

# Ekspresja sekwencji ludzkich endogennych retrowirusów u chorych z twardziną układową i różnymi odmianami klinicznymi łuszczycy

## *Human endogenous retroviruses sequences expression in patients with progressive systemic sclerosis and different clinical forms of psoriasis*

JAKUB NAMYSŁ, AGNIESZKA OSMOLA, JANUSZ PROKOP

Katedra i Klinika Dermatologii Akademii Medycznej w Poznaniu, kierownik Katedry i Kliniki prof. dr hab. med. Wojciech Silny

### **Abstract**

*The probable involvement of human endogenous retroviruses (HERV) in the development of autoimmune diseases, especially in systemic lupus erythematosus (SLE) has been long discussed. In a number of reports some indirect evidences implicating retroviruses in human autoimmune diseases have been shown.*

*The aim of this paper was to analyse the level of chosen HERVs in the light of present knowledge about pathological mechanisms typical especially for progressive systemic sclerosis (PSS) and different clinical forms of psoriasis.*

**Key words:** *progressive systemic sclerosis, psoriasis vulgaris, psoriasis arthropatica, human endogenous retroviruses, reverse transcription, gene expression analysis.*

### **Streszczenie**

*Od wielu lat trwają dyskusje dotyczące udziału sekwencji ludzkich endogennych retrowirusów (ang. human endogenous retroviruses, HERV) w mechanizmach prowadzących do powstania objawów charakterystycznych dla chorób o podłożu autoimmunizacyjnym. Większość publikowanych prac dotyczy toczenia rumieniowatego układowego (ang. systemic lupus erythematosus, SLE), jednak liczne raporty pokazują pośrednie dowody na udział HERV w patogenezie także innych chorób z omawianej grupy.*

*Założeniem niniejszej pracy jest analiza poziomu ekspresji wybranych HERV w świetle aktualnej wiedzy o patologicznych mechanizmach, typowych głównie dla twardziny układowej oraz różnych odmian klinicznych łuszczycy.*

*Słowa kluczowe: twardzina układowa, łuszczycyca zwykła, łuszczycyca stawowa, ludzkie endogenne retrowirusy, odwrotna transkrypcja, analiza ekspresji genów.*

*(PDiA 2005; XXII, 2: 99–104)*

### **Wprowadzenie**

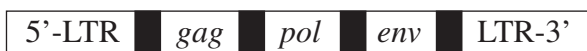
Trwające od wielu lat badania, mające na celu odczytanie ludzkiego genomu pozwoliły w ostatnim czasie z dużą dokładnością oszacować udział w nim tzw. elementów ruchomych (ang. *transposable elements*). Okazało się, że stanowią one niemal połowę genomu

(ok. 45%), z czego ogromna większość to retroelementy (42,2%). Pozostała część przypada na transpozony (2,8%). Podczas gdy DNA-transpozony amplifikują bez pośrednictwa RNA, dla retroelementów matrycę stanowią fragmenty RNA, wymagające odwrotnej transkrypcji, zanim ulegną integracji z genomem [1–4].

Adres do korespondencji: mgr inż. Jakub Namysł, Katedra i Klinika Dermatologii, Akademia Medyczna, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

Klasyfikacja retroelementów opiera się na istnieniu bądź braku w ich strukturze tzw. sekwencji LTR (ang. *long terminal repeats*). Retroelementy nieposiadające sekwencji LTR (ok. 34% genomu) zwykle występują w genomie w olbrzymiej liczbie powtórzeń. W zależności od długości sekwencji, podzielono je na tzw. krótkie i długie elementy rozproszone bądź porzucane (ang. *short and long interspersed elements/repeats*; SINE, LINE). Długość sekwencji SINE waha się na ogół w granicach 80–630 bp, podczas gdy LINE osiągają przeciętnie 6–8 kbp. Pierwsze z nich nie posiadają zdolności kodowania białek, więc ich amplifikacja jest zależna od obecności LINE [5]. Wśród retroelementów wyposażonych w sekwencje LTR (>8% genomu) przeważają ludzkie endogenne retrowirusy (ang. *human endogenous retroviruses*; HERV), których długość osiąga 9–10 kbp i jest na ogół znacznie mniejsza od długości sekwencji wirusów patogennych [3, 5]. Obecność sekwencji LTR, dzięki właściwościom promotorowym polegającym na wiązaniu odpowiednich białek komórkowych, umożliwia inicjację transkrypcji i zapewnia jej regulację. W regulacji transkrypcji biorą m.in. udział tzw. wzmacniacze (ang. *enhancer*), które włączone w strukturę sekwencji LTR zapewniają tkankową specyficzność ekspresji, zachowując aktywność tylko w określonych rodzajach komórek, tkanek czy też włączając się w konkretnej fazie cyklu komórkowego [6].

W haploidalnym genomie ludzkim sekwencje HERV występują najczęściej w kilkudziesięciu powtórzeniach, choć ich liczba waha się w granicach od jednej do kilku tysięcy kopii. Sekwencje te są dziedziczone zgodnie z prawami Mendla. Prawdopodobnie stanowią one pozostałości prehistorycznych infekcji wirusami egzogennymi, które na skutek nagromadzenia różnego rodzaju mutacji stały się replikacyjnie nieczynne, dzięki trwającym 60 mln lat procesom rekombinacyjnym. Pomimo uszkodzeń struktury, często rozległych delecji czy też istnienia rozmaitych wtętołów, cechą charakterystyczną HERV jest obecność 3 genów kodujących białka niezbędne w cyklu życiowym wirusa: *gag* i *env* – kodujących białka konieczne do syntezy prawidłowego wirionu oraz *pol* – konieczne do przeprowadzenia odwrotnej transkrypcji [4, 7–8]. Opisaną wyżej, typową strukturę ludzkiego wirusa endogennego przedstawia schemat na ryc. 1.



LTR – długie terminalne powtórzenia (ang. *long terminal repeats*)  
*gag* – gen kodujący białkową część tworzącą nukleoproteinowy rdzeń wirusa  
*pol* – sekwencja polimerazy, kodująca białko mające właściwości odwrotnej transkryptazy, a także proteazy, RNA-zy oraz integrazy  
*env* – gen kodujący glikoproteiny otoczki (ang. *envelope*)

**Ryc. 1.** Typowa struktura ludzkiego wirusa endogennego

Jakkolwiek większość retrovirusów nie wywołuje zmian patogennych, od lat w wielu jednostkach chorobowych opisuje się ich aktywność transkrypcyjną. Jak się wydaje, problem dotyczy głównie nowotworów, co potwierdzano wielokrotnie zarówno w badaniach *in vivo*, jak i w oparciu o hodowle komórek rakowych *in vitro* [9–18].

Od lat trwają dyskusje dotyczące udziału sekwencji ludzkich endogennych retrovirusów w mechanizmach prowadzących do rozwoju schorzeń o podłożu autoimmunizacyjnym. Większość prac dotyczy toczenia rumieniowatego układowego (ang. *systemic lupus erythematosus* – SLE), jednak liczne doniesienia wskazują na pośrednie dowody udziału HERV w patogenezie także innych chorób z tej grupy, takich jak stwardnienie rozsiane, cukrzyca typu I, łysienie plackowate, zespół Sjögrena czy twardzina układowa i in. Coraz częściej do tej grupy zalicza się również łuszczycę z jej odmianami [6, 8, 19–22].

Obecnie uważa się, że jednym z czynników determinujących procesy towarzyszące twardzinie układowej (ang. *progressive systemic sclerosis* – PSS) jest autoimmunologiczna odpowiedź na bliżej nieokreślony antygen. Podstawowym mechanizmem patogennym twardziny jest postępujące włóknienie tkanki łącznej w skórze i narządach wewnętrznych, wywołane nadmiernym wytwarzaniem kolagenu [23].

Łuszczycą natomiast jest zapalną dermatozą o przewlekłym charakterze, której etiopatogeneza nie została jeszcze wyjaśniona. Trwające badania nad czynnikami genetycznymi odgrywającymi istotną rolę w łuszczycy sugerują ich powiązanie z układem HLA, co prawdopodobnie wskazuje na autoimmunizacyjną naturę schorzenia [24, 25].

## Cel pracy

Celem pracy była identyfikacja podlegających ekspresji sekwencji retrovirusów endogennych u chorych z twardziną układową, łuszczycą zwykłą i stawową oraz w grupie kontrolnej zdrowych osób, a także ilościowe określenie poziomu ekspresji analizowanych sekwencji HERV i porównanie go w poszczególnych grupach badawczych.

## Materiał i metody

Badaną grupę stanowili pacjenci z rozpoznaną twardziną układową (20 osób), łuszczycą zwykłą (*Psoriasis vulgaris* – PV, 10 osób) oraz łuszczycą stawową (*Psoriasis arthropatica* – PA, 10 osób). Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych ochotników (dawców, OZ).

W badaniach wykorzystano krew obwodową, pobieraną jałowo do próbeko-strzykawek zawierających EDTA (Monovette, Sarstedt). Komórki jednojądrzaste

krwi obwodowej (ang. *peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) pozyskiwano poprzez wirowanie w gradiencie gęstości Fikolu (Ficoll-Histopaque 1,007 g/cm<sup>3</sup>, Sigma Diagnostics, Inc. St. Louis, USA).

Całkowite komórkowe RNA izolowano z PBMC zgodnie z metodą opisaną przez Chomczyńskiego i wsp. Wszystkie preparaty poddawano trawieniu DNA-zą I (Promega Co. Madison, USA) w celu uniknięcia zanieczyszczeń DNA genomowym, a następnie poddawano odwrotnej transkrypcji (ang. *reverse transcription* – RT), wykorzystując zestaw dostępny komercyjnie (Enhanced Avian HS RT-PCR Kit, Sigma Co. St. Louis, USA). Uzyskane po odwrotnej transkrypcji preparaty cDNA amplifikowano w czasie rzeczywistym przy użyciu techniki ilościowej analizy ekspresji w czasie rzeczywistym – *Real Time Quantitative PCR*. Do badań użyto systemu *Light Cycler* (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Niemcy) oraz zestawu QuantiTect™ SYBR® Green PCR Kit (Qiagen). Analizie poddano wybrane fragmenty sekwencji *gag* oraz *env* o długości 100–105 bp. Primery, którymi posłużono się w doświadczeniach, wraz z sekwencjami bazowymi oraz numerami dostępnymi światowych baz danych GeneBank i Ensembl, z których pochodzą, przedstawiono w tab. 1.

Reakcję amplifikacji prowadzono w mieszaninie zawierającej 1 µl cDNA uzyskanego po RT dodanym do 9 µl gotowego QuantiTect™ SYBR® Green PCR Master Mix (Qiagen), zawierającego polimerazę DNA HotStart-Taq, bufor reakcyjny, mieszaninę dNTP, barwnik fluorescencyjny SYBR Green I, 2,5 mMol MgCl<sub>2</sub> oraz odpowiednie primery (IDT).

Ilościowego określenia liczby kopii badanych transkryptów dokonano na podstawie krzywej standardowej sporządzonej dla prób syntetycznego DNA o znanych stężeniach. Uzyskane wyniki wyrażono w liczbie kopii w przeliczeniu na milion kopii transkryptu genu GAPDH (dehydrogenaza gliceraldehydo-3-fosforanowa), jako genu podstawowego metabolizmu komórkowego (ang. *housekeeping gene*).

## Wyniki i wnioski

Wyniki pokazujące poziom ekspresji badanych sekwencji ludzkich retrowirusów endogennych wyrażone względną liczbą kopii ich transkryptów przedstawiają tab. 2.–4. Zawarto w nich również średnie dla poszczególnych grup badawczych, wykorzystane przy konstruowaniu wykresów (ryc. 2.) i uwzględnione we wnioskach.

- Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić obecność transkryptów *env* HERV W i *gag* HERV K10 u chorych na twardzinę układową oraz łuszczycę zwykłą i stawową.
- Obecność transkryptów *gag* HERV E wykazano u chorych z twardziną i łuszczycą stawową, nie stwierdzono ich u osób z łuszczycą zwykłą.
- Po raz pierwszy zaobserwowano podwyższenie poziomu ekspresji sekwencji *gag* HERV E w limfocytach krwi obwodowej pacjentów z PSS i PA w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych.
- Także po raz pierwszy zaobserwowano podwyższenie poziomu ekspresji sekwencji *env* HERV W oraz *gag* HERV K10 w limfocytach krwi obwodowej pacjentów wszystkich grup. Ekspresja tych sekwencji u osób zdrowych była wyraźnie niższa.
- W grupie chorych na łuszczycę zwykłą zaobserwowano najwyższy w porównaniu z pozostałymi grupami poziom transkryptów *env* HERV W oraz *gag* HERV K10, przy jednoczesnym braku w tej grupie ekspresji sekwencji *gag* HERV E.
- Największe różnice średnich poziomów ekspresji stwierdzono w przypadku sekwencji *gag* HERV E – wyniki w poszczególnych grupach badawczych różniły się rzędem wielkości. W przypadku dwóch pozostałych sekwencji średnie wyniki, mimo wyraźnych różnic, mieściły się w jednym rzędzie wielkości.
- U osób zdrowych poziom ekspresji wszystkich wymienionych sekwencji był znacznie niższy.

Tab. 1. Sekwencje primerów wykorzystanych w badaniach

Sekwencja bazowa		Sekwencje primerów	Długość powielanego fragmentu
<i>gag4-1</i>	GeneBank M10976	A: 5' - CACATGGTGGAGAGTCGTGTTT -3' B: 5' - GCTTGC GGCTTTTCAGTATAGG -3'	101 bp
<i>envW</i>	GeneBank AF072506	A: 5' - TCATATCTAAGCCCCGCAAC -3' B: 5' - GAGGTTGTGATACCGCCAAT -3'	103 bp
<i>gagK10</i>	GeneBank M14123	A: 5' - GTAATGGCTCAGTCAACGCA -3' B: 5' - GCCCCATTAATTCTGGACCT -3'	103 bp
GAPDH	Ensembl ENST00000229239	A: 5' - CTGCACCACCAACTGCTTAG -3' B: 5' - TTCTGGGTGGCAGTGATG -3'	105 bp

**Tab. 2. Ekspresja wybranych sekwencji HERV z rodzin E, W oraz K w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej pacjentów z twardziną układową. Wyniki wyrażono w liczbie kopii transkryptu HERV w przeliczeniu na milion kopii transkryptu genu GAPDH**

Pacjent	HERV E 4-1 <i>gag</i>	HERV W <i>env</i>	HERV K10 <i>gag</i>
PSS 1	195 917	9 326	284 312
PSS 2	342 693	4 642	245 929
PSS 3	13 181 399	0	197 069
PSS 4	3 853 874	8 607	82 848
PSS 5	14 174 487	0	584 535
PSS 6	0	0	443 413
PSS 7	234 187	5 020	313 662
PSS 8	173 749	6 407	151 681
PSS 9	19 509	2 283	25 954
PSS 10	33 883	4 552	72 566
PSS 11	85 794	6 262	173 319
PSS 12	4 475 764	5 482	2 655 204
PSS 13	83 920	5 450	351 012
PSS 14	0	12 174	73 905
PSS 15	1 897 757	7 297	85 835
PSS 16	13 332 821	0	254 154
PSS 17	47 598 958	0	145 208
PSS 18	1 466 408	17 450	106 412
PSS 19	15 239 227	0	100 317
PSS 20	639	0	16
<b>wartość średnia</b>	<b>5 819 549</b>	<b>4 748</b>	<b>317 368</b>

**Tab. 3. Ekspresja wybranych sekwencji HERV z rodzin E, W oraz K w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej pacjentów z łuszczycą zwykłą. Wyniki wyrażono w liczbie kopii transkryptu HERV w przeliczeniu na milion kopii transkryptu genu GAPDH**

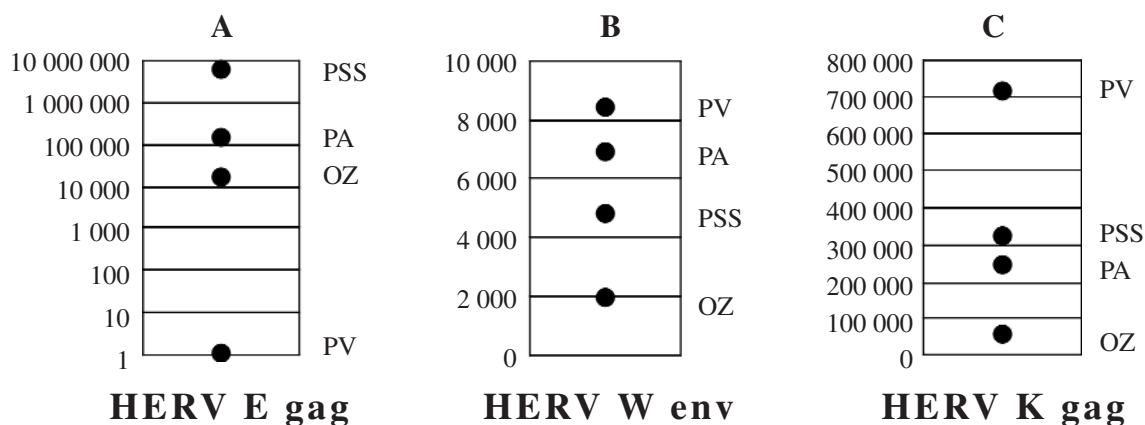
Pacjent	HERV E 4-1 <i>gag</i>	HERV W <i>env</i>	HERV K10 <i>gag</i>
PA 1	400 370	12 287	130 578
PA 2	23 356	3 609	43 670
PA 3	17 563	7 189	78 290
PA 4	653 752	0	109 342
PA 5	60 226	0	37 842
PA 6	176 212	5 048	364 701
PA 7	43 398	14 440	418 632
PA 8	81 200	9 750	319 612
PA 9	23 750	6 057	542 028
PA 10	0	10 384	356 181
<b>wartość średnia</b>	<b>147 983</b>	<b>6 876</b>	<b>240 088</b>

Tab. 4. Ekspresja wybranych sekwencji HERV z rodzin E, W oraz K w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej pacjentów z łuszczycą stawową. Wyniki wyrażono w liczbie kopii transkryptu HERV w przeliczeniu na milion kopii transkryptu genu GAPDH

Pacjent	HERV E 4-1 <i>gag</i>	HERV W <i>env</i>	HERV K10 <i>gag</i>
PV 1	0	3 305	960
PV 2	0	2 224	0
PV 3	0	3 116	264 525
PV 4	0	3 814	430 524
PV 5	0	3 243	301 078
PV 6	0	4 136	753 371
PV 7	0	17 572	1 514 664
PV 8	0	7 846	1 028 350
PV 9	0	19 097	1 652 910
PV 10	0	19 218	1 200 056
wartość średnia	0	8 357	714 644

Tab. 5. Ekspresja wybranych sekwencji HERV z rodzin E, W oraz K w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej zdrowych dawców. Wyniki wyrażono w liczbie kopii transkryptu HERV w przeliczeniu na milion kopii transkryptu genu GAPDH

Pacjent	HERV E 4-1 <i>gag</i>	HERV W <i>env</i>	HERV K10 <i>gag</i>
OZ 1	7 572	1 360	26 782
OZ 2	14 269	1 448	49 181
OZ 3	0	795	70 071
OZ 4	20 722	1 298	96 846
OZ 5	0	306	33 418
OZ 6	15 464	521	157 576
OZ 7	56 783	6 170	24 753
OZ 8	6 654	383	12 683
OZ 9	29 007	6 447	19 460
OZ 10	5 402	354	33 967
wartość średnia	15 587	1 908	52 474



Ryc. 2. Średni poziom ekspresji HERV E (wykres A), HERV W (wykres B) oraz HERV K (wykres C) w poszczególnych grupach badawczych: PSS – twardzina układowa, PA – łuszczycza stawowa, PV – łuszczycza zwykła, OZ – dawcy zdrowi

## Omówienie

Regiony promotorowe genów retrowirusów endogennych, podobnie do analogicznych sekwencji wirusów egzogennych, zawierają miejsca wiążące dla wielu rozmaitych czynników transkrypcyjnych, biorących udział w ekspresji genów odpowiedzialnych za reakcje zapalne. Fakt ten może sugerować uznanie ekspresji HERV raczej za odpowiedź na toczący się proces chorobowy, a nie na jego przyczynę [8]. Z drugiej jednak strony liczne zespoły badawcze od lat dostarczają dowodów na współistnienie (współdziałanie?) transkryptów różnych HERV z innymi czynnikami biorącymi udział w rozmaitych mechanizmach chorobowych. W grupie chorób autoimmunizacyjnych doniesienia te dotyczą głównie SLE, stwardnienia rozsianego, cukrzycy typu I, łysienia plackowatego czy zespołu Sjögrena. Znacznie mniej publikacji porusza temat twardziny układowej czy łuszczycy [6, 8, 19–22].

Przedstawione w pracy wyniki mogą sugerować związek badanych sekwencji HERV z etiopatogenezą twardziny układowej i łuszczycy. Konieczne są jednakże dalsze badania, a w szczególności znaczne rozszerzenie liczebności badanych grup. Wskazane wydaje się także zwiększenie liczby sekwencji wytypowanych do analizy w badanych grupach, co prawdopodobnie pozwoli na wykazanie większej liczby kontrastów w profilu ekspresji ludzkich endogennych sekwencji retrowirusowych w kręgu chorób tkanki łącznej, których przyczyny upatrujemy w zjawiskach związanych z autoagresją. Włączenie do badań analizy ekspresji genów kodujących wybrane cytokiny, których udział w patogenezie omawianych schorzeń jest postulowany czy wręcz potwierdzony, pozwoliłoby na dokładniejsze rozumienie problemów autoimmunizacji i znacznie bardziej uprawnione wnioskowanie w tej trudnej materii.

Ekspresję sekwencji retrowirusów endogennych potwierdza się prawdopodobnie równie często w zdrowych, jak i zmienionych chorobowo tkankach. Pojawianie się transkryptów HERV zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i w wielu różnych patologiach znacznie utrudnia wnioskowanie na temat ich potencjalnej roli w mechanizmach chorobowych. Fakt symbiotycznej egzystencji HERV w genomach wszystkich ssaków i wciąż niewyjaśnionej ich funkcji narzuca spojrzenie na rolę endowirusów z dużo szerszej perspektywy. Oprócz podobieństwa do wirusów zakaźnych – strukturalnego, a niekiedy i funkcjonalnego – należy pamiętać o ich zdolności przetrwania. Mimo wielu milionów lat ewolucji, ciągłej rekombinacji i narażenia na mutacje, HERV pozostają w utajeniu, licznie wbudowane w genomy. Mimo że ciągle nie potrafimy jednoznacznie zdefiniować ich funkcji, nie mamy odwagi stwierdzić, że są zbędne.

## Piśmiennictwo

1. Deininger PL, Batzer MA: Mammalian retroelements. *Genome Res* 2002; 12: 1455-65.

2. van de Lagemaat LN, Landry JR, Mager DL, et al.: Transposable elements in mammals promoteregulatory variation and diversification of genes with specialized functions. *Trends Genet* 2003; 19: 530-6.
3. Bannert N, Kurth R: Retroelements and the human genome: New perspectives on an old relation. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101: 14572-9.
4. Kubiawski T, Gąsowska-Giszczyk U, Grabek-Gawłowicz M i wsp.: Endogenne sekwencje retrowirusowe obecne w genomie człowieka. *Post Hig Med Dośw* 1998; 52 (3): 223-35.
5. Medstrand P, van de Lagemaat LN, Mager DL: Retroelements distributions in the human genome: variations associated with age and proximity to genes. *Genome Res* 2002; 12: 1483-95.
6. Urnowitz HB, Murphy WH: Human endogenous retroviruses: nature, occurrence, and clinical implications in human disease. *Clin Microb Rev* 1996; 9 (1): 72-99.
7. Ryan FP: Human endogenous retroviruses in health and disease: a symbiotic perspective. *J R Soc Med* 2004; 97: 560-5.
8. Portis JL: Perspectives on the role of endogenous human retroviruses in autoimmune diseases. *Virology* 2002; 296: 1-5.
9. Andersson A, Svensson A, Rolny C, et al.: Expression of human endogenous retrovirus ERV3 (HERV-R) mRNA in normal and neoplastic tissues. *Int J Oncol* 1998; 12: 309-13.
10. Herbst H, Kuhler-Obbarius C, Lauke H, et al.: Human endogenous retrovirus (HERV)-K transcripts in gonadoblastoma-derived germ cell tumours. *Virchows Arch* 1999; 434: 11-5.
11. Sauter M, Schommer S, Kremmer E, et al.: Human endogenous retrovirus K10: expression of gag protein and detection of antibodies in patients with seminomas. *J Virol* 1995; 69: 414-21.
12. Löwer R, Löwer J, Tondera-Koch C, et al.: A general method for identification of transcribed retrovirus sequences (R-U5 PCR) reveals the expression of the human endogenous retrovirus loci HERV-H and HERV-K in teratocarcinoma cells. *Virology* 1993; 192: 501-11.
13. Depil S, Roche C, Dussart P, et al.: Expression of human endogenous retrovirus, HERV-K, in the blood cells of leukemia patients. *Leukemia* 2002; 16: 254-9.
14. Yi J-M, Kim H-M, Kim H-S: Molecular cloning and phylogenetic analysis of new human endogenous retrovirus HERV-W family in cancer cells. *Curr Microbiol* 2002; 44: 216-20.
15. Kempf W, Kadin ME, Dvorak AM, et al.: Endogenous retroviral elements, but not exogenous retroviruses, are detected in CD30-positive lymphoproliferative disorders of the skin. *Carcinogenesis* 2003; 24 (2): 301-6.
16. Yi J-M, Kim H-M, Kim H-S: Expression of the human endogenous retrovirus HERV-W family in various human tissues and cancer cells. *J Gen Virol* 2004; 85: 1203-10.
17. Depil S, Roche C, Dussart P, et al.: Expression of a human endogenous retrovirus, HERV-K, in the blood cells of leukemia patients. *Leukemia* 2002; 16: 254-9.
18. Wang-Johanning F, Frost AR, Johanning GL, et al.: Expression of human endogenous retrovirus K envelope transcripts in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1553-60.
19. Marguerat S, Wang WY, Todd JA, et al.: Association of human endogenous retrovirus K-18 polymorphisms with type 1 diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 852-4.
20. Magistrelli C, Samoilova E, Agarwal RK, et al.: Polymorphic genotypes of the HRES-1 human endogenous retrovirus locus correlate with systemic lupus erythematosus autoreactivity. *Immunogenetics* 1999; 49: 829-34.
21. Christensen T, Dissing Sørensen P, Riemann H, et al.: Molecular characterization of HERV-H variants associated with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2000; 101: 229-38.
22. Herrmann M, Neidhart M, Gay S, et al.: Retrovirus-associated rheumatic syndromes. *Curr Opin Rheum* 1998; 10: 347-54.
23. Johnson RW, Tew MB, Arnett FC: The genetics of systemic sclerosis. *Curr Rheumatol Rep* 2002; 4: 99-107.
24. Bos JD, De Rie MA: The pathogenesis of psoriasis: immunological facts and speculations. *Immunol Today* 1999; 20: 40-6.
25. Mallon E, Young D, Bunce M, et al.: HLA-Cw\*0602 and HIV-associated psoriasis. *Br J Dermatol* 1998; 139: 527-33.