



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Candidate gene studies in rheumatoid arthritis

Daha, N.A.

Citation

Daha, N. A. (2015, May 28). *Candidate gene studies in rheumatoid arthritis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/33078>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/33078>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden

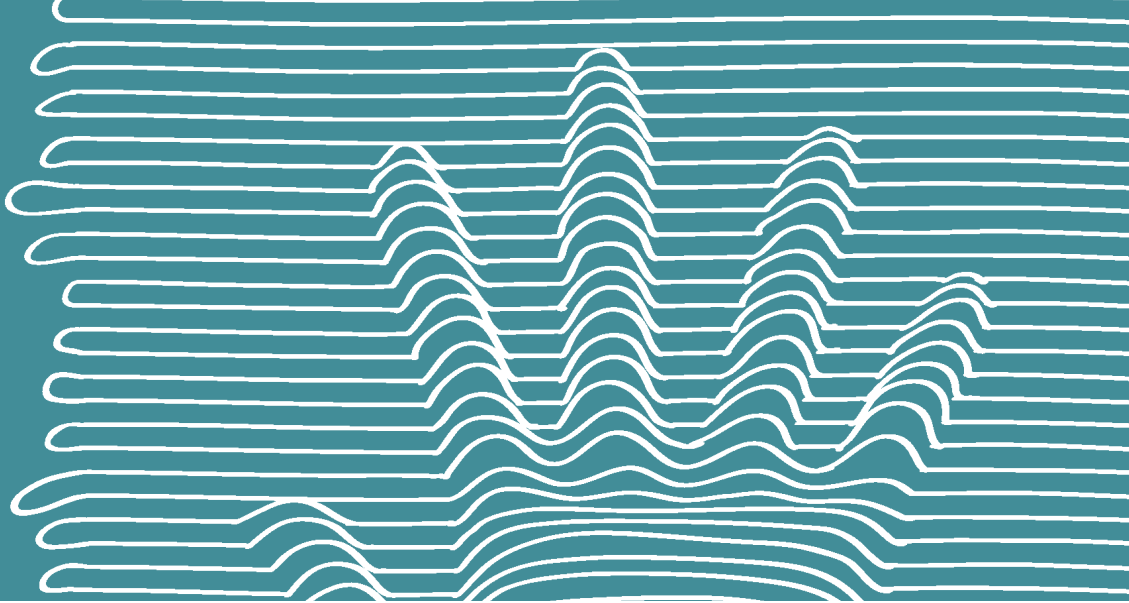


The handle <http://hdl.handle.net/1887/33078> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Daha, Nina Ashira

Title: Candidate gene studies in rheumatoid arthritis

Issue Date: 2015-05-28





CHAPTER 10

Nederlandse samenvatting

Reumatoïde artritis (RA) is een veel voorkomende auto-immuun aandoening waarbij een chronische ontsteking van de gewrichten een centrale rol speelt. Ondanks een nog grotendeels onbekende etiologie, is het bekend dat zowel genetische- als omgevingsfactoren een rol spelen bij het ontstaan van de ziekte.

In dit proefschrift worden verscheidene studies beschreven, die de rol van genetica binnen de etiologie van RA bestuderen.

Reumatoïde artritis

RA is een auto-immuun aandoening die gekarakteriseerd wordt door een chronische ontsteking van het synovium, wat kan lijden tot beschadiging van het kraakbeen en subchondraal bot met als gevolg misvormingen en invaliditeit. In de westerse wereld is ongeveer 0,5-1% van de volwassen populatie gediagnosticeerd met deze aandoening. Het komt vaker voor bij vrouwen dan bij mannen en de prevalentie neemt toe met de leeftijd.

Patiënten presenteren zich vaak met gezwollen en pijnlijke gewrichten, waarbij voornamelijk de kleine hand- en voetgewrichten zijn aangedaan. Karakteristiek voor een beginnende RA is een symmetrische ontsteking van deze gewrichten.

De belangrijkste pijler binnen de behandeling van RA is de zogenaamde Disease Modifying Anti Rheumatic Drugs (DMARDs), wat een heterogene groep van therapeutische middelen omvat waarvan het werkingsmechanisme grotendeels onbekend is. Daarnaast speelt de groep van biologicals, zoals tumor necrosis factor (TNF) blokkers een belangrijke rol in het effectief onderdrukken van de ontsteking. Tegenwoordig kan hierdoor, bij het grootste deel van de patiënten, onderdrukking van de chronische ontsteking worden bewerkstelligd met als gevolg het beperken van gewrichtsschade en invaliditeit.

Pathofysiologie

Door infiltratie van inflammatoire cellen, zoals macrofagen, T- en B-cellen in het synoviale weefsel van RA patiënten vindt een sterke toename van dit weefsel plaats. Ter plaatse van de overgang van dit synoviale weefsel naar kraakbeen kan het ontstoken weefsel lokaal ingroeien en ontstaat het zogenoemde pannus weefsel, wat schade aan kraakbeen en bot en vorming van erosies tot gevolg heeft. Daarnaast zorgt deze chronische ontsteking voor een diffuse afbraak van kraakbeen, wat leidt tot gewrichtsspleet versmalling.

RA wordt algemeen beschouwd als een auto-immuunziekte, gezien de aanwezigheid van auto-antilichamen en auto-reactieve T-cellen in zowel het perifere bloed, als in synoviaal vocht. Deze anti-lichamen zijn reeds aanwezig in de eerste stadia van de ziekte en kunnen enkele jaren voor het ontstaan van de ziekte al worden aangetoond.

Het klassieke auto-antilichaam binnen RA is reuma factor (RF). Dit antilichaam bindt aan het Fc gedeelte van immuunglobuline G, waarbij het een belangrijke rol speelt in complement activatie en interactie met Fc receptoren. De precieze rol van RF binnen de pathofysiologie van RA is nog grotendeels onbekend. De sensitiviteit varieert tussen de 60 en 70% en de specificiteit tussen de 50 en 90%.

Een ander belangrijk auto-antilichaam binnen RA is Anti Citrullinated Peptide Antibody (ACPA) wat gericht is tegen gecitrullineerde eiwitten. Deze eiwitten ontstaan na post-translationale modificatie van eiwit gebonden arginine.

De rol van deze antilichamen binnen de pathofysiologie van RA is nog grotendeels onbekend, maar mogelijk spelen deze antilichamen een belangrijke rol in de etiologie van de ziekte.

Risicofactoren

Bij de ontwikkeling van RA spelen zowel omgevings- als genetische factoren een belangrijke rol. Uit studies is gebleken dat ongeveer 50% toebedeeld kan worden aan erfelijke factoren, waarvan het human leukocyte antigen (HLA) locus het belangrijkste is. Als gevolg van nieuwe genotyperingstechnieken is de identificatie van genetische risicofactoren die geassocieerd zijn met de ziekte de afgelopen jaren in een sneltreinvaart verlopen. Momenteel zijn ruim honderd genetische variaties geïdentificeerd die associëren met het hebben RA.

In dit proefschrift onderzochten we de contributie van verschillende genetische varianten die buiten het HLA locus zijn gelegen.

Genetische risicofactoren

Replicatiestudies

Nadat aangetoond is dat een bepaalde genetische variatie associeert met het hebben van RA, is het van belang deze associatie ook in andere cohorten te onderzoeken en zo de vals positieve bevindingen te identificeren. In zowel hoofdstuk twee als drie worden twee van deze replicatiestudies beschreven. In **hoofdstuk twee** worden drie, eerder geïdentificeerde genetische variaties, respectievelijk STAT4, CTLA4 en IL2/IL21, onderzocht op associatie binnen een Nederlands cohort van RA patiënten. Voor alle drie de varianten kon een associatie worden aangetoond zowel in het Nederlandse cohort, als in een meta-analyse van alle tot dan toe gepubliceerde studies. Binnen de gedachte dat ACPA positieve RA mogelijk een andere pathofysiologie kent dan ACPA negatieve RA, is ook onderzocht of deze varianten verschillend associeerden binnen deze twee patiënten groepen. Gezien het feit dat er onvoldoende data beschikbaar was voor een gedegen uitspraak over de associatie met IL2/IL21 is dit locus hiervoor buiten beschouwing gelaten. Wel kon worden aangetoond dat de associatie van CTLA4 met name lijkt bij te dragen in de ACPA positieve patiëntengroep, in tegenstelling tot STAT4, die in beide patiëntengroepen associeert met het hebben van RA.

In **hoofdstuk drie** werd een andere replicatie studie uitgevoerd, waarbij onderzocht werd of twee genetische varianten, gelegen in de IL2RA en IL2RB loci, geassocieerd waren met RA in een Nederlands cohort. Voor beide variaties kon deze associatie worden aangetoond, een aanwijzing dat de IL2 pathway een rol speelt in de pathofysiologie van RA.

Interactie

Een bepaalde genetische variatie gelegen in het HLA locus, de zogenaamde shared epitope (SE) allelen, komen vaker voor bij patiënten met RA in vergelijking met gezonde controles. Dit zijn de eerst aangetoonde genetische variaties die associëren met RA en zijn

nog steeds de belangrijkste erfelijke component. Het is bekend dat binnen een Noord-Amerikaanse inheemse bevolkingsgroep uit centraal Canada deze SE allelen frequenter voorkomen, waarbij binnen deze groep ook een hogere prevalentie van RA bestaat. In **hoofdstuk vier** is onderzocht of het hebben van deze SE allelen in combinatie met een van de andere, tot dan toe bekende, associërende genetische variaties een hogere kans gaf op het hebben van RA. Hierbij is gezien dat de aanwezigheid van HLA-DRB1 in combinatie met de genetische variatie gelegen in het C5-TRAF locus, sterker associeerde met het hebben van RA dan beide genetische variaties apart van elkaar. De reeds bekende associatie met MMEL-1 liet echter een verminderde associatie met RA zien binnen de HLA-DRB1 positieve patiënten groep. Deze studie toont hiermee een modulerend effect van de genen, gelegen buiten het HLA gebied, aan.

Kandidaat gen studies

Naast het onderzoeken van de reeds bekende associërende genetische variaties is het van groot belang om nieuwe associaties te ontdekken. Dit kan gedaan worden door uitgebreide, niet hypothese gedreven, studies uit te voeren, waarbij genen gelegen over het gehele genoom worden getest in grote patiënt cohorten. Nadelig hiervan zijn de hoge kosten die dit met zich meebrengt, met name in de eerste dagen van introductie van deze nieuwe technieken. Een andere benadering is om hypothese gedreven een specifiek gen van interesse te onderzoeken. In **hoofdstuk vijf** is op laatstgenoemde wijze een kandidaat gen onderzoek gedaan naar genetische variaties gelegen op het VTCN1 locus. Uit eerder onderzoek was gebleken dat VTCN1, wat codeert voor B7-H4, een negatieve regulator van T-cel activiteit, associeert met juveniele idiopathische artritis. Kort voor start van het onderzoek was een studie gepubliceerd, waarin werd beschreven dat hoge levels B7-H4 frequenter werden waargenomen in RA patiënten dan in gezonde controles en dat dit geassocieerd was met een hogere ziekte activiteit. In dit hoofdstuk werd een significante associatie aangetoond met het hebben van RA in vergelijking met gezonde controles in een Nederlands cohort. Replicatie van onze bevindingen in twee Scandinavische cohorten liet een vergelijkbare associatie zien. Na een stratificatie voor ACPA status, kon worden aangetoond dat deze genetische associatie met name was toe te schrijven aan een associatie van VTCN1 met de ACPA negatieve groep van RA.

In **hoofdstuk zes** wordt een andere kandidaat gen studie besproken, waarbij de associatie van het prostaglandine E synthase (PTGES) gen met RA werd onderzocht. PTGES codeert voor microsomaal prostaglandine E2, wat een belangrijke rol speelt bij ontsteking. In zowel een Zweeds als een Nederlands cohort is gekeken naar de associatie van verschillende genetische variaties met RA. Hierbij werd in het Zweedse cohort gevonden dat een bepaalde genetische variatie vaker voorkwam bij vrouwen met RA, dan bij gezonde vrouwelijke controles. In een meta-analyse, waarbij het Nederlandse cohort werd geïnccludeerd, kon deze associatie ook worden aangetoond. Tenslotte werd gezien dat het genotype dat associeerde met een hogere DAS28, een maat voor de ziekte activiteit, een hogere expressie van mPGES-1 in synoviaal weefsel gaf. Deze bevindingen laten zien dat dit gen mogelijk een rol speelt in de pathofysiologie van ontsteking bij RA.

In **hoofdstuk zeven** wordt een studie beschreven waar de genetische associatie tussen het C1q gen en RA wordt onderzocht. Uit eerdere studies was gebleken dat complement mogelijk een rol speelt in RA. Zo zijn in het synovium van RA patiënten complement deposities gevonden en bestaat een correlatie tussen ziekte activiteit en de aanwezigheid van aan C1q gebonden, geactiveerde complement fragmenten.

In de studie in hoofdstuk zeven zijn meerdere genetische variaties bepaald in een Nederlands cohort van RA patiënten en gezonde controles en bleek een van de geteste variaties te associëren met het hebben van RA. Deze genetische variatie is vervolgens in verschillende andere cohorten en in een meta-analyse onderzocht, waarbij deze bevinding werd gerepliceerd. Tevens werd gevonden dat deze genetische variatie gecorreleerd is aan C1q levels in gezonde controles, wat impliceert dat deze variatie van invloed is op de C1q productie.

Het complementsysteem

Zoals boven genoemd spelen auto-antilichamen een belangrijke rol in de pathofysiologie van RA. Gezien in hoofdstuk zeven een aanwijzing is gevonden dat C1q mogelijk een rol speelt in de pathofysiologie van RA en de associërende genetische variatie van invloed is op de productie van C1q, is het in het laatste hoofdstuk, **hoofdstuk acht**, een studie ingevoegd waarin de bestaande literatuur over complement activatie door (auto-)antilichamen op een rij is gezet. Hierin wordt een overzicht gegeven van de huidige kennis op dit gebied en wordt beschreven dat complement activatie via de drie verschillende pathways van activatie kan verlopen en niet alleen, zoals bekend, via de klassieke route middels C1q binding aan de Fc regio's van IgG en IgM.

Conclusie

In het huidige proefschrift is de bijdrage van genetische variaties gelegen in non-HLA genen onderzocht op hun rol in de pathofysiologie van RA. In de beschreven studies is een aantal eerder geïdentificeerde risicofactoren verder onderzocht en kon op deze wijze een statisch robuuste onderbouwing worden geleverd voor de associatie met RA. Ook zijn nieuwe genetische risicofactoren beschreven, waarbij enkele specifiek geassocieerd zijn met subgroepen van de ziekte. In navolging van de beschreven studies zal onderzocht moeten worden wat de betekenis van de beschreven genetische variaties is voor het ontstaan en het chronische karakter van RA.