

Vpliv interakcij med gostiteljem in mikrobi na genetsko arhitekturo kronične vnetne črevesne bolezni

Nature. 2012 Nov 1;491(7422):119-24

doi:10.1038/nature11582

Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease

A list of authors and their affiliations appears at the end of the paper.

Crohn's disease and ulcerative colitis, the two common forms of inflammatory bowel disease (IBD), affect over 2.5 million people of European ancestry, with rising prevalence in other populations¹. Genome-wide association studies and subsequent meta-analyses of these two diseases^{2,3} as separate phenotypes have implicated previously unsuspected mechanisms, such as autophagy⁴, in their pathogenesis and showed that some IBD loci are shared with other inflammatory diseases⁵. Here we expand on the knowledge of relevant pathways by undertaking a meta-analysis of Crohn's disease and ulcerative colitis genome-wide association scans, followed by extensive validation of significant findings, with a combined total of more than 75,000 cases and controls. We identify 71 new associations, for a total of 163 IBD loci, that meet genome-wide significance thresholds. Most loci contribute to both phenotypes, and both directional (consistently favouring one allele over the other)

ulcerative colitis and Crohn's disease. We have increased the total disease variance explained (variance being subject to fewer assumptions than heritability⁷) from 8.2% to 13.6% in Crohn's disease and from 4.1% to 7.5% in ulcerative colitis (Supplementary Methods 1c). Consistent with previous studies, our IBD risk loci seem to act independently, with no significant evidence of deviation from an additive combination of log odds ratios.

Our combined genome-wide analysis of Crohn's disease and ulcerative colitis enables a more comprehensive analysis of disease specificity than was previously possible. A model-selection analysis (Supplementary Methods 1c) showed that 110 out of 163 loci are associated with both disease phenotypes; 50 of these have an indistinguishable effect size in ulcerative colitis and Crohn's disease, whereas 60 show evidence of heterogeneous effects (Table 1). Of the remaining loci, 30 are classified as Crohn's-disease-specific and 23 as ulcerative-colitis-specific. However,

Luke Jostins^{1*}, Stephan Ripke^{2,3*}, Rinse K. Weersma⁴, Richard H. Duerr^{5,6}, Dermot P. McGovern^{7,8}, Ken Y. Hui⁹, James C. Lee¹⁰, L. Philip Schumm¹¹, Yashoda Sharma¹², Carl A. Anderson¹, Jonah Essers¹³, Mitja Mitrović^{14,15}, Kaida Ning¹², Isabelle Cleyneen¹⁶, Emilie Theate^{17,18}, Sarah L. Spain¹⁹, Soumya Raychaudhuri^{20,21,22}, Philippe Goyette²³, Zhi Wei²⁴, Clara Abraham¹², Jean-Paul Achkar^{25,26}, Tariq Ahmad²⁷, Leila Amininejad²⁸, Ashwin N. Ananthakrishnan²⁹, Vibeke Andersen³⁰, Jane M. Andrews³¹, Leonard Baidoo⁵, Tobias Balschun³², Peter A. Bampton³³, Alain Bitton³⁴, Gabrielle Boucher²³, Stephan Brand³⁵, Carsten Büning³⁶, Ariella Cohain³⁷, Sven Cichon³⁸, Mauro D'Amato³⁹, Dirk De Jong⁴, Kathy L. Devaney²⁹, Marla Dubinsky⁴⁰, Cathryn Edwards⁴¹, David Ellinghaus³², Lynnette R. Ferguson⁴², Denis Franchimont²⁸, Karin Fransen^{5,43}, Richard Geary^{44,45}, Michel Georges¹⁷, Christian Gieger⁴⁶, Jürgen Glas³⁴, Talin Haritunians⁸, Ailsa Hart⁴⁷, Chris Hawkey⁴⁸, Matija Hedič¹², Xinli Hu²⁰, Tom H. Karlsen⁴⁹, Limas Kupcinskas⁵⁰, Subra Kugathasan⁵¹, Anna Latiano⁵², Debby Laukens⁵³, Ian C. Lawrance⁵⁴, Charlie W. Lees⁵⁵, Edouard Louis¹⁸, Gillian Mahy⁵⁶, John Mansfield⁵⁷, Angharad R. Morgan⁴², Craig Mowat⁵⁸, William Newman⁵⁹, Orazio Palmieri⁵², Cyriel Y. Ponsioen⁶⁰, Uroš Potočnik^{14,61}, Natalie J. Prescott¹⁹, Miguel Regueiro⁵, Jerome I. Rotter⁸, Richard K. Russell⁵², Jeremy D. Sanderson⁶³, Miquel Sans^{64,65}, Jack Satsangi⁵⁵, Stefan Schreiber^{32,66}, Lisa A. Simms⁵⁷, Jurgita Sventoraityte⁵⁰, Stephan R. Targan⁷, Kent D. Taylor^{7,8}, Mark Tremelling⁶⁸, Hein W. Verspaget⁶⁹, Martine De Vos⁵³, Cisca Wijmenga⁴³, David C. Wilson^{62,70}, Juliane Winkelmann⁷¹, Ramnik J. Xavier^{29,72}, Sebastian Zeissig⁶⁶, Bin Zhang³⁷, Clarence K. Zhang⁷³, Hongyu Zhao⁷³, The International IBD Genetics Consortium (IBDGC)†, Mark S. Silverberg⁷⁴, Vito Annesse^{52,75}, Hakon Hakonarson^{76,77}, Steven R. Brant⁷⁸, Graham Radford-Smith^{57,79}, Christopher G. Mathew¹⁹, John D. Rioux²³, Eric E. Schadt³⁷, Mark J. Daly²³, Andre Franke³², Miles Parkes¹⁰, Severine Vermeire^{16,80}, Jeffrey C. Barrett^{1*} & Judy H Cho^{9,12*}



Uroš Potočnik, Mitja Mitrovič

Center za humano molekularno genetiko in farmakogenomiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru
Laboratorij za biokemijo, molekularno biologijo in genomiko, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo

Predstavitev izjemnih znanstvenih dosežkov za leto 2012-ARRS, Ljubljana, September 2013

Kronična vnetna črevesna bolezen (KVČB)

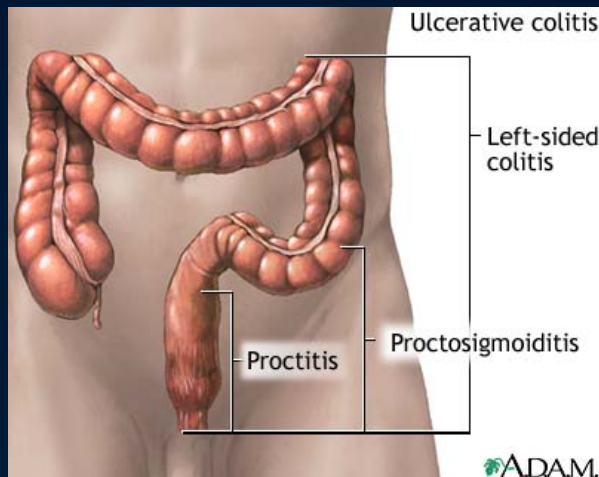
- vnetja v debelem črevesu in celotni prebavni cevi: bolečine in krči v trebuhu, pogosta izločanja mehkejšega, vodenastega ali krvavega blata ter hujšanje, pri mlajših bolnikih celo zaostajanje v rasti
- Zagoni boleznin in obdobja mirovanja, ki se dosežejo in vzdržujejo z ustreznimi zdravili
- 30% neodzivnikov na terapijo-operacija
- tveganje za črevesni rak
- V SLO 4000-5000 KVČB bolnikov

•Ulcerozni kolitis

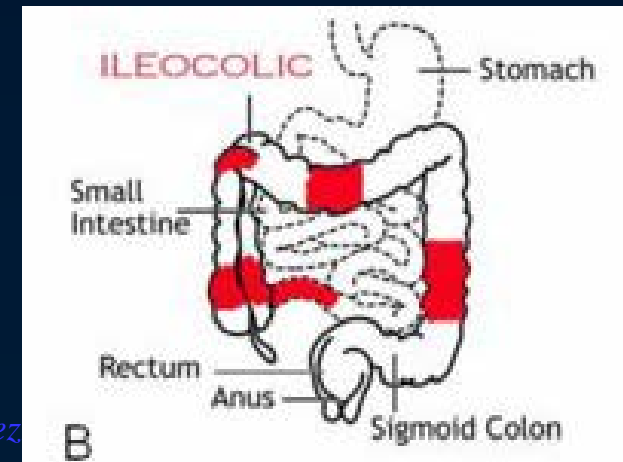
- prevalenca 2/1000
- Prizadeto široko črevo, danka

•Crohnova bolezen

- prevalenca 1-2/1000 ali 0,15% bele populacije
- vnetje po celotni prebavni cevi z vmesnimi prekinitvami
- komplikacije- fistula



Endoskopska slika napredovane bolezni – pseudopolipi, globoka ulceracija



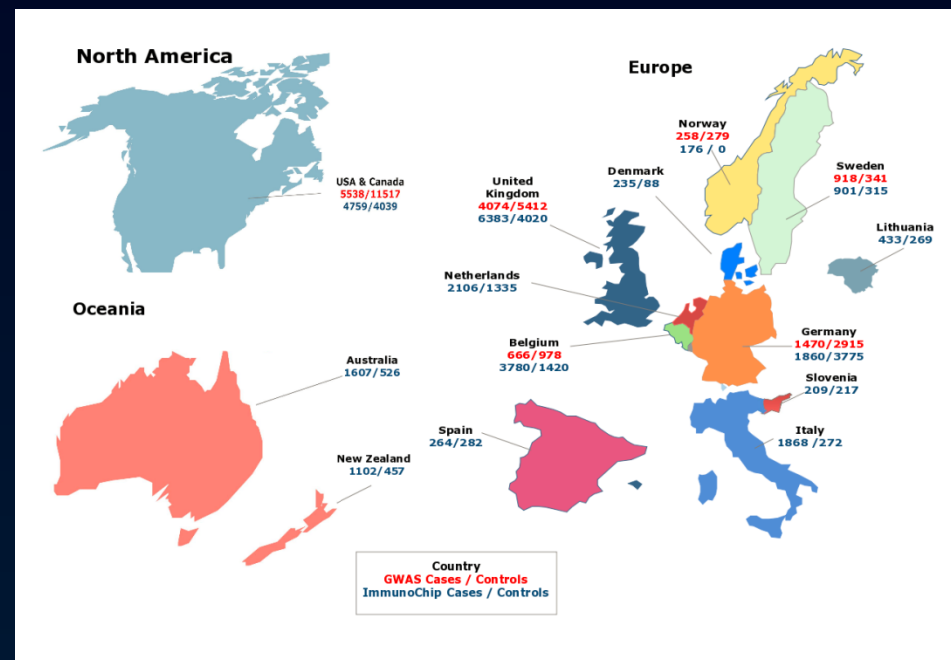
Genetika KVČB



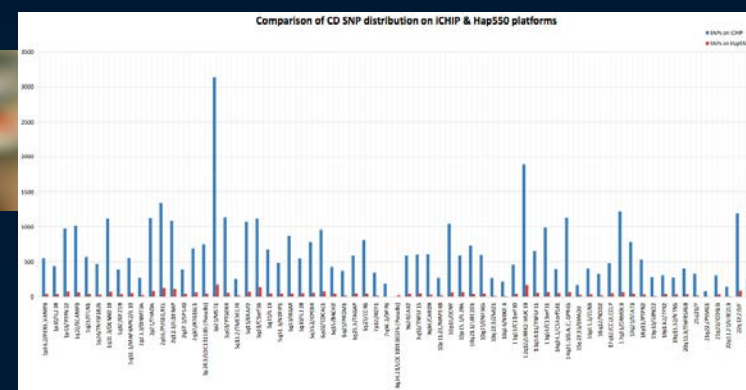
- Študije dvojčkov: dedni faktor CB (~80%), UK (~50%)
- Kompleksna bolezen: številni geni in dejavniki okolja (prehrana, kajenje, stanje imunskega sistema, črevesna mikroflora)
- avtoimunska bolezen: odziv imunskega sistema na lastno mikrofloro pri genetsko predisponiranem posamezniku
- NOD2/CARD15 na 16q (IBD1)-prvi potrjeni gen za CB
 - 3020 ins C: 0.08 (CD), 0.02 (kontrolna skupina), 0.02 (UC), G908R, R702W
 - prepoznavanje bakterijskih peptidov in sproženje signala za apoptozo preko faktorja NFkappaB
- Asociacijske študije v celotnem genomu (GWA) in metastatistična analiza potrdila 92 IBD lokusov, ki pojasnijo ~10% dednega dejavnika
- globoko masovno tarčno resekvenčiranje (NGS) 56 lokusov, ki so se v predhodnih GWAs študijah izkazali najbolj statistično značilno povezani KVČB >> nove redke mutacije najverjetneje vzročne za nastanek KVČB v 8 genih: NOD2/CARD15, IL23R, CARD9, IL18RAP, CUL2, C1orf106, PTPN22 in MUC19 (Rivas MA, ...Potocnik U, Mitrovic M, ...et al. *Nat Genet.* 2011 Oct 9;43(11):1066-73)

„International Inflammatory bowel disease genetic consortium (IIBD-GC)“ in projekt ImmunoChip (iCHIP)

- 75.000 bolnikov s KVČB in zdravih posameznikov v kontrolni skupini iz 18 skupin prebivalcev iz Evrope, ZDA in Avstralije
- Genotipizacija izvedena s specializirano mikromrežo ImmunoChip (iCHIP): cca 200 000 SNP
 - Najpomembnejši SNPs iz 186 lokusov povezanimi s 12 sorodnimi kroničnimi imunskimi boleznimi: celiakija, revmatoidni artritis, sladkorna, ankilozirajoči spondilitis, luskavica, astma...
 - Vključene redke variacije; $MAF < 5\%$ (38 %), $MAF < 2\%$ (30 %) pridobljene iz projekta 1000 genomov in s podrobnim tarčnim rekvenciranjem bolezenskih lokusov
 - 20x30 večja pokritostjo kot splošne mikromreže, ki se najpogosteje uporabljajo za GWAs študije kot je npr. Hap550 (Illumina)



Nature, 2012 Nov 1;491(7422):119-24



Rezultati

- 163 lokusov povezanih s KVČB
 - 71 odkritih na novo, 92 potrjenih iz predhodnih študij
 - 110 povezanih z obema podtipoma bolezni, 30 samo s Crohnovo, 23 samo z ulceroznim kolitisom
 - V skoraj vseh skupnih genih enak rizični alel, Izjema PTPN22 in NOD2, kjer isti alel oblika pri enem podtipu pomeni večje tveganje za bolezen, pri drugem pa večjo zaščito pred boleznijo>>razlike v patogenezi



Rezultati & zaključki

- 82% polimorfizmov SNP, povezanih z boleznijo, se nahaja v nekodirajočih območjih gena ali celo v „genskih puščavah“
 - za 48% nekodirajočih polimorfizmov, povezanih z boleznijo, smo dokazali povezavo s področji, ki zadevajo uravnavanje izražanja genov
- Z bioinformatično analizo molekularno-genetskih mrež vzporednega izražanja in razvrščanja genov v hierarhične skupine po funkcijski podobnosti (genska ontologija) smo ugotovili, da je večina genov in bioloških poti, po katerih poteka patogeneza te bolezni, enakih tistim, ki jih celice uporabljajo za odziv na okužbo z mikrobi. To nakazuje, da so na razvoj genetske nagnjenosti za KVČB močno vplivale prejšnje okužbe z mikrobi

Rezultati & zaključki

- Z odkritjem 163 genov povezanih s KVČB smo pojasnili ~20% dednega dejavnika za KVČB
- 113 /163 (69%) lokusov, povezanih s KVČB, povezanih tudi z eno ali več drugimi kroničnimi imunskimi boleznimi, kar nakazuje, da imajo različne kronične imunske bolezni skupne številne molekularnobiološke procese
 - največje ujemanje genov za KVČB je bilo z geni za ankilozirajoči spondilitis in luskavico
- Odkritje genov za KVČB pospešuje nadaljnje funkcijske študije za odkritje sprožilcev, ki aktivirajo signalne poti, da celice sprožijo avtoimunski odziv v stiku z mikrobi normalne črevesne flore

Zahvala



Javna agencija
za raziskovalno dejavnost
Republike Slovenije

J3-2175 »Genetski dejavniki tveganja in farmakogenomika
kronično vnetne črevesne bolezni« (2009-2012)

Center za humano molekularno genetiko in farmakogenomiko,
Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Mitja Mitrovič
Katja Repnik
Petra Perin
Carina Pinto Kozmus
Larisa Zemljič



- University of Groningen, Faculty of Medicine, Groningen, Neatherlands
 - Rinse Weersma
- University Clinical center Maribor, Slovenia
 - Silvo Koder, Pavel Skok, Cvetka Pernat
- *University Clinical Center Ljubljana, Gastroenterological Clinic, Ljubljana, Slovenia*
 - Ivo Ferkolj