

## GENOMIKAI KUTATÁSOK A BŐRGYÓGYÁSZATBAN

Szell Márta

PhD, tudományos főmunkatárs  
MTA–SZTE Dermatológiai Kutatócsoport  
szell@mail.derma.szote.u-szeged.hu

Sonkoly Enikő

PhD-hallgató  
SZTE Bőrgyógyászati és  
Allergológiai Klinika  
esonkoly@mail.derma.szote.u-szeged.hu

Bata-Csörgő Zsuzsanna

PhD, egyetemi docens, SZTE Bőrgyógyászati  
és Allergológiai Klinika, MTA–SZTE Dermatológiai  
Kutatócsoport – bata@derma.szote.u-szeged.hu

Dobozy Attila

az MTA rendes tagja, egyetemi tanár  
SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika,  
MTA–SZTE Dermatológiai Kutatócsoport  
magony@mail.derma.szote.u-szeged.hu

Kemény Lajos

az MTA doktora, tanszékvezető egyetemi tanár  
SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika,  
MTA–SZTE Dermatológiai Kutatócsoport  
kl@mail.derma.szote.u-szeged.hu

### *Bevezetés*

A mindennapos bőrgyógyászati gyakorlatban régóta ismert, hogy egyes bőrbetegségek – melyek közül jó néhány igen súlyos tünetekkel jár, némelyikük az élettel is összeegyeztethetetlen – nagyon kis gyakorisággal fordulnak elő, és családi halmozódást mutatnak. A genetika mendeli szabályainak ismeretében a 20. században számos ilyen ritkán előforduló, súlyos bőrgyógyászati kórkép öröklődésmenetére derült fény: családfaelemzések alapján tisztázták, hogy recesszívén vagy dominánsan öröklődnek, illetve egyes betegségek esetében az is nyilvánvalóvá vált, hogy nemi kromoszómához kötötten öröklődnek. Ezeket a bőrgyógyászati kórképeket összefoglalóan genodermatózisoknak hívjuk. Más, jóval gyakoribban előforduló bőrbetegségek (pikkelysömör, atópiás dermatitisz) esetében is felfigyeltek rá, hogy a tünetek megjelenése egyes családokban gyakoribb, de a genodermatózisok-

kal ellentétben e kórképekben nem volt egyértelműen levezethető az öröklődésmenet, illetve a megfigyelések szerint környezeti és életmódbeli tényezők is nagymértékben befolyásolják az ezekkel a bőrbetegségekkel járó tünetek megjelenését. A fenti kórképeket mindezen tényezők alapján multifaktoriális bőrbetegségeknek hívjuk.

Mind a genodermatózisok, mind a multifaktoriális bőrbetegségek hátterében álló genetikai eltérések azonosításának, illetve azok szerepének tisztázásában a kóroki folyamatokban, nagy lendületet adott az 1990-ben induló Humán Genom Projekt. A nemzetközi összefogással, állami intézmények és magáncégek bevonásával létrejött grandiózus munka eredményeként napjainkra  $3 \times 10^9$  bázispárnnyi humán genomi DNS szekvenálása történt meg, és a szekvenciaadatok alapján 30-35 ezer gén jelenlétét feltételezik a teljes humán genomban. Bár még mindig van kb. egyszázaléknyi össze nem illesztett rész, a humán genom szinte teljes mértékű

ismerete új távlatokat nyit a genetikai hátterű kórképek pathogenezisének megismerésében. Napjainkban az eddig használt, rendkívül munka- és időigényes ún. pozicionális klónozási és funkcionális vizsgálati módszerek helyébe a Humán Genom Project adatain alapuló genomikai és proteomikai vizsgálati módszerek lépnek.

Mely területeken számíthatunk nagy előrelépésre a közeljövőben? Egyrészt a már jellemzett, különböző bőrgyógyászati kórképekkel asszociált gének további lokuszainak azonosítása a Humán Genom Projekt adatai és az interneten bárki számára hozzáférhető és használható adatbázisok és genomikai témájú szoftverek segítségével egyre egyszerűbbé válik. Másrészt a projekt szekvenciaadatai alapján folyó annotálási munkák új gének azonosítását, funkcióik jellemzését teszik lehetővé, ezek közül jó néhánynak a különböző humán kórképekkel, többek között genodermatózisokkal, illetve multifaktoriálisan öröklődő bőrbetegségekkel való asszociációját, a genotípus-fenotípus összefüggéseket lehet majd tisztázni. Hosszú távon ezek az eredmények lehetővé teszik majd a genetikai hátterű bőrbetegségek molekuláris diagnózisát, a preszimptomatikus diagnózist, az esetleges hordozók azonosítását, valamint a szomatikus génterápiát (McGrath, 2004).

### Genodermatózisok

Az elmúlt évtizedek, kiváltképp a 90-es évek igen intenzív genetikai kutatásai a genodermatózisok hátterében álló mutációk azonosítására nagy mennyiségű adatot szolgáltatottak: napjainkra 350 genodermatózis molekuláris szintű jellemzése történt meg. E kórképek közül az elméleti adatoknak a mindennapi gyakorlatba történő átvitelére a legnagyobb előrehaladás a genetikai hátterű hólyagos bőrbetegségek (epidermolysis bullosa csoport) területén történt. Ez a ritkán előforduló bőrgyógyászati kórkép rendkívül változatos klinikai képet mutat, melyek

közül néhány forma nagyon súlyos, halálos kimenetelű is lehet. Napjainkra ismertté vált, hogy a sokféle megjelenési forma mögött a bazális membrán – a demisz és az epidermisz között elhelyezkedő anatómiai képlet – különböző fehérjéit kódoló gének mutációi állnak. Mely területeken hasznosult mindeddig ez a tudás, és mi várható a közeli illetve a távoli jövőben?

A genetikai hátterű hólyagos bőrbetegségekkel kapcsolatos eddigi ismereteinket (amelyekhez a Prof. Dr. Kárpáti Sarolta által vezetett hazai kutató műhely is hozzájárult [Csikós, 2004]), egy nemzetközi összefogással létrejött beteg támogató adatbázisban összegezték, amely interneten is elérhető (<http://www.debra.org/>). A különböző, genetikailag determinált hólyagos bőrbetegségek hátterében álló genetikai eltérések ismerete lehetővé teszi a kórformák pontos elkülönítését, az adott kórképet okozó mutáció azonosítását, és lehetőség nyílik genetikai tanácsadásra is. A hólyagos genodermatózisok által érintett családok, hasonló módon az egyéb, már ismert genetikai hátterű betegségekben szenvedőkkel, illetve hordozókkal, a közeli jövőben számolhatnak az *in vitro* fertilizációs technika által nyújtott preimplantációs diagnózis által nyújtott lehetőséggel is.

A genetikai kutatások eredményei a pontos diagnózis felállításához szükséges módszerek mellett lehetőséget nyújtanak a genodermatózisok hátterében álló mutációk által okozott fenotípusok, a megnyilvánuló betegség tüneteinek korrekciójára is. Számos sikeres, egereken és kutyákon végrehajtott szomatikus génterápiai kísérletet követően az első klinikai vizsgálatokat 2002-ben végezték el. A klinikai kísérletek úttörője az olasz De Luca professzor, aki a római Istituto Dermopatico dell'Immacolata klinikán a bazális membrán hemidezmoszómaikat érintő génmutációk által okozott junkcionális epidermolysis bullosa szomatikus génterápiáját cél-

zó első vizsgálatokat végzi. Már az első kísérletek számos technikai problémát vetettek fel: az *ex vivo* szomatikus génterápiai módszerrel végrehajtott eljárás után a graft megtapadása, túlélése kérdéses, valamint számos, az eljárással kapcsolatos biztonsági kérdést vet fel az a tény, hogy a géntranszfert virális vektorokkal hajtják végre (Dellambra, 2001).

Annak ellenére, hogy a genodermatózisok háttérben álló mutációk azonosítása és az általuk okozott kóros folyamatok tisztázása az elmúlt évtizedben nagy lépésekkel haladt előre, a mindennapos bőrgyógyászati gyakorlatban mindezen tudás hasznosulása még mindig korlátozott: a molekuláris diagnosztikai eljárások csak speciálisan felszerelt laboratóriumokban kivitelezhetőek, a genodermatózisok szomatikus génterápiája pedig inkább a távoli jövőben lesz alkalmazható.

#### *Multifaktoriális bőrbetegségek*

A mendeli öröklődésmentet mutató genodermatózisok esetében a betegség genetikai háttérének tisztázásában nagy segítséget nyújt az érintett családok családfaelemzése, és az a tény, hogy az adott mutáció meglete egyértelműen a fenotípus kialakulásához vezet. Ezzel szemben a multifaktoriálisan öröklődő bőrbetegségek öröklődésmentete nem tisztázható családfaanalízisekkel, fenotípusuk megjelenése nem egyértelmű, a tünetek megjelenését életmódbeli, környezeti tényezők is nagymértékben befolyásolják. Jóllehet a 90-es évek óta intenzíven folyik számos multifaktoriális bőrbetegség (*atopias dermatitis, acne vulgaris*, krónikus lábszárfekély) pathomechanizmusának vizsgálata, a legnagyobb léptékű előrehaladást a pikkelysömörrel (*psoriasis*) kapcsolatos vizsgálatokban láthatjuk. Ennek egyik oka feltehetően az, hogy ez, a kaukázusi populációban 2-3 % gyakorisággal előforduló kórkép adja a bőrgyógyászati rendelések forgalmának kb. 8 %-át, a pikkelysömör tehát joggal tekinthető az egyik leggyakoribb bőrbetegségnek.

Mivel a Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján a 80-as évek eleje óta folynak a pikkelysömör pathomechanizmusával kapcsolatos kutatások, jelen munkánkban ezen a betegségen fogjuk szemléltetni a multifaktoriális bőrbetegségekkel kapcsolatos genomikai kutatások előrehaladását.

#### *A pikkelysömör betegség klinikai jellemzése, pathomechanizmusának immunológiai komponensei*

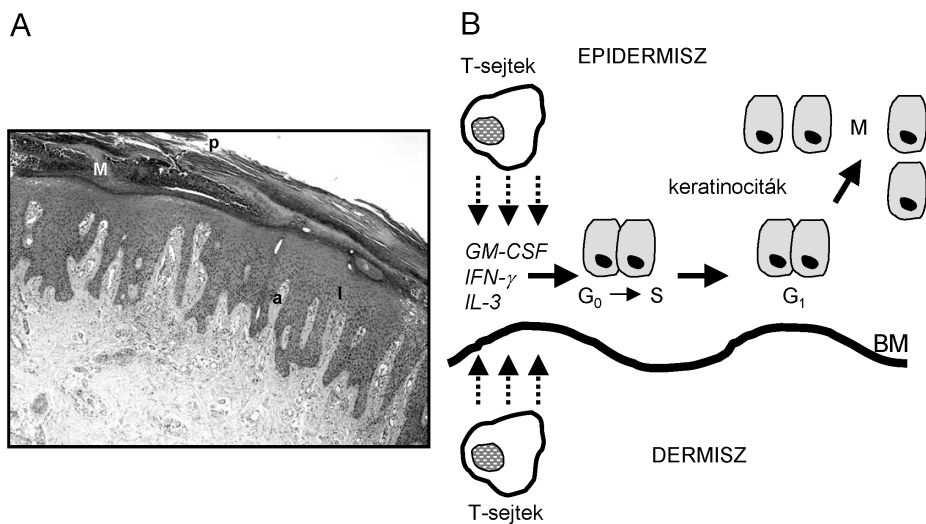
Más poligénes betegségekhez hasonlóan a pikkelysömör klinikai spektruma is széles: a tünetek súlyossága igen széles skálán mozog, az életminőséget alig befolyásoló néhány lokalizált bőrtünet jelentkezésétől a súlyos, egész bőrfelületet érintő, izületi panaszokkal kísért, az életet veszélyeztető formáig terjed. A pikkelysömörös bőrtünetek kialakulásában nagy szerepet játszik a T-sejtes infiltrátum a hám alatti kötőszövetben és a hámban, valamint a hámsejtek (keratinociták) fokozott osztódása és kóros differenciálódása (*1A. ábra*). A pikkelysömörös betegek bőrén a legkülönbözőbb hatásokra (fizikai, kémiai trauma, infekció, kontakt allergének, stressz, fokozott alkoholfogyasztás, bizonyos gyógyszerek) kialakul a jellegzetes pikkelysömörös lézió (Köbner-jelenség), jelezve, hogy a pikkelysömörös beteg bőre tünetmentes állapotában is kóros reakciókészséget hordoz. A pikkelysömör klinikai képe igen változatos, de alapvetően két altípust: a fiatal korban jelentkező I. típust és a felnőtt korban jelentkező II. típust különböztetünk meg. A fiatal korban jelentkező forma általában negyvenéves kor előtt alakul ki, gyakran hirtelen, nagy kiterjedésben jelentkező pontszerű (guttált) bőrtünetek formájában, míg a II. típusra inkább a nagy kiterjedésű plakkok a jellemzőek.

A bőrt infiltráló T-sejtek pathomechanizmusban játszott szerepének vizsgálata az 1980-as években kezdődött, Jan D. Bos és munkatársai 1983-ban írták le az infiltrátum

sejtjeinek immunfenotípusát (Bos, 1999). Kísérletes adatok bizonyították, hogy a bőrt infiltráló aktivált T-sejtek limfokinjeik révén a pikkelysömörös betegek keratinocita őssejt típusú sejtjeinek proliferációját fokozzák (1B. ábra), normál bőrből származó sejteken ilyen hatást nem lehet észlelni. A hámproliferációt kiváltó limfokinhatás egyik lényeges eleme az interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Számos vizsgálat igazolta, hogy a pikkelysömörben kialakuló gyulladásban fontos szerepet játszanak az autoreaktív, IFN- $\gamma$  termelő, Th1 típusú T-sejtek (Bata-Csörgő, 1995). Az utóbbi években egyre több, régóta alkalmazott antipszoriátikus hatású terápiáról (fénykezelések, methotrexat, retinoidok, D3 vitamin analógok) derült ki, hogy a Th1-es típusú immunválaszt visszaszorítják, ami feltehetően hozzájárul a betegségben tapasztalt

terápiás hatáshoz.

Annak köszönhetően, hogy a pikkelysömör immunológiai hátterének vizsgálata fényt derített számos, a betegség pathomechanizmusában szerepet játszó folyamatra és az azokban részt vevő komponensekre, számos új biológiai szert fejlesztettek ki, és kezdtek el alkalmazásukat az utóbbi években a közepes és súlyos fokú pikkelysömör terápiájában. Ilyen, már a klinikai gyakorlatban is használt szerek a tumor nekrozis faktor (TNF) gátlók: egy LFA-3 fúziós protein, amely a bőrt infiltráló T-sejtek aktivációját akadályozza azáltal, hogy a T-sejtek CD2 receptora és az antigénprezentáló sejtek LFA-3 receptora közötti kostimulációs kapcsolatot gátolja, valamint egy monoklonális ellenanyag, amely a T-sejtek LFA-1 (CD11a) receptorához



1. ábra • A pikkelysömör szövettani képe és a betegségre jellemző hám hiperproliferáció feltételezett mechanizmusa. A) Pikkelysömörös tünetes bőr keresztmetszete hematoxilin-eozin festéssel. **p**: parakeratózis, amely a klinikai képben hámlásként jelenik meg; **a**: akantolízis, a megnyúlt hámcsapok között a kötőszövet egészen a hámlo szarurétegig nyúlik fel; **M**: Munro-féle microabscessusok, leukocita sejtcsoport az epidermiszben; **I**: leukocita beszűrődés B) A dermiszben és az epidermiszben kórosan jelen levő T-sejtek limfokinjeiket: interferon- $\gamma$ -t (IFN- $\gamma$ ), interleukin-3-t (IL-3), granulocita-makrofág kolónia stimuláló faktort (GM-CSF) termelnek és bocsátanak ki, amely a bazális membránon (**BM**) ülő őssejtek aktiválásához vezet, a sejtek nyugalmi fázisból (**G<sub>0</sub>**) kilépve osztódni kezdenek (**M**).

kötődve a T-sejtek bőrbe jutását és aktivációját gátolja. A fentiek jól szemléltetik, hogy a pikkelysömör immunológiai hátterének kutatása olyan nagy mennyiségű értékes adatot szolgáltatott a betegség pathomechanizmusáról, hogy azokra alapozva új, már a klinikumban használatos szerek fejlesztésére is sor kerülhetett.

Ezzel szemben távolinak tűnik még az az idő, amelyben a pikkelysömör hátterében álló genetikai faktorokkal kapcsolatos vizsgálatok a betegség diagnosztikájában és terápiájában hasznosulhatnak.

#### *A pikkelysömör multigénesen meghatározott bőrgyógyászati kórkép*

A pikkelysömör öröklődésének első rendszerezett feldolgozását 1963-ban Donald C. Abele és munkatársai közölték, akik egy nagy észak-karolinai betegpopuláció, több érintett család adatainak feldolgozása alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a betegség hátterében álló (akkor még teljes mértékben ismeretlen) genetikai faktorok penetranciája megközelítőleg 60 %-os. Szintén a 60-as évekre datálódik a felismerés, amely szerint a pikkelysömör tüneteinek kialakulásához számos, egymástól független genetikai eltérés meglehetősen szükséges, tehát a betegség genetikailag heterogén. Egy- és kétpetéjű pikkelysömörös ikrek adatainak feldolgozása szerint egypetéjű ikrek esetében a betegség konkordanciája 65-70 %, míg kétpetéjű ikrek esetében 15-20 %-os. Gunnar Swanbeck és munkatársai 1997-ben 3717 érintett család vizsgálata alapján a következő, genetikai tanácsadáson is használható becsléseket tették: ha egyik szülő sem szenved pikkelysömörben, akkor 4 %, ha az egyik szülő pikkelysömörös, akkor 51 %, ha pedig mindkettő, akkor 83 % esély van arra, hogy a születendő gyermek pikkelysömörös lesz.

#### *A PSORS lókuszek*

A pikkelysömörre való hajlam és bizonyos

HLA (humán leukocita antigén) génvariációk közötti összefüggés már a hetvenes évek eleje óta ismert. Thomas J. Russel és munkatársai (1972) számoltak be róla, hogy a HLA-B13 allél szignifikánsan magasabb arányban fordul elő a pikkelysömörös betegek között, mint az egészséges populációban: míg előzőek körében 27 %, utóbbiak között csupán 3 % arányban fordul elő. Az allél pikkelysömör-hajlammal való kapcsolatát tűnik megerősíteni az a tény is, hogy eszsimók, észak-amerikai indiánok és japánok között ez az allél nagyon kis gyakorisággal fordul elő, és ugyanezen népcsoportokban a pikkelysömör prevalenciája is alacsonyabb, összehasonlítva a kaukázusi populációval. Az azóta eltelt több mint harminc év igen intenzív, több kontinensen párhuzamosan folyó HLA-asszociációkkal kapcsolatos kutatásai egyértelműen abba az irányba mutatnak, hogy a pikkelysömörre való hajlam kialakításáért felelős egyik alapvető fontosságú gén (vagy gének) a humán 6. kromoszóma rövid karján (6p21.3), a szöveti összeférhetőséget meghatározó fő hisztokompatibilitási génkomplexben (MHC) található (Balendran, 1999). Ezt a lókuszt a pikkelysömörrel foglalkozó irodalom *PSORS1* (psoriasis susceptibility 1) (*2A. ábra*) néven említi, és a régió génjeinek azonosításával és a géneken belül található polimorfizmusok jellemzésével közelebb kerülhetünk a pikkelysömörre való hajlam genetikai hátterének megértéséhez (*2B. ábra*). Könnyen lehet, hogy az első látásra magától értetődő HLA-asszociációk valójában nem állnak oki összefüggésben a pikkelysömör pathogenezisével, hanem a velük kapcsolatos öröklődő gén(ek) változatai játszanak szerepet a betegségre való hajlam kialakításában. A 6p21.3 pozícióban található HLA régió közel 3,5 millió bp hosszúságú, és megközelítőleg kétszáz gént tartalmaz. Annak érdekében, hogy ez a nagy régió minél kisebbre legyen szűkíthető, nagy felbontású mikroszatellita analízist végeztek

(Oka, 1999), ennek segítségével sikerült a régió belül azonosítani egy ősi haplotípust, amely generációról generációra öröklődik egymással családi kapcsolatban nem levő csoportokban, számos, földrajzilag egymástól távol eső populációban. Ily módon az eredetileg 3,5 millió bp hosszúságú régió egy 160 kb-nyi szekvenciárészletre volt szűkíthető, amelynek a centromer felé eső legszélső génje a HLA-C gén.

Melyek azok a gének, amelyek ebben a régióban helyezkednek el, és milyen módon vehetnek részt a pikkelysömörre való hajlam kialakításában, a betegség pathomechanizmusában? A fenti szekvenciárészleten három pszeudogén (NOB4, NOB5, HCGII-2), valamint a HLA-C gén, egy oktamer motívum kötő transzkripciósfaktort kódoló gén (OTF3), egy, a sejtek növekedésében szerepet játszó transz-aktiváló faktor génje (TCF19), egy  $\alpha$ -helikális szerkezetű *coiled coil rod* fehérjét kódoló gén (HCR), a keratinociták differenciálódása során magas szinten kifejeződő comeodesmosin gén (CDSN), valamint

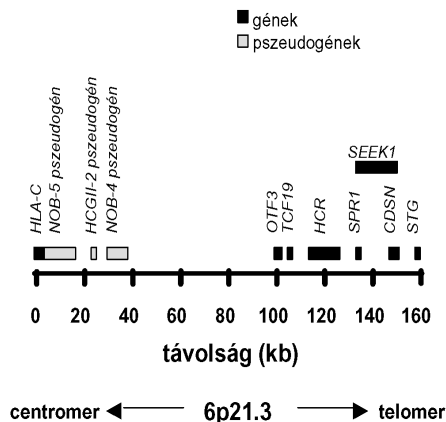
három, mindeddig ismeretlen funkciójú fehérjét kódoló gén, az SPR1, SEEK1 és STG1 gének találhatók. A fenti fehérjék azonosítását követően az elmúlt néhány évben intenzív kutatás kezdődött annak felderítésére, hogy az ezeken a géneken belül azonosított polimorfizmusok mutatnak-e összefüggést a pikkelysömörre való hajlammal.

Egyértelmű asszociációt mutat a HLA-C gén HLA-Cw\*0602 allél változata a pikkelysömörre való hajlammal, elsősorban az I. típusú, fiatalkorban, guttált típusú bőrtünetekkel jelentkező betegséggel. Az OTF3 gén egyik variánsának, az ún. OTF3- $\beta$  allélnak az előfordulási gyakoriság (Gonzalez, 2000), valamint a SEEK1 gén öt és az SPR1 gén egy SNP-je (*single nucleotide polymorphism*: egy adott gén különböző szekvenciárészletein található egyetlen nukleinsav eltérése) mutat szignifikáns eltérést az egészséges és pikkelysömörös populációban, míg a TCF19 gén esetében ilyen polimorfizmust nem találtak. Hat különböző népcsoportból származó 419 család tanulmányozása során arra derült fény,

A

lókuszs neve	kromoszóma lokalizáció
PSORS1	6q21.3
PSORS2	17q25
PSORS3	4q
PSORS4	1q21
PSORS5	3q
PSORS6	19p13-q13
PSORS7	1p35-p34

B



2. ábra • A PSORS lókuszek A.) A kapcsoltsági analízisekkel azonosított, pikkelysömörre való hajlam kialakításában szerepet játszó lókuszek és azok kromoszomális lokalizációja. B.) A PSORS1 lókuszs lokalizációja a humán 6. kromoszómán és a lókuszon belül azonosított gének, illetve pszeudogének. A gének részletes jellemzését lásd a szövegben.

hogy a HCR gén HCR\*WWCC és a HLA-C gén HLA-Cw\*0602 allélvariánsai együtt olyan haplotípust alkotnak, amely szignifikáns asszociációt mutat a pikkelysömör betegséggel (Asumalahti, 2000). *In silico* vizsgálatok szerint a fenti HCR allél a HCR fehérje másodlagos szerkezetének megváltozásához vezet, valamint az is igazolást nyert, hogy a pikkelysömörös tünetes bőrben a HCR protein magasabb szinten fejeződik ki, mint az egészséges bőrben. Mindezek alapján a szerzők feltételezik, hogy a HCR\*WWCC allél, feltehetően a keratinociták proliferációját módosítva, a pikkelysömörre való hajlam egyik meghatározó genetikai komponense lehet. A keratinociták differenciálódása során magasan expresszálandó glikoprotein, a corneodesmosin CDSN\*971T allél variánsa több, egymástól független etnikai csoportban a pikkelysömörrel asszociáltan jelentkezik (Ahnini, 1999). Kimutatták továbbá, hogy az azonosított SNP megváltoztatja a corneodesmosin mRNS egy olyan kötőhelyét, amely egy 39 kDa fehérjét köt, és a fokozza a transzkriptum stabilitását, ennek következtében a corneodesmosin jóval magasabb szinten és abnormalis mintázattal fejeződik ki a pikkelysömörös léziókban. Igazolást nyert továbbá, hogy ez a megváltozott szintű és mintázattal corneodesmosin expresszió csak a pikkelysömörös tünetekre jellemző, egyéb gyulladáscsökkentő betegségekben nem jelentkezik.

A betegség pontosabb diagnózisát és a preszimptomatikus diagnosztikus eljárások kidolgozását segíthetik azok a vizsgálatok, amelyek célja a *PSORS1* lókuszt, illetve az azon belül azonosított polimorfizmusok szerepének tisztázása a különböző pikkelysömör alcsoportok pathomechanizmusában. Ezeknek a vizsgálatoknak elengedhetetlen feltétele, hogy a pikkelysömörös betegcsoporton belül az egyes alcsoportokat több száz, klinikailag rendkívül jól jellemzett beteg reprezentálja. Az elmúlt két-három

év érdekes eredményei szerint a *PSORS1* lókuszon belül a HLA-Cw\*0602, HCR\*WWCC és CDSN\*5 allélvariánsok egymással szoros kapcsolatban mind a guttált, mind a plakkos megjelenésű pikkelysömörrel asszociáltan fordulnak elő, viszont nem mutatnak asszociációt a tenyéri-talpi lokalizációjú pustulózus pikkelysömörrel. Egy közel-múltban közzétett vizsgálat adatai szerint a késői megjelenésű, II. típusú pikkelysömörrel nem, csak a fiatalkori, I. típusú pikkelysömörrel asszociált a *PSORS1* lókuszt, ami annak a lehetőségét vetíti fel, hogy a két alcsoport hátterében (habár klinikailag és hisztológiaiailag nagyon hasonlóak) nem ugyanazok a genetikai eltérések állnak, és ebből a szempontból esetleg két különböző eredetű kórképről van szó (Asumalahti, 2003).

A *PSORS1*-en kívül mindeddig hat olyan lókuszt (*PSORS2-7*) (2A. ábra) azonosítottak a humán genomon, amely feltehetően szerepet játszik a pikkelysömörre való hajlam kialakításában. Ezeket a szakirodalom nem-MHC pikkelysömör lókusznak nevezi, elkülönítendő a *PSORS1* lókusztól. Ezek közül az utóbbi időben nagy figyelem fordult a 17. kromoszóma hosszú karjára (17q25) térképezett *PSORS2* lókuszt felé. Ennek nagy felbontású térképezése (hasonlóan a *PSORS1* lókusztához) mikroszatellita analízissel megtörtént, és jelenleg is folyik a leszűkített régióban található gének jellemzése, illetve szerepük tisztázása a pikkelysömör pathomechanizmusában.

Összefoglalóan elmondhatjuk, hogy a *PSORS1* lókuszt pikkelysömörrel való asszociációját (függetlenül a vizsgált populációtól) eddig minden tanulmány igazolni látszott, a *PSORS2*, *PSORS4* és *PSORS6* lókusztok esetében legalább két független tanulmány adatai utalnak ezek szerepére a betegség pathomechanizmusában. A többi lókuszt esetében további független vizsgálatokat igényel pikkelysömörrel való asszociációjuk igazolása.

*A pikkelysömör pathomechanizmusában  
szerepet játszó citokin gének polimor-  
fizmusainak vizsgálata*

A klasszikus genetikai kapcsoltsági analízisek mellett sok értékes adatot szolgáltatnak a pikkelysömörre való hajlam kialakításáról azok a vizsgálatok, melyek a tünetek kialakulásáért felelős kóros citokin környezet hátterében álló eltéréseket kutatják. Ismert, hogy a pikkelysömörös tünetes bőrben egyes citokinek, úgy, mint a tumor nekrozis faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) és az interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) magasabb szinten, míg más citokinek, úgy, mint az antiinflammatorikus hatású interleukin 10 (IL-10) és az interleukin 1 receptor antagonistá fehérje (IL1-RA) alacsonyabb szinten fejeződnek ki. A pikkelysömör pathomechanizmusában szerepet játszó citokin gének polimorfizmusai befolyásolhatják a citokintermelést, ezzel hozzájárulva a betegség kialakításában szerepet játszó kóros citokin környezethez. Több száz pikkelysömörös beteg és egészséges kontroll egyén TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  és IL1-RA polimorfizmusainak összevetése igen érdekes eredményeket szolgáltatott. A TNF- $\alpha$  gén G-238A polimorfizmusa emelt szintű TNF- $\alpha$  produkcióhoz vezet, és szignifikáns asszociációt mutat az I. típusú, fiatalkori pikkelysömörre való hajlammal, érdekes módon elsősorban a férfi betegekben (Reich, 2002). Ezzel szemben az IL-1 $\beta$  gén C-511T polimorfizmusa a II. típusú, negyven év felett jelentkező pikkelysömörrel mutatott asszociációt. *In vitro* kísérletekben ez a polimorfizmus emelt szintű IL-1 $\beta$  fehérje expressziót eredményez, összehasonlítva a vad típusú alléllal. Az antiinflammatorikus hatású IL-10-ről régóta ismert, hogy fontos szerepet játszik a pikkelysömör pathomechanizmusában. Az IL-10 gén promoter régiójában számos polimorfizmust írtak le, amelyek két mikroszatellitával jellemezhetők, IL10.G és IL10.R. Hetvennyolc pikkelysömörös beteg és

nyolcvan egészséges kontroll egyén adatainak összevetéséből a következő eredmény született: a két allél eloszlásában nem találtak szignifikáns különbséget a beteg és az egészséges populáció összevetésekor, ellenben amikor a pikkelysömörös betegpopuláción belül vizsgálták a két mikroszatellita allél frekvenciáit, akkor az IL10.G13 allél I. típusú, családi halmozódást mutató, fiatalkori pikkelysömörrel való szignifikáns asszociációját találták. Ezek alapján feltételezik, hogy az IL10 lókuszt szerepet játszik a pikkelysömörre való hajlam kialakításában (Asadullah, 2001).

*Nagyskálájú génexpressziós vizsgálatok  
a pikkelysömörre hajlamosító genetikai  
faktorok azonosítására*

A pikkelysömörre hajlamosító genetikai faktorok azonosításának (a klasszikus genetikai asszociációs vizsgálatok és a betegség pathomechanizmusában részt vevő citokin gének polimorfizmusainak vizsgálata mellett) egy harmadik megközelítési lehetősége az ún. nagyskálájú génexpressziós vizsgálat. Alapvetően kétfajta módszerrel lehet nagy skálájú génexpressziós vizsgálatokat végezni. Az ún. „zárt” rendszerekben (pl. a DNS chip vizsgálatokban) már ismert, általában azonosított funkciójú gének expressziójának összehasonlítása folyik, ezzel szemben az ún. „nyílt” rendszerekben lehetőség van eddig nem azonosított, ismeretlen funkciójú gének expressziójának összehasonlítására különböző eredetű mintákban. Az elmúlt évtizedben megjelent számos közlemény tanúsítja, hogy mindkét megközelítési módot alkalmazták a pikkelysömörös léziókra, ill. a pikkelysömörös nem léziós epidermiszre jellemző génexpressziós változások követésére.

Anne Bowcock és munkatársai közölték mindeddig a legátfogóbb tanulmányt (2001), amelyben 12 ezer annotált gén expresszióját hasonlították össze egészséges és pikkelysö-



mörös tünetes, illetve tünetmentes bőrben. 177 gént azonosítottak, amely az egészséges bőrhöz viszonyítva alacsonyabb vagy magasabb szinten fejeződött ki a pikkelysömörös tünetes bőrben. Ezek közül tíz a pikkelysömörös tünetmentes bőrben is eltérő expressziót mutatott, és a már korábban azonosított *PSORS* lokuszok valamelyikére térképeződött. Ez az eredmény arra utal, hogy a pikkelysömörre való hajlam kialakításában részt vevő egyes gének oly módon fejtik ki hatásukat, hogy a tünetmentes bőrben az egészségeshez viszonyítva kóros szinten fejeződnek ki mRNS szinten.

### Saját eredmények

A Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján az 1980-as évek eleje óta folynak vizsgálatok a pikkelysömör pathomechanizmusával kapcsolatosan, melyeknek fő irányvonala a tünetek kialakulását indukáló immunológiai folyamatok, citokinek és citokin receptorok expressziójának, illetve az antipszoriátikus dithranol hatásmechanizmusának vizsgálata volt. A Klinikán a 90-es évek végén bevezetett molekuláris biológiai vizsgálati módszerek lehetővé tették, hogy munkacsoportunk genomikai jellegű vizsgálatokat is végezzon. Számos multifaktoriális bőrgyógyászati kórkép genetikai hátterét vizsgáljuk, úgy, mint a festékhiányos bőrbetegség (vitiligo), *acne vulgaris*, lábszárfekély (Nagy, 2005). Jelen dolgozatunkban a pikkelysömörrel kapcsolatos genomikai vizsgálataink eredményeit foglaljuk össze. Munkánk célja az volt, hogy pikkelysömörös tünetmentes és egészséges epidemizminták expressziós mintázatának összehasonlításával olyan géneket azonosítsunk, amelyek szerepet játszhatnak a pikkelysömörre való hajlam kialakításában. Ehhez nagyskálájú, „nyílt” rendszerű ún. *differential display* génexpressziós vizsgálatokat végeztünk. Eddigi vizsgálataink során néhány olyan eltérő

expressziójú gént azonosítottunk, amelyek fehérjetermékeinek funkciója már ismert volt. Az egyik ilyen fehérje egy extracelluláris mátrix protein, a fibronectin, melynek EDA<sup>+</sup> onkofötális formájáról korábban kimutatták, hogy a pikkelysömörös tünetmentes bőrben a dermális-epidemális junkció (DEJ) területén kifejeződik, és ez a kifejeződés nem jellemző az egészséges bőrre. További vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy maguk a pikkelysömörös tünetmentes keratinociták is képesek expresszálni a fibronectint és annak EDA<sup>+</sup> onkofötális formáját, így részben forrásai lehetnek a DEJ területén detektált fibronectinnek (Széll, 2004).

Vizsgálataink során szintén magasabb szintű expressziót mutatott mind a differential display, mind a *real-time* reverz transzkriptáz polimeráz láncreakció (RT-PCR) kísérletekben (3A. ábra) egy mindeddig ismeretlen funkciójú transzkriptum. A cDNS (amelynek szekvenciája tizhetes humán embrió cDNS könyvtárból származik) az adatbázisokban AK022045 azonosítási számom szerepel. A cDNS *in silico* átírása nem eredményezett fehérjeterméket, és további homológiavizsgálataink arra utaltak, hogy az AK022045 transzkriptum egy szabályozó, nem-kódozó RNS. Kísérletekkel igazoltuk, hogy az általunk 5' irányban meghosszabbított, a keratinocitákban teljes hosszúságban kifejeződő gén különböző stresszhatásokra indukálódik a hámsejtekben, a gént PRINS-nek (*P*soiasis Susceptibility-related *R*NA Gene *I*nduced by Stress) neveztük el.

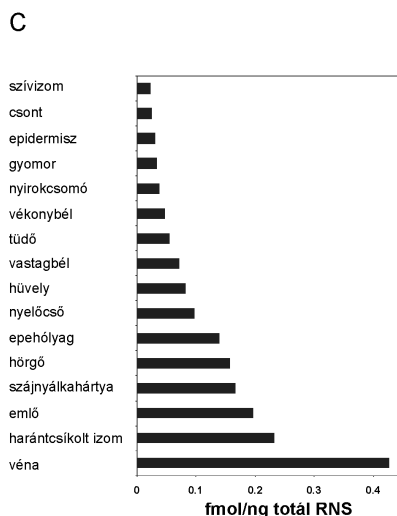
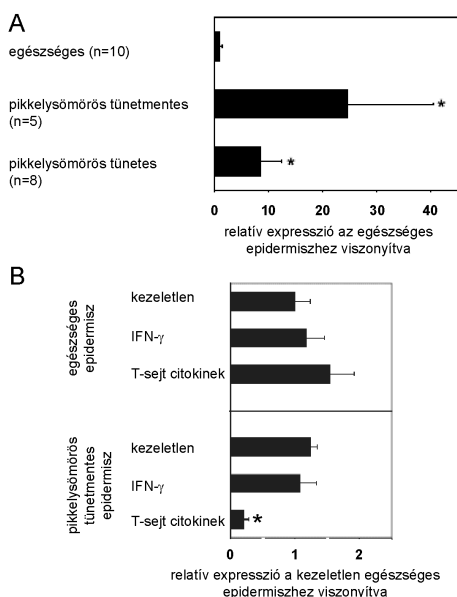
Az utóbbi évtizedben számos közlemény jelent meg, amely arra hívja fel figyelmünket, hogy a humán genom fehérjéket nem kódozó *junk* DNS-szakaszairól sok olyan gén íródik át, amely RNS-ként tölt be szabályozó funkciót. Ilyen, a PRINS génnel szerkezeti homológiát mutató, nem kódozó RNS gén a neuronspecifikusan kifejeződő BC200 gén is, amely az emberben és főemlősökben konzervált struktúrát mutató monomerikus

*Alu* retrotranszpozíciós elemet hordoz (Martignetti, 1993). Abnormális expressziója számos, nem neuronális eredetű tumoros szövetben is detektálható.

Az *Alu* elemeket hordozó, fehérjévé át nem íródó, de a sejtekben stabil RNS-ként detektálható géntermékekről általánosan elfogadott tény, hogy expressziójuk magas szintje akkor figyelhető meg, ha a sejteket valamilyen formában stressz éri (Liu, 1995). Számos irodalmi adat és saját kutatási eredményeink is arra hívják fel a figyelmünket, hogy a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben az abnormális extracelluláris milió a keratinociták számára stresszt jelent. Felté-

telezzük, hogy ez is hozzájárulhat a pikkelysömörös tünetmentes keratinociták külső indukcióra mutatkózó, inherens, felfokozott reakciókészségéhez. Amikor azonban a pikkelysömörös tünetek kialakulásához vezető keratinocita hiperproliferáció külső hatásra indukálódik (lásd pikkelysömörös epidermisz és a T-limfokinekkal indukált pikkelysömörös tünetmentes epidermisz), a keratinociták felszabadulnak e stresszhatás alól, és a PRINS gén expressziója határozottan csökkenni kezd (3B. ábra).

Eredményeink szerint a PRINS gén az általunk tanulmányozott összes humán szervben és szövetben kifejeződik (3C. ábra),



3. ábra • A PRINS gén expressziójának vizsgálata kvantitatív real-time RT-PCR módszerrel. A) A PRINS gén legmagasabb szintű expresszióját a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben detektáltuk, amely huszonöt-ször magasabb mértékű, mint az egészséges epidermiszben. B) A PRINS gén expressziója T-sejt citokinekkal való indukciót követően nem változik egészséges epidermiszben, ellenben pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben expressziója nagymértékben lecsökken, emlékeztetve a pikkelysömörös tünetmentes és tünetes epidermisz között detektált PRINS expresszió különbségre. C) A PRINS gén minden általunk vizsgált szövetben és szervben kifejeződik, de expressziójának mértéke nagy különbségeket mutat: legmagasabb szintű a vénákban, míg legalacsonyabb szinten a szívizomban fejeződik ki.

tehát ellentétben a szoros neuronspecifikus kifejeződést mutató BC200 nem-kódozó RNS génnel, a PRINS nem-kódozó RNS gén feltehetően minden sejt általános stresszválaszának kialakításában szerepet játszik. Az a tény azonban, hogy a különböző szövettípusok között a PRINS gén expressziója nagymértékű eltérést mutat, arra utal, hogy kifejeződése bizonyos mértékben szerv- és szövetspecifikusan szabályozott.

A fehérjévé át nem íródó, szabályozó funkciójukat RNS-ként betöltő génekkel kapcsolatos kutatások az elmúlt néhány év nagy figyelmet keltő területévé váltak: 2002-ben a *Science* magazin az év első számú, nagy áttöréseként értékelte a szabályozó RNS-ek-

kel kapcsolatos vizsgálatok eredményeit. A Szegei Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján és az MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoportjában folyó munkánkkal reményeink szerint hozzájárulunk egyrészt a pikkelysömörre hajlamosító genetikai faktorok azonosításához, másrészt napjaink molekuláris biológiai kutatásainak egyik új ágához, a nem-kódozó szabályozó RNS-ek azonosításához és funkcióik megismeréséhez.

**Kulcsszavak:** *genodermatóziszok, multifaktoriális bőrgyógyászati kórképek, pikkelysömörre hajlamosító genetikai faktorok, nem-kódozó RNS gének*

#### IRODALOM

- Abele, Donald C. – Dobson, R. L. – Graham, J. B. (1963): Heredity and Psoriasis: Study of a Large Family. *Archives of Dermatology*, **88**, 38–47.
- Ahnini, R. Tazi – Camp, N. J. – Cork, M. J. – Mee, J. B. – Keohane, S. G. – Duff, G. W. – di Giovine, F. S. (1999): Novel Genetic Association between the Comeodesmosin (MHC S) Gene and Susceptibility to Psoriasis. *Human Molecular Genetics*, **8**, 1135–40
- Asadullah, Khusr – Eskdale, J. – Wiese, A. – Gallagher, G. – Friedrich, M. – Stenly, W. (2001): Interleukin-10 Promoter Polymorphism in Psoriasis. *Journal of Investigative Dermatology*, **116**, 975–978.
- Asumalahti, Kati – Laitinen, T. – Itonen-Vatjus, R. – Lokki, M.-L. – Suomela, S. – Snellman, E. – Saarialho-Kere, U. – Kere, J. (2000): A Candidate Gene for Psoriasis near HLA-C, HCR (Pg8), Is Highly Polymorphic with a Disease-Associated Susceptibility Allele. *Human Molecular Genetics*, **9**, 1533–1542.
- Asumalahti, Kati – Ameen, M. – Suomela, S. – Hagforsen, E. – Michaelsson, G. – Evans, J. – Munro, M. – Veal, C. – Allen, M. – Leman, J. – Burden, A. D. – Kirby, B. – Connolly, M. – Griffiths, C. E. M. – Trembath, R. C. – Kere, J. – Saarialho-Kere, U. – Barker, J. N. W. N. (2003): Genetic Analysis of PSORS1 Distinguishes Guttae Psoriasis and Palmoplantar Pustulosis. *Journal of Investigative Dermatology*, **120**, 627–632.
- Balendran, Nalini – Clough, R. L. – Arguello, J. R. – Barber, R. – Veal, C. – Jones, A. B. – Rosbotham, J. L. – Little, A.-M. – Madrigal, A. – Barker, J. N. W. N. – Powis, S. H. – Trembath, R. C. (1999): Characterization of the Major Susceptibility Region for Psoriasis at Chromosome 6p21.3. *Journal of Investigative Dermatology*, **113**, 322–328.
- Bata-Csorgo Zsuzsanna – Hammerberg, C. – Voorhees, J. J. et al. (1995): Kinetics and Regulation of Human Keratinocyte Stem Cell Growth in Short-term Primary Ex Vivo Culture. Cooperative Growth Factors from Psoriatic Lesional T Lymphocytes Stimulate Proliferation among Psoriatic Uninvolved, But Not Normal, Stem Keratinocytes. *Journal of Clinical Investigation*, **95**, 317–327.
- Bos, Jan D. – De Rie, Menno A. (1999): The Pathogenesis of Psoriasis: Immunological Facts and Speculations. *Immunology Today*, **20** 40–46.
- Bowcock, Anne M. – Shannon, W. – Du, F. – Duncan, J. – Cao, K. – Aftergut, K. – Catier, J. – Fernandez-Vina, M. A. – Menter, A. (2001): Insights into Psoriasis and Other Inflammatory Diseases from Large-scale Gene Expression Studies. *Human Molecular Genetics*, **10**, 1793–805.
- Csikós Márta – Szalai Z. – Becker K. – Sebők B. – Schneider I. – Horváth A. – Kárpáti S. (2004): Novel Keratin 14 Gene Mutations in Patients from Hungary with Epidermolysis Bullosa Simplex. *Experimental Dermatology*, **13**, 185–191.
- Dellambra, Elena – Prislei, S. – Salvati, A. L. – Madeddu, M. L. – Golisano, O. – Siviero, E. – Bondanza, S. – Cicuzza, S. – Orecchia, A. – Giancotti, F. G. – Zamburino, G. – De Luca, M. (2001): Gene Correction of Integrin Beta4-Dependent Pyloric Atresia-Junctional Epidermolysis Bullosa Keratinocytes Establishes a Role for Beta4 Tyrosines 1422 and 1440 in Hemidesmosome Assembly. *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 41336–41342.
- Gonzalez, Segundo – Martinez-Borra, J. – Sanchez del Río, J. – Santos-Juanes, J. – Lopez-Vazquez, A. – Blanco-Gelaz, M. – López-Larrea, C. (2000): The OTF3 Gene Polymorphism Confers Susceptibility to Psoriasis Independent of the Association of HLA-Cw\*0602. *Journal of*

- Investigative Dermatology. **115**, 824–828.
- Liu, Wen-Man – Chu, W.-M. – Choudary, P. V. – Schmid, C. W. (1995): Cell Stress and Translational Inhibitors Transiently Increase the Abundance of Mammalian SINE Transcripts. *Nucleic Acids Research*. **23**, 1758–1765.
- Martignetti, John A. – Brosius, Jürgen (1993): BC200 RNA: A Neural RNA Polymerase III Product Encoded by a Monomeric Alu Element. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **90**, 11563–11567.
- McGrath John A. (2004) Translational Benefits from Research on Rare Genodermatoses. *The Australasian Journal of Dermatology*. **2**, 89–93.
- Nagy N. – Szolnoky Gy. – Szabad G. – Bata-Csörgő Zs. – Dobozy A. – Kemény L. Széll M (közlésre elfogadva): Single Nucleotide Polymorphisms of the Fibroblast Growth Factor Receptor 2 Gene in Patients with Chronic Venous Insufficiency with Leg Ulcer. *Journal of Investigative Dermatology*.
- Oka, Akira – Tamiya, G. – Tomizawa, M. – Ota, M. – Katsuyama, Y. – Makino, S. – Shiina, T. – Yoshitome, M. – Iizuka, M. – Sasao, Y. – Iwashita, K. – Kawakubo, Y. – Sugai, J. – Ozawa, A. – Ohkido, M. – Kimura, M. – Bahram, S. – Inoko, H. (1999): Association Analysis Using Refined Microsatellite Markers Localizes a Susceptibility Locus for Psoriasis Vulgaris within a 111 kb Segment Telomeric to the HLA-C Gene. *Human Molecular Genetics*. **8**, 2165–2170.
- Reich, Kristian – Mossner, R. – König, I. R. – Westphal, G. – Ziegler, A. – Neumann, C. (2002): Promoter Polymorphisms of the Genes Encoding Tumor Necrosis Factor-alpha and Interleukin-1-Beta Are Associated with Different Subtypes of Psoriasis Characterized by Early and Late Disease Onset. *Journal of Investigative Dermatology*. **118**, 155–163.
- Russell, Thomas J. – Schultes, L. M. – Kuban, D. J. (1972): Histocompatibility (HL-A) Antigens Associated with Psoriasis. *The New England Journal of Medicine*. **287**, 738–740.
- Swanbeck, Gunnar – Inerot, A. – Martinsson, T. – Enerback, C. – Enlund, F. – Samuelsson, L. – Yhr, M. – Wahlstrom, J. (1997): Genetic Counselling in Psoriasis: Empirical Data on Psoriasis among First-Degree Relatives of 3095 Psoriatic Proband. *British Journal of Dermatology*. **137**, 939–942.
- Széll Márta – Bata-Csörgő Zs. – Koreck A. et al. (2004): Proliferating Keratinocytes Are Putative Sources of the Psoriasis Susceptibility-Related EDA (Extra Domain A of Fibronectin) Oncofetal Fibronectin. *Journal of Investigative Dermatology*. **123**, 537–546.

