2010

Wat is de rol van HLA-DR4 bij het ontstaan van reumatoïde artritis?

Marcus van der Vaart (s1648241)

Researchcursus Immunologie en Infectieziekten, Rijksuniversiteit Groningen, Nederland.

Inhoudsopgave

	Blz.
Abstract	**3**
Inleiding	**4**
Het HLA systeem	**4**
HLA klasse 1	**5**
HLA klasse 2	**6**
HLA-DP en HLA-DQ associatie met reumatoïde artritis	**7**
HLA-DP	**7**
HLA-DQ	**7**
Reumatoïde artritis in diermodellen	**7**
HLA-DR associatie met reumatoïde artritis	**8**
HLA-DR1 en HLA-DR10	**8**
DRB1*0101	**8**
DRB1*0102	**8**
DRB1*0103	**8**
DRB1*1001	**8**
DQ associatie	**9**
HLA-DR9 en HLA-DR14	**9**
DRB1*0901	**9**
DRB1*1402 and *1406	**9**
HLA-DR4 associatie met reumatoïde artritis	**10**
DRB1*0401	**10**
DRB1*0402	**10**
DRB1*0403, *0406 en *0407	**10**
DRB1*0404 en *0408	**10**
DRB1*0405	**11**
DQ associatie	**11**
De Shared Epitope hypothese	**12**
De RAP hypothese	**13**
Overige beschermende DRB1 allelen	**13**
Conclusie	**14**
Discussie	**15**
Referenties	**16**

Abstract

Wereldwijd heeft 1-2% van de bevolking reumatoïde artritis. Hoe deze ziekte echter ontstaat is niet duidelijk. HLA moleculen lijken een genetische factor te zijn. HLA-DP lijkt geen rol te spelen bij het ontstaan van de ziekte, maar HLA-DQ en HLA-DR lijken wel invloed te hebben. Combinaties van deze allelen kunnen leiden tot een verhoogde kans op het ontstaan van reumatoïde artritis. Voornamelijk HLA-DR4 lijkt betrokken bij het ontstaan van reumatoïde artritis. Dit allel komt binnen de Europese bevolking veel voor, en mensen met deze allelen lijken de ziekte in ernstiger mate te krijgen dan mensen zonder dit allel. Binnen de HLA-DRB1 familie blijken enkele allelen over een Shared Epitope te beschikken. De allelen coderen voor gelijkende sequentie waardoor de kans groter is dat een dergelijke peptide wordt gebonden. Dit zou een auto immuun response kunnen opwekken wat tot reumatoïde artritis zou kunnen leiden. Het Shared Epitope wordt specifiek geassocieerd met anti-CCP positieve reumatoïde artritis. Patiënten met CCP negatieve reumatoïde artritis ontwikkelen veelal een mildere vorm van de ziekte dan CCP positieve patiënten. Naast allelen die de kans op reumatoïde artritis vergroten zijn er ook allen die mogelijk een beschermende werking bieden. Deze allelen coderen voor een DERAA sequentie. De RAP hypothese stelt dat deze sequentie geen onderdeel vormt van de bindinggroeve, maar als losse peptide fungeert die kan binden met HLA-DQ moleculen. Regulatoire T cellen kunnen dit complex herkennen en onderdrukken de T cel respons. Juist deze respons zou verantwoordelijk kunnen zijn voor de ontwikkeling van reumatoïde artritis.

Inleiding

Reumatoïde artritis is een veel voorkomende auto-immuunziekte. In Nederland heeft 20% van de volwassen bevolking reumatische klachten, en naar schatting heeft 1-2% van de wereldbevolking reumatoïde artritis [1]. Het lichaam breekt hierbij lichaamseigen weefsel rond de gewrichten af. De gewrichtskapsels raken ontstoken, waardoor ze opzwellen en ontstekingsvocht produceren. Dit gebeurt voornamelijk in de knieën, enkels, vingers en polsen. Ook het kraakbeen en de botten kunnen op den duur worden aangetast [2]. Mensen met de ziekte kunnen beperking in hun mobiliteit ondervinden, wat hun dagelijks leven sterk kan beïnvloeden. De ziekte is chronisch, en tot op heden niet te genezen. Er is veel medicatie in omloop die de klachten doen afnemen, maar deze kunnen ernstige bijwerkingen veroorzaken [3]. Reumatoïde artritis kan zich op alle leeftijden ontwikkelen, hoewel de ziekte zich het vaakst manifesteert bij personen boven de 50 jaar. De ziekte komt vaker voor bij vrouwen dan bij mannen [4]. Over het ontstaan van reumatoïde artritis is nog veel onduidelijk, mede doordat het een multifactoriële aandoening is. Overgewicht en roken lijken het ontstaan van de ziekte te bevorderen [5]. Daarnaast is gebleken dat de kans op het krijgen van reumatoïde artritis toeneemt als familieleden de ziekte hebben. Hieruit blijkt dat ook genetische factoren een rol spelen [6].

Een van de beschreven genetische factoren betrokken bij het ontstaan en de pathogenese van reumatoïde artritis is het zogenaamde Human Leukocyte Antigen (HLA). HLA moleculen komen op alle kernhoudende cellen voor, en de HLA subtypes zijn zeer polymorf. HLA-DR4 wordt sterk geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis, maar niet iedereen met reumatoïde artritis is HLA-DR4 positief [8]. Ook ontwikkelt niet iedereen met dit HLA subtype reumatoïde artritis. In deze review zal worden ingegaan op de mogelijke rol van de verschillende HLA subtypes bij het ontstaan van reumatoïde artritis, met de nadruk op HLA-DR4.

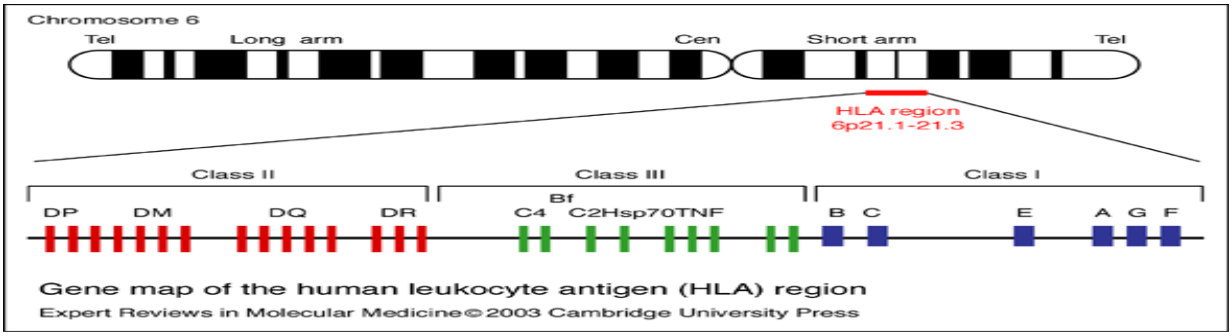
Het HLA systeem

HLA moleculen zijn verantwoordelijk voor de presentatie van antigenen aan T cellen. T cellen herkennen de gepresenteerde peptide in de context van het HLA complex waardoor deze cellen, na costimulatie, geactiveerd worden. Na activatie zorgen de T cellen er voor dat de geïnfecteerde cel wordt afgebroken met behulp van perforines, of dat er cytokines worden uitgescheiden die er voor zorgen dat andere cellen van het immuunsysteem worden geactiveerd en helpen het pathogeen uit het lichaam te verwijderen [9]. Hoewel HLA moleculen een vergelijkbare functie hebben, is er toch enig verschil tussen de HLA klassen en hun manier van T cel activatie. Dit zal verderop in dit hoofdstuk worden toegelicht.

T cellen kunnen geactiveerd worden door lichaamsvreemde peptiden, maar dit kan ook gebeuren door lichaamseigen peptiden. Tolerantie wordt gereguleerd door de thymus en regulatoire T cellen, wat er over het algemeen voor zorgt dat er geen immuunreactie optreedt na contact met lichaamseigen peptiden. Wanneer dit echter wel gebeurt, spreekt men van een auto-immuunziekte.

De expressie van HLA moleculen is genetisch bepaald, en de expressie van de HLA coderende genen is codominant. Een kind erft één kopie van de HLA set van zijn vader en één kopie van de HLA set van zijn moeder. De complete set vormt het haplotype. Doordat de HLA genen zeer polymorf zijn is de kans dat 2 allelen van hetzelfde HLA gen worden doorgegeven erg klein. Er zijn meer dan één miljoen combinaties mogelijk [10]. Over het algemeen zijn mensen heterozygoot voor de HLA genen, en heeft ieder individu een ander HLA haplotype. Alleen eeneiige tweelingen hebben een overeenkomstig HLA haplotype.

Op de korte arm van chromosoom 6 ligt een gebied dat voor het HLA codeert. Figuur 1 laat een schematische weergave zien van de HLA genen op het chromosoom.



Figuur 1: HLA genen op chromosoom 6 [10]

De HLA genen zijn onderverdeelt in 3 verschillende groepen. HLA klasse 1 bestaat uit 6 verschillende loci. De HLA-A, HLA-B en HLA-C genen spelen een rol bij de antigeen presentatie. HLA-E, HLA-F en HLA-G genen vervullen een andere rol binnen het immuunsysteem en zullen buiten beschouwing worden gelaten. HLA klasse 2 bestaat uit 4 verschillende loci, te weten HLA-DP, -DQ, -DR en -DM. HLA-DM heeft een alternatieve functie en zal niet behandeld worden. HLA klasse 3 genen coderen voor onderdelen van het complement systeem, en ook deze zullen niet nader besproken worden.

HLA klasse 1

HLA klasse 1 moleculen presenteren peptiden aan $CD8^+$ cytotoxische T cellen. De gepresenteerde peptiden kunnen afkomstig zijn van zowel pathogenen als lichaamseigen eiwitten. HLA klasse 1 receptoren zijn opgebouwd uit een α keten en een β2-microglobuline eiwit. De α keten heeft een massa van ongeveer 45 kDa en de kleinere β2-microglobuline heeft een massa van 12 kDa. De α keten wordt gecodeerd door de HLA klasse 1 genen, maar de β2-microglobuline wordt gecodeerd door een gen op chromosoom 15. De α keten is opgebouwd uit een α1, α2 en een α3 domein, waarbij α1 en α2 de bindingsgroeve vormen [11]. Op één cel komen zowel HLA-A, HLA-B als HLA-C voor. Doordat de paternale en maternale allelen veelal verschillen komen er veel varianten van HLA moleculen op een cel voor.

Bij de vorming van een HLA-A receptor wordt de α keten gevormd door het HLA-A gen. Variaties in de α keten zorgen voor de diversiteit van HLA-A [12]. Om de verschillende HLA-A isoformen in te delen maakt men gebruik van serotypering. Hierbij worden serotypes aangegeven met een letter (A1, A2 etc.). Er zijn reeds 965 allelen bekend die voor 718 verschillende eiwitten kunnen coderen [13].

Het HLA-B gen codeert voor de α keten in de HLA-B receptor. Ook binnen het HLA-B antigen komen veel variaties voor, elk met een eigen nummer. Allelen die veel op elkaar lijken worden samen gecategoriseerd. Er zijn bijvoorbeeld meer dan 40 gelijkende allelen van het subtype HLA-B27 [14]. Er zijn 1.543 allelen bekend van HLA-B die coderen voor 1.230 verschillende eiwitten [13].

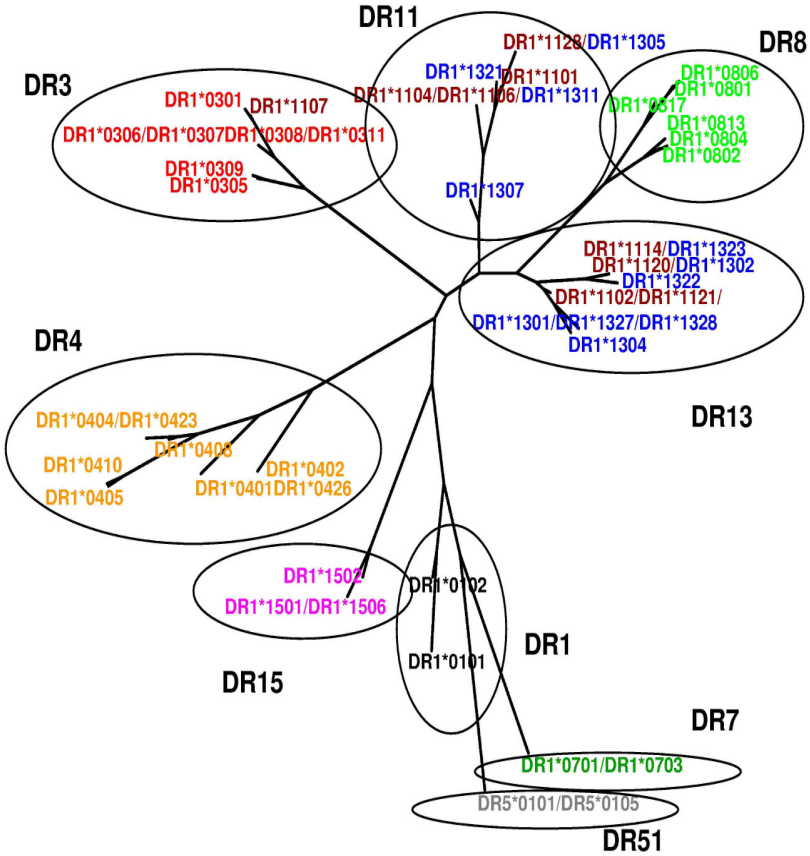
De α keten van HLA-C wordt gecodeerd door het HLA-C gen, en is ongeveer 45 kDa en bevat 8 exonen [15]. Elk exon codeert voor een ander onderdeel. Polymorfismen binnen exon 2 en exon 3 zorgen voor de peptide specificiteit binnen elk HLA klasse 1 molecuul. Momenteel zijn van HLA-C 626 allelen bekend die voor 464 verschillende eiwitten coderen [13].

HLA klasse 2

HLA klasse 2 moleculen komen alleen op antigeen presenterende cellen (APC) voor zoals dendritische cellen, monocyten en B-lymfocyten [9]. HLA klasse 2 moleculen activeren $CD4^+$ T helper cellen die cytokines produceren om andere immuun cellen te rekruteren om een adequate immuun respons op te wekken. De HLA klasse 2 moleculen worden gevormd door een α keten en een β keten. De beide subunits worden door verschillende loci gecodeerd [16]. De α keten en de β keten worden beide opgebouwd uit een α helicaal N terminus en een β sheet. De beide α helices vormen de peptide bindingsgroeve. HLA-DP, HLA-DQ en HLA-DR komen tegelijkertijd tot expressie op antigeen presenterende cellen. HLA-D moleculen spelen een belangrijke rol bij orgaandonatie [17].

De α keten wordt door HLA-DPA1 en HLA-DQA1 gecodeerd, de β keten door HLA-DPB1 en HLA-DQB1 [18]. Het polymorfisme in de α ketens en de β ketens is erg groot. Een individu vormt vaak twee verschillende α ketens en 2 verschillende β ketens. Hierdoor zijn er dus bijvoorbeeld 4 DQ isovormen. De DQ loci zitten dicht in de buurt van de DR loci, en zouden dus interactie met elkaar kunnen aangaan [10]. HLA-DQ speelt bij de ontwikkeling een belangrijke rol bij het herkennen van lichaamseigen antigenen en tolerantie.

De genetische achtergrond van HLA-DR moleculen zit complexer in elkaar. De HLA-DR α keten wordt gecodeerd door de HLA-DRA locus. De HLA-DR β keten wordt door 4 verschillende loci gecodeerd. HLA-DRB1 codeert voor de β1 keten, HLA-DRB3, HLA-DRB4 en HLA-DRB5 coderen respectievelijk voor de β3, β4 en β5 keten [19]. De HLA-DRB loci zijn erg variabel en coderen voor veel verschillende eiwitten. Figuur 2 geeft een overzicht van de verschillende HLA-DR moleculen die gevormd kunnen worden. Elk subtype kan nog verder worden onderverdeeld in subklassen. Deze worden aangegeven met cijfers.



Figuur 2: HLA-DR typering [20]

Hoewel de verschillende HLA subtypes allemaal van elkaar verschillen hebben ze wel een overeenkomstige functie. Allen presenteren antigenen. Door de variatie in de mogelijkheid tot presentatie van antigenen worden bepaalde HLA moleculen geassocieerd met het ontwikkelen van reumatoïde artritis. Welke HLA subtypen specifiek met reumatoïde artritis worden geassocieerd, en wat hun rol precies inhoudt zal in het volgende hoofdstuk worden besproken.

HLA-DP en HLA-DQ associatie met reumatoïde artritis

HLA-DP

Over het algemeen worden HLA-DP moleculen niet geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis [21]. Over de rol die de verschillende allelen spelen bij de klinische expressie van de ziekte is nog weinig bekend. De expressie van het HLA-DPB1*0401 allel in patiënten met reumatoïde artritis is wel significant verhoogd [22] en er zou een rol weggelegd kunnen zijn voor de interactie tussen HLA-DP en HLA-DR. Deze interactie zou de manifestatie van de ziekte mogelijk kunnen verzwakken [23]. De rol van HLA-DP binnen het immuunsysteem is nog niet geheel bekend. HLA-DP moleculen zijn wel in staat om antigenen te presenteren aan CD4+ T cellen [24]. HLA-DPB1 allelen zouden een rol kunnen spelen bij auto-immuunziekten. DPB1*0201 zou bijvoorbeeld een rol spelen bij het ontstaan van chronische jeugd artritis, maar er is slechts een link gelegd [25]. Concreet bewijs voor het initiëren van artritis is nog niet geleverd.

HLA-DQ

Van de drie mogelijke DQB1*03 allelen worden alleen DQB1*0301 en DQB1*0302 geassocieerd met HLA-DR4 [26]. In enkele studies werden deze 2 DQB1*03 allelen ook met reumatoïde artritis geassocieerd [26,27]. Latere studies bleken deze resultaten niet altijd te kunnen verifiëren. Hoewel deze DR/DQ combinaties genetisch gezien geen predispositie hoeven te bieden aan reumatoïde artritis, is er wellicht wel een rol bij de klinische ontwikkeling van de ziekte. De rol bij de biologische expressie van die ziekte is echter nog niet geheel duidelijk. Studies hebben tot nog toe tegenstrijdige resultaten opgeleverd.

Reumatoïde artritis in diermodellen

In B10.RQB3 muizenstammen kan een ziekte geïnduceerd worden die vergelijkbaar is met reumatoïde artritis. De ziekte manifesteert zich na immunisatie met homoloog of heteroloog type 2 collageen. Deze collageen geïnduceerde artritis is voor de immuun respons afhankelijk van IA genen. Dit zijn genen van het Major Histocompatibility Complex (MHC) klasse 2, welke overeenkomen met HLA-DQ genen in de mens. Muizen uit de B10.RQB3 stam zijn drager van het H-2A^{q} haplotype wat gevoelig is voor het ontwikkelen van reumatoïde artritis [28]. Van nature zullen deze muizen geen H-2^{E} moleculen - de tegenhanger van HLA-DR - tot expressie brengen omdat hun Eb gen, wat codeert voor deze moleculen, niet functioneert. Door een transgeen Eb gen te introduceren werd resistentie ontwikkeld tegen een collageen geïnduceerde artritis. Dit toont aan dat er wellicht een associatie is tussen IA genen en artritis is muizen. Deze associatie werd later opnieuw aangetoond door David et al [29]. In deze studie werden knock-out muizen gebruikt waarbij de MHC klasse 2 moleculen ontbraken. Ook hier trad resistentie tegen collageen geïnduceerde artritis op.

HLA-DR associatie met reumatoïde artritis

HLA-DR1 en HLA-DR10

Tabel 1 toont een overzicht van de verschillende HLA-DRB1 allelen. Bij verschillende haplotypes is onderzocht of er een verband bestaat met het ontstaan van reumatoïde artritis. De HLA-DR allelen alleen worden over het algemeen niet geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis, maar vaak worden combinaties van verschillende allelen onderzocht. In de tabel staan ook de DQB1, DQA1 en DRB1 haplotypes weergegeven. Daarnaast wordt per haplotype een mate van associatie aangegeven.

Haplotype (DQB1-DQA1-DRB1)	RA association	Remarks
0501-0101-0101	weak	● additive effect in DQ3/5 heterozygotes ● associated with mild RA
0501-0101-0102	weak	
0501-0101-0103	no	● suspected protective
0301-0300-0401	yes	● associated with severe RA ● might predispose to RA less than DQB1∗0302-DQA1∗0301-DRB1∗0401
0302-0300-0401	yes	● associated with severe RA
0302-0300-0402	no	● protects against RA or at least severe disease
0300-0300-0403/06/07	weak	● does not predispose to RA but contributes to RA in DQ3/3 homozygotes and DQ3/5 heterozygotes
0300-0300-0404/08	yes?	● additive effect in DQ3/3 and DQ3/5 individuals, but association with RA by itself is not so clear
0202-0300-0405	no?	● does not seem to be associated with RA but needs to be better evaluated
0302-0300-0405	yes	
0401-0300-0405	yes	
0303-0300-0901	weak	● implicated in RA association but needs better evaluation
0501-0101-1001	weak	● associated with mild RA ● additive effect in DQ3/5 heterozygotes
0600-0102/03-1301/02	no	● protects against RA or at least severe disease
0301-0501-1402/06	no?	● unclear association, only reported among poorly admixed populations

Tabel 1: HLA-DRB1 subtypes en hun associatie met reumatoïde artritis [30].

DRB1*0101

Het DRB1*0101 allel komt vrij vaak voor in de Noord Europese en de Noord Amerikaanse populaties [30]. Het allel wordt sterk geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis. DRB1*0101 alleen heeft echter maar een kleine invloed vergeleken met combinaties met andere allelen, zoals DRB1*0404 en DRB1*0401. Deze combinaties verhogen het risico respectievelijk 5 en 6 maal [31].

DRB1*0102

Binnen bevolkingsgroepen rondom de Middellandse Zee en binnen Afrika komt het DRB1*0102 allel vrij algemeen voor [30]. DRB1*0102 verschilt slechts op codon 85 en 86 met DRB1*0101. Er is een zwakke associatie met het ontstaan van reumatoïde artritis, vergelijkbaar met het DRB1*0101 allel.

DRB1*0103

Dit allel komt zeer weinig voor binnen de humane populatie. Hierdoor is er ook erg weinig over bekend is. Over het algemeen gaat men er van uit dat dit allel geen rol speelt bij de ontwikkeling van reumatoïde artritis. Bewijs hiervoor heeft men echter nog niet.

DRB1*1001

Het verschil tussen DRB1*1001 en DRB1*0101 ligt in 10 aminozuren in de antigen bindingsgroeve [32]. Het allel komt veel voor binnen de Spaanse populatie [30]. In combinatie met DR4 allelen verhoogt het de kans op het ontwikkelen van reumatoïde artritis.

DQ associatie

DRB1*0101, *0102, *1001 en *0103 allelen worden allen geassocieerd met dezelfde DQ allelen: DQB1*0501 en DQA1*0101 of *0104 [30]. Doordat de verschillende DQ allelen niet willekeurig worden verdeeld binnen een populatie is het lastig om te bepalen wat de invloed van DQ5, los van DR1 en DR10, is bij het ontstaan van reumatoïde artritis.

HLA-DR9 en HLA-DR14

DRB1*0901

Het DRB1*0901 allel komt vrij algemeen voor in de Aziatische populatie, en werd voor het eerst in verband gebracht met het ontstaan van reumatoïde artritis in patiënten uit Chili [30]. DRB1*0401/*0901 en DRB1*0101/*0901 heterozygoten verhogen de kans op het ontstaan van de ziekte [33]. DRB1*0901 wordt vaak geassocieerd met DQB1*0303 en DQA1*03 of met DQB1*0202 en DQA1*03.

DRB1*1402 and *1406

Deze allelen komen veel voor in stammen van Amerikaanse indianen, en komen vaak voor in combinatie met DQB1*0301 en DQA1*0501 [30]. Onderzoek aan deze allelen levert tegenstrijdige resultaten op. Enerzijds bleken 91% van de patiënten met reumatoïde artritis het DRB1*1402 te dragen, waaruit zou kunnen worden geconcludeerd dat er een sterke associatie is [34]. Anderzijds bleek het allel ook algemeen in de controle populatie voor te komen, met een frequentie van 80% [35]. Het DRB1*1402 allel wordt wel in verband gebracht met reumatoïde artritis omdat de ziekte veel voor komt binnen bevolkingsgroepen die afstammen van Amerikaanse indianen. Mensen die homozgoot zijn voor DRB1*1402 krijgen geen ernstiger vorm van reumatoïde artritis dan mensen die heterozygoot zijn. DRB1*1406 werd niet in verband gebracht met de ziekte. Het allel komt zelfs minder voor in patiënten met reumatoïde artritis dan in controle groepen, respectievelijk 13% versus 23%.

HLA-DR4 associatie met reumatoïde artritis

Binnen de Europese populatie zijn 60-70% van de mensen met reumatoïde artritis drager van het HLA-DR4 allel. Gekeken naar de wereldbevolking komt dit neer op 30% van alle mensen met reumatische verschijnselen [36]. Hieruit blijkt dat er een sterk verband lijkt tussen HLA-DR en het ontwikkelen van reumatoïde artritis. Verschillende subtypes van HLA-D4R zijn onderzocht op hun invloed op de ontwikkeling van de ziekte. Over het algemeen wordt HLA-DR4 geassocieerd met ernstiger vormen van reumatoïde artritis. Van Zeben et al heeft in een 8 jaar durend follow-up onderzoek aangetoond dat HLA-DR4 positieve patiënten 5 maal meer bot erosie vertoonden dan controle patiënten [37]. Bot erosie wordt over het algemeen gehanteerd als parameter voor de ernst van reumatoïde artritis.

DRB1*0401

In de Noord Europese bevolking en in Noord Amerika is DRB1*0401 het meest voorkomende allel, met een frequentie van ongeveer 64% [30]. Het allel is veelal gekoppeld aan andere allelen, te weten DQB1*0301-DQA1*03 (DQ7) of DQB1*0302-DQA1*03 (DQ8). DRB1*0401, en gerelateerde haplotypes, worden sterk geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis. Het dragen van 2 van deze allelen, of heterozygoot zijn voor DRB1*0401/*0404 kan leiden tot een van de ernstigste vormen van reumatoïde artritis [38].

DRB1*0402

Dit allel wordt vaak geassocieerd met DQB1*0302-DQA1*03. DRB1*0402 wordt niet geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis, en zou wellicht zelfs een preventieve werking kunnen hebben.

DRB1*0403, *0406 en *0407

In Europa komen deze allelen niet zo vaak voor, maar in Nederland heeft ongeveer 15% van de bevolking deze allelen [30]. De allelen komen vaak samen voor met DQB1*0301-DQA1*03 en DQB1*0302-DQA1*03. Zelf kunnen de allelen niet leiden tot reumatoïde artritis, maar in combinatie met DRB1*0401, *0404 of *0101 is er een associatie met een verhoogde kans op het krijgen van de ziekte [32].

DRB1*0404 en *0408

Ongeveer 19% van de Nederlandse populatie bezit DRB1*0404 en DRB1*0408 allelen [30]. Het is nog niet duidelijk wat hun rol is bij het ontstaan van reumatoïde artritis. Studies hebben aangetoond dat DRB1*0404 allelen significant vaker voorkomen in patiënten met reumatoïde artritis, vergeleken met controle patiënten. Andere studies hebben aangetoond dat het allel zelf geen aanleiding kan zijn tot het ontstaan van reumatoïde artritis. In combinatie met DRB1*0401 verhoogt het allel wel het risico op het krijgen van de ziekte [39].

DRB1*0405

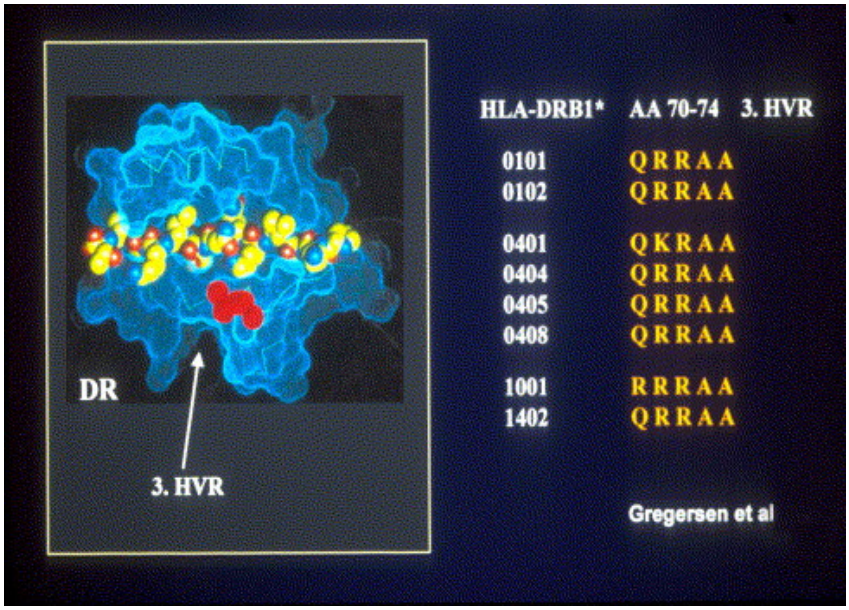
In Noord Europa komt dit allel zelden voor, maar in Azië en landen rond de Middellandse Zee is het veelvoorkomend [30]. In de Zuid Europese populatie wordt DRB1*0405 vaak geassocieerd met DQB1*0302-DQA1*0301 of DQB1*0202-DQA1*03, maar in de Aziatische populatie vormt zich een DQB1*0401-DQA1*03-DRB1*0405 haplotype. DRB1*0405 wordt sterk geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis. Zowel in de Aziatische populatie als in de Mediterrane populatie [40,41].

DQ associatie

DQB1*0301-DQA1*03 (DQ7) en DQB1*0302-DQA1*03 (DQ8) worden beide geassocieerd met HLA-DR4. Over de functie van beide allelen apart is nog enige controverse. DQ8 zou wel kunnen leiden tot het ontstaan van reumatoïde artritis, waar DQ7 dit niet zou kunnen [42]. Een mogelijke verklaring hiervoor zou de variatie in frequentie kunnen zijn binnen de onderzochte populatie met de allelen DQB1*0301-DQA1*03-DRB1*04 en DQB1*0302-DQA1*03-DRB1*04. Studies hebben aangetoond dat patiënten met reumatoïde artritis, met een genotype wat voor een hoger risico kan zorgen, op zijn minst één DQB1*0302 allel bezitten [43]. Hieruit zou geconcludeerd kunnen worden dat DQ8 een sterke associatie heeft met het ontstaan van reumatoïde artritis. DQ7 lijkt alleen een additief effect te hebben.

De Shared Epitope hypothese

De HLA-DRB1*0101, *0102, *0401, *0404, *0405 en *0408 allelen vormen gelijkende eiwitten. Ze hebben een overeenkomstige 5AA sequentie, Q^{70} K/R RAA, in de derde hypervariabele regio (HVR) van het DRB1 molecuul [44]. Deze regio is betrokken bij de peptide binding in de groeve van het HLA molecuul. De K of R op positie 71 is positief geladen, wat zorgt voor affiniteit voor onder andere negatief geladen aminozuur residuen. De Shared Epitope hypothese stelt dat deze DRB1 moleculen dezelfde peptiden zullen binden en zo een auto-immuun respons kunnen opwekken die tot reumatoïde artritis kan leiden. Er is echter, na ruim 15 jaar onderzoek, nog steeds geen peptide gevonden dat specifiek reumatoïde artritis veroorzaakt. Figuur 3 geeft een overzicht van de allelen die een Shared Epitope bezitten. HLA-DRB1*1001 en HLA-DRB1*1402 zijn later, na vervolgonderzoeken, toegevoegd als allelen met een Shared Epitope.



Figuur 3: HLA-DRB1* allelen met een Shared Epitope [44]

Het Shared Epitope wordt specifiek geassocieerd met anti-CCP positieve reumatoïde artritis, en niet met CCP negatieve reumatoïde artritis. Lange tijd werden Reuma Factoren (RF) gebruikt als diagnostische factor voor reumatoïde artritis. RF zijn autoantilichamen gericht tegen het Fc gedeelte van IgG. De gevoeligheid en specificiteit van RF voor reumatoïde artritis zijn echter erg laag, respectievelijk 60–70% en 80–90% [45]. In vervolgonderzoeken werden verschillende autoantilichamen gevonden die een hogere specificiteit voor reumatoïde artritis toonden, maar de ontdekking van autoantilichamen tegen Cyclic Citunilinated Peptides (CCP) vormden een doorbraak. Hoewel hun gevoeligheid voor reumatoïde artritis vrijwel gelijk is aan RF, is hun specificiteit met 99% veel hoger. RF en anti-CCP antigenen komen jaren voordat de ziekte zich manifesteert al in het lichaam voor [46]. Beide factoren worden in verband gebracht met de ernst van de ziekte.

HLA-DR3 wordt geassocieerd met deze CCP negatieve reumatoïde artritis [47]. In een gemiddelde groep patiënten met reumatoïde artritis is 2/3 anti-CCP positief. Deze patiënten krijgen over het algemeen en ernstiger vorm van de ziekte waarbij gewrichten sneller beschadigd raken. Ongeveer 1/3 van de patiënten is CCP negatief, en deze personen hebben over het algemeen een mildere vorm van de ziekte. De frequentie van HLA-DR3 allelen is in deze patiënten meestal verhoogd [45]. Doordat RF en anti-CCP antilichamen veelal samen voorkomen en het Shared Epitope ook geassocieerd wordt met reumatoïde factoren is onderzocht of deze associaties afhankelijk van elkaar waren. De associatie tussen het Shared Epitope en reumatoïde factoren bleek secundair aan de associatie tussen het Shared Epitope en anti-CCP antilichamen te zijn [48].

De RAP hypothese

In onderzoek van Zanelli et al werd bij collageen geïnduceerde artritis (CIA) in muizenstammen ontdekt dat er ook HLA allelen zijn die een beschermende werking bieden tegen het ontstaan van reumatoïde artritis [49]. De onderzochte allelen bezaten ook een Shared Epitope, welke gekenmerkt wordt door de overeenkomstige DERAA sequentie. Deze sequentie wordt gecodeerd door onder andere HLA-DRB1*0103, *0402, *1102, *1103, *1301 en *1302. Figuur 4 geeft een overzicht van de betrokken DRB1 allelen bij de vorming van de DERAAA sequentie.

Figuur 4: DRB1 allelen geassocieerd met de DERAA sequentie [44]

Aan de hand van deze bevindingen werd een Rheumatoid Arthritis Protection (RAP) hypothese gevormd [49,50]. Men stelde in deze hypothese dat de DRB1 DERAA sequentie geen onderdeel vormde van de bindingsgroeve van het DRB1 molecuul, maar als een peptide fungeerde die kon binden met HLA-DQ moleculen. Dit complex zou herkend kunnen worden door regulatoire T cellen. Deze regulatoire T cellen zouden de T cel respons kunnen onderdrukken die reumatoïde artritis kan induceren.

Overige beschermende allelen

Enkele andere DRB1 allelen hebben mogelijk ook een beschermende werking bij het ontstaan van reumatoïde artritis. De DRB1*0701 en DRB1*1501 allelen komen minder in mensen voor met reumatoïde artritis vergeleken met controle groepen [51]. Toch zijn er veel patiënten heterozygoot voor DRB1*0401/*0701 of *0401/*1501. DRB1*13 allelen komen significant verminderd voor in patiënten met reumatoïde artritis. Bij de overerving van ouder op reumatoïde artritis patiënten worden DRB1*13 allelen als enige verminderd overgeërfd. DRB*1301 en *1302, in combinatie met DRB1*0101 en DRB1*1001, zouden bescherming kunnen bieden tegen het ontwikkelen van reumatoïde artritis bij mensen die wel drager zijn van HLA- klasse 2 allelen die predisposeren voor de ziekte [30].

Conclusie

Hoewel HLA-DP geen rol lijkt te spelen bij het ontstaan van reumatoïde artritis lijken HLA-DQ en HLA-DR wel invloed te hebben op het ontstaan van reumatoïde artritis. Het effect van de allelen alleen is veelal miniem, en kan over het algemeen tot een mildere vorm van reumatoïde artritis leiden. De invloed van verschillende allelen samen is meestal groter. De kans op het ontwikkelen van reumatoïde artritis neemt hierdoor toe, en de ziekte manifesteert zich over het algemeen in een ernstigere mate.

Enkele allelen lijken de kans op het ontstaan van reumatoïde artritis te vergroten. HLA-DQ is in mindere mate betrokken bij het ontstaan van de ziekte, maar speelt wellicht wel een rol bij de klinische ontwikkeling van de ziekte. Verder onderzoek kan hier wellicht meer duidelijkheid in verschaffen. HLA-DR allelen lijken een grotere rol te spelen bij het ontstaan van reumatoïde artritis. Verschillende HLA-DR subtypen worden geassocieerd met de kans op het ontstaan van de ziekte. Voornamelijk voor HLA-DR4 lijkt een belangrijke rol weggelegd. Binnen de Europese bevolking blijken deze allelen met een hoge frequentie voor te komen. Patiënten met deze allelen blijken een ernstiger mate van reumatoïde artritis te ontwikkelen met een ernstige mate van bot erosie vergeleken met controle patiënten.

HLA-DRB1*0101, *0102, *0401, *0404, *0405, *0408, *1001 en *1402 blijken over een Shared Epitope te beschikken. De allelen coderen voor een overeenkomstige sequentie waardoor de kans groter is dat eenzelfde peptide wordt gebonden. Dit zou een auto-immuun respons kunnen opwekken wat tot reumatoïde artritis zou kunnen leiden. Een specifieke peptide die tot reumatoïde artritis kan leiden is tot op heden nog niet gevonden. Wel zijn er anti-CCP autoantilichamen gevonden, die reeds jaren voordat reumatoïde artritis zich manifesteert in het lichaam voorkomen. Reumatoïde factoren, samen met anti-CCP antilichamen, vormen belangrijke parameters voor de mate waarin reumatoïde artritis zich manifesteert. Het Shared Epitope wordt specifiek geassocieerd met anti-CCP positieve reumatoïde artritis. Patiënten met CCP negatieve reumatoïde artritis ontwikkelen veelal een mildere vorm van de ziekte dan CCP positieve patiënten. De frequentie van HLA-DR3 in CCP negatieve patiënten is vaak verhoogd. De associatie tussen reumatoïde factoren en het Shared Epitope lijkt secundair te zijn aan de associatie tussen het Shared Epitope en anti-CCP antilichamen.

Naast allelen die de kans lijken te vergroten op het ontwikkelen van reumatoïde artritis lijken er ook allelen te zijn die een remmende werking hebben op het ontstaan van de ziekte. Deze allelen coderen voor een DERAA sequentie. De RAP hypothese stelt dat deze sequentie geen onderdeel vormt van de bindinggroeve, maar als losse peptide fungeert die kan binden met HLA-DQ moleculen. Dit complex kan worden herkend door regulatoire T cellen die de T cel respons kunnen onderdrukken. Juist deze respons zou verantwoordelijk kunnen zijn voor de ontwikkeling van reumatoïde artritis.

Naast de allelen die betrokken zijn bij de RAP hypothese zijn er nog enkele allelen die een rol lijken te spelen bij de bescherming tegen reumatoïde artritis. DRB1*0701 en *1501 lijken in lagere frequentie voor te komen in patiënten met de ziekte. Desondanks komen DRB1*0401/*0701 of *0401/*1501 heterozygoten veel voor in patiënten met reumatoïde artritis. HLA-DRB13 allelen komen significant minder frequent voor bij patiënten met de ziekte. Deze allelen worden minder vaak overgeërfd dan men bij een normale overerving zou verwachten. Er wordt verondersteld dat DRB*1301 en *1302, in combinatie met DRB1*0101 en DRB1*1001, bescherming zou kunnen bieden tegen het ontwikkelen van reumatoïde artritis bij patiënten die positief zijn voor HLA klasse 2 allelen die wel predispositie bieden tot de ziekte.

Discussie

Enkele HLA moleculen worden sterk geassocieerd met het ontstaan van reumatoïde artritis. In acht dient echter te worden genomen dat HLA moleculen niet de enige factor is die een rol speelt. Reumatoïde artritis is een multifactoriële ziekte. Meerdere genetische, en niet genetische, factoren spelen een rol bij het ontstaan van reumatoïde artritis. HLA bepaalt ongeveer 35% van de genetische predispositie [45].

Daarnaast kunnen HLA allelen de kans verhogen op het krijgen van de ziekte. Over het algemeen kan niet aangenomen worden dat dragers van een allel dat sterk geassocieerd wordt met het ontstaan van reumatoïde artritis ook daadwerkelijk de ziekte ontwikkelen. Door de HLA allelen binnen bepaalde bevolkingsgroepen of families te onderzoeken kunnen enkel voorspellingen worden gedaan.

Hoewel met de Shared Epitope hypothese een link gelegd kan worden tussen HLA allelen en het ontstaan van reumatoïde artritis, is deze verklaring te simpel weergegeven. Allelen met een Shared Epitope hebben bijvoorbeeld niet een even groot effect bij de kans op het ontwikkelen van reumatoïde artritis. Bovendien zijn er ook allelen met een Shared Epitope die een beschermende werking hebben tegen het ontstaan van reumatoïde artritis. Mede dardoor is de RAP hypothese ontstaan.

Ook de RAP hypothese heeft beperkingen. In modellen waarbij het Shared Epitope is gemodificeerd blijken HLA allelen zowel de kans op het ontwikkelen van reumatoïde artritis te kunnen vergroten, als te kunnen verkleinen. Een concreet standpunt over de functie van HLA allelen kan dus nog niet gevormd worden. De relatie tussen HLA en het ontwikkelen van reumatoïde artritis lijkt nog steeds te complex om door de bestaande hypothesen te worden verklaard.

Tot slot is gebleken dat er nog veel onduidelijk is over de verschillende HLA allelen. Over enkele allelen is in de huidige literatuur weinig informatie te vinden, andere allelen zijn in beperkte mate onderzocht. Er zijn bijvoorbeeld slechts enkele HLA-DRB1 allelen uitvoerig onderzocht. Verder onderzoek dient uitgevoerd te worden om de functie van deze allelen nader te bepalen. Diermodellen zouden hierbij een grote rol kunnen spelen. Kruisingsexperimenten in muizenstammen zouden wellicht tot herleidbare HLA genotypes kunnen leiden, waarbij het ontstaan van reumatoïde artritis zou kunnen worden bepaald. Daarnaast zijn er ook nog vele combinaties van HLA moleculen op een cel mogelijk. Slechts enkele van deze combinaties zijn onderzocht, en in kaart gebracht. Bij in vitro experimenten zou de expressie van verschillende genen getest kunnen worden, en zouden verschillende combinaties van HLA moleculen gevormd kunnen worden. Vervolgens zou gekeken kunnen worden of deze combinaties tot een immuunreactie kunnen leiden die bijdraagt aan het ontstaan van reumatoïde artritis.

Wellicht dat er in de toekomst betere, efficiëntere onderzoeksmethoden worden ontwikkeld die verder onderzoek vergemakkelijken. Een beter inzicht in het ontstaan van reumatoïde artritis zou er in de toekomst wellicht toe kunnen leiden dat er betere behandelmethodes ontstaan. Door genetische screening zou men vroegtijdig kunnen beginnen met preventieve handelingen en behandel methoden. Betere medicatie zou er mogelijk voor kunnen zorgen dat mensen beter kunnen leven met reumatoïde artritis en dat de progressie van de ziekte verzwakt kan worden, of zelfs voorkomen kan worden.

Referenties

[1] Website van het reumafonds. Homepage beschikbaar via: http://www.reumafonds.nl/informatie-voor-doelgroepen/patienten/reuma-in-het-kort/feiten-en-cijfers.aspx. Website geraadpleegd op 21-02-10
[2] Vereniging JongWans: vereniging voor jonge mensen met reumatoïde artritis. Homepage beschikbaar via: http://www.jongwans.nl/ra.html. Website geraadpleegd op 21-02-10
[3] Website van het reumafonds. Homepage beschikbaar via: http://www.reumafonds.nl/informatie-voor-doelgroepen/patienten/vormen-van-reuma/jeugdreuma/Behandeling.aspx. Website geraadpleegd op 21-02-10
[4] Sociaaleconomische status: gezondheid en ziekte. Reuma. Sociaaleconomische verschillen naar geslacht en leeftijd. Monitor Gezondheidsachterstanden, versie 1.2, 18 december 2008. Beschikbaar via: http://www.rivm.nl/vtv/object_document/o4761n29109.html
[5] So-Young Bang et al. Smoking Increases Rheumatoid Arthritis Susceptibility in Individuals Carrying the HLA–DRB1 Shared Epitope, Regardless of Rheumatoid Factor or Anti–Cyclic Citrullinated Peptide Antibody Status. Arthritis & Rheumatism: Vol. 62, No. 2, February 2010, pp 369–377
[6] Reumatoïde artritis informatie pagina voor patiënten. Homepage beschikbaar via: http://www.levenmetreuma.nl/content/reumatoide-artritis/reumatoide-artritis.asp. Website geraadpleegd op 21-02-10
[7] F.H.J. Claas en B.M.E. von Blomberg. HLA geassocieerde auto-immuunziekten. Nederlands Tijdschrift voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde: 2006; 31: 296-300
[8] Reumatoïde artritis liga. Homepage beschikbaar via http://www.raliga.be/wat_is_ra. Website geraadpleegd op 22-02-10
[9] Dee Unglaub Silverthorn (2007), Human Physiology fourth edition. Chapter 24 The Immune System. Page 776-806.
[10] Narinder K. Mehra and Gurvinder Kaur et all. Gene map of the human leukocyte antigen (HLA) region Expert Reviews in Molecular Medicine: Accession information: Vol. 5; 24 February 2003
[11] Genetics Home Reference: your guide to understanding genetic conditions. Homepage beschikbaar via: http://ghr.nlm.nih.gov/gene=hlaa. Website geraadpleegd op 22-02-10
[12] Gene cards: the human gene compendium. Homepage beschikbaar via: http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HLA-A. Website geraadpleegd op 23-02-10
[13] IMGT/HLA Database. Homepage beschikbaar via: http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html. Website geraadpleegd op 23-02-10
[14] Genetics Home Reference: your guide to understanding genetic conditions. Homepage beschikbaar via: http://ghr.nlm.nih.gov/gene=hlab. Website geraadpleegd op 23-02-10
[15] Genetics Home Reference: your guide to understanding genetic conditions. Homepage beschikbaar via: http://ghr.nlm.nih.gov/gene=hlac. Website geraadpleegd op 23-02-10
[16] Gene cards: the human gene compendium. Homepage beschikbaar via: http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HLA-DPB1&search=HLA-DP. Website geraadpleegd op 25-02-10
[17] Stichting Europ donors. Homepage beschikbaar via: http://www.europdonor.nl/index.php?id=84. website geraadpleegd op 24-02-10
[18] Gene cards: the human gene compendium. Homepage beschikbaar via: http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HLA-DQB1&search=HLA-DQ. Website geraadpleegd op 24-02-10

[19] Gene cards: the human gene compendium. Homepage beschikbaar via: http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HLA-DQB1&search=HLA-DR. Website geraadpleegd op 24-02-10
[20] Center for biological sequence analysis. Technical university of Denmark (DTU). Research groups → Supplementary material for the article: Definition of supertypes for HLA molecules using clustering of specificity matrices. HLA-DR tree. Afbeelding beschikbaar via: http://www.cbs.dtu.dk/researchgroups/immunology/supertypes/HLA-A_tree.jpg. Website geraadpleegd op 24-02-10
[21] A. Perdriger, P. Guggenbuhl, G. Chalès, P. Le Dantec, J. Yaouanq, B. Genetet *et al.*, The role of HLA-DR-DR and HLA DR-DP interactions in genetic susceptibility to rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* **46** (1996), pp. 42–48.
[22] C.M. Weyand, T.G. McCarthy and J.J. Goronzy, Correlations between disease phenotype and genetic heterogeneity in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* **95** (1995), pp. 2120–2126.
[23] Aleth Perdriger. Do the HLA-DQ and DP genes play a role in rheumatoid arthritis? Joint Bone Spine Volume 68, Issue 1, February 2001, Pages 12-18
[24] H.A. Stephens, A.E. Brown, D. Chandanayingyong, H.K. Webster, M. Sirikong, P. Longtan *et al.*, The presence of the HLA class II allele DPB1*0501 in ethnic Thais correlates with and enhanced vaccine-induced antibody response to a malaria sporozoite antigen. *Eur J Immunol* **25** (1995), pp. 3142–3147.
[25] A.B. Begovich, T.L. Bugawan, B.S. Nepom, W. Klitz, G.T. Nepom and H.A. Erlich, A specific HLA-DPβ allele is associated with pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis but not adult rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* **86** (1989), pp. 9489–9493.
[26] D.P. Singal, M. D'Souza, B. Reid, W.G. Bensen, Y.B. Kassam and J.D. Adachi, HLA-DQbeta-chain polymorphism in HLA-DR4 haplotypes associated with rheumatoid arthritis. *Lancet* **ii** (1987), pp. 1118–1120.
[27] J. Wallin, B. Carlsson, H. Ström and E. Möller, A DR4-associated DR-DQ haplotype is significantly associated with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **31** (1988), pp. 72–79.
[28] M.A. Gonzalez-Gay, E. Zanelli, C.J. Krco, G.H. Nabozny, J. Hanson, M.M. Griffiths *et al.*, Polymorphism of the MHC class II Eb gene determines the protection against collagen-induced arthritis. *Immunogenetics* **42** (1995), pp. 35–40.
[29] V. Taneja, M.M. Griffiths, H. Luthra and C.S. David, Modulation of HLA-DQ restricted collagen-induced arthritis by HLA-DRB1 polymorphism. *Int Immunol* **10** (1998), pp. 1449–1457.
[30] E. Zanelli, F. C. Breedveld and René R. P. de Vries, Hla class II association with rheumatoid arthritis: Facts and interpretations. Human Immunology Volume **61**, Issue 12, December 2000, Pages 1254-1261
[31] Kapitány A, Zilahi E, Szántó S, Szücs G, Szabó Z, Végvári A, Rass P, Sipka S, Szegedi G, Szekanecz Z. Association of rheumatoid arthritis with HLA-DR1 and HLA-DR4 in Hungary. Ann N Y Acad Sci. 2005 Jun;1051:263-70.
[32] Alvarez I, Collado J, Daura X, Colomé N, Rodríguez-García M, Gallart T, Canals F, Jaraquemada D. The rheumatoid arthritis-associated allele HLA-DR10 (DRB1*1001) shares part of its repertoire with HLA-DR1 (DRB1*0101) and HLA-DR4 (DRB*0401). Arthritis Rheum. 2008 Jun;58(6):1630-9.
[33] I. van der Horst-Bruinsma, H. Visser, J.M. Hazes, F.C. Breedveld, W. Verduyn, G.M. Schreuder, R.R.P. de Vries and E. Zanelli, HLA-DQ-associated predisposition to and dominant HLA-DR-associated protection against rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* **60** (1999), p. 152.
[34] J.L. Nelson, G. Boyer, D. Templin, A. Lanier, R. Barrington, B. Nisperos, A. Smith, E. Mickelson and J.A. Hansen, HLA antigens in Tlingit Indians with rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* **40** (1992), p. 57.

[35] R.C. Williams, L.T. Jacobsson, W.C. Knowler, A. del Puente, D. Kostyu, J.E. McAuley, P.H. Bennett and D.J. Pettitt, Meta-analysis reveals association between most common class II haplotype in full-heritage Native Americans and rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* **42** (1995), p. 90.
[36] Reumatoïde artritis liga. Homepage beschikbaar via http://www.raliga.be/node/286/. Website geraadpleegd op 02-03-10
[37] D. van Zeben, J.M. Hazes, A.H. Zwinderman, A. Cats, G.M. Schreuder and J. D'Amaro *et al.*, Association of HLA-DR4 with a more progressive disease course in patients with rheumatoid arthritis. Results of a followup study, *Arthritis Rheum* **34** (1991), pp. 822–830.
[38] C.M. Weyand, C. Xie and J.J. Goronzy, Homozygosity for the HLA-DRB1 allele selects for extraarticular manifestations in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* **89** (1992), p. 2033.
[39] W. Thomson, B. Harrison, B. Ollier, N. Wiles, T. Payton, J. Barrett, D. Symmons and A. Silman, Quantifying the exact role of HLA-DRB1 alleles in susceptibility to inflammatory polyarthritis: results from a large, population-based study. *Arthritis Rheum* **42** (1999), p. 757.
[40] H.Y. Kim, T.G. Kim, S.H. Park, S.H. Lee, C.S. Cho and H. Han, Predominance of HLA-DRB1*0405 in Korean patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* **54** (1995), p. 988.
[41] J. Yelamos, J.R. Garcia-Lozano, I. Moreno, I. Aguilera, M.F. Gonzalez, A. Garcia, A. Nunez-Roldan and B. Sanchez, Association of HLA-DR4-Dw15 (DRB1*0405) and DR10 with rheumatoid arthritis in a Spanish population. *Arthritis Rheum* **36** (1993), p. 811.
[42] V. Taneja, N.K. Mehra, A.N. Chandershekaran, R.K. Ahuja, Y.N. Singh and A.N. Malaviya, HLA-DR4-DQw8, but not DR4-DQw7 haplotypes occur in Indian patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* **11** (1992), p. 251.
[43] C. Stavropoulos-Giokas, M. Spyropoulou-Vlachou, I.I.N. Doxiadis, F. Kaklamanis and E. Kaklamani, The shared epitope versus DR/DQ haplotype hypothesis in rheumatoid arthritis in Greeks. *Hum Immunol* **60** (1999), p. S48.
[44] P.K. Gregersen, J. Silver and R.J. Winchester, The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum* **30** (1987), pp. 1205–1213.
[45] de Vries RR, Huizinga TW, Toes RE. Redefining the HLA and RA association: to be or not to be anti-CCP positive. J Autoimmun. 2005;25 Suppl:21-5.
[46] M.M. Nielen, D. van Schaardenburg, H.W. Reesink, R.J. van de Stadt, I.E. van der Horst-Bruinsma and M.H. de Koning *et al.*, Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors, *Arthritis Rheum* **50** (2004), pp. 380–386.
[47] K.N. Verpoort, F.A. van Gaalen, A.H.M. van der Helm-van Mil, G.M.T. Schreuder, F.C. Breedveld and T.W.J. Huizinga *et al.*, Association of HLA-DR3 with anti-cyclic citrullinated peptide antibody-negative rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum* **10** (2005), pp. 3058–3062.
[48] Huizinga TWJ, Amos CI, van der Helm-van Mil AHM, Chen W, van Gaalen FA, Jawaheer D, et al. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to cirullinated proteins. Arthritis Rheum, 2005 Nov;52(11):3433-8.
[49] E. Zanelli, M.A. Gonzalez-Gay and C.S. David, Could HLA-DRB1 be the protective locus in rheumatoid arthritis?, *Immunol Today* **16** (1995), pp. 274–278.
[50] I.E. van der Horst-Bruinsma, H. Visser, J.M. Hazes, F.C. Breedveld, W. Verduyn and G.M. Schreuder *et al.*, HLA-DQ-associated predisposition to and dominant HLA-DR-associated protection against rheumatoid arthritis, *Hum Immunol* **60** (1999), pp. 152–158.
[51] E. Toussirot, B. Auge, P. Tiberghien, J. Chabod, J.P. Cedoz and D. Wendling, HLA-DRB1 alleles and shared amino acid sequences in disease susceptibility and severity in patients from eastern France with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* **26** (1999), p. 1446.