

LAVORO ORIGINALE

Tipizzazione del sistema HLA nella sclerosi sistemica

HLA typing in systemic sclerosis

E. Favalli, F. Ingegnoli, S. Zeni, M. Faré¹, F. Fantini

Cattedra di Reumatologia, Università degli Studi di Milano, Istituto Gaetano Pini, Milano

¹Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale, Istituto Gaetano Pini, Milano

SUMMARY

Objective: *the aim of the study was to investigate the relationship between Systemic Sclerosis (SSc) and HLA antigens, and to correlate these antigens with the clinical manifestations of the disease.*

Materials and methods: *55 patients were stratified according a) to the cutaneous involvement b) to the positivity of Scl-70 and anticentromere antibody and c) to the internal organ involvement, in particular we used HRCT to demonstrate lung fibrosis, echocardiography for the diagnosis of pulmonary hypertension, blood creatinine, urinalysis and arterial hypertension to demonstrate renal failure, and esophagus double-contrast barium swallow for the diagnosis of esophagopathy. The control group consisting of 2000 healthy Caucasian subjects was recruited from the same population.*

Results: *the frequency of the antigens A23 ($p=0.003$, $RR=3.69$), B18 ($p<0.0001$, $RR=3.57$), and DR11 ($p<0.0001$, $RR=6.18$) was statistically increased in the patients population compared with the healthy controls. Although there is no any significant correlation between HLA antigens and different clinical subsets of scleroderma, antigens B18 and DR11 could be associated with more severe clinical features.*

Conclusions: *the presence of a significant association between SSc and specific HLA antigens (A23, B18, and DR11) could link the HLA system with SSc.*

Reumatismo, 2001; 53(3):210-214

INTRODUZIONE

Il sistema maggiore di istocompatibilità è stato spesso chiamato in causa per il suo possibile ruolo nell'eziopatogenesi delle malattie immunomediate, che lo renderebbe responsabile, con molteplici possibili meccanismi d'azione, della predisposizione di taluni individui allo sviluppo di un determinato processo patologico.

Così come per numerose altre patologie, anche per quel che concerne la sclerosi sistemica esistono in letteratura diversi riferimenti a studi volti alla determinazione di un'eventuale correlazione tra il sistema HLA e tale malattia, con risultati peraltro estremamente contrastanti (1).

Se da un lato, infatti, numerosi autori hanno riportato frequenze di presentazione antigenica significativamente differenti nei soggetti affetti da sclerosi sistemica rispetto a quelli sani, dall'altro non

mancano le segnalazioni relative a lavori che hanno portato ad escludere statisticamente una simile possibilità (2, 3, 4, 5).

Tra gli antigeni di classe I più frequentemente coinvolti con la patogenesi della scleroderma in letteratura, meritano una particolare citazione l'A2 (6, 7) e soprattutto il B8 (5, 6, 7); per quanto concerne invece gli antigeni di classe II, il DR3 (6, 8, 9) e il DR5 (9, 10) sono quelli che più spesso vengono affiancati alla sclerosi sistemica.

Più raro, al contrario, è il riscontro di specifiche correlazioni antigeniche con le diverse modalità di espressione clinica o autoanticorpale della malattia: il DR5 ed il DR52 sono da alcuni autori considerati più frequenti nelle forme cutanee diffuse (11, 12), mentre A1, B8, B18 e DR3 lo sono in quelle limitate (10, 12); il DR6 ed il DR52 sembrano connessi con quadri di ipertensione polmonare ad evoluzione maligna (11), mentre la frequenza di comparsa del DR3 appare aumentata nei casi di fibrosi polmonare (13). Non esistono infine segnalazioni relative all'associazione tra determinati antigeni del sistema maggiore di istocompatibilità e quadri di esofagopatia o di positività per gli autoanticorpi anti-Scl-70 e anticentromero.

Lavoro premiato al XXXVI Congresso SIR di S. Margherita di Pula, 1999

Indirizzo per la corrispondenza:

Ennio Favalli, Cattedra di Reumatologia dell'Università di Milano, Istituto G. Pini, Via Pini 9, 20122 Milano

MATERIALI E METODI

È stata studiata una serie continua di 55 soggetti caucasici affetti da sclerosi sistemica (SSc), composta da 53 donne e 2 uomini di età compresa tra 27 e 77 anni (media 54 anni), con una durata di malattia minima di 6 mesi e massima di 21 anni (media 6,3 anni).

I pazienti in esame sono stati stratificati in base ai seguenti parametri di valutazione clinica e laboratoristica della patologia, considerati al momento dell'esecuzione dell'esame di tipizzazione del sistema maggiore di istocompatibilità: grado di coinvolgimento cutaneo valutato all'esame obiettivo in base allo "skin score" di Rodnan modificato (14); presenza di fibrosi polmonare accertata tramite esecuzione di TC polmonare con tecnica ad alta risoluzione; presenza di ipertensione del piccolo circolo valutata tramite ecocolordoppler cardiaco considerando patologici valori di pressione arteriosa polmonare (PAP) derivata superiori a 30 mmHg; eso-

fagopatia evidenziata con l'indagine radiografica dell'esofago con pasto baritato; coinvolgimento renale valutato in base al riscontro di proteinuria, creatinemia superiore a 1,2 mg/dL ed ipertensione arteriosa; assetto autoanticorpale (ricerca degli ANA su HEp 2 e degli ENA con tecnica ELISA).

L'esame di queste variabili ha consentito di distinguere 24 soggetti con forma cutanea diffusa (dSSc) e 31 con forma cutanea limitata (lSSc); 41 pazienti con fibrosi polmonare e 20 con ipertensione del piccolo circolo; 38 soggetti con coinvolgimento esofageo e nessuno con impegno renale; 28 pazienti con positività degli autoanticorpi anti-Scl-70, 5 con positività degli autoanticorpi anticentromero, 18 con positività per altri autoanticorpi (Tab. I).

La tipizzazione del sistema HLA di classe I e II è stata eseguita in tutti i soggetti tramite test di microinfocitotossicità NIH standard eseguito su sangue periferico utilizzando antisieri in grado di riconoscere le specificità antigeniche elencate nella tabella II.

I dati relativi al gruppo in esame ed agli specifici sottogruppi sono stati quindi posti a confronto con quelli ricavati su un gruppo di controllo, costituito da 2000 donatori sani caucasici di midollo osseo selezionati dalla stessa popolazione c/o il Centro di Immunematologia e Trasfusionale del nostro Istituto. L'analisi statistica è stata condotta mediante l'applicazione, a seconda dell'entità numerica del gruppo in esame, del test χ^2 (con la correzione di Yates) o del test esatto di Fisher per il confronto delle frequenze (con la correzione di Bonferroni).

Tabella I - Suddivisione della casistica dei 55 pazienti in base ai parametri presi in esame.

Parametri esaminati	Numero di pazienti (%)
Esofagopatia	38 (69%)
Fibrosi polmonare	41 (74,5%)
Ipertensione polmonare	20 (36,36%)
Interess. cutaneo limitato	31 (56,36%)
Interess. cutaneo diffuso	24 (43,63%)
Nefropatia	0 (0%)
Ab anti-scl-70 positivi	28 (50,9%)
Ab anticentromero positivi	5 (9,09%)

RISULTATI

Il confronto tra la distribuzione antigenica dei pazienti affetti da sclerosi sistemica e quella del gruppo di soggetti sani ha consentito di evidenziare nei

Tabella II - Specificità riconosciute dagli antisieri utilizzati per la tipizzazione HLA.

	Specificità riconosciute
Locus A	1,2,3,9,10,11,19,23 (9),24 (9),25 (10),26 (10),28,29 (19),30 (19),31 (19), 32 (19), 33 (19),34 (10),36,68 (28),69 (28).
Locus B	5,7,8,12,13,14,15,16,17,18,21,22,27,35,37,38 (16),39 (16),40,41,42,44 (12), 45 (12),47,49 (21),50 (21),51 (5),52 (5),53,54 (22),55 (22), 56 (22),57 (17), 58 (17),60 (40), 61 (40),62 (15),63 (15),67,bw4,bw6.
Locus C	Cw1,Cw2,Cw3,Cw4,Cw5,Cw6,Cw7,Cw8.
Locus DR	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11 (5),12 (5),13 (6),14 (6),15 (2),16 (2),17 (3),18 (3), 52,53.
Locus DQ	1,2,3,4,5 (1),6 (1),7 (3),8 (3),9 (3).

primi una maggior frequenza di presentazione degli antigeni A23 ($p=0.003$, $RR=3.69$), B18 ($p<0.0001$, $RR=3.57$) e DR11 ($p<0.0001$, $RR=6.18$) (Tabb. III e IV).

È stato inoltre riscontrato l'aumento della frequenza di comparsa, senza peraltro che questa differenza raggiungesse una significatività statistica, degli antigeni B18 ($p=0,34$ $RR=1.18$), DR11

Tabella III - Risultati significativi all'analisi statistica.

Antigene	Frequenza in SSc (%)	Frequenza nei sani (%)	Significatività statistica	Rischio relativo (lim. di confid. al 95%)
A23	10,9%	2,8%	$p=0,003$	3,69 (1,63-8,3)
B18	32,7%	10,7%	$p<0,0001$	3,57 (2,06-6,18)
DR11	65,4%	23,1%	$p<0,0001$	6,18 (3,58-10,68)

Tabella IV - Distribuzione di tutti gli antigeni HLA nei pazienti e nel gruppo di controllo.

Antigeni classe I	Frequenza in SSc (%)	Frequenza nei sani (%)	Significatività statistica	Antigeni classe I	Frequenza in SSc (%)	Frequenza nei sani (%)	Significatività statistica
A1	16,36	26,4	0,24	B41	0	1,8	0,68
A2	50,90	49,4	0,43	B42	0	0,4	0,66
A3	27,27	24,7	0,48	B44	12,72	23,1	0,18
A11	7,27	12,2	0,50	B45	1,81	0,8	0,88
A23	10,9	2,8	0,003	B47	1,81	0,4	0,51
A24	23,63	19,5	0,33	B49	9,09	3,6	0,68
A25	7,27	4,7	0,45	B50	3,63	2,2	0,71
A26	1,81	6,3	0,34	B53	0	1,0	0,48
A28	5,45	9,2	0,59	B54	0	0	0,02
A29	9,09	5,7	0,32	B55	03,2	0,38	
A30	1,81	6,9	0,28	B56	1,81	2,2	0,92
A31	3,63	5,7	0,84	B57	10,90	5,7	0,11
A32	7,27	7,6	0,41	B60	1,81	7,5	0,23
A33	3,63	2,8	0,93	B61	1,81	4,2	0,68
A34	0	1,2	0,03	B62	10,90	11,8	0,96
A36	0	0,8	0,44	B63	1,81	1,4	0,72
B5	3,63	15,7	0,03	B64	1,81	2,2	0,92
B7	9,09	21,7	0,06	CW1	9,09	6,5	0,08
B8	5,45	18,3	0,04	CW2	3,63	8,0	0,48
B18	32,7	10,7	<0,0001	CW3	7,27	23,6	0,44
B27	3,63	6,7	0,63	CW4	29,09	21,9	0,01
B35	29,09	19,9	0,05	CW5	7,27	13,3	0,12
B37	3,63	3,2	0,74	CW6	7,27	16,5	0,37
B38	0	4,9	0,2	CW7	25,45	42,7	0,15
B39	7,27	4,0	0,29	CW8	0	7,3	0,05
Antigeni classe II	Frequenza in SSc (%)	Frequenza nei sani (%)	Significatività statistica	Antigeni classe II	Frequenza in SSc (%)	Frequenza nei sani (%)	Significatività statistica
DR1	9,09	18,1	0,18	DR12	3,63	4,0	1
DR2	20	29,1	0,35	DR13	18,18	10,5	0,05
DR3	10,90	22,6	0,08	DR14	5,45	11,3	0,35
DR4	5,45	23,8	0,001	DR52	81,8	79	0,72
DR7	25,45	22,6	0,39	DR53	27,27	36,5	0,18
DR8	3,63	5,9	0,76	DQ1	49,09	54,2	0,97
DR9	1,81	1,6	0,56	DQ2	21,81	32,9	0,24
DR10	5,45	1,6	0,05	DQ3	23,63	41,2	0,04
DR11	65,4	23,1	<0,0001	DQ4	3,63	4,4	0,07

($p=0.05$, $RR=1.43$) e DR13 ($p=0.25$, $RR=1.29$) nei pazienti con fibrosi polmonare, dell'antigene DR7 ($p=0.10$, $RR=1.95$) nei pazienti con ipertensione polmonare, degli antigeni B18 ($p=0.08$, $RR=1.73$) e B57 ($p=0.06$, $RR=1.95$) nei soggetti con interessamento cutaneo diffuso e degli antigeni B18 ($p=0.15$, $RR=1.54$), DR7 ($p=0.35$, $RR=1.38$) e DR11 ($p=0.16$, $RR=1.58$) nei pazienti Scl-70 positivi.

Al contrario non è stata evidenziata alcuna correlazione tra gli antigeni del sistema maggior di istocompatibilità ed il riscontro di esofagopatia, mentre lo scarso numero di soggetti con positività degli autoanticorpi anticentromero non ha consentito di procedere ad un'analisi statistica.

DISCUSSIONE

I risultati ottenuti confermano la tendenza riscontrata nella maggior parte degli studi eseguiti sul medesimo argomento fino a questo momento.

L'esistenza di una correlazione statisticamente significativa tra il sistema maggiore di istocompatibilità e la sclerosi sistemica sembrerebbe poter di-

mostrare un possibile ruolo patogenetico dei diversi antigeni HLA nella predisposizione allo sviluppo di tale patologia, condizione questa che pare riguardare tanto gli alleli di classe I (A23 e B18) quanto quelli di classe II (DR11).

Mentre per quanto concerne questi ultimi il risultato è almeno in parte sovrapponibile a quelli ottenuti nella maggior parte dei precedenti studi a riguardo, nei quali la frequenza di comparsa dell'antigene DR5 (di cui il DR11 rappresenta uno split) risultava significativamente aumentata (9, 10), per quanto riguarda invece gli alleli di classe I il riscontro di un aumento della frequenza di presentazione degli antigeni A23 e B18 non risulta finora riportato in letteratura.

Per quanto riguarda invece le diverse modalità di manifestazione clinica ed autoanticorpale della malattia, non è emersa nessuna correlazione statisticamente significativa, anche se il costante incremento della frequenza di comparsa degli antigeni B18 e DR11 nei pazienti con fibrosi polmonare, interessamento cutaneo diffuso e positività degli autoanticorpi anti-Scl-70 sembra indicativo di un coinvolgimento di tali antigeni nella genesi di forme più aggressive della patologia.

RIASSUNTO

Scopo: Determinare l'esistenza di una correlazione tra il sistema HLA e le diverse espressioni della sclerosi sistemica.

Materiali e metodi: Sono stati sottoposti a tipizzazione HLA completa 55 pazienti affetti da sclerosi sistemica, suddivisi in base al grado di interessamento cutaneo (limitato o diffuso) e viscerale (fibrosi polmonare, ipertensione polmonare, esofagopatia, coinvolgimento renale) ed all'assetto autoanticorpale. Il gruppo controllo comprendeva 2000 donatori sani di midollo osseo.

Risultati e conclusioni: Frequenze significativamente incrementate sono emerse per gli antigeni A23, B18 e DR11 nei soggetti affetti; non è stata invece riscontrata nessuna significativa correlazione con le diverse modalità di espressione della malattia.

Parole chiave. Sclerosi sistemica, HLA

Key words: Systemic sclerosis, HLA

BIBLIOGRAFIA

1. Reveille JD. Molecular genetics of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheum* 1995; 7(6): 522-8.
2. Birnbaum NS, Rodnan GP, Rabin BS, Bassion S. Histocompatibility antigens in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *J Rheumatol* 1977; 4: 425-28.
3. Valesini G, Litta A, Bonavita MS, Luan FL, Purpura M, Mariani M et al. Geographical clustering of scleroderma in a rural area in the province of Rome. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11: 41-7.
4. Geirsson AJ, Steinsson K, Guthmundsson S, Sigurthsson V. Systemic sclerosis in Iceland. A nationwide epidemiological study. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 502-5.
5. Tan FK, Stivers DN, Arnett FC, Chakraborty R, Howard R, Reveille JD. HLA haplotypes and microsatellite polymorphisms in and around the major histocompatibility complex region in a Native American population with a high prevalence of scleroderma (systemic sclerosis). *Tissue Antigens* 1999; 53: 74-80.
6. Hietarinta M, Koskimies S, Lassila O, Soppi E, Toivanen A. Familial scleroderma: HLA antigens and autoantibodies. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 336-8.
7. Sasaki T, Denpo K, Ono H, Nakajima H. HLA in systemic scleroderma (PPS) and familial scleroderma. *J Derm* 1991; 18: 18-24.

8. Kallenberg CG, Van der Voort-Beelen JM, D'Amaro J, The TH. Increased frequency of B8/DR3 in scleroderma and association of the haplotype with impaired cellular immune response. *Clin Exp Immunol* 1981; 43: 478-85.
9. Luderschmidt C, Scolz S, Mehlhaff E, Konig G, Albert E. Association of progressive systemic scleroderma to several HLA-B and HLA-DR alleles. *Arch Dermatol* 1987; 123: 1188-91.
10. Black CM, Welsh KI, Maddison PJ, Jayson MI, Bernstein RM. HLA antigens, autoantibodies and clinical subsets of scleroderma. *Br J Rheumatol* 1984; 23: 267-71.
11. Langevitz P, Buskila D, Gladman DD, Darlington GA, Farewell VT, Lee P. HLA alleles in systemic sclerosis: association with pulmonary hypertension and outcome. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 609-13.
12. Venneker GT, van den Hoogen FH, van Meegen M, de Kok-Nazaruk M, Hulsmans RF, Boerbooms AM et al. Molecular heterogeneity of second and fourth components of complement and their genes in systemic sclerosis and association of HLA alleles A1, B8 and DR3 with limited and DR5 with diffuse systemic sclerosis. *Exp Clin Immunol* 1998; 15: 90-9.
13. Lynch CJ, Singh G, Whiteside TL, Rodnan GP, Medsger TA Jr, Rabin BS. Histocompatibility antigens in progressive systemic sclerosis (PSS; scleroderma). *J Clin Immunol* 1982; 2: 314-18.
14. Clements PJ, Furst DE, Seibold JR, Lachenbruch PA. Controlled Trials: Trial Design Issues. In: Clements PJ, Furst DE, editors. *Systemic Sclerosis*. Baltimore; Williams&Wilkins 1996; 515-33.