



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Generalised Osteoarthritis: from Mendelian Disorder to Complex Disease

Min, J.L.

### Citation

Min, J. L. (2007, January 17). *Generalised Osteoarthritis: from Mendelian Disorder to Complex Disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/8782>

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/1887/8782>

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

## 7.1 Introductie

Artrose is de meest voorkomende gewrichtsaandoening van het bewegingsapparaat. Tijdens het artroseproces vindt er afbraak van gewrichtskraakbeen en vorming van nieuw bot (osteofyten) plaats hetgeen op rontgenfoto's zichtbaar is. Artrose komt voornamelijk voor in de gewrichten van de wervelkolom, handen, knieën en heupen en kan pijn, zwellingen en stijfheid van het gewricht veroorzaken. Veel van de onderliggende oorzaken van artrose zijn nog onbekend. Wel is bekend dat er gedurende het artroseproces een verstoorde balans tussen aanmaak en afbraak van extracellulaire matrixcomponenten in het gewricht plaatsvindt waardoor matrixdegeneratie optreedt.

Artrose is een heterogene complexe ziekte en wordt veroorzaakt door een combinatie van meerdere genetische en omgevingsfactoren (o.a. leeftijd, geslacht, overgewicht, overbelasting en eerdere gewrichtsbeschadiging). Wereldwijd zijn er patiëntengroepen op basis van uiteenlopende definities verzameld en zijn er al meerdere genen en chromosomale gebieden voor artrose gevonden. Het is onduidelijk of deze genen mogelijk een rol spelen in andere subvormen van artrose. In het genetische onderzoeksveld is het tot op heden niet duidelijk welke definitie van artrose gebruikt moet worden. De reden hiervoor is dat het onbekend is of specifieke genetische factoren kunnen leiden tot alleen artrose in meerdere gewrichten (gegeneraliseerde artrose) of ook tot artrose in specifieke gewrichten zoals knie- of heupartrose.

## 7.2 Studie-opzet

De studies beschreven in dit proefschrift zijn gericht op het vinden van genetische factoren, die een rol spelen in het ontstaan van zowel zeldzame als veelvuldig voorkomende vormen van gegeneraliseerde en gelokaliseerde artrose. Identificatie van deze varianten kan inzicht in het artroseproces verbeteren en classificatie van artrosepatiënten ondersteunen. Verschillende studiegroepen met artrose werden onderzocht. Voor de eerste groep werd gebruik gemaakt van een willekeurige steekproef onder de Rotterdamse bevolking van of 1,369 personen tussen de 55 en 70 jaar of 809 personen tussen de 55 en 65 jaar. De tweede groep bestaat uit broer-

zusparen (tussen 40 en 70 jaar), met klinische en radiologische artrose in twee of meer gewrichtsgroepen (GARP studie). De laatste groep bestaat uit zeven grote families met zeldzame juveniele artrose in meerdere gewrichtsgroepen tegelijkertijd. In elk van deze studies werden de kenmerken van artrose vastgesteld in de handen, knieën, heupen en wervelkolom. De verschillende eigenschappen van deze studiegroepen maakte een complementaire aanpak mogelijk voor het vaststellen van de genetische factoren van de OA subtypes. De Rotterdamse steekproef is geschikt voor het opsporen van veelvoorkomende varianten met elk een laag risico. In de GARP studie kunnen varianten worden gedetecteerd met een matig risico op artrose bij gemiddelde leeftijd en in de families varianten met een groot effect op vroege leeftijd. Verschillende methoden werden gebruikt om varianten op te sporen: 1) associatie-analyse 2) genoomscans en koppelingsanalyse en 3) mutatie-analyse.

### ***Associatiestudie***

*Voor een associatiestudie heb je een grote groep personen nodig waarvan bekend is of ze artrose hebben of niet (zoals de Rotterdamse steekproef), een kandidaatgen en één of meerdere genvarianten. Zo'n genvariant kan enerzijds leiden tot een verandering in de activiteit of hoeveelheid van het genproduct en zo leiden tot ziekte. Anderzijds hoeft de onderzochte variant niet zelf de veroorzaker van artrose te zijn maar kan een andere variant in het gen of in een gen dat er vlakbij ligt en altijd samen met de variant overerft de werkelijke veroorzaker zijn. Een groepje van dergelijke varianten, die de neiging hebben gezamenlijk over te erven, wordt een haplotype genoemd. In een associatiestudie wordt de frequentie van een variant of een haplotype in artrosepatienten vergeleken met de frequentie in gezonde personen. Wanneer bij een groep artrosepatienten een bepaalde variant beduidend vaker voorkomt dan bij gezonde personen, dan is deze variant geassocieerd met het risico op artrose en mogelijk betrokken bij het ontstaan van artrose.*

## **7.3 Associatiestudies met *FRZB* en *MATN3***

In **hoofdstuk 3** werd er associatie-analyse uitgevoerd met het *FRZB* locus coderend voor het frizzled gerelateerd eiwit (**hoofdstuk 3.1**), en *MATN3* coderend voor het kraakbeenmatrix eiwit matrilin-3 (**hoofdstuk 3.2**). Varianten in deze genen werden al eerder in verband gebracht met het ontstaan van specifieke vormen van artrose in andere studies. In **hoofdstuk 3** werd geprobeerd deze eerder gevonden associaties te bevestigen maar ook verder te onderzoeken. Eerder onderzoek in een grote Engelse studie heeft uitgewezen dat twee varianten (R200W en R324G) in *FRZB* een verhoogd risico op heupvervanging geven bij vrouwen. Verder bleek dat de R324G variant functioneel was omdat het een belangrijk pathway in de skeletontwikkeling

in verhoogde mate activeert. Uit ons onderzoek bleek dat de variant was geassocieerd met veelvoorkomende gegeneraliseerde artrose zoals die in de Rotterdam en GARP studie is vastgesteld. De variant was echter niet geassocieerd met heupartrose. Het is echter niet duidelijk of de Engelse patiënten ook artrose in andere gewrichten dan heup hebben ontwikkeld.

Uit onderzoek onder de IJslandse bevolking is gebleken dat een zeldzame variant (T303M;SNP5) in het matrilin-3 gen geassocieerd was met symptomatische handartrose. Matrilin-3 is een component van de extracellulaire kraakbeen matrix. Varianten in dit gen zouden de stabiliteit van het kraakbeen kunnen verstoren. Uit ons onderzoek in de Rotterdamse steekproef en GARP studie bleek echter dat dragers van deze variant geen verhoogde kans hadden op handartrose. Dragers van deze variant in de Rotterdamse steekproef hadden daarentegen wel een verhoogde kans op discus degeneratie van de wervelkolom. Hiernaast werden ook vier andere varianten onderzocht die het grootste deel van de genetische variatie in het matrilin-3 gen omvat. In de GARP studie werd vastgesteld dat dragers van de variant (SNP6) en het bijbehorende haplotype in *MATN3* een verhoogd risico hadden op artrose in het eerste carpometacarpale gewricht (CMC1) gewricht van de hand. Dit suggereert dat de werkelijke veroorzaker van deze associatie samen met deze variant en haplotype overerft. Sequentie-analyse onder dragers van dit haplotype is nodig om de werkelijke veroorzakende variant in het ontstaan van artrose vast te stellen.

## **Genoomscan**

*Een tweede benaderingswijze voor het detecteren van genetische varianten is een genoomscan. Genoomscans worden uitgevoerd om nieuwe chromosomale locaties op te sporen waarin zich nog onbekende belangrijke genen bevinden die het ontstaan van artrose kunnen verklaren. Hiervoor worden over het gehele genoom op regelmatige afstand van elkaar genetische markers gemeten. Deze markers zijn variabele repeterende stukjes DNA die van lengte kunnen variëren zonder dat het een schadelijke werking heeft. Broers en zussen delen bijvoorbeeld gemiddeld 50% van hun erfelijk materiaal, maar als ze beiden artrose hebben die erfelijk is bepaald, is het te verwachten dat ze de artrose veroorzakende genvarianten zullen delen. Wanneer één of een paar markers in een bepaald chromosomaal gebied in een groot aantal aangedane broer-zusparen vaker wordt gedeeld dan 50% zou daar een variant dat artrose veroorzaakt moeten liggen. Zo'n analyse wordt een koppelingsanalyse in broer-zusparen genoemd. Een genoomscan kan ook gedaan worden in grote families met artrose. Dit berust op het principe dat familieleden met artrose gebieden rondom de mutatie gemeenschappelijk geërfd hebben van hun ouders. Wanneer familieleden met artrose in een bepaald gebied genetische markers van dezelfde lengte hebben, is het waarschijnlijk dat in dit gebied een mutatie dat artrose veroorzaakt moet liggen. Na het bepalen van de chromosomale posities begint het tijdrovende proces om binnen dit gebied het verantwoordelijke gen en de varianten in dit gen die artrose veroorzaken op te sporen.*

## 7.4 Genoomscan in Nederlandse broer-zusparen (de GARP studie)

**Hoofdstuk 4** beschrijft de resultaten van een genoomscan in de broer-zusparen met klinische artrose in meerdere gewrichten (GARP studie). Met behulp van een koppelingsanalyse werd suggestief bewijs gevonden dat op chromosoom 14q32.11 een gen ligt dat artrose kan veroorzaken (LOD score 2.37). In dit chromosomale gebied liggen meerdere kandidaatgenen waaronder: 1) calmodulin (*CALM1*), 2) fibronectine leucine rijk transmembraan eiwit 2 (een kraakbeencomponent) (*FLRT2*), 3) iodothyronine deionidase enzym type 2 (*DIO2*). Opmerkelijk genoeg was er recent een functionele variant in het *CALM1* gen gedetecteerd, die geassocieerd was met heupartrose in de Japanse bevolking. Uit ons onderzoek bleek dat de koppeling op chromosoom 14 niet verklaard kon worden door genetische variatie in het *CALM1* of *FLRT2* gen. Uit twee verschillende genetische analyses bleek echter dat variatie in *DIO2* een deel van de koppeling kon verklaren. In de eerste analyse, een gecombineerde koppelings-associatieanalyse, werd onderzocht of dragers van een bepaald genvariant een deel van de koppeling kon verklaren. In de tweede analyse werd de frequentie van de *DIO2* varianten in het deel van de broer-zusparen die genetisch gezien gelijk zijn op chromosoom 14q32.11 vergeleken met personen uit de Rotterdamse steekproef. Uit beide analyses bleek dat de rs225014 variant ( $P = 0.02$ ) en het corresponderende haplotype CCGC ( $P = 0.05$ ) een deel van de koppeling kon verklaren. Het *DIO2* gen reguleert het thyroid hormoon metabolisme in de groeiplaat van bot. Deze bevinding impliceert voor het eerst dat het thyroid hormoon metabolisme in de groeiplaat van bot betrokken kan zijn bij het ontstaan van artrose in meerdere gewrichten. Deze bevindingen moeten nu bevestigd worden in andere artrosepopulaties.

## 7.5 Families met vroege gegeneraliseerde artrose

**Hoofdstuk 5** beschrijft een genoomscan en een daaropvolgende mutatie-analyse in zeven families waarin gegeneraliseerde artrose voorkomt op jonge leeftijd en overerft volgens een dominant Mendeliaans patroon. Middels een genoomscan in deze families werd er koppeling gevonden op chromosoom 2q33.3-2q34 (LOD score 6.05). Dit hoge koppelingssignaal zou verklaard kunnen worden door een of meerdere zeldzame mutaties in een van de 30 genen die in dit gebied liggen (**hoofdstuk 5.1**). **Hoofdstuk 5.2** beschrijft een mutatie-analyse in twintig van deze genen. Varianten werden opgespoord door het vaststellen en vergelijken van de basepaarvolgorde van twintig kandidaatgenen. Een mogelijk schadelijk effect van de gevonden varianten werd geëvalueerd door *in silico* methoden en het vaststellen van de frequentie en associatie met gegeneraliseerde artrose in de Rotterdamse steekproef.

Negen niet eerder gevonden varianten werden gevonden in *NRP2*, *KIAA1571*, *ADAM23*, *IDH1*, *PIP5K3* and *PTHR2*, die samen met artrose overerfden in één of meerdere families. Verdere validatie van deze varianten liet zien dat twee varianten in de genen *IDH1* en *NRP2* mogelijk oorzakelijk zijn betrokken bij het ontstaan van de juveniele artrose in de families. De functie van deze genen betreft respectievelijk het wegnemen van oxidatieve stress en het reguleren van de endochondrale botvorming tijdens de ontwikkeling van het skelet. De *IDH1* Y183C variant betrof een geconserveerd aminozuursubstitutie met een mogelijk schadelijk effect en een licht verhoogd risico op gegeneraliseerde artrose in de bevolking. De tweede variant erfde in drie families samen met artrose over en was geassocieerd met gegeneraliseerde artrose in de bevolking. Vanwege het lage risico op gegeneraliseerde artrose in de bevolking onder dragers van de *NRP2* en/of de *IDH1* variant is het niet waarschijnlijk dat drager zijn van één van deze varianten voldoende is om deze ernstige zeldzame vorm van artrose te veroorzaken. Deze varianten zouden echter samen met andere nog niet gevonden varianten een modulerende rol kunnen hebben.

## 7.6 Conclusie

Onze studies zijn uniek omdat artrose in vier gewrichtsgroepen werd gemeten. Onze resultaten benadrukken dat de tot nu toe gevonden genen aan meerdere vormen van artrose bijdragen. *FRZB* en *DIO2*, die betrokken lijken bij het ontstaan van ernstige symptomatische artrose in de GARP studie, duiden op een rol van endochondrale ossificatie bij het ontstaan van artrose op latere leeftijd. Endochondrale ossificatie (omzetting van kraakbeen tot bot) vindt plaats tijdens de ontwikkeling van het skelet en de vorming van osteofyten. Hierdoor zou endochondrale ossificatie zowel aan het ontstaan als aan de progressie van artrose kunnen bijdragen. Functionele studies zijn nodig om het exacte mechanisme van deze varianten en hun rol in het ontstaan van artrose vast te stellen.

