

# POLYMORFISMEN IN GENEN DIE BIJDAGEN AAN ASTMA EN DE ERNST EN PROGRESSIE VAN ASTMA

**Auteur** H. Jongepier

**Trefwoorden** ADAM33, astma, atopie, genetica, SPINK5

## Samenvatting

Op 23 juni 2004 promoveerde Hajo Jongepier op het proefschrift 'Polymorphisms in genes contributing to asthma, its severity and progression' aan de Rijksuniversiteit Groningen. Zijn promotoren waren prof. dr. D.S. Postma (Afdeling Longziekten, Universitair Medisch Centrum

Groningen) en prof. dr. E.R. Bleeker (Center for Human Genomics, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina, Verenigde Staten van Amerika). Hieronder zijn een aantal van de belangrijkste bevindingen weergegeven.

(*Ned Tijdschr Allergie* 2006;1:24-7)

## Inleiding

Wereldwijd hebben miljoenen mensen astma. Bij de ontwikkeling van deze complexe erfelijke ziekte spelen vele genen en hun interactie met omgevingsfactoren een belangrijke rol.

Om de erfelijkheid van astma en atopie te onderzoeken werden voor het hier besproken onderzoek 200 patiënten met astma en hun families (1.256 personen) uitgebreid gekarakteriseerd. De 200 patiënten waren oorspronkelijk in de jaren 60 en 70 van de vorige eeuw opgenomen in het Beatrixoord te Haren, waarbij hun klinische kenmerken gestandaardiseerd in kaart zijn gebracht. Bovendien zijn deze oorspronkelijke astmapatiënten (probanden) meer dan 30 jaar lang gevolgd, waardoor het mogelijk was het beloop van astma te onderzoeken.

Kennis van de genen die een rol spelen bij astma kan leiden tot verbeterde inzichten in de pathofysiologie, de mogelijkheid tot een eerdere vaststelling van astma en daarmee tot het nemen van preventieve maatregelen. Deze kennis heeft op dit moment nog geen weg gevonden naar de dagelijkse praktijk. Op termijn mag worden verwacht dat het mogelijk is met de kennis van de genetische achtergrond van astma, therapiegevoelige individuen

te identificeren en zal therapie op maat tot de mogelijkheden behoren.

## Koppelingsonderzoek

Voor het vinden van genen voor astma bestaan verschillende zoekstrategieën. Koppelingsonderzoek is één van de eerste stappen voor het vinden van genen die een rol spelen bij erfelijke ziekten. Bij dit onderzoek (een zogenoemde 'genome wide screen') worden polymorfe merkers, op gelijke afstand van elkaar, over het hele genoom verspreid. Het samen overerven van de aandoening en de merkers wordt in families onderzocht om te bepalen of een merker is gekoppeld aan een aandoening. Op deze manier zijn er nu in verschillende populaties vijf genen voor astma gevonden.

Veel onderzoekers hebben de koppeling van chromosoom 5q met astma en astmagerelateerde fenotypen gerapporteerd.<sup>1-6</sup> In een niet-rokende Amishpopulatie, een populatie met een beperkt aantal voorouders, werd een koppeling gevonden van totaalserum-IgE met het cytokinecluster (interleukine (IL)-4 en -13) op chromosoom 5q.<sup>3</sup> Bij de families die voor dit proefschrift onderzocht zijn, werd eveneens

koppeling van IgE en bronchiale hyperreactiviteit met chromosoom 5q gevonden, maar dan distaal van het cytokinecluster.<sup>7-9</sup>

Deze verschillen in locatie van de koppeling op het chromosoom kunnen het gevolg zijn van de aanwezigheid van meerdere genen die belangrijk zijn bij het optreden van atopie en bronchiale hyperreactiviteit.

Epidemiologisch onderzoek heeft aangetoond dat de blootstelling aan sigarettenrook tijdens de zwangerschap al op jeugdige leeftijd een risicofactor is voor het optreden van astma en allergie. Aangezien de helft van de families uit dit proefschrift hun kinderen heeft blootgesteld aan (passief) roken, kon het effect van deze blootstelling worden onderzocht op een genetische associatie.

De koppeling van bronchiale hyperreactiviteit met chromosoom 5q bleek volledig toegeschreven te kunnen worden aan de families waarin de kinderen waren blootgesteld aan sigarettenrook tijdens de zwangerschap of op jeugdige leeftijd. Gebaseerd op deze resultaten is de hypothese ontstaan dat er één of meerdere genen voor bronchiale hyperreactiviteit bestaan waarvoor blootstelling aan tabaksrook belangrijk is voor de expressie van hyperreactiviteit en daarmee voor de ontwikkeling van astma.

### Associatiestudies voor astma en atopie

Nadat de koppeling van een ziekte aan een specifieke chromosomale regio is vastgesteld, kan deze regio onderzocht worden op de aanwezigheid van kandidaatgenen die geassocieerd zijn met de ziekte. Daarnaast kan men ook een enkel gen uitlichten op basis van biologische waarschijnlijkheid en dit gen vervolgens screenen op varianten. Over het algemeen zal een dergelijk gen aan een aantal criteria moeten voldoen voordat er kan worden gesproken van een ziektegen: er moet sprake zijn van consistente koppelings- en associatieresultaten, het gen moet een biologische rol hebben en de variant in het gen moet leiden tot een verandering van de functie.

### SPINK5

Het toepassen van koppelings- en associatieonderzoek heeft er toe geleid dat verschillende genoomregio's op chromosomen 5, 7 en 12 konden worden aangewezen waarop kandidaatgenen liggen die relevant zijn voor de ontwikkeling van astma.<sup>9</sup> Eén van de biologisch relevante genen op chromosoom 5 is 'Serine Protease Inhibitor Kazal type 5' (*SPINK5*). *SPINK5* behoort tot de familie van de serineproteïnaseremmers. Dit zijn belangrijke negatieve regula-

toren van de proteïnaseactiviteit.

Varianten van *SPINK5* zijn de oorzaak van een ernstige, recessief aangeboren, dermatologische ziekte die is geassocieerd met atopie: het Nether-ton-syndroom.<sup>10</sup> Daarnaast zijn een tweetal varianten (SNP's) van *SPINK5* (Asn368Ser en Lys420Glu) geassocieerd met atopische dermatitis en totaal-IgE bij kinderen die gerekruteerd werden voor atopische dermatitis zonder de aanwezigheid van het Nether-ton-syndroom.<sup>11</sup> De Lys420-variant bleek zwak geassocieerd te zijn met astma.

Onderzoek uit dit proefschrift toonde aan dat er geen associatie bestond tussen de varianten van *SPINK5* met astma, atopische fenotypen of atopische dermatitis. Dit gold zowel voor families die gerekruteerd waren via een proband met astma als in een onafhankelijke set van 250 trio's met astma. De enige gevonden associatie was die met de A-allel van de -785-variant en huidtestpositiviteit ( $p=0,03$ ) maar deze associatie bleek na correctie voor de hoeveelheid statistische testen niet langer significant. Aangezien *SPINK5* tot expressie komt in keratinocyten, maar niet in longweefsel suggereren deze resultaten dat er geen associatie bestaat tussen *SPINK5* en astma of andere atopische fenotypen. Een kleine rol voor de ontwikkeling van atopische dermatitis is echter niet uitgesloten omdat de populatie uit het proefschrift hiervoor niet was gerekruteerd.

### ADAM33

Een ander interessant gen is 'A Disintegrin And Metalloprotease 33' (*ADAM33*). Het *ADAM33*-gen is geassocieerd met astma en bronchiale hyperreactiviteit en wordt verondersteld een gen te zijn voor luchtwegremodellering.<sup>12</sup> Om de rol van *ADAM33* verder uit te diepen werd dit gen in vier etnisch verschillende populaties onderzocht. Verschillende varianten van *ADAM33* waren geassocieerd met astma, waardoor de rol van *ADAM33* als een astmagen verder werd bevestigd.<sup>13</sup>

Op dit moment wordt deze associatie niet in alle populaties teruggevonden. In de studies die bewijs laten zien voor de rol van *ADAM33* bij astma, is er slechts overlap voor één van de varianten, namelijk de intronvariant ST+7. Wellicht dat er een regulatoire sequentie gelokaliseerd is binnen dit intron dat de efficiëntie van transcriptie of stabiliteit van het transcript beïnvloedt. Gezien de verschillen in linkage-disequilibrium zou een alternatieve hypothese kunnen zijn dat een nabijgelegen variant, zelfs in een ander gen, verantwoordelijk is voor de functionele effecten die aanleiding geven tot de ontwikkeling van astma.

## Longitudinale studies naar de ernst en progressie van astma

Astma is een chronische inflammatoire aandoening van de luchtwegen en wordt meestal gekenmerkt door een variabele en volledig reversibele luchtweg-obstructie. Het wordt veelal gezien als een onschuldige aandoening. Ondanks dit tonen cross-sectionele studies aan dat astmatici gemiddeld genomen een lagere longfunctie hebben dan niet-astmatici, met name als er sprake is van aanhoudende klachten. Het is duidelijk dat het van groot belang is te weten welke genen er betrokken zijn bij de ontwikkeling van astma. Maar het is net zo belangrijk te onderzoeken welke genen er van belang zijn voor de progressie of de remissie van de ziekte. Dit kan leiden tot een beter inzicht in de onderliggende pathofysiologie en uiteindelijk in nieuwe therapeutische mogelijkheden.

Zoals hierboven aangegeven, is *ADAM33* beschreven als gen voor luchtwegremodelling. Omdat de astmapatiënten uit het onderzoek dat beschreven wordt in dit proefschrift langdurig waren vervolgd, kon onderzocht worden of polymorfismen in *ADAM33* de achteruitgang van de longfunctie bij astma konden verklaren. Het zeldzame allel van het S-2-polymorfisme bleek significant geassocieerd met een snellere achteruitgang van de longfunctie.

Een variant van *ADAM33* is dus niet alleen van belang voor de ontwikkeling astma, maar ook voor de progressie van astma. Deze bevinding roept vragen op, want hoe kan een gen zowel bij de ontwikkeling als bij de progressie van astma van belang zijn? Is dit het resultaat van een interactie met andere genen die nu nog niet bekend zijn, of komt dit door een interactie met genen die alleen tot expressie komen na een bepaalde omgevingsstimulus?

In de toekomst zullen grote studies moeten worden gedaan om deze bevindingen te repliceren. Bovendien moet de waarschijnlijkheid van deze hypothese van interactie tussen genen voor de ontwikkeling van astma en de progressie van astma worden getoetst. Dit maakt dat in de eerste plaats functionele studies van *ADAM33* en de verschillende varianten noodzakelijk zijn.

Recent is aangetoond dat *ADAM33* tot expressie komt in een aantal alternatief gesplitste isovormen van humane luchtwegfibroblasten. Dit maakt de functie wellicht nog complexer maar, daagt uit tot verder functioneel onderzoek.<sup>14</sup>

## Conclusie

Dit proefschrift laat een aantal resultaten zien van

een tijdrovende zoektocht naar de genen voor astma en allergie. De resultaten vormen een stap in de richting van het vinden van genen voor astma en allergie, waarmee de pathofysiologie van deze aandoeningen beter begrepen kan worden en waarmee richting gegeven kan worden aan therapie, vroege detectie en preventie. Tevens dagen de resultaten uit tot verder functioneel onderzoek.

## Referenties

1. Ober C, Cox NJ, Abney M, Di Rienzo A, Lander ES, Changyaleket B, et al. Genome-wide search for asthma susceptibility loci in a founder population. *Hum Mol Genet* 1998;7:1393-8.
2. Ober C, Tsalenko A, Parry R, Cox NJ. A second-generation genomewide screen for asthma-susceptibility alleles in a founder population. *Am J Hum Genet* 2000;67:1154-62.
3. Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, et al. Linkage analysis of *IL4* and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 1994;264:1152-6.
4. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, Takeda K, Maki T, Miyamoto T, et al. Evidence for linkage between asthma/atopy in childhood and chromosome 5q31-q33 in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1390-3.
5. Martinez FD, Solomon S, Holberg CJ, Graves PE, Baldini M, Erickson RP. Linkage of circulating eosinophils to markers on chromosome 5q. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1739-44.
6. Yokouchi Y, Nukaga Y, Shibasaki M, Noguchi E, Kimura K, Ito S, et al. Significant evidence for linkage of mite-sensitive childhood asthma to chromosome 5q31-q33 near the interleukin 12 B locus by a genome-wide search in Japanese families. *Genomics* 2000;66:152-60.
7. Meyers DA, Postma DS, Panhuysen CI, Xu J, Amelung PJ, Levitt RC, et al. Evidence for a locus regulating total serum IgE levels mapping to chromosome 5. *Genomics* 1994;23:464-70.
8. Postma DS, Bleecker ER, Amelung PJ, Holroyd KJ, Xu J, Panhuysen CI, et al. Genetic susceptibility to asthma-bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. *N Engl J Med* 1995;333:894-900.
9. Xu J, Postma DS, Howard TD, Koppelman GH, Zheng SL, Stine OC, et al. Major genes regulating total serum immunoglobulin E levels in families with asthma. *Am J Hum Genet* 2000;67:1163-73.
10. Bitoun E, Micheloni A, Lamant L, Bonnart C, Tartaglia-Polcini A, Cobbold C, et al. LEKTI proteolytic processing in human primary keratinocytes, tissue distribution and defective expression in Netherton syndrome. *Hum Mol Genet* 2003;12:2417-30.

11. Walley AJ, Chavanas S, Moffatt MF, Esnouf RM, Ubhi B, Lawrence R, et al. Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease. *Nat Genet* 2001;29:175-8.

12. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K, Simon J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002;418:426-30.

13. Howard TD, Postma DS, Jongepier H, Moore WC, Koppelman GH, Zheng SL, et al. Association of a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) gene with asthma in ethnically diverse populations. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:717-22.

14. Powell RM, Wicks J, Holloway JW, Holgate ST, Donna DE. The splicing and fate of ADAM33 transcripts in primary human airways fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:13-21.

Ontvangen 7 juni 2005, geaccepteerd 10 november 2005.

## Correspondentieadres

**Dr. H. Jongepier, huisarts in opleiding**

Universitair Medisch Centrum Groningen  
Afdeling Longziekten

Postbus 30.001

9700 RB Groningen

Tel.: 050 361 61 61

E-mail: H.Jongepier@tiscali.nl

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: geen gemeld.