

Z Rheumatol 2009 · 68:65–68  
 DOI 10.1007/s00393-008-0408-0  
 Online publiziert: 16. Januar 2009  
 © Springer Medizin Verlag 2009

**Redaktion**

A. Radbruch, Berlin  
 H. Schulze-Koops, München

**S. Drynda · J. Kekow**

Klinik für Rheumatologie, Medigreif Fachkrankenhaus für Rheumatologie und Orthopädie GmbH, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Vogelsang

# Möglichkeiten und Grenzen genomischer Analysen bei rheumatoider Arthritis

Die rheumatoide Arthritis (RA) ist eine komplexe multifaktorielle Erkrankung, die sowohl durch den genetischen Hintergrund des Patienten als auch durch Umwelteinflüsse bestimmt wird. Im Gegensatz zu einer Reihe von monogenen Erkrankungen, bei denen es sehr klare Vorstellungen gibt, wie ein einzelnes Gen bzw. eine Genvariation mit der Erkrankung assoziiert ist, steckt das Wissen bei polygenen Erkrankungen wie der RA noch in den Anfängen. Die häufigsten und stabilsten genetischen Variationen im humanen Genom sind sogenannte „single-nucleotide polymorphisms“ (SNPs), Sequenzvariationen der DNA, die jeweils ein einzelnes Nukleotid betreffen. Die Anzahl der SNPs im menschlichen Genom, die mit dem Krankheitsbild der RA assoziiert sind, ist bislang unbekannt.

**➤ In Assoziation zur RA sind Polymorphismen der HLA-Klasse-II-Gene am besten untersucht**

Die am meisten untersuchten und am besten dokumentierten genetischen Polymorphismen in Assoziation zur RA befinden sich im Bereich der HLA-Klasse-II-Gene, die schätzungsweise 30% des genetischen Hintergrundes einer RA bestimmen. Insbesondere die HLA-DRB1-Allele, die eine bestimmte Aminosäuresequenz in der 3. hypervariablen Region der DRβ1-Kette kodieren, die als das „shared epitope“ oder RA-assoziiertes Epitop bezeichnet wird, tragen zur Suszeptibilität für die RA, aber auch zur Schwere der Er-

krankung bei. Daneben gibt es eine bisher noch unbekannte Anzahl von Genen, die sehr subtil zur Suszeptibilität für eine RA, aber auch zum großen Spektrum klinischer Manifestationen, der Variabilität der Krankheitsaktivität und Progression beitragen.

Neben Polymorphismen im MHC-Locus [1] wurden dabei in der Vergangenheit Sequenzvariationen vor allem in den Genen für die Proteine analysiert, deren Beteiligung in der Pathogenese bekannt ist, z. B. Tumor-Nekrose-Faktor- (TNF-) Rezeptoren, Interleukin- (IL-)1β, IL-6, PADI4, IL-10 [2, 3] sowie Polymorphismen, die bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen gemeinsam beobachtet

werden z. B. PTPN22 und CTLA-4 ([4]; **Tab. 1**).

Die Krankheits-assoziierten Allele der identifizierten SNPs treten allerdings nicht ausschließlich bei RA-Patienten auf, sondern sind auch bei gesunden Kontrollen nachweisbar. Der Einfluss dieser Polymorphismen auf die Risikowahrscheinlichkeit für eine RA wird daher oft erst in großen Kohorten sichtbar, hat aber für die individuelle Vorhersage keine Bedeutung. Die Erstellung eines genetischen Profils aus vielen einzelnen prädiktiven SNPs könnte die Vorhersagegüte für die Risikowahrscheinlichkeit für eine RA deutlich steigern. Basierend auf einem RA-assoziierten Genprofil könnten genetisch prädisponierte,

**Tab. 1** Bedeutung genetischer Polymorphismen bei der RA (Auswahl aktueller Publikationen)

Eigenschaft	Gen/Region	Literatur
<b>Risikowahrscheinlichkeit</b>	HLA-DR4	[1, 5]
	TRAF1/C5	[16]
	PTPN22	[4, 5, 9]
	6q23	[15]
	CTLA-4	[4]
<b>Klinische Subtypen</b>		
Verlauf (erosiv/nichterosiv)	MMP-3	[6]
	IL-4R	[7]
Präsenz von CCP-Antikörpern	HLA-DRB1	[8]
	PTPN22	[9]
Kardiovaskuläre Komplikationen	IL-1, IL-1Ra	[3]
<b>Therapieansprechen</b>		
Methotrexat (MTX)	AMPD1, ATIC, ITPA, MTHFD1	[17]
	MDR1	[18]
TNF-Blocker	TNF-α	[12]
	TNF, IL-1Ra,	[11]
<b>Medikamentennebenwirkungen</b>		
MTX	MTHFR	[19]

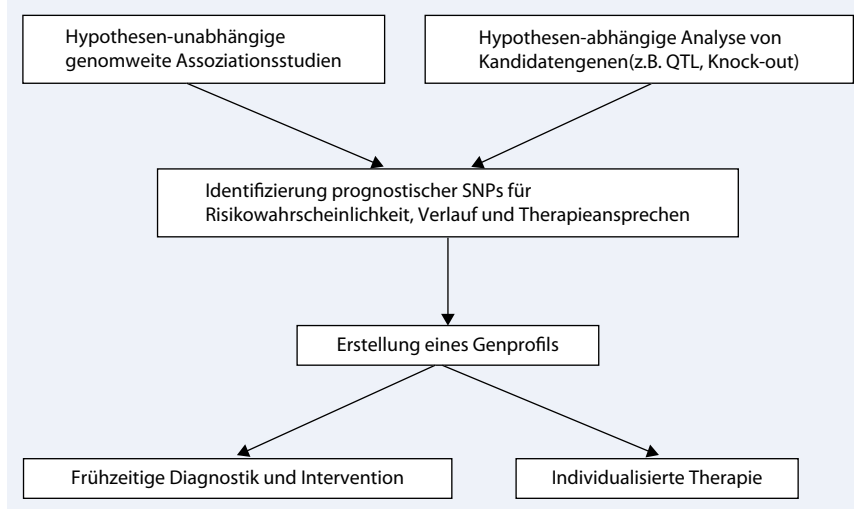


Abb. 1 ▲ Strategie genomischer Analysen in der Rheumatologie

noch nicht erkrankte Personen durch Anpassung ihrer Lebensgewohnheiten, z. B. den Verzicht auf das Rauchen [5], das Auftreten klinischer Symptome möglicherweise hinauszögern oder sogar verhindern.

Neben den genetischen Markern, die die Suszeptibilität für die Erkrankung bestimmen, gibt es eine Vielzahl von Polymorphismen, die mit dem Krankheitsverlauf oder Komplikationen assoziiert sind. Ein Zusammenhang mit der radiologischen Progression wurde z. B. für einen Promotor-Polymorphismus im MMP-3-Gen [6] sowie einen SNP im kodierenden Bereich des Gens für den IL-4-Rezeptor [7] beschrieben (vgl. **Tab. 1**). Cvetcovic und Mitarbeiter [3] konnten eine Assoziation des Risikos kardiovaskulärer Komplikationen im Verlauf der RA mit dem Auftreten bestimmter Allelkombinationen der Gene für IL-1 $\beta$  und IL-1RA nachweisen.

Mit dem Wissen über die prädiktiven Marker für einen schweren erosiven Verlauf der RA oder für mögliche Komplikationen hat der Kliniker die Möglichkeit, frühzeitig intensiv medikamentös zu intervenieren, um Spätfolgen wie die Destruktion von Gelenken und Knochen zu verhindern und mögliche Risiken für Komplikationen bei der Wahl des Therapeutikums zu berücksichtigen.

### CCP-Antikörper und genetische Polymorphismen

Der Zusammenhang genetischer Polymorphismen bei der RA mit einem be-

stimmten Phänotyp wird mit dem Auftreten von Antikörpern (AK) gegen zyklisch zitruellinierte Peptide (CCP) sichtbar. CCP-AK gelten inzwischen als ein Marker, der die RA in 2 Subtypen einteilt. Diese Antikörper gelten als sehr spezifisch für eine RA, sind mit schweren erosiven Verläufen assoziiert und werden bei etwa 70% der Patienten beobachtet.

In genetischen Studien wurden in der HLA-Region „shared epitope“ kodierende Allele als Risikofaktor für das Auftreten von CCP-AK identifiziert [8]. In verschiedenen Populationen wurde darüber hinaus als zweiter Locus PTPN22 nachgewiesen, der ebenfalls einen Risikofaktor darstellt [9]. In einer schwedischen Studie konnten mit jeweils mehreren Hundert CCP-AK-positiven und -negativen RA-Patienten für über 100 SNPs in der HLA-Region signifikante Unterschiede der Allelverteilung bei CCP-AK-positiven RA-Patienten im Vergleich zu Kontrollen gezeigt werden – eine Beobachtung, die sich für CCP-AK-negative Patienten nicht bestätigen ließ [10]. Diese signifikanten genetischen Unterschiede zwischen CCP-AK-positiven und -negativen RA-Patienten bestätigen die Bedeutung des genetischen Hintergrundes für die klinische Divergenz von 2 Subtypen einer Erkrankung.

### Genetische Marker als Prädiktoren für den Therapieerfolg

Mit der Einführung der Biologika als neue Therapieoption in die Behandlung der RA

hat die Suche nach prädiktiven Markern für das Therapieansprechen an Bedeutung gewonnen. Bedingt durch die hohen Kosten der Biologika und das Phänomen, dass etwa 30% der RA-Patienten nicht adäquat auf eine Biologikatherapie ansprechen, ist die Identifizierung prädiktiver Marker für das Therapieansprechen sowohl im Hinblick auf eine für den individuellen Patienten optimierte Therapie als auch aus gesundheitsökonomischen Gründen notwendig.

Bis heute gibt es keinen geeigneten diagnostischen Marker, der bereits vor Therapiebeginn eine sichere Vorhersage des mittel- bzw. langfristigen Therapieerfolges zulässt. Trotz einer Vielzahl von Publikationen insbesondere zu Polymorphismen in den Genen für TNF- $\alpha$  und die TNF-Rezeptoren bei Patienten unter einer Anti-TNF- $\alpha$ -Therapie [11, 12] werden aufgrund kleiner Fallzahlen, eines heterogenen ethnischen Hintergrundes und Uneinheitlichkeit bei der Bewertung der Therapie-Response widersprüchliche und nicht immer reproduzierbare Ergebnisse beobachtet.

Nationale Register (in Deutschland RABBIT) zur longitudinalen Analyse der klinischen Parameter von RA-Patienten unter einer Biologikatherapie könnten eine wertvolle Basis für retrospektive Studien zur Assoziation genetischer Marker mit der Therapie-Response bilden [13]. Nur die Nutzung derartiger Ressourcen ermöglicht die Zusammenführung ausreichend großer Patientenzahlen um zu validen, reproduzierbaren genetischen Markern zu kommen, die mit dem Ansprechen auf eine bestimmte Therapie, aber auch eventuellen Nebenwirkungen assoziiert sind.

### Suche nach Kandidatengenen: Tiermodell, „quantitative trait loci“

Für die Identifizierung von weiteren Kandidatengenen, die in die Pathogenese involviert sind und/oder „Targets“ für neue Therapieansätze darstellen, bietet sich die Suche nach sogenannten QTLs („quantitative trait loci“), Genorten, die mit dem Phänotyp (Krankheit) korreliert sind, im Tiermodell (Maus oder Ratte) an. Die geringe genetische Variabilität bei der Ver-

wendung von Inzuchtstämmen, eine kontrollierte Umgebung und die Tatsache, dass etwa 90% der humanen Gene ein Ortholog in der Maus haben, ermöglichen funktionelle Genanalysen mit Relevanz für die Humanmedizin. Durch ein gezieltes Ausschalten („knock-out“) einzelner Gene lassen sich pathogenetische Zusammenhänge aufklären und Kandidatengene für weitere genetische Analysen beim Menschen erarbeiten. Durch die Verwendung verschiedener Mausmodelle für die RA wurden inzwischen mehr als 60 Loci beschrieben, die den Phänotyp der Erkrankung, die Immunantwort und Zytokinexpression kontrollieren [14].

### Hypothesenunabhängige genomweite Assoziationsstudien (GWA)

Neue Perspektiven zur umfassenden Analyse Krankheits-assoziiierter genetischer Variationen bietet die Anwendung hochauflösender DNA-Microarrays. Im Gegensatz zu traditionellen Ansätzen, bei denen die Analyse bestimmter genetischer Polymorphismen auf der Auswahl von Kandidatengenen beruht, können bei genomweiten Analysen unabhängig von einer bestimmten Hypothese bisher unbekannte Marker identifiziert werden. Plenge et al. [15] publizierten kürzlich die Verwendung eines solchen Ansatzes für die Genotypisierung bei RA-Patienten, bei dem 2 neue, voneinander unabhängige Polymorphismen im Chromosomenbereich 6q23 identifiziert werden konnten, die reproduzierbar mit dem Risiko für eine RA assoziiert sind.

Durch die Verwendung sogenannter tagSNPs kann die genomweite Suche nach Krankheits-assoziierten SNPs vereinfacht werden. Hierbei geht man davon aus, dass das Genom Segmente aufweist, in denen kaum Rekombination stattfindet. Polymorphismen, die in diesen Segmenten, man spricht hier von Haplotypblöcken, liegen, werden gemeinsam vererbt. Von einem tagSNP-Typ kann man damit auf andere SNPs des gesamten Blocks schließen. Anstatt viele Millionen einzelner SNPs zu untersuchen, könnte die SNP-Verteilung des gesamten menschlichen Genoms mit Hilfe von schätzungsweise 300.000 bis 600.000 tagSNPs analysiert

werden. Welcher der eingeschlossenen SNPs dann eine funktionelle Bedeutung hat, muss in weiterführenden Analysen geklärt werden.

### Fazit für die Praxis

**Trotz einer Vielzahl experimenteller Daten und innovativer Methoden zur Aufklärung genetischer Assoziationen lässt sich der diagnostische Gewinn noch nicht in einen Patientennutzen umsetzen. Es stehen heute aber wissenschaftliche Strategien (Abb. 1) und Technologien für die DNA-Analyse zur Verfügung, die in unmittelbarer Zukunft die klinisch-genetische Diagnostik durch die Aufdeckung bisher unbekannter genetischer Assoziationen und des komplexen genetischen Hintergrundes der RA maßgeblich beeinflussen können. Erst wenn ein Großteil der Gene/Genvariationen identifiziert ist, die Entstehung und Verlauf der RA bestimmen, wird es möglich sein, Genprofile zu erstellen, die für den individuellen Patienten eine diagnostische Relevanz und therapeutische Bedeutung haben. Große prospektive Studien werden erforderlich sein, um die Verlässlichkeit der identifizierten genetischen Marker zu prüfen, bevor sie in den klinischen Alltag implementiert werden können. Schon heute sollten wir allerdings bei wissenschaftlichen Analysen und klinischen Studien die genetische Heterogenität der RA-Patienten berücksichtigen. Dazu gehört eine exakte Falldokumentation mit Asservierung von DNA-Proben. Ethikvoten sollten dabei auf kommende Entwicklungen abgestimmt sein.**

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. J. Kekow**  
Klinik für Rheumatologie,  
Medigreif Fachkrankenhaus für Rheumatologie  
und Orthopädie GmbH,  
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg  
39245 Vogelsang  
joern.kekow@med.ovgu.de

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Z Rheumatol 2009 · 68:65–68  
DOI 10.1007/s00393-008-0408-0  
© Springer Medizin Verlag 2009

### S. Drynda · J. Kekow Möglichkeiten und Grenzen genomischer Analysen bei rheumatoider Arthritis

#### Zusammenfassung

Die Anwendung genetischer Analysen in der molekularen Diagnostik bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA) hat in den vergangenen Jahren einen enormen Aufschwung erfahren.

Trotz des hohen Zuwachses an experimentellen Daten gibt es bis heute keinen direkten Patientennutzen. Die Suche nach gesicherten gendiagnostischen Markern wird heute mit genomweiten Assoziationsstudien fortgesetzt. Durch Kombination verschiedener genetischer Marker erhofft man sich ein genetisches Profil, das eine spezifische Vorhersage der Risikowahrscheinlichkeit für eine RA, den Verlauf und auch die optimale Therapieoption ermöglicht.

#### Schlüsselwörter

Rheumatoide Arthritis · Molekulare Diagnostik · Polymorphismen

### Possibilities and limitations of genomic analyses in rheumatoid arthritis

#### Abstract

The application of genetic analyses in the molecular diagnosis of patients with rheumatoid arthritis (RA) has experienced an enormous increase in recent years. Despite significant growth in experimental data there is no direct benefit for the individual patient as yet.

The search for validated genetic diagnostic markers is currently being continued by genome-wide association studies. Hopefully, by combining multiple genetic markers a genetic profile can be generated which will enable prediction of the risk for RA, the disease course and response to certain therapies.

#### Keywords

Rheumatoid arthritis · Molecular diagnostics · Polymorphism

Literatur

1. Stastny P (1978) Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 298:869–871
2. Iwamoto T, Ikari K, Nakamura M et al (2006) Association between PADI4 and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatology* 45:804–807
3. Cvetkovic JT, Wallberg-Jonsson S, Stegmayr B et al (2002) Susceptibility for and clinical manifestations of rheumatoid arthritis are associated with polymorphisms of the TNF-alpha, IL-1beta, and IL-1Ra genes. *J Rheumatol* 29:212–219
4. Pearce SHS, Merriman TR (2006) Genetic progress towards the molecular basis of autoimmunity. *Trends Mol Med* 12:90–98
5. Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM et al (2007) Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22 and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 80:867–875
6. Nemeč P, Pavkova-Goldbergova M, Gatterova J et al (2007) Association of the 5A/6A Promoter Polymorphism of the MMP-3 Gene with the radiographic progression of rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 1110:166–176
7. Prots I, Skapenko A, Wendler J et al (2006) Association of the IL4R single-nucleotide polymorphism I50V with rapidly erosive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54:1491–1500
8. Van der Helm-van Mil AH, Verport KN, Breedveld FC et al (2006) The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54:1117–1121
9. Orozco G, Pascual-Salcedo D, Lopez-Nevot MA et al (2008) Auto-antibodies, HLA and PTPN22: susceptibility markers for rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 47:138–141
10. Seielstad M, Padyukov L, Ding B et al (2007) Genome-wide SNP association study identifies novel risk loci for rheumatoid arthritis in Swedish EIRA study. *Ann Rheum Dis* 66 (Suppl II):680
11. Ranganathan P (2005) Pharmacogenomics of tumor necrosis factor antagonists in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics* 6:481–490
12. Guis S, Balandraud N, Bouvenot J et al (2007) Influence of -308 A/G polymorphism in the tumor necrosis factor alpha gene on etanercept treatment in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 57:1426–1430
13. Greenberg JD, Ostrer H (2007) Predicting response to TNF antagonists in rheumatoid arthritis. The promise of pharmacogenetics research using clinical registries. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 65:139–142
14. Ibrahim SM, Yu X (2006) Dissecting the genetic basis of rheumatoid arthritis in mouse models. *Curr Pharm Des* 12:3753–3759
15. Plenge RM, Cotsapas C, Davies L et al (2007) Two independent alleles at 6q23 associated with risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 39:1477–1482
16. Kurreeman FA, Padyukov L, Marques RB et al (2007) A candidate gene approach identifies the TRAF1/C5 region as a risk factor for rheumatoid arthritis. *PLoS Med* 4:e278
17. Wessels JAM, van der Kooij SM, le Cessie S et al (2007) A clinical pharmacogenetic model to predict the efficacy of methotrexate monotherapy in recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 56:1765–1775
18. Drozdziak M, Rudas T, Pawlik A et al (2006) The effect of 3435C>T MDR1 gene polymorphism on rheumatoid arthritis treatment with disease-modifying antirheumatic drugs. *Eur J Clin Pharmacol* 62:933–937
19. Berkun Y, Levartovsky D, Rubinow A et al (2004) Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene. *Ann Rheum Dis* 63:1227–1231

**Protein Raptor beeinflusst Muskelbildung**

Die Muskulatur macht in der Regel zwischen 20 und 40% der gesamten Körpermasse eines Menschen aus. Bei vielen Krankheiten, wie Krebs oder Aids, erhöht der oft einhergehende Verlust an Muskelmasse das Risiko, frühzeitig zu sterben. Auch auf den Verlauf von Diabetes kann gezieltes Muskeltraining einen positiven Einfluss haben. Langsam kontrahierende Muskelfasern erzeugen ihre Energie hauptsächlich durch Mitochondrien. Schnell kontrahierende Muskelfasern hingegen benötigen als Treibstoff große Zuckermengen. Beide Muskelzelltypen unterscheiden sich in ihrem Zellskelett, dem Gehalt an Mitochondrien und den gespeicherten Nährstoffen. Bisher war nur sehr wenig über die molekularen Mechanismen bekannt, die für die Ausbildung der unterschiedlichen Eigenschaften der Muskelzellen verantwortlich sind. Das Baseler Forscherteam konnte nun zeigen, dass ein Protein namens Raptor die Bildung der Mitochondrien steuert und die Kontraktionseigenschaften von langsam kontrahierenden Muskelfasern beeinflusst. Raptor kontrolliert zudem den Aufbau des Zellskeletts und den Nährstoffgehalt von schnell kontrahierenden Fasern. Fehlt Raptor, gerät der Stoffwechsel der Muskelfasern so stark durcheinander, dass die Zellen zugrunde gehen können. Möglicherweise können nun Medikamente entwickelt werden, die gezielter in die Stoffwechselprozesse der Muskelfasern eingreifen. Die Arbeit wirft zudem die Frage auf, ob ein häufig verwendetes Medikament zur Immunsuppression, welches Raptor hemmt, einen negativen Einfluss auf die Muskulatur haben könnte.

Originalpublikation:  
Bentzinger CF, Romanino K, Cloëtta D et al. (2008) Skeletal muscle-specific ablation of raptor, but not of rictor, causes metabolic changes and results in muscle dystrophy cell metabolism. *Cell Metab.* 8(5):411-24

Quelle:  
Universität Basel,  
[www.unibas.ch](http://www.unibas.ch)