et al. Relevance of residue 116 of HLA-B27 in determining susceptibility to ankylosing spondylitis. *Eur J Immunol* 1995; 25:3199.
 11. Frauendorf E, von Goessel H, May E, Marker-Hermann E. HLA-B27-restricted T cells from patients with ankylosing spondylitis recognize peptides from B*2705 that are similar to bacteria-derived peptides. *Clin Exp Immunol* 2003; 134:351–9.
 12. Alvarez I, Sesma L, Marcilla M, Ramos M, Marti M, Camafeita E, et al. Identification of novel HLA-B27 ligands derived from polymorphic regions of its own or other class I molecules based on direct generation by 20S proteasome. *J Biol Chem* 2001; 276:32729–37
 13. Ramos M, Alvarez I, Sesma L, Logean A, Rognan D, Lopez de Castro JA. Molecular mimicry of an HLA-B27-derived ligand of arthritis-linked subtypes with chlamydial proteins. *J Biol Chem* 2002; 277:37573–81.
 14. M. A. Khan, A. Mathieu, R. Sorrentino, N. Akkoc, The pathogenetic role of HLA-B27 and its subtypes, *Autoimmunity Reviews* 6 (2007) 183–189.
 15. Fiorillo MT, Maragno M, Butler R, Dupuis ML, Sorrentino R. CD8+ T cell autoreactivity to an HLA-B27-restricted self-epitope correlates with ankylosing spondylitis. *J Clin Invest* 2000; 106:47–53.
 16. Hulsmeyer M, Fiorillo MT, Bettosini F, Sorrentino R, Saenger W, Ziegler A, et al. Dual, HLA-B27 subtype-dependent conformation of a self-peptide. *J Exp Med* 2004; 199:271–81.
 17. Ruckert C, Fiorillo MT, Loll B, Moretti R, Biesiadka J, Saenger W, et al. Conformational dimorphism of self-peptides and molecular mimicry in a disease-associated HLA-B27 subtype. *J Biol Chem* 2005; 281:2306–16.
 18. Mear JP, Schreiber KL, Munz C, Zhu X, Stevanovic S, Rammensee HG, et al. Misfolding of HLA-B27 as a result of its B pocket suggests a novel mechanism for its role in susceptibility to spondyloarthropathies. *J Immunol* 1999; 163:6665–70.
 19. Dangoria NS, DeLay ML, Kingsbury DJ, Mear JP, Uchanska-Ziegler B, Ziegler A, et al. HLA-B27 misfolding is associated with aberrant intermolecular disulfide bond formation (dimerization) in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2002; 277:23459–68.
 20. Pahl HL, Baeuerle PA. The ER-overload response: activation of NF-kappa B. *Trends Biochem Sci* 1997; 22:63–7.
 21. Turner MJ, Sowders DP, DeLay ML, Mohapatra R, Bai S, Smith JA, et al. HLA-B27 misfolding in transgenic rats is associated with activation of the unfolded protein response. *J Immunol* 2005; 175:2438–48.
 22. Galocha B, de Castro JA, Folding of HLA-B27 subtypes is determined by the global effect of polymorphic residues and shows incomplete correspondence to ankylosing spondylitis, *Arthritis Rheum.* 2008 Feb; 58 (2):401-12.
 23. Khare, SD, Luthra, HS, David, CS. Animal models of human leukocyte antigen B27-linked arthritides. *Rheum Dis Clin North Am* 1998; 24:883.
 24. May E, Dorris ML, Satumtira N, Iqbal I, Rehman MI, Lightfoot E, et al. CD8+ T cells are not essential to the pathogenesis of arthritis or colitis in HLA-B27 transgenic rats. *J Immunol* 2003; 170:1099–105.
 25. Allen RL, O'Callaghan CA, McMichael AJ, Bowness P. Cutting edge: HLA-B27 can form a novel b2-microglobulin-free heavy chain homodimer structure. *J Immunol* 1999; 162:5045–8.
 26. Bird LA, Peh CA, Kollnberger S, Elliott T, McMichael

- AJ, Bowness P. Lymphoblastoid cells express HLA-B27 homodimers both intracellularly and at the cell surface following endosomal recycling. *Eur J Immunol* 2003; 33:748-59.
27. Lopez-Larrea C, Blanco-Gelaz MA, Torre-Alonso JC, Armas JB, Suarez- Alvarez B, Pruneda L, et al. Contribution of KIR3DL1/3DS1 to ankylosing spondylitis in human leukocyte antigen-B27 Caucasian populations. *Arthritis Res Ther* 2006; 8:R101.
28. Chan, AT, Kollnberger, SD, Wedderburn, LR, Bowness, P. Expansion and enhanced survival of natural killer cells expressing the killer immunoglobulin-like receptor KIR3DL2 in spondylarthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52:3586.
29. M. A. Khan, HLA-B27 and Its Pathogenic Role, *Journal of Clinical Rheumatology* 2008; 14; 1:50-52.