

Epidemiologie a genetika roztroušené sklerózy

MUDr. Mgr. Matouš Rous

Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Neurologická klinika Fakultní nemocnice Olomouc

Roztroušená skleróza (RS) je autoimunitní onemocnění, na jehož rozvoji se podílí více faktorů. V současné době se stále více studií věnuje podílu genetiky na rozvoji RS. Studie, které mapovaly rozsáhlé soubory pacientů s RS a kontrol, identifikovaly 236 nezávislých genetických variant asociovaných se zvýšeným rizikem rozvoje RS. Žádná z těchto variant se nenachází výhradně u pacientů s RS. Riziko RS je primárně zprostředkováno mírnými změnami genové regulace, které mají za následek změny funkcí periferních a tkáňově vázaných buněk imunitního systému. Každý genetický rizikový faktor sám o sobě představuje malé riziko, jejich kombinací vzniká individuální genetické riziko rozvoje RS. Tato polygenicitu tedy určuje riziko vzniku RS u každého jedince. Jakým způsobem se spolupodílí environmentální faktory a které, zůstává otázkou. Studium genetického pozadí spolu s epidemiologickými studiemi s využitím metody mendelovské randomizace nabízí možnosti k prokázání kauzality těchto vlivů. Současný výzkum se zaměřuje na rozšíření kohort, jejich rozmanitost, jejich podrobnější studium a převedení zjištěných asociací pro pochopení patofyziologie RS.

Klíčová slova: roztroušená skleróza, genetika, epidemiologie, single-nucleotide polymorphism, polygenicitu.

Epidemiology and genetics of multiple sclerosis

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease in which multiple factors contribute to its development. Currently, more and more studies are devoted to the role of genetics in the development of MS. Studies that mapped large sets of MS patients and controls identified 236 independent genetic variants associated with an increased risk of developing MS. None of these variants are found exclusively in MS patients. MS is primarily mediated by mild changes in gene regulation that result in changes in the functions of peripheral and tissue-bound cells of the immune system. Each genetic risk factor alone represents a small risk, the combination of which creates an individual genetic risk of developing MS. This polygenicity therefore determines the risk of developing MS in every individual. How environmental factors contribute remains a question. The study of genetic background together with epidemiologic studies using Mendelian randomization offer possibilities to demonstrate the causality of these effects. Current research focuses on expanding the cohorts, their diversity, studying them in more detail and translating the associations to understanding the pathophysiology of MS.

Key words: multiple sclerosis, genetics, epidemiology, single-nucleotide polymorphism, polygenicity.

Úvod

Roztroušenou sklerózou (RS) trpí odhadem 2,8 milionů lidí po celém světě, průměrná prevalence je 142 případů na 100 tisíc obyvatel v Evropě, v některých regionech severní Evropy a severní Ameriky více než 200 případů na 100 tisíc obyvatel (Walton at al., 2020). V patogenezi RS se uplatňují mechanismy zánětu, demyelinizace a neurodegenerace, jejichž po-

díl se mění v závislosti na průběhu nemoci a věku (Compston et Coles, 2008). Diagnóza RS se určuje na základě McDonaldových kritérií (Thompson et al., 2018), které zohledňují symptomy, magnetickorezonanční nálezy lézí bílé hmoty mozku a míchy a přítomnost intratekální oligoklonální syntézy imunoglobulinů v mozkomíšním moku. RS nejčastěji vzniká mezi 20.–40. rokem věku a postihuje 2–4×

častěji ženy než muže (Walton at al., 2020). RS může ovlivnit pacientům jak osobní, tak i profesní život. Prognóza nemoci je nejistá, pacienti tedy čelí nepředvídatelnému průběhu nemoci s různým stupněm fyzické disability, kognitivního postižení a únavy.

RS může mít familiární výskyt, 15 % pacientů s RS udává příbuzného se stejnou nemocí, sourozenci pacienta s RS mají 7× vyšší



MUDr. Mgr. Matouš Rous

Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Neurologická klinika Fakultní nemocnice Olomouc
mrous@email.cz

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2023;24(6):458–463

Článek přijat redakcí: 27. 7. 2023

Článek přijat k publikaci: 21. 8. 2023

riziko vzniku nemoci (Compston et Coles, 2008; Westerlind et al., 2014). Nemoc vzácně postihuje 3–4 příbuzné, výskyt 4 pacientů s RS v jedné rodině je extrémně vzácný. Pokud jedno z monozygotních dvojčat vyvine RS, druhé má riziko rozvoje 25–30 % (Patsopoulos, 2018).

Souhrny epidemiologických a genetických studií ukazují (Sawcer et al., 2014), že riziko rozvoje RS je dědičné a že tato dědičnost je zprostředkována mnoha genetickými rizikovými faktory spíše než jednotlivými mutacemi, které by u jednotlivce způsobily RS. Každý genetický rizikový faktor sám o sobě představuje malé riziko, jejich kombinací vzniká celostní individuální genetické riziko rozvoje RS.

Tato polygenicitá tedy určuje riziko vzniku RS u každého jedince. Čím je vyšší, tím spíše za účasti faktorů zevního prostředí vede ke vzniku RS (Visscher et al., 2021). Riziko rozvoje RS je tedy komplexní vlastnost s polygenní architekturou (Goris et al., 2022).

Genomická mapa RS

Normou pro studování genetického pozadí RS se staly celogenomové asociační studie (GWAS, genome-wide association studies), které porovnávají frekvence alel mezi pacienty s RS a kontrolní kohortou (Risch et Merikangas, 1996). Jedná se o historický posun od hledání „genu pro...“ k ateoretickému sekvenování asociací všech alel. Díky technologickému pokroku se dají (re)sekvenovat a uchovávat statisíce vzorků. Vzniklo International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC), které propojilo výzkumné skupiny napříč kontinenty a umožnilo vznik několika GWAS, které vyšetřily desetitisíce jedinců s RS (Patsopoulos et al., 2019). V roce 2019 byla publikovaná GWAS (Patsopoulos et al., 2019) na populaci 47 351 pacientů s RS a 68 248 kontrolách, která v celém genomu identifikovala 233 rizikových alel, variant bodových polymorfismů, single-nucleotide polymorfismů (SNPs), které byly asociovány se vznikem RS. U každého jedince bylo vyšetřeno několik milionů běžných SNPs (common SNPs > 5 % minoritní frekvence alel v populaci).

Z určených 233 rizikových SNPs se jednalo o 200 autozomálních variant, jeden byl lokalizován na X chromozomu a 32 variant SNPs

v MHC (Major Histocompatibility Complex) na krátkém raménku chromozomu 6. Následnými náročnými statistickými metodami bylo vypočítáno, že běžné SNPs vysvětlují přibližně 40 % rozdílu rizika mezi lidmi s RS a bez ní. Po zakalkulování prevalence RS a environmentálních faktorů tyto běžné SNPs určují přibližně 20 % celového rizika pro vznik RS v běžné populaci (Mitrovic et al., 2018; Patsopoulos et al., 2019).

Porozumění tomu, jakým způsobem se tyto asociace promítají do patofyziologických mechanismů onemocnění, zůstává obtížným úkolem. MHC se podílí na riziku vzniku RS poměrně velkým dílem (Goris et al., 2022). Bylo nalezeno 32 statisticky nezávislých SNPs asociovaných s RS v MHC regionu. Často je zmiňovaná například alela HLA-DRB1*15:01, jsou zmiňovány i další (Moutsianas et al., 2015; Patsopoulos et al., 2019). Mimo MHC jsou rizikové SNPs s vysokou pravděpodobností lokalizované na genových promotorech a enhancerech, které se uplatňují jak v mechanismech vrozené imunity (NK buňkách, makrofázích, mikrogliích), tak v buňkách zprostředkovávajících získanou imunitu (T i B subpopulace lymfocytů), nebyly zjištěny na neuronech či oligodendrocytech (Patsopoulos et al., 2019). Mnohé z těchto SNPs jsou asociovány i s jinými autoimunitními a zánětlivými onemocněními, což naznačuje, že nejsou specifické pro RS ani pro centrální nervový systém (CNS) (Steri et al., 2017; Lincoln et al., 2021). Z toho vyplývá, že riziko RS je primárně zprostředkováno jemnými změnami genové regulace, které mají za následek změny funkcí periferních a tkáňově vázaných buněk imunitního systému, jež se časem nahromadí, až přejdou do patologického stavu. Jakým způsobem a nakolik tyto změny potencují faktory zevního prostředí a které, zůstává otázkou. Je však prokázáno, že některé genotypy jsou exprimovány pouze, nebo především, za určitých okolností (Olsson et al., 2017).

Vzácné genetické varianty a genetické varianty s nízkou frekvencí

K riziku vzniku RS krom běžných genetických variant přispívají i vzácné varianty (minor variants < 1 % frekvence alel v běžné populaci) a varianty s nízkou frekvencí (low-frequency

1–5 % v běžné populaci) (Reich et Lander, 2001). V současné době však neexistují žádné důkazy, že by vzácné genetické varianty měly významný vliv na riziko vzniku RS (Sawcer et al., 2005). Tato absence důkazů naznačuje, že vzácné varianty, stejně jako běžné varianty, mají na vznik rizika RS malý efekt (Sawcer et al., 2014).

Jedna studie GWAS z IMSGS vyšetřila 120 991 variant na všech autozomálních exonech u 32 367 pacientů s RS a u 36 012 kontrol (Mitrovic et al., 2018). Studie identifikovala jednu vzácnou variantu alely a čtyři varianty alely s nízkou frekvencí, které kódují protein a jsou asociované s rizikem rozvoje RS: GALC (Asp84Asp); NLRP8 (Ile942Met); TYK2 (Pro1104Ala); PRF1 (Ala91Val); a HDAC7 (Arg166His).

Varianty NLRP8, PRF1, a HDAC7 byly nově zjištěné. Nelze je identifikovat standardními metodami sekvenování SNPs pro běžné varianty užívané v GWAS, proto výzvou do budoucna zůstává sekvenování všech variant, nejen běžných, ale i variant s nízkou frekvencí a vzácných, které budou teprve odhaleny (Goris et al., 2022).

Genomová diverzita

Rizikové genomové varianty pro vznik RS se v různých populacích liší. Největší studie byly provedeny na evropské populaci (Mitrovic et al., 2018; Patsopoulos et al., 2019). Mimo Evropu byly podobné studie provedeny v Americe na populaci Afroameričanů a Hispánců, i když byly tyto kohorty méně početné než evropské (Beecham et al., 2019). Některé studie například ukazují, že jedna riziková alela v jedné populaci může mít dokonce jiný efekt v jiné populaci s odlišnými předky (Rajabli et al., 2018).

Obecně tyto studie potvrzují rizikovost vybraných SNPs napříč populacemi, ale také odhalují rizikové SNPs pro specifické populace. Lze tedy předpokládat, že podrobnějším zkoumáním jednotlivých subpopulací mohou být odhaleny nové genomové varianty a jejich vztahy. V Evropě je například známý zvýšený výskyt RS na Sardinii a genetickým mapováním v kohortě této populace byla odhalena nová riziková alela pro RS (Steri et al., 2017).

Varianty a jejich funkce

Po odhalení rizikových genomových variant pro vznik RS logicky nastává otázka, jakými biologickými mechanismy se uplatňují. Propojit konkrétní variantu s konkrétní funkcí je velmi obtížné, naráží na mnoho problémů. Jedním z nich je například určit funkci genomových variant na nekódujících úsecích DNA. Pokud se rizikové varianty nacházejí v kódujících úsecích DNA, šíře problému zahrnuje několik set genových lokusů, kde se SNPs vyskytují, několik rizikových variant SNPs na každém lokusu, a každý lokus může ovlivňovat různé buňky. Navíc spousta genomových variant na těchto lokusech má nějaké funkce, avšak tyto funkce nemusí přímo ovlivňovat riziko vzniku RS, proto je potřebné určit kromě jejich funkce i jejich vztah k nemoci (Goris et al., 2022).

Expression quantitative trait loci (eQTLs) jsou genové lokusy, které ovlivňují míru exprese daného genu. Protože dědivosti rizika vzniku RS se účastní i SNPs v místech genomu s regulační funkcí, několik studií se snažilo zjistit, zdali některé varianty SNPs mohou být současně eQTLs (Chun et al., 2017; Patsopoulos et al., 2019). Nejvíce překryvů SNPs a eQTLs bylo pozorováno pro stimulaci a diferenciaci T lymfocytů (Soskic et al., 2022). Rizikové SNPs mohou také ovlivňovat splicing (sestřih) během posttranskripční úpravy RNA (Sawcer et al., 2014) a tento mechanismus se spolu s epigenetickými faktory může významně spolupodílet na náchylnosti ke vzniku RS (Madireddy et al., 2019; Badam et al., 2021).

Varianty a environmentální faktory

S rizikem vzniku RS koreluje několik environmentálních faktorů. Tyto korelace pocházejí většinou z observačních a průřezových epidemiologických studií (Olsson et al., 2016), které jsou citlivé k bias – systémovým chybám jako confounding bias (zaváděcímu faktoru, fenoménu zavádění), recall bias (případy si spíše vzpomenu než kontroly) a reverse causation (zpětné zapříčinění, reverzní kauzalita) a tudíž korelace nemusí znamenat příčinnou souvislost. Princip mendelovské randomizace představuje jednu z možností metodologie, jak hodnotit příčinnou povahu některých zevních příčin nemocí, který

je méně náchylný k výše jmenovaným systémovým chybám. Komplexní systematická randomizovaná studie zkoumala u RS 65 environmentálních faktorů a faktorů životního stylu s využitím principu mendelovské randomizace a prokázala kauzalitu 4 faktorů: zvýšené BMI (body mass index) v dětství, zvýšené BMI v dospělosti, sníženou hladinu vitamínu D a sníženou fyzickou aktivitu (Yuan et al., 2020). Další studie potvrdily rizikové faktory, a to nízkou hladinu vitamínu D (Jacobs et al., 2020; Vandebergh et al., 2022), zvýšené BMI u dětí (Jacobs et al., 2020; Harroud et al., 2021) i dospělých (Jacobs et al., 2020; Vandebergh et al., 2020; Harroud et al., 2021). Dále identifikovali zjevnou absenci efektu kouření (Mitchell et al., 2020; Vandebergh et al., 2020) a pití alkoholu (Jiang et al., 2021). Vliv snížené hladiny vitamínu D je jedinečný pro RS (Bouillon et al., 2021).

Předpověď začátku nemoci podle genetického pozadí

Jak již bylo uvedeno, bylo odhaleno 236 rizikových SNPs pro rozvoj RS. Jejich zmapováním můžeme u jedince spočítat tzv. polygenní index, který představuje počet nesených rizikových alel, a tím zachycuje individuální genetické riziko jedince. Každá riziková alela však nese jiný podíl rizika, proto je pro každou rizikovou alelu spočítána její korelace s rizikem. Například (Tab. 1) na SNP 1 je cílová alela (která zvyšuje riziko vzniku RS) G, jedinec má výbavu CG, tudíž 1 cílovou alelu G, která koreluje se vznikem RS 0,003, jeho polygenní skóre na tomto SNP je tedy 0,003. Na SNP 2 je cílová alela T, jedinec má výbavu AA, má tedy polygenní skóre na tomto SNP 0. Na SNP 3 je cílová alela C, jedinec má výbavu CC, jedna alela C nese riziko 0,004, polygenní skóre tohoto SNP je tedy 0,008. Polygenní index je potom součet jednotlivých skóre.

Tab. 1. Příklad pro výpočet polygenního indexu

	Cílová alela	Alely	Počet alel	Korelace	Polygenní skóre
SNP 1	G	CG	1	0,003	0,003
SNP 2	T	AA	0	0,002	0
SNP 3	C	CC	2	0,004	0,008
SNP 4	A	TA	1	0,003	0,003
SNP 5	G	CC	0	0,003	0
Polygenní index					0,014

Pacienti s RS mají v průměru signifikantně vyšší polygenní index než běžná populace. Příbuzní pacientů s RS mají také vyšší polygenní index než běžná populace, v rodinách se vyskytuje více rizikových alel. Například sourozenci pacientů s RS mají vyšší polygenní index, ale v průměru je nižší, než mají pacienti s RS (Gourraud et al., 2011). Podobně rodiny s více než jedním členem s RS mají v průměru vyšší polygenní index než rodiny s jedním členem, rozdíl je nejvíce ovlivněn polymorfismem HLA (Gourraud et al., 2011). Vícečetný výskyt roztroušené sklerózy v jedné rodině je důsledkem segregace mnoha běžných rizikových SNP v dané rodině spíše než přítomností mutace, která sama o sobě vysvětluje nemoc (Gourraud et al., 2011). Přestože skóre polygenního indexu zachycuje individuální genetické riziko jedince, nemůže být zatím použito samostatně diagnosticky (Gourraud et al., 2011). Stručně řečeno, pro komplexní onemocnění, jako je roztroušená skleróza, genetický test nedává výsledek s vysokou prediktivní hodnotou, na rozdíl od monogenních chorob (Visscher et al., 2021).

Od predispozice ke klinické variabilitě

Vzhledem k pozoruhodné klinické variabilitě RS existuje mimo genetickou predispozici (náchylnost) mnoho aspektů, které je třeba dále studovat (Compston et al., 2008). Například pohlaví a klinický průběh, u žen je pravděpodobnější relabující-onemocnění (RR-RS), u mužů je pravděpodobnější progresivní onemocnění (P-RS) (Compston et al., 2008). Zdá se, že vyšší polygenní index předurčuje nejen vyšší náchylnost k RS, ale také nižší věk u prvních projevu nemoci (Gourraud et al., 2011). Konkrétně každá kopie nejsilnějšího rizikové alely, HLADRB1*15:01, snižuje věk prvních projevů o 0,72 let (Moutsianas et al., 2015). Jiný haplotyp, HLA-DRB1*01:01, není asociován s náchylností k RS, ale oddaluje nástup o 1,4 roky (Moutsianas et al., 2015). Co se týče korelace polygenního indexu a výsledků zobrazovacích metod či klinického průběhu (RR-RS, P-RS, relaps-rate, tíže neurologického deficitu), zatím GWAS podávají protichůdné výsledky (Gourraud et al., 2011).

INZERCE

V případech výsledků vyšetření mozkomíšního moku je situace jiná, GWAS identifikovaly zvláště silné asociace s variantami v oblastech MHC a imunoglobulinů (Gasperi et al., 2020).

Možnosti pro kliniku

Jak bylo uvedeno, genetické asociace lze využít k identifikaci molekulárních a buněčných patogenetických procesů, a tak určit cíle pro vývoj léků. Obecně léky, u nichž byl cíl účinku podpořený studiem genetického pozadí, mají dvakrát vyšší pravděpodobnost schválení pro klinické použití (Nelson et al., 2015), což naznačuje, že rozluštění genetického pozadí RS může pomoci vývoji nové, efektivní a cílené terapie (Nelson et al., 2015).

Například i když riziko dané varianty SNP je pro vznik RS malé, farmakologické zacílení na produkt souvisejícího genu může být účinné, protože je cíleno na patologickou funkci, která je relevantní s etiologií onemocnění (Goris et al., 2022). Pacienti s RS mají zřejmě různé vzorce variant SNPů způsobující různou míru rizika vzniku RS. Objevují se názory, že by pacienti mohli být klasifikováni podle genové specifity a mechanismů specifických pro buněčný typ, ve kterých nesou rizikovou genovou zátěž (Madireddy et al., 2019). V budoucnu by znalost rizikového vzorce SNPů u konkrétního pacienta mohla lépe určit diagnózu, prognózu, lépe cílit léčbu, případně před-

povídat odpověď na léčbu a možná i další (Goris et al., 2022).

Závěr

Roztroušená skleróza je polygenně podmíněné onemocnění. Normou pro studování genetického pozadí RS se staly celogenomové asociční studie (GWAS), které porovnávají frekvence alel mezi pacienty s RS a kontrolní kohortou. Bylo odhaleno 236 variant SNPů asociovaných s rizikem vzniku RS a v budoucnu jistě přibudou další. Rozluštěním jejich role v patofyziologii RS bychom mohli v budoucnu lépe diagnostikovat, predikovat a ovlivňovat průběh nemoci, vyvinout novou, cílenou, efektivní terapii.

LITERATURA

1. Badam TVS, de Weerd HA, Martínez-Enguita D, et al. A validated generally applicable approach using the systematic assessment of disease modules by GWAS reveals a multi-omic module strongly associated with risk factors in multiple sclerosis. *BMC Genomics*. 2021;22(1):631. doi: 10.1186/s12864-021-07935-1. PMID: 34461822; PMCID: PMC8404328.
2. Beecham AH, Amezcua L, Chinae A, et al. The genetic diversity of multiple sclerosis risk among Hispanic and African American populations living in the United States. *Mult Scler*. 2020;26(11):1329-1339. doi: 10.1177/1352458519863764. Epub 2019 Aug 1. PMID: 31368393; PMCID: PMC6994382
3. Bouillon R, Manousaki D, Rosen C, et al. The health effects of vitamin D supplementation: evidence from human studies. *Nat Rev Endocrinol*. 2022;18(2):96-110. doi: 10.1038/s41574-021-00593-z. Epub 2021 Nov 23. PMID: 34815552; PMCID: PMC8609267.
4. Chun S, Casparino A, Patsopoulos NA, et al. Limited statistical evidence for shared genetic effects of eQTLs and autoimmune-disease-associated loci in three major immune-cell types. *Nat Genet*. 2017;49(4):600-605. doi: 10.1038/ng.3795. Epub 2017 Feb 20. PMID: 28218759; PMCID: PMC5374036.
5. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008;372(9648):1502-17. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61620-7. PMID: 18970977.
6. Gasperi C, Andlauer TFM, Keating A, et al. Genetic determinants of the humoral immune response in MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2020;7(5):e827. doi: 10.1212/NXI.0000000000000827. PMID: 32675288; PMCID: PMC7371373.
7. Goris A, Vandebergh M, McCauley JL, et al. Genetics of multiple sclerosis: lessons from polygenicity. *Lancet Neurol*. 2022;21(9):830-842. doi: 10.1016/S1474-4422(22)00255-1. PMID: 35963264.
8. Gourraud PA, McElroy JP, Caillier SJ, et al. Aggregation of multiple sclerosis genetic risk variants in multiple and single case families. *Ann Neurol*. 2011;69(1):65-74. doi: 10.1002/ana.22323. PMID: 21280076; PMCID: PMC3511846.
9. Harroud A, Mitchell RE, Richardson TG, et al. Childhood obesity and multiple sclerosis: A Mendelian randomization study. *Mult Scler*. 2021;27(14):2150-2158. doi: 10.1177/13524585211001781. Epub 2021 Mar 22. PMID: 33749377.
10. Jacobs BM, Noyce AJ, Giovannoni G, Dobson R. BMI and low vitamin D are causal factors for multiple sclerosis: A Mendelian Randomization study. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2020;7(2):e662. doi: 10.1212/NXI.0000000000000662. PMID: 31937597; PMCID: PMC6975169.
11. Jiang X, Zhu Z, Manouchehrinia A, et al. Alcohol Consumption and Risk of Common Autoimmune Inflammatory Diseases-Evidence From a Large-Scale Genetic Analysis Totalling 1 Million Individuals. *Front Genet*. 2021;12:687745. doi: 10.3389/fgenet.2021.687745. PMID: 34239545; PMCID: PMC8258244.
12. Lincoln MR, Axiya NC, Gasperi P, et al. Joint analysis reveals shared autoimmune disease associations and identifies common mechanisms. medRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory); 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.05.13.21257044>.
13. Madireddy L, Patsopoulos NA, Cotsapas C, et al. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. A systems biology approach uncovers cell-specific gene regulatory effects of genetic associations in multiple sclerosis. *Nat Commun*. 2019;10(1):2236. doi: 10.1038/s41467-019-09773-y. Erratum in: *Nat Commun*. 2019;10(1):2956. PMID: 31110181; PMCID: PMC6527683.
14. Mitchell RE, Bates K, Wootton RE, et al. Little evidence for an effect of smoking on multiple sclerosis risk: A Mendelian Randomization study. *PLoS Biol*. 2020;18(11):e3000973. doi:10.1371/journal.pbio.3000973. PMID: 33253141; PMCID: PMC7728259.
15. Mitrovic M, Patsopoulos NA, Beecham A, et al. Low-Frequency and Rare-Coding Variation Contributes to Multiple Sclerosis Risk. *Cell*. 2018;175(6):1679-1687.e7. doi: 10.1016/j.cell.2018.09.049. Epub 2018 Oct 18. Erratum in: *Cell*. 2019 Jun 27;178(1):262. PMID: 30343897; PMCID: PMC6269166.
16. Moutsianas L, Jostins L, Beecham AH, et al. Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis. *Nat Genet*. 2015;47(10):1107-1113. doi: 10.1038/ng.3395. Epub 2015 Sep 7. PMID: 26343388; PMCID: PMC4874245.
17. Nelson MR, Tipney H, Painter JL, et al. The support of human genetic evidence for approved drug indications. *Nat Genet*. 2015;47(8):856-60. doi: 10.1038/ng.3314. Epub 2015 Jun 29. PMID: 26121088.
18. Olsson T, Barcellos LF, Alfredsson L. Interactions between genetic, lifestyle and environmental risk factors for multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(1):25-36. doi: 10.1038/nrneurol.2016.187. Epub 2016 Dec 9. PMID: 27934854.
19. Patsopoulos NA, Baranzini SE, et al. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility. *Science*. 2019;365(6460):eaav7188. doi: 10.1126/science.aav7188. PMID: 31604244; PMCID: PMC7241648.
20. Patsopoulos NA. Genetics of Multiple Sclerosis: An Overview and New Directions. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(7):a028951. doi: 10.1101/cshperspect.a028951. PMID: 29440325; PMCID: PMC6027932.
21. Rajabli F, Feliciano BE, Celis K, et al. Ancestral origin of ApoE

- €4 Alzheimer disease risk in Puerto Rican and African American populations. *PLoS Genet*. 2018;14(12):e1007791. doi:10.1371/journal.pgen.1007791. PMID: 30517106; PMCID: PMC6281216.
22. Reich DE, Lander ES. On the allelic spectrum of human disease. *Trends Genet*. 2001;17(9):502-10. doi: 10.1016/S0168-9525(01)02410-6. PMID: 11525833.
23. Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*. 1996 Sep 13;273(5281):1516-7. doi: 10.1126/science.273.5281.1516. PMID: 8801636.
24. Sawcer S, Ban M, Maranian M, et al.; International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. A high-density screen for linkage in multiple sclerosis. *Am J Hum Genet*. 2005;77(3):454-67. doi: 10.1086/444547. Epub 2005 Jul 29. PMID: 16080120; PMCID: PMC1226210.
25. Sawcer S, Franklin RJ, Ban M. Multiple sclerosis genetics. *Lancet Neurol*. 2014 Jul;13(7):700-9. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70041-9. Epub 2014 May 19. PMID: 24852507.
26. Shams H, Shao X, Santaniello A, et al.; University of California San Francisco MS-EPIC Team; Schaefer CA, McCauley JL, Cree BAC, Didonna A, Baranzini SE, Patsopoulos NA, Hauser SL, Barcellos LF, Henry RG, Oksenberg JR. Polygenic risk score association with multiple sclerosis susceptibility and phenotype in Europeans. *Brain*. 2023;146(2):645-656. doi: 10.1093/brain/awac092. PMID: 35253861; PMCID: PMC10169285.
27. Soskic B, Cano-Gamez E, Smyth DJ, et al. Immune disease risk variants regulate gene expression dynamics during CD4+ T cell activation. *Nat Genet*. 2022;54(6):817-826. doi: 10.1038/s41588-022-01066-3. Epub 2022 May 26. PMID: 35618845; PMCID: PMC9197762.
28. Steri M, Orrù V, Idda ML, et al. Overexpression of the Cytokine BAFF and Autoimmunity Risk. *N Engl J Med*. 2017;376(17):1615-1626. doi: 10.1056/NEJMoa1610528. PMID: 28445677; PMCID: PMC5605835.
29. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018;17(2):162-173. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29275977.
30. Vandebergh M, Dubois B, Goris A. Effects of Vitamin D and Body Mass Index on Disease Risk and Relapse Hazard in Multiple Sclerosis: A Mendelian Randomization Study. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2022;9(3):e1165. doi: 10.1212/NXI.0000000000001165. PMID: 35393342; PMCID: PMC8990978.
31. Vandebergh M, Goris A. Smoking and multiple sclerosis risk: A Mendelian randomization study. *J Neurol*. 2020;267(10):3083-3091. doi: 10.1007/s00415-020-09980-4.

Epub 2020 Jun 11. PMID: 32529581; PMCID: PMC7501136.

32. Visscher PM, Yengo L, Cox NJ, Wray NR. Discovery and implications of polygenicity of common diseases. *Science*. 2021;373(6562):1468-1473. doi: 10.1126/science.abi8206. Epub 2021 Sep 23. PMID: 34554790; PMCID: PMC9945947.

33. Walton C, King R, Rechtman L, et al. Rising prevalence of multi-

ple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition.

Mult Scler. 2020;26(14):1816-1821. doi: 10.1177/1352458520970841. Epub 2020 Nov 11. PMID: 33174475; PMCID: PMC7720355.

34. Westerlind H, Ramanujam R, Uvehag D, et al. Modest familial risks for multiple sclerosis: a registry-based study of the population of Sweden. *Brain*. 2014;137(Pt 3):770-8. doi: 10.1093/brain/awt356.

Epub 2014 Jan 17. PMID: 24441172; PMCID: PMC3927700.

35. Yuan S, Xiong Y, Larsson SC. An atlas on risk factors for multiple sclerosis: a Mendelian randomization study. *J Neurol*. 2021;268(1):114-124. doi: 10.1007/s00415-020-10119-8. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32728946; PMCID: PMC7815542.