

การศึกษาการแสดงออกของยีนไอทีจีเอ็มในกลุ่มผู้ป่วยไตอักเสบรูปี

The Study of Expression of *ITGAM* in Lupus Nephritis Patients

รัชนก เนื่องจางค์¹, ณัฐธิยา หิรัญกาญจน์², ฐริชญา สมภาร³, พรเพ็ญ ดันติวิทยากุล⁴, ยิงศ อวิหิงสานนท์⁴

¹หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ²ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ³ภาควิชาชีวเวชศาสตร์ คณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ⁴หน่วยวิจัยลูปีส ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

โรคไตอักเสบรูปี (Lupus nephritis) เป็นรูปแบบของการแสดงที่สำคัญของโรคเอสแอลอี (SLE) ความรุนแรงของโรคไตอักเสบรูปี (LN) ทำให้เกิดภาวะทุพพลภาพและอัตราการตายที่สูงขึ้น พยาธิสภาพของโรคไตอักเสบรูปีเกิดจากการอักเสบของหลอดเลือดที่บริเวณ glomerulus ของไต จากการศึกษาพบยีน *ITGAM* มีความสำคัญในการเกิดโรคเอสแอลอี โดยพบว่ายีน *ITGAM* เป็นยีนที่มีการแสดงออกของโปรตีนชื่อว่า integrin alpha M ซึ่งโปรตีน integrin alpha M มักจับกับ beta-2 integrin เป็น alpha M beta 2 integrin ($\alpha_M\beta_2$) $\alpha_M\beta_2$ เป็นโมเลกุลที่มีความสำคัญต่อกระบวนการ opsonization ของระบบคอมพลีเมนต์และทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเคลื่อนที่ออกนอกหลอดเลือดไปยังบริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดการอักเสบ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญของความหลากหลายของยีน *ITGAM* กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเอสแอลอีทั้งในกลุ่มประชากรยุโรปและเอเชียอีกด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาระดับการแสดงออกของ *ITGAM* mRNA ในเม็ดเลือดขาวและชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วยไตอักเสบรูปี ผลการทดลองพบว่า การแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยไตอักเสบรูปีที่มีอาการกำเริบมีการแสดงออกของยีน *ITGAM* สูงกว่าผู้ป่วยที่อยู่ในภาวะสงบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.021$) และยังพบความแตกต่างในการแสดงออกในชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วยไตอักเสบรูปีโดยมีการแสดงออกของยีน *ITGAM* สูงกว่าไตปกติจากผู้เปลี่ยนถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.001$)

คำสำคัญ : การแสดงออกของยีน ยีนไอทีจีเอ็ม ไตอักเสบรูปี

Abstract

Lupus nephritis (LN) is one of the most serious clinical manifestations of SLE, which increases morbidity and mortality of LN patients. LN pathogenesis results from vascular inflammation of glomerulus. Many evidences

showed *ITGAM* had a major role in SLE pathogenesis. The *ITGAM* gene encodes integrin alpha-M protein, which is a member of integrin family. The *ITGAM* usually combines with integrin beta 2 chain to form a leukocyte-specific integrin, alpha M beta 2 integrin ($\alpha_M\beta_2$). The $\alpha_M\beta_2$ integrin participates in both opsonization of complement system and trans-endothelial migration of white blood cells into tissues inflammation. Furthermore, it was found that the genetic polymorphism of *ITGAM* was significantly associated with risk of SLE in Europe and Asian population. Therefore, the researcher hypothesized that the expression of *ITGAM* might correlate with LN disease activities; the study of *ITGAM* expression on white blood cells and renal tissues of LN patients were performed. The results showed the *ITGAM* mRNA level of active lupus nephritis was higher than inactive LN.(p=0.021). Moreover, the *ITGAM* mRNA expression in renal tissues of LN patients was significantly higher, compared with kidney tissues of living donors in kidney transplant.(p=0.001).

Keywords: gene expression, *ITGAM* gene, Lupus nephritis

1. บทนำ

โรค Systemic Lupus Erythematosus (SLE) เป็นโรคทาง autoimmune โดยไม่ทราบแน่ชัดว่าเกิดจากสาเหตุใดแต่เชื่อว่าทั้งปัจจัยพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมมีบทบาทร่วมกันต่อการเกิดโรค กลไกการเกิดพยาธิสภาพในไตของโรค SLE คือมีการอักเสบของหลอดเลือดรวมทั้งเกิด immune complex deposition ในไต ซึ่งก่อให้เกิดอาการไตอักเสบ ลักษณะทางพยาธิสภาพที่ไตมีความจำเพาะกับโรคไตอักเสบลูปัส (lupus nephritis, LN) ภาวะไตอักเสบในผู้ป่วย SLE เป็นโรคที่เชื่อว่าเกิดจากความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน(Tsao, 2004)

จากการศึกษาทางพันธุกรรมด้วยวิธี genome-wide association ซึ่งทำการค้นหาคความหลากหลายของยีนที่ก่อให้เกิดโรค SLE ซึ่งส่วนใหญ่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญในยีน HLA ซึ่งอยู่บริเวณโครโมโซม 6p21.3 ($P = 1.71 \times 10^{-52}$) นอกจากนี้ยังค้นพบยีนใหม่ๆ หลายชนิดที่มีความสัมพันธ์กับ SLE หนึ่งในยีนที่

สำคัญคือยีน *ITGAM* (Harley, et al., 2008) ต่อมา Yang W และคณะได้หาความสัมพันธ์ของยีน *ITGAM* กับ SLE ในกลุ่มประชากรจีนที่อาศัยในฮ่องกงและกลุ่มประชากรไทยพบว่าสปีส์ตำแหน่ง rs1143679 มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับ SLE ทั้งในกลุ่มประชากรจีนที่อาศัยในฮ่องกงและกลุ่มประชากรไทย ด้วยค่า P-value = 0.021 และ 4.1×10^{-4} (Yang, et al., 2009) การศึกษานี้ยังพบสปีส์ตำแหน่ง rs1143683 บน exon 21 ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจาก alanine เป็น valine บนสายเปปไทด์บนตำแหน่ง 858 มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับ SLE ทั้งในกลุ่มประชากรจีนที่อาศัยในฮ่องกงและกลุ่มประชากรไทย ด้วยค่า P-value = 0.0037 และ 2.7×10^{-4} ตามลำดับ(Kim-Howard, et al., 2010) และที่น่าสนใจคือพบว่า risk alleles ใน *ITGAM* ที่ตำแหน่ง rs1143683 ($P = 0.022$) และ rs1143679 ($P = 0.029$) มีความสัมพันธ์ในผู้ป่วยที่

เป็น renal nephritis ในชาวจีนฮ่องกงด้วย (Yang, et al., 2009)

ITGAM เป็นยีนที่มีการแสดงออกของโปรตีนชื่อว่า integrin alpha M หรือรู้จักกันในชื่อของ CD11b, MAC1A และ CR3A ซึ่งโปรตีน integrin alpha M (CD11b) ทำงานโดยจับกับ β_2 integrins (CD18) เป็น heterodimeric integrin alpha-M beta 2 ($\alpha_M\beta_2$) หรือที่รู้จักกันในชื่อของ macrophage-1 antigen (Mac-1), CD11b/CD18 หรือ complement receptor 3 (CR3) (Faridi, et al., 2009) $\alpha_M\beta_2$ เป็นโมเลกุลที่มีความสำคัญต่อการทำหน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 2 ประการ นั่นคือ 1) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบ innate immune system เช่น การทำหน้าที่เป็น adhesion molecule โดย $\alpha_M\beta_2$ ซึ่งแสดงออกบนเซลล์เม็ดเลือดขาวจะจับกับ ICAM-1 ที่อยู่บนผิวของ endotelial cells, ทำให้เซลล์เคลื่อนที่ (migration) ออกนอกหลอดเลือด 2) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบ complement คือ $\alpha_M\beta_2$ (CD11b/CD18) ทำหน้าที่เป็น opsonin receptor ของ inactivated complement component 3b (iC3b) ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการ phagocytosis ของเซลล์นิวโทรฟิลและโมโนไซต์ การศึกษาการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในผู้ป่วย SLE พบว่ามีปริมาณ mRNA เพิ่มขึ้นในเซลล์เม็ดโครฟาที่อยู่ในไตของผู้ป่วย LN และยังพบการแสดงออกของ *ITGAM* เพิ่มขึ้นในชิ้นเนื้อที่เจาะจากไตของผู้ป่วย SLE เมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นเนื้อไตของคนปกติ (Davidson, et al., 2010) จากข้อมูลทั้งหมดที่ยังไม่มีการศึกษาใดหาการแสดงออกของ *ITGAM* ระหว่างกลุ่มผู้ป่วย LN ในเลือดและชิ้นเนื้อใด ดังนั้นในการศึกษารั้งนี้จึงศึกษาการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในเลือดของผู้ป่วยกลุ่ม LN ที่มีอาการกำเริบเทียบกับอาการสงบ นอกจากนั้นยังเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วย LN เทียบกับชิ้นเนื้อไตของคนปกติ

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการแสดงออกของ *ITGAM* ในเม็ดเลือดขาวของกลุ่มผู้ป่วยไตอักเสบปัสที่มีอาการกำเริบเทียบกับอาการสงบ

2. เพื่อศึกษาการแสดงออกของ *ITGAM* ในชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วยไตอักเสบปัสเทียบกับชิ้นเนื้อคนปกติ

3. วิธีการทดลอง

3.1 เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาวิจัย

ผู้ป่วย Lupus nephritis คือ ผู้ป่วยที่มีลักษณะทางคลินิก และ/หรือผลทางห้องปฏิบัติการตั้งแต่ 4 ข้อขึ้นไปใน 11 ข้อ ตาม American College of Rheumatology criteria ร่วมกับมีลักษณะของไตอักเสบ (โปรตีนในปัสสาวะ ≥ 300 มก. ต่อวัน, มีเม็ดเลือดแดงและ/หรือเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ ≥ 10 เซลล์/พื้นที่กำลังขยายสูง, ระดับ creatinine ในเลือดเพิ่มขึ้นร้อยละ 50) ซึ่งอาสาสมัครที่คัดเลือกเข้าเพื่อทำการวิจัยมีอายุ 20-47 ปีขึ้นไป ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการยินยอมเข้าร่วมการศึกษาโดยลงนามในใบยินยอม และมีการบันทึกข้อมูลที่สำคัญทางคลินิกของผู้ป่วย

3.2 การศึกษาหาปริมาณการแสดงออกของยีน *ITGAM*

3.2.1 การสกัด Total RNA จากเลือดและชิ้นเนื้อ

เก็บตัวอย่างเลือดจากกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม 3 มล. หลังจากนั้นนำไปปั่นแยกเอา buffy coat มาทำการแตกเม็ดเลือดแดงที่ปนติดมาด้วย red cell lysis buffer ได้เม็ดเลือดขาวแล้วจึงนำมาสกัด total RNA จากเม็ดเลือดขาวด้วยชุด RNeasy mini kit และสกัด total RNA จากชิ้นเนื้อ ด้วยชุด RNeasy mini kit หลังจากสกัด RNA แล้วนำไปวัดความเข้มข้นของ RNA ด้วยเครื่อง spectrophotometer (NanoDrop 1000) โดย

อาศัยคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของ RNA ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตรโดย $A_{260} = 1 = 40 \mu\text{g}/\mu\text{l}$

3.2.2 สร้าง complementary DNA (cDNA) และวัดปริมาณการแสดงออกของยีนที่สนใจด้วยวิธี quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR)

Total RNA ความเข้มข้น 250 ng/ μl ที่ได้จากตัวอย่างเลือดและชิ้นเนื้อไต ถูกเปลี่ยนเป็น complementary DNA (cDNA) ด้วยเอนไซม์ reverse transcriptase (company) แล้วเตรียม PCR master mix ซึ่งประกอบด้วย 2xQuantiTech probe PCR , primer forward: 5'- CTCAGGATCTGGCATCAGC-3', primer reverse: 5'- CCTGGGAGAGAGCTTGG-3', probe: 5' FAM CCATAGCCAGCGGATAGCAGGC 3'TAMRA และ RNase free water ทั้งหมด 18 ไมโครลิตร แล้วเติม cDNA จากที่กล่าวมาแล้วอย่างละ 2 ไมโครลิตร ของแต่ละตัวอย่างลงใน PCR master mix นำไปวัดปริมาณการแสดงออกของยีนที่สนใจด้วยเครื่อง LightCycler[®] machine ที่สภาวะ denature 95 $^{\circ}\text{C}$ 0 sec, annealing/extension 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 50 cycles /40 $^{\circ}\text{C}$ 30 sec, 1 cycles หลังจากปฏิกิริยาสิ้นสุดลงจะได้ผลการทดลองเป็นค่า crossing point ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนที่สนใจต่อไป

3.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการทดสอบ คือ การเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ย (means) ของข้อมูล 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน (two independent group) โดยนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณโดยใช้การทดสอบทางสถิติด้วย unpaired t-test เมื่อข้อมูลที่ได้มีการกระจายแบบปกติ (Normal distribution) หรือใช้การทดสอบทางสถิติด้วย Mann-Whitney U เมื่อข้อมูลที่ได้มีการกระจายแบบไม่ปกติ

4. ผลการทดลอง

4.1 Demographic ของผู้ป่วย LN ทั้งสองกลุ่ม

จำนวนของผู้ป่วย LN ที่มีอาการกำเริบ และอาการสงบ มีจำนวน 19 และ 12 คนตามลำดับ พบว่าทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างทางด้านเพศ อายุ และค่า serum creatinine แต่มีความแตกต่างของ ค่า estimated glomerular rate (eGFR), urine protein creatinine index, white blood cell, red blood cell และ SLEDAI-2K อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดง demographic ของผู้ป่วย LN ทั้งสองกลุ่ม

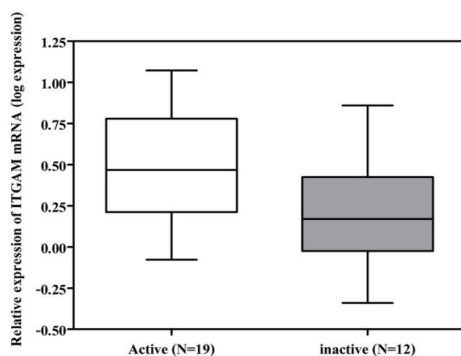
Patient characteristics	Active LN	Inactive LN
Gender (female: male)	18:1	12:0
Age (year)	31.21 $\pm$ 2.11	33.50 $\pm$ 1.72
Serum Creatinine (mg/dl)	1.04 $\pm$ 0.11	0.79 $\pm$ 0.05
eGFR (ml/min)	82.55 $\pm$ 8.04	95.28 $\pm$ 7.27*
Urine protein creatinine index	3.70 $\pm$ 0.57	0.28 $\pm$ 0.07*
White blood cell (cell/mm ³)	12.42 $\pm$ 2.57	2.92 $\pm$ 0.61*
Red blood cell (cell/mm ³)	60.26 $\pm$ 16.13	1.75 $\pm$ 0.52*
SLEDAI-2K	12.00 $\pm$ 1.02	0.00 $\pm$ 0.00*

ข้อมูลแสดงค่า mean $\pm$ SEM, *คือมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า P < 0.05

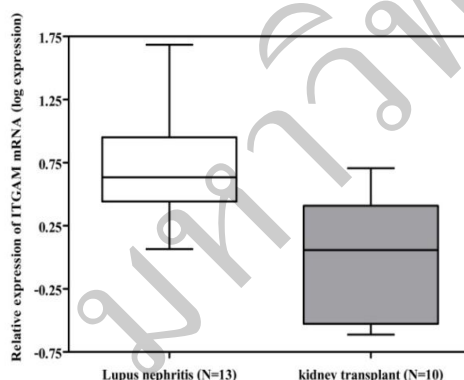
4.2 การเปรียบเทียบปริมาณการแสดงออกของยีน ITGAM ของกลุ่มผู้ป่วย LN ทั้งสองกลุ่ม

การเปรียบเทียบปริมาณการแสดงออกของ ITGAM ด้วยวิธี qRT-PCR พบว่า ในเม็ดเลือดขาวของกลุ่มผู้ป่วยมีอาการกำเริบมีปริมาณการแสดงออกที่สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการสงบ (p=0.021) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 1 นอกจากนี้กลุ่มผู้วิจัยยังได้เปรียบเทียบปริมาณการแสดงออกของ ITGAM บริเวณชิ้นเนื้อไตที่มีการอักเสบจากผู้ป่วยที่มีอาการกำเริบเทียบกับชิ้นเนื้อไตปกติโดยใช้ชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยที่เปลี่ยนถ่ายไต พบว่า ปริมาณการแสดงออกของยีน

ITGAM มีการแสดงออกที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชิ้นเนื้อไตที่ได้รับจากผู้ป่วยที่เปลี่ยนถ่ายไต ($p=0.001$) ดังแสดงในรูปที่ 2 กลุ่มผู้วิจัยยังพบว่า ปริมาณการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในเม็ดเลือดขาวมีความสัมพันธ์กับ SLEDAI-2K อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($R^2 = 0.429$, $P = 0.016$)



รูปภาพที่ 1 ระดับการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในเม็ดเลือดขาวของกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการกำเริบและผู้ป่วยที่ไม่มีอาการกำเริบของไตอักเสบรูมาตอยด์



รูปภาพที่ 2 ระดับการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในชิ้นเนื้อไตที่มีการอักเสบจากผู้ป่วยที่มีอาการกำเริบเทียบกับชิ้นเนื้อไตของปกติโดยได้รับชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยที่เปลี่ยนถ่าย

5. การอภิปรายผล

จากการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพที่ได้มีความจำเพาะกับโรคไตอักเสบรูมาตอยด์เชื่อว่าเกิดจากความ

ผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้มีการกระตุ้น B cells clone เป็นจำนวนมาก ก่อให้เกิดการสร้าง autoreactive antibody ต่อ self antigen จึงทำให้เกิดการก่อตัวของ immune complex ในกระแสโลหิตไปทำลายไต รวมทั้งเกิดการชักนำให้มีการชุมนุมของ polymorphonuclear cell ในไต (Tsao, 2004) การศึกษานี้ช่วยสนับสนุนความสำคัญของ *ITGAM* ต่อพยาธิกำเนิดของโรคไตอักเสบรูมาตอยด์ โดยพบระดับการแสดงออกของยีน *ITGAM* สูงในเม็ดเลือดขาวและชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วย นอกจากนี้ระดับการแสดงออกของยีน *ITGAM* ยังมีความสัมพันธ์กับผลทางคลินิกของผู้ป่วยอีกด้วย ผลดังนั้นการแสดงออกของยีน *ITGAM* อาจนำไปใช้เป็น biomarker ของโรคไตอักเสบรูมาตอยด์ต่อไปได้

6. บทสรุป

การศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในกลุ่มผู้ป่วยไตอักเสบรูมาตอยด์ที่มีอาการกำเริบเทียบกับอาการสงบและชิ้นเนื้อไตของผู้ป่วยไตอักเสบรูมาตอยด์เทียบกับชิ้นเนื้อที่ได้รับจากผู้ป่วยที่เปลี่ยนถ่ายไตด้วยวิธี qRT-PCR พบว่า ในเม็ดเลือดของกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการกำเริบมีปริมาณการแสดงออกที่สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการสงบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.021$) และการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในบริเวณชิ้นเนื้อไตที่มีการอักเสบจากผู้ป่วยที่มีอาการกำเริบมีระดับการแสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชิ้นเนื้อไตที่ได้รับจากผู้ป่วยที่เปลี่ยนถ่ายไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$)

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยติดตามระดับการแสดงออกของยีน *ITGAM* ในผู้ป่วยหลังการรักษาและด้านความจำเพาะต่อโรคไตอักเสบหรือไม่

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (หน่วยปฏิบัติการวิจัยลูปัส, คณะแพทยศาสตร์ และศูนย์วิจัยคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย(CHULA MRC) สนับสนุนงานวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช ปีพุทธศักราช 2554 ผู้ทำวิจัยขอขอบคุณนางสาววิจิตา เบ็ญจะชาติ และนางสาวชฎิกา พรหมจรรย์ที่ช่วยเก็บตัวอย่างในการศึกษา

8. เอกสารอ้างอิง

- Davidson, Anne. (2010-2011). Functional significance of an *ITGAM* polymorphism in SLE. "NIH grants submitted"
- Faridi, M. H., Maignel, D., Barth, C. J., Stoub, D., Day, R., Schurer, S., et al. (2009). Identification of novel agonists of the integrin CD11b/CD18. *Bioorg Med Chem Lett*, 19(24), 6902-6906.
- Harley, J. B., Alarcon-Riquelme, M. E., Criswell, L. A., Jacob, C. O., Kimberly, R. P., Moser, K. L., et al. (2008). Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in *ITGAM*, *PXK*, *KIAA1542* and other loci. *Nat Genet*, 40(2), 204-210.

- Kim-Howard, X., Maiti, A. K., Anaya, J. M., Bruner, G. R., Brown, E., Merrill, J. T., et al. (2010). *ITGAM* coding variant (rs1143679) influences the risk of renal disease, discoid rash and immunological manifestations in patients with systemic lupus erythematosus with European ancestry. *Ann Rheum Dis*, 69(7), 1329-1332.
- Tsao, B. P. (2004). Update on human systemic lupus erythematosus genetics. *Curr Opin Rheumatol*, 16(5), 513-521.
- Yang, W., Zhao, M., Hirankarn, N., Lau, C. S., Mok, C. C., Chan, T. M., et al. (2009). *ITGAM* is associated with disease susceptibility and renal nephritis of systemic lupus erythematosus in Hong Kong Chinese and Thai. *Hum Mol Genet*, 18(11), 2063-2070.