

Genetik und molekulare Untersuchungen bei MS

Raija L. P. Lindberg, Yvonne Nägelin, Jens Kuhle, Ludwig Kappos

Neurologische Klinik, Universitätsspital Basel

Quintessenz

- Die Pathogenese der Multiplen Sklerose dürfte in der Wechselwirkung von Genetik/Umwelt/Immunsystem zu suchen sein.
- Genetische Studien werden in Form von Linkage-Analysen und/oder Assoziationsstudien durchgeführt.
- Die einzige konstante Assoziation mit MS findet sich mit der HLA-Region auf Chromosom 6 (HLA-DRB1); bei der Untersuchung von Nicht-HLA-Regionen stösst man vor allem an die statistischen Grenzen.

Hintergrund

Die Ursache der Multiplen Sklerose bleibt weiterhin unklar, es dürften aber besonders Umwelt- und auch genetische Faktoren eine Rolle in der Pathogenese spielen [1]. Die Relevanz der Genetik im Hinblick auf die Ätiologie und Pathogenese spiegelt sich wider in der Tatsache, dass die Konkordanz von eineiigen Zwillingen knapp 30% beträgt; währenddem Geschwister und zweieiige Zwillinge nur ein leicht erhöhtes Risiko (2%) gegenüber der Normalbevölkerung haben (in Europa 0,1%), ebenfalls an MS zu erkranken. Ein weiterer Hinweis auf den Einfluss von genetischen Faktoren ist die unterschiedliche Inzidenz in unterschiedlichen ethnischen Gruppen, unabhängig von der geographischen Lokalisation. Dabei muss von einem polygenetischen Erbgang ausgegangen werden. Genetische Studien lassen Suszeptibilitätsfaktoren vermuten, von denen jeder einen gewissen Effekt hinsichtlich Suszeptibilität und Phänotyp beiträgt.

Diese kleinen Effekte können, vorausgesetzt sie sind häufig, mittels moderner *Large-scale*-Genotypisierung und Sequenzierungstechnologien nachgewiesen werden. Wohlgekannt können sehr seltene und kleine Variationen, die unter Umständen aber grosse genetische Effekte haben, immer noch nicht verlässlich nachgewiesen werden. In diesem Artikel beschreiben wir kurz die heute zur Verfügung stehenden gendiagnostischen Möglichkeiten, die im Rahmen von Studien diverser neurologischer Erkrankungen eingesetzt werden. Wir diskutieren das aktuelle Wissen und die zukünftige Rolle der Genetik bei der Multiplen Sklerose.



Raija L. P. Lindberg

Die Autoren erklären, dass sie keine Interessenkonflikte im Zusammenhang mit diesem Beitrag haben.

Genetische Diagnostik bei der Multiplen Sklerose und anderen neurologischen Erkrankungen

Das Wissen zur Genetik der MS basiert einerseits auf Linkage-Analysen, andererseits auf Assoziationsstudien.

Die Linkage-Analyse dient dazu, die Position von Krankheitsgenen in Bezug zu bekannten Markern zu lokalisieren. Diese Methode bedient sich der Untersuchung verschiedener Familien mit jeweils mehreren Erkrankten. Beispielsweise konnte durch diese Technologie die Beteiligung des Apolipoprotein-E-Gens (APOE) bei der Alzheimer-Erkrankung aufgedeckt werden [2]. Nachteilig ist zu erwähnen, dass Gene mit einem relativ kleinen Effekt der Analyse entgehen können.

Verglichen mit der Linkage-Analyse zeichnen sich Assoziationsstudien durch eine höhere Nachweisempfindlichkeit von genetischen Variationen aus. Assoziationsstudien können auf Populationsebene feststellen, ob spezifische genetische Varianten zu einer Erkrankung prädisponieren, indem sie das Auftreten einer Sequenzvariante in einer Gruppe von Betroffenen mit einer Gruppe gesunder Personen vergleichen. Eingeschränkte statistische Power und die Schwierigkeit, Kandidatengene aus relativ kleinen Patientengruppen zu identifizieren, haben bisher die Suche nach den MS verursachenden Genen eingeschränkt. Technologische Fortschritte mit *Large-scale*-Genotypisierung und das bessere Verständnis des menschlichen Genoms ermöglichen mittlerweile genomweite Assoziationsstudien (GWAS). GWAS können neue Kandidatengene oder Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP, *single nucleotide polymorphism*, Variationen von einzelnen Basenpaaren in einem DNA-Strang) für komplexe genetische Erkrankungen hervorbringen und eignen sich somit potentiell auch als Screeningverfahren. Mit dieser Methode kann die Assoziation einer bestimmten Erkrankung mit 500 000 bis zu 1 Million Einzelnukleotid-Polymorphismen analysiert werden. GWAS können auf der Untersuchung von «Trios» (Betroffene/r und beide Eltern) oder auf der Untersuchung im Rahmen einer Fallkontrollstudie beruhen. GWAS wurden bisher bei der MS, der Alzheimer-Erkrankung, der amyotrophen Lateralsklerose und auch des Restless-Legs-Syndroms eingesetzt.

Genetische Aspekte bei der Multiplen Sklerose: aktuelles Wissen

Die HLA-Region

Bereits seit über 30 Jahren ist eine Assoziation zwischen der MS und der HLA-Region (Haupthistokompatibilitätskomplex) auf dem Chromosom Nr. 6 bekannt. Später konnte die HLA-DRB1-Region auf Chromosom 6p21 als stärkstes Suszeptibilitätsgen bezüglich der MS bestätigt werden [1]. HLA-kodierte Moleküle sind hoch-

polymorphe Glykoproteine an der Zelloberfläche, die durch Präsentation von Antigenen entscheidend zur immunologischen Unterscheidung von fremd und eigen beitragen. Die Assoziation der MS mit dieser Genregion wurde in allen untersuchten Populationen, der primär progredienten als auch der häufigeren schubförmigen Verlaufsform, als Hinweis auf übergeordnete HLA-assoziierte Mechanismen unabhängig vom Krankheitsverlauf beobachtet. Das oder die entscheidende/n Gen/e innerhalb der HLA-Region wurde/n dennoch bisher nicht identifiziert. Ungeklärt ist bisher, ob alleine die MHC-Klasse-II-Region für diese Assoziation verantwortlich ist oder ob zusätzlich MHC-Klasse-I- oder -III-Moleküle eine Rolle spielen (Abb. 1 [3]). Wie das HLA-DRB1-Gen die Suszeptibilität für MS beeinflusst, ist unklar. Am ehesten ist der Effekt über die physiologische Rolle der HLA-Moleküle als antigenpräsentierende Proteine sowie ihre Rolle bei der T-Zellreifung (positive oder negative Selektion) zu erklären.

Die Nicht-HLA-Regionen

Zahlreiche Linkage- und Assoziationsstudien konnten bis vor einiger Zeit keine entscheidenden Effekte für Gene ausserhalb der MHC-Region nachweisen. Zwei Hauptgründe für die fehlende Identifizierung von «Nicht-HLA-Genen» dürften die folgenden sein: 1. begrenzter Effekt einer einzelnen Region und 2. statistisch unterdimensionierte Studien. Fernald et al. analysierten alle vorliegenden GWAS bei der MS und ihrem entsprechenden Tiermodell, der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE) [4]. Aus dieser Analyse wurde klar, dass beteiligte Gene in Gruppen (sogenannte Cluster) lokalisiert und nicht diffus über das Genom verteilt sind. Das könnte bedeuten, dass die Suszeptibilität für MS in funktionell zusammenhängenden Blöcken vererbt wird, die auch gewisse Etappen der MS-Pathogenese definieren könnten. Diese Studie lieferte eine Liste von Genen, inklusive verschiedener

Nicht-HLA-Gene, die in kandidatenbasierten Assoziationsstudien weiter untersucht wurden. Eine GWAS ergab kürzlich für mehrere potentielle Nicht-HLA-Gene einen Zusammenhang mit Suszeptibilität für MS. Vor allem für IL7RA (Interleukin-7-Rezeptor-alpha-Gen) und IL2RA (Interleukin-2-Rezeptor-alpha-Gen) ergab sich eine starke Assoziation mit der MS [5]. Die Bedeutung von IL7RA bei der MS konnte durch die Untersuchung von 13 tag-SNPs bei 760 MS-Familien bestätigt werden. Eine starke Assoziation wurde für rs6897932, ein sn-SNP (*non-synonymous coding SNP* = SNP, welchem eine grosse Rolle bezüglich Phänotyp einer Erkrankung zugeschrieben wird) auf Exon 6 des Gens, das auf einer transmembranösen Domäne von IL7R lokalisiert ist, gefunden werden. Als Folge kommt es zu einem alternativen *Splicing* des Gens, welches zu einem Auslassen von Exon 6 führt. In Abhängigkeit dieses Vorganges wird der Rezeptor entweder als Membran-gebunden (mit Exon 6) oder als lösliche Form (ohne Exon 6) exprimiert. Da IL7RA-vermittelte Signale essentiell für die Entwicklung und das Überleben von T-Lymphozyten sind, könnte die vermehrte Zirkulation des löslichen Rezeptors sowohl die angeborene als auch die erworbene Immunantwort beeinflussen. Die Assoziation von IL7RA mit der Suszeptibilität für die MS wurde in verschiedenen unabhängigen skandinavischen [6, 7] und australischen [8] Studien repliziert: Die GWAS bei MS zeigte 2 SNPs im IL2RA-Gen auf Chromosom 10p15 [5]. Die Zahl regulatorischer T-Zellen (Tregs), welche IL2RA exprimieren und autoreaktive T-Zellen supprimieren, ist im Blut von MS-Patienten vermindert. Es wurde gezeigt, dass die Konzentration von sIL2RA (lösliche Variante des IL2RA) im Blut von MS-Patienten erhöht ist. Im Rahmen allelischer Heterogenität für IL2RA könnte es sein, dass das Vorhandensein des protektiven Allels die Expression von sIL2RA kontrolliert, wohingegen das Suszeptibilitätsallel hinsichtlich der Fehlfunktion der regulatorischen T-Zellen eine Rolle

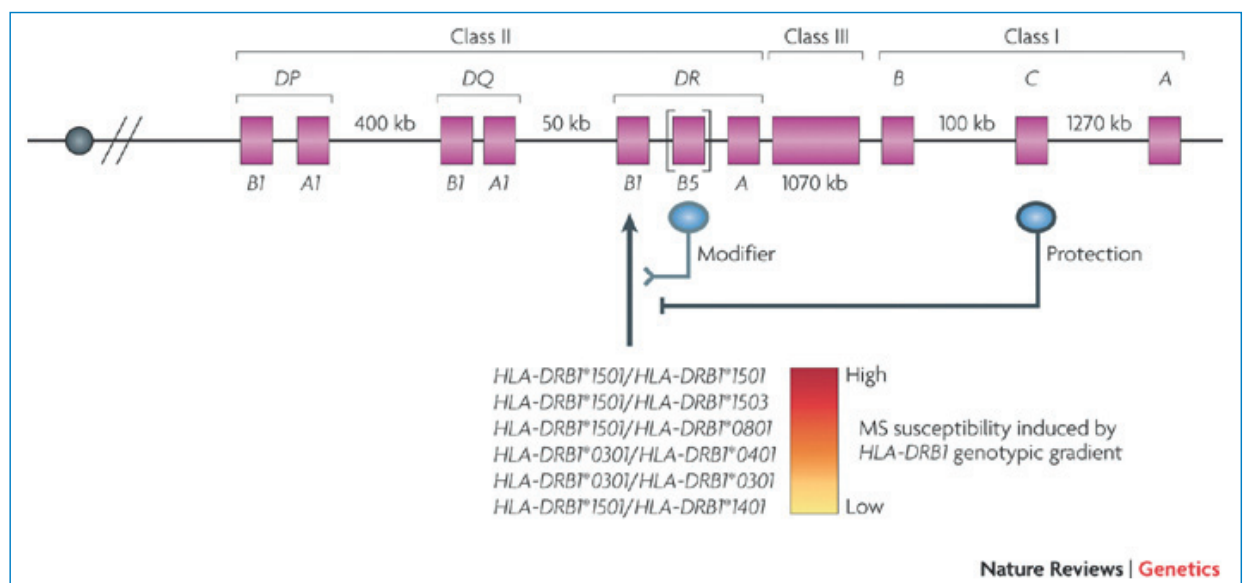


Abbildung 1

Die Region 6p21–6p23 und MS. Das Gen HLA-DRB1 ist mit erhöhter Suszeptibilität für MS assoziiert (Pfeil). HLA-DRB5 werden im Zusammenhang mit der Suszeptibilität für MS zusätzliche modifizierende Einflüsse zugesprochen (Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd. Nat Rev Genet. 2008;9:516–26, © 2010).

spielt. Die Relevanz von IL2RA für die Regulation der Immunantwort bei der MS muss nun in grossen Kohorten bestätigt werden. Interessanterweise wurde für IL2RA ein pathogenetischer Zusammenhang bei anderen Autoimmunerkrankungen wie Typ-1-Diabetes mellitus, rheumatoider Arthritis oder M. Basedow gezeigt [9]. Die Assoziation eines dieser SNPs wurde kürzlich in einer Studie in Kanada mit über 600 Familien, in denen mehr als 2 Personen MS betroffen waren, bestätigt [10].

Die multizentrische GeneMSA-Studie (*Genetic Multiple Sclerosis Associations*) ist die erste grosse Studie, die longitudinale genomische Analysen, ausführliche und regelmässige klinische Dokumentation und MRI-Bildgebungen beinhaltet. Durch dieses multimodale Setting entstehen hinsichtlich möglicher Geno-Phänotyp-Korrelationen einzigartige Möglichkeiten.

Die Frequenz von Allelen von über 500 000 SNPs bei 978 MS-Betroffenen und 883 gesunden Kontrollpersonen wurde u.a. mit der Suszeptibilität, dem Alter bei Auftreten und dem Schweregrad der Erkrankung, den bildgebenden Befunden und der Hirnatrophie korreliert. 242 SNPs für MS-Suszeptibilität konnten identifiziert werden, inklusive 65 innerhalb der MHC-Region auf Chromosom 6p21.3 [11]. Zusätzlich wurde eine Reihe von ausserhalb der HLA-Region lokalisierten Genen mit starker Assoziation zu Suszeptibilität und Phänotyp identifiziert. Eines der interessantesten Gene ist das Glypican Proteoglycan 5 (GPC5). Glypicane gehören

Seit über 30 Jahren ist eine Assoziation zwischen der MS und der HLA-Region bekannt

der Familie der membrangebundenen (Heparansulfat-)Proteoglykan-Proteine an, die an der Oberfläche der Plasmamembran verankert sind und denen wichtige Rollen bei Zellteilung, Regulation von Wachstumsprozessen, aber auch Gehirn- und Synapsenentwicklung sowie axonaler Regeneration zugesprochen werden. GPC5-Allelvariationen scheinen auch mit dem Ansprechen auf Interferon Beta, einem weitverbreiteten MS-Therapeutikum, assoziiert zu sein [12]. Die in der GeneMSA-Studie identifizierten Gene haben ein breites Spektrum an Funktionen auf zellulärer Ebene und spielen eine Rolle bezüglich neuronalem Überleben und auch bezüglich Plastizität. Dieses Spek-

trum an Funktionen spiegelt letztendlich auch den Mechanismus der neuronalen Schädigung bei der Multiplen Sklerose wider [5, 13].

Ausblick

Diejenigen Personen zu identifizieren, die ein Risiko für die Entwicklung einer MS tragen, ist eines von zahlreichen wichtigen Zielen genetischer Untersuchungen bei der MS. Die individuelle Voraussage von Krankheitsprogression, genauere Identifikation von Subgruppen sowie Ansprechen bzw. Nichtansprechen auf verschiedene Therapien würde die Versorgung von MS-Betroffenen verbessern. Die Fortschritte der genetischen Diagnostik inklusive des wachsenden Verständnisses des humanen Genoms sowie grosse, klinisch und bildgebend gut charakterisierte Patientengruppen sind ideale Voraussetzungen dafür, die Pathogenese der Multiplen Sklerose zukünftig besser zu verstehen und die Patientenbetreuung zu optimieren.

Korrespondenz:

Prof. Dr. phil. Raija L. P. Lindberg
Neurologische Klinik
Universitätsspital Basel
CH-4031 Basel
raija.lindberg@unibas.ch

Empfohlene Literatur

- Oksenberg JR, Baranzini SE, Sawcer S, Hauser SL. The genetics of multiple sclerosis: SNPs to pathways to pathogenesis. *Nat Rev Genet.* 2008;9:516–26.
- International Multiple Sclerosis Genetics C, Hafler DA, Compston A et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med.* 2007;357:851–62.
- Lundmark F, Duvefelt K, Iacobaeus E, et al. Variation in interleukin 7 receptor [alpha] chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. *Nat Genet.* 2007;39:1108–13.
- Baranzini SE, Wang J, Gibson RA, et al. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis. *Hum Mol Genet.* 2009;18:767–78.
- Baranzini SE, Galwey NW, Wang J, et al. Pathway and network-based analysis of genome-wide association studies in multiple sclerosis. *Hum Mol Genet.* 2009;18:2078–90.

Die vollständige nummerierte Literaturliste finden Sie unter www.medicalforum.ch.

Genetik und molekulare Untersuchungen bei MS / Génétique et examens moléculaires dans la SEP

Literatur (Online-Version) / Références (online version)

- 1 Hauser SL, Oksenberg JR. The Neurobiology of Multiple Sclerosis: Genes, Inflammation, and Neurodegeneration. *Neuron*. 2006;52:61.
- 2 Corder EH SA, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 1993;261:921–3.
- 3 Oksenberg JR, Baranzini SE, Sawcer S, Hauser SL. The genetics of multiple sclerosis: SNPs to pathways to pathogenesis. *Nat Rev Genet*. 2008;9:516–26.
- 4 Fernald GH, Yeh R-F, Hauser SL et al. Mapping gene activity in complex disorders: Integration of expression and genomic scans for multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2005;167:157.
- 5 International Multiple Sclerosis Genetics C, Hafler DA, Compston A et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *N Engl J Med*. 2007;357:851–62.
- 6 Lundmark F, Duvefelt K, Iacobaeus E, et al. Variation in interleukin 7 receptor [alpha] chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. *Nat Genet*. 2007;39:1108–13.
- 7 Weber F, Fontaine B, Cournu-Rebeix I, et al. IL2RA and IL7RA genes confer susceptibility for multiple sclerosis in two independent European populations. *Genes Immun*. 2008;9:259–63.
- 8 McKay FC, Swain LI, Schibeci SD, et al. Haplotypes of the interleukin 7 receptor alpha gene are correlated with altered expression in whole blood cells in multiple sclerosis. *Genes Immun*. 2007;9:1–6.
- 9 Svejgaard A. The immunogenetics of multiple sclerosis. *Immunogenetics*. 2008;60:275–86.
- 10 Ramagopalan SV, Anderson C, Sadovnick AD, et al. Genomewide study of Multiple Sclerosis. *N Engl J Med*. 2007;357:2199–201.
- 11 Baranzini SE, Wang J, Gibson RA, et al. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis. *Hum. Mol. Genet*. 2009;18:767–78.
- 12 Byun E, Caillier SJ, Montalban X, et al. Genome-wide pharmacogenomic analysis of the response to interferon beta therapy in Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*. 2008;65:337–44.
- 13 Baranzini SE, Galwey NW, Wang J, et al. Pathway and network-based analysis of genome-wide association studies in multiple sclerosis. *Hum. Mol. Genet*. 2009;18:2078–90.