



Universiteit
Leiden
The Netherlands

On the relation between genetic variation and osteoarthritis

Hollander, W. den

Citation

Hollander, W. den. (2018, March 29). *On the relation between genetic variation and osteoarthritis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/60908>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/60908>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:

<http://hdl.handle.net/1887/60908>

Author: Hollander, W. den

Title: On the relation between genetic variation and osteoarthritis

Issue Date: 2018-03-29

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Wat betreft de kennisoverdracht naar collega's hebben wetenschappers een min-of-meer goed werkend systeem, namelijk het schrijven, onderling toetsen en uiteindelijk publiceren van resultaten in academische tijdschriften en het presenteren ervan op conferenties. Tegelijkertijd zijn wetenschappers lang niet altijd even goed in staat om uit te leggen waarom wij doen wat we doen. En dat terwijl ik het wel ethisch noodzakelijk acht dat wetenschappelijke bevindingen, welke niet tot stand had kunnen komen zonder geld en middelen uit de samenleving, hun weg terug moet vinden daarnaartoe. Daarom zal ik in deze sectie pogen om het gedane werk en de daaruit volgende resultaten, beschreven in het wetenschappelijke deel van dit proefschrift, zodanig uiteen te zetten opdat ik een graag geziene gast blijf op niet-wetenschappelijke bijeenkomsten.

Artrose is een aandoening van de gewrichten, gekarakteriseerd door vernauwing van de gewrichtspleet, ontsteking en onomkeerbare afbraak en verbening van het kraakbeen. Gedurende het leven zijn kraakbeen cellen (chondrocyten) in staat om beschadigingen in het kraakbeen te herstellen door actief het extracellulaire weefsel af te breken en weer op te bouwen. Het vermogen van chondrocyten om het gewrichtskraakbeen te herstellen is echter niet onuitputtelijk en na verloop van tijd zullen beschadigingen zich ophopen in het kraakbeen. Hierdoor ervaren patiënten een geleidelijke afname van functionaliteit van het gewricht, wat zich uit in verlies van bewegingsvrijheid en uiteindelijk in pijn. Ondanks relatief succesvolle behandelmethoden voor patiënten in het eindstadium van de ziekte, namelijk het vervangen van het gewricht door een prothese, zijn we niet in staat om de ziekte in een vroeg, symptoomvrij stadium te herkennen en/of te voorkomen dat er verdere schade aan het gewricht optreedt. Dit proefschrift richt zich op het in kaart brengen van de processen in chondrocyten die bijdragen aan mechanismen waarmee deze cellen kraakbeenschade proberen te herstellen; mechanismen die op latere leeftijd verloren lijken te gaan.

Eerder is beschreven dat chondrocyten in artrotisch kraakbeen een afwijkend genexpressie profiel hebben; genen betrokken bij het afbreken en opbouwen van het weefsel lijken niet meer in balans. Eén van de mechanismen waarmee cellen hun genexpressie profiel dynamisch aanpassen in reactie op veranderingen in hun omgeving, is het aanbrengen of verwijderen van methyl-groepen op specifieke locaties in het genoom. Het (de)methyleren van deze cytosine-guanine nucleotide paren (CpGs) gaat samen met verschillen in expressie van lokale genen, ogenschijnlijk doordat DNA-gebonden methylgroepen interfereren met het binden van genexpressie regulerende eiwitten aan het DNA (transcriptie factoren).

Artrose gerelateerde verschillen in genexpressie kunnen echter het gevolg zijn van een groot aantal mechanismen. Wanneer men uitsluitend kijkt naar genen die verschillend tot expressie komen samen met een afwijkend lokaal methylatie profiel, blijken dit genen te zijn die met name betrokken zijn bij de ontwikkeling van bot tijdens de embryonale ontwikkeling, ook wel calcificatie genoemd. Deze observatie is in lijn met artrose geassocieerde veranderingen van het kraakbeen, namelijk de afbraak en calcificatie van het weefsel. De verrichtte metingen en analyses kunnen geen onderscheid maken tussen oorzaak en gevolg, daar het niet duidelijk is of permante kraakbeen schade voorafgaat aan verschillen in methylatie en/of genexpressie of juist het gevolg ervan is. Er kan wel gesteld worden dat chondrocyten in artrotisch kraakbeen niet langer in staat zijn om het omringende weefsel terug te brengen in de functionele staat. Het is waarschijnlijk dat chondrocyten in deze permanente, kraakbeen afbrekende staat terecht zijn gekomen doordat gedurende het leven de cellen hun methylatie profiel niet volledig kunnen terugbrengen van een actieve naar een rustende staat nadat opgedane schade is hersteld.

Doordat in ons onderzoek kraakbeen is bestudeerd uit verschillende soorten gewrichten, namelijk knieën en heupen, konden we bestuderen of er naast artrose geassocieerde methylatie verschillen ook locaties op het genoom bestaan die gewricht specifieke methylatie patronen laten zien. Ondanks de vele overeenkomsten tussen knie en heup kraakbeen, in zowel gezond als ziek weefsel in zowel micro- als macroscopisch opzicht, blijken met name de homeobox (HOX) genen en hun geassocieerde cofactoren opvallend verschillend gemethyleerd te zijn tussen de twee gewrichten. Dat is opmerkelijk, omdat van HOX-processen wordt aangenomen dat ze een cruciale rol spelen gedurende de ontwikkeling van het embryo, maar minder relevant zijn gedurende het leven. Ongeacht of deze verschillen tussen gewrichten betrokken zijn bij het artrose proces, zou dit kunnen betekenen dat toekomstige therapieën gericht op kraakbeen regeneratie zich zullen moeten toespitsen op het type aangedane gewricht.

Naast de invloed van externe factoren en weefsel specifieke eigenschappen, is de mate van methylatie ook onderhevig aan de lokale genetische context. Met andere woorden, de aanwezigheid van genetische variatie, over het algemeen bestudeerd als puntmutaties of single nucleotide polymorphisms (SNPs), heeft invloed op de methylering van het genoom en daarmee ook op de expressie van lokale genen. Deze eigenschap lijkt ook in artrose een substantiële rol te spelen. SNPs die geassocieerd zijn met een verhoogd risico op het krijgen van artrose, lijken bepalend te zijn voor de mate van expressie van genen die dichtbij liggen op het genoom, ogenschijnlijk gemedieerd door methylatie. Eén van de uitdagingen waar onderzoekers voor staan in de zoektocht naar nieuwe genetische variatie die de aanleg voor artrose verhoogt is van technische aard. De significantie van toetsen die de aanwezigheid van specifieke genetische variatie vergelijken tussen groepen artrose patiënten en gezonde

mensen is in grote mate afhankelijk van het aantal genetische varianten dat wordt getest. Als men alle SNPs in het genoom zou toetsen (genoom wijd) zouden SNPs significant kunnen verschillen puur op basis van kans en niet omdat de genetische variant echt bij artrose betrokken is. Daarom selecteren wij op voorhand uit de genoom wijde SNP set die variatie die een effect heeft op methylering en/of genexpressie in kraakbeen (potentieel functionele SNPs). Vervolgens wordt deze selectie SNPs getoetst op de relatie met artrose (meer of minder aanwezig in patienten dan in controles). Door deze zogenaamde kanskapitalisatie te verkleinen hebben we nieuwe genen kunnen identificeren die een rol lijken te spelen bij het ontstaan en/of ziekteverloop van artrose.

Voor het bestuderen van het effect van SNPs op lokale methylering en/of genexpressie profielen zijn grote studiepopulaties nodig. Dit komt onder meer omdat deze profielen sterk tussen mensen verschillen ongeacht de aanwezigheid van genetische variatie of artrose. Met nieuwe sequencing technologieën kunnen zowel de hoeveelheid als de volgorde van nucleotiden van de tot expressie komende genen kwantitatief worden bepaald in tegenstelling tot enkel een kwalitatieve maat van de hoeveelheid. Daardoor is men tegenwoordig in staat om te detecteren of genetische variatie invloed heeft op genexpressie in een enkel individu. Van alle genen draagt ieder mens twee kopieën (één van beide ouders) en wanneer slechts een enkele van deze twee kopieën een genetische variant herbergt, oftewel de drager ervan heterozygoot is, kan men bepalen in welke mate de twee kopieën tot expressie komen in verhouding tot elkaar.

Door alle varianten die ongelijk tot expressie komen in het kraakbeen van meerdere artrose patiënten te vergelijken met de lijst met genen waarvan we zien dat ze verschillend tot expressie komen tussen artrotisch en normaal kraakbeen (ongeacht of deze verschillen samengaan met afwijkende methylering profielen), pogen we een selecte groep genetische varianten te presenteren die naar alle waarschijnlijkheid een invloed hebben op de kraakbeenhuishouding.

Eén van de genen die uit deze analyses naar voren kwam waarvooralsnog weinig over bekend was in relatie tot artrose en kraakbeenonderhoud, lijkt een cruciale rol te spelen in de progressie van artrose: het cytokine receptor-like factor 1 (*CRLF1*) gen. Dit gen blijkt significant hoger tot expressie te komen in artrotisch kraakbeen. Bovendien komt een genetische variant die lagere expressie teweeg brengt in heterozygote dragers minder vaak voor bij artrose patiënten vergeleken met de gezonde populatie. Gekweekte chondrocyten bleken na het toevoegen van het CRLF1 eiwitproduct een afwijkend expressie patroon te laten zien van genen die betrokken zijn bij de kraakbeenhuishouding. Dit is slechts een enkel voorbeeld van de ontdekking van een artrose gen dat hoogstwaarschijnlijk niet gevonden had kunnen worden als niet op voorhand zou zijn geselecteerd op potentieel functionele SNPs zoals hierboven beschreven. Ook bij de interpretatie van gevonden genen in genoom

wijde genetische associatie studies, waarin miljoenen SNPs worden getest op associatie met artrose zonder een a priori selectie, is deze lijst met potentiële kraakbeen functionele SNPs van toevoegende waarde. We vonden ook artrose geassocieerde SNPs waarvan eerder al is aangetoond dat heterozygote dragers de twee kopieën van het gen niet gelijk tot expressie brengen (aldehyde dehydrogenase 1 family member A2, *ALDH1A2*), en SNPs gelegen in genen waarvan we weten dat ze het risico op artrose verhogen, maar waarvan in eerste instantie niet bekend was hoe die associatie mechanistisch tot stand zou kunnen komen (matrix Gla protein, *MGP*).

