

Zwischenbericht

Forschungsprojekt „A genome-wide association study to identify susceptibility genes for peripheral arterial disease and cardiovascular disease“

Patienten mit peripherer Arteriosklerose haben ein massiv erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen. Mithilfe eines erniedrigten Knöchel-Arm-Index (ABI) kann bereits frühzeitig das Vorliegen einer asymptomatischen Arteriosklerose festgestellt werden. Es gibt deutliche Hinweise, dass der Knöchel-Arm-Index sehr wesentlich genetisch determiniert ist. Ziel des vorliegenden Forschungsprojektes ist es, mithilfe von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) Gene für den Phänotyp Knöchel-Arm-Index zu identifizieren.

In einem ersten Schritt haben wir im Rahmen der KORA F3 und F4 Studie in etwas mehr als 3000 Studienteilnehmern eine GWAS mit ca. 2.5 Millionen Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) zum ABI durchgeführt. Um von einem genomweit signifikanten Ergebnis sprechen zu können, bedarf es eines p-Wertes, der kleiner als 5×10^{-8} ist. Die Ergebnisse dieser ersten Analyse sind in Abbildung 1 dargestellt und zeigen, dass keiner der 2.5 Millionen untersuchten SNPs auch nur annähernd in die Nähe der genomweiten Signifikanz kommt.

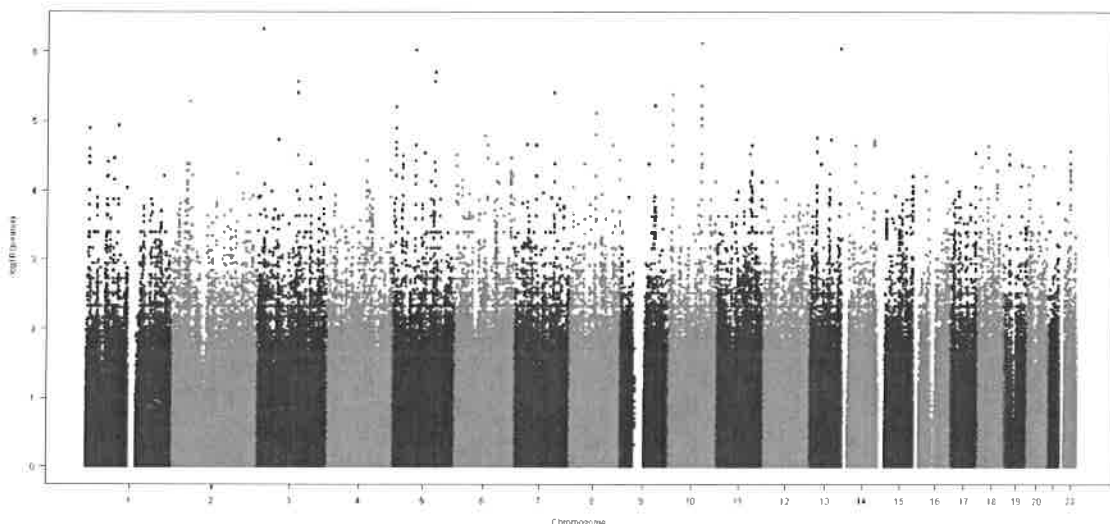


Abbildung 1: Manhattan Plot der Ergebnisse der Metaanalyse der genomweiten Assoziationsstudien zum Knöchel-Arm-Index in KORA F3 und F4.

Aufgrund dieser Beobachtungen haben wir dann entschieden, dass es keinen Sinn macht, genomweite Genotypisierungen in den uns vorliegenden 255 Patienten mit symptomatischer peripherer Arteriosklerose aus der CAVASIC-Studie durchzuführen, sondern die weltweite Kooperation mit anderen Gruppen zu suchen, die GWAS zum ABI durchführen. Wir haben daher sofort begonnen, unsere Daten in die beiden Konsortien CHARGE und CARE einzubringen.

In Abbildung 2 sind die mittlerweile in ENGAGE durchgeführten GWAS-Metaanalysen dargestellt. Mit den mittlerweile mehr als 40.000 Studienteilnehmer aus zahlreichen populations-basierenden Studien weltweit, gelang es einen genomweit signifikanten Genlokus zu finden.

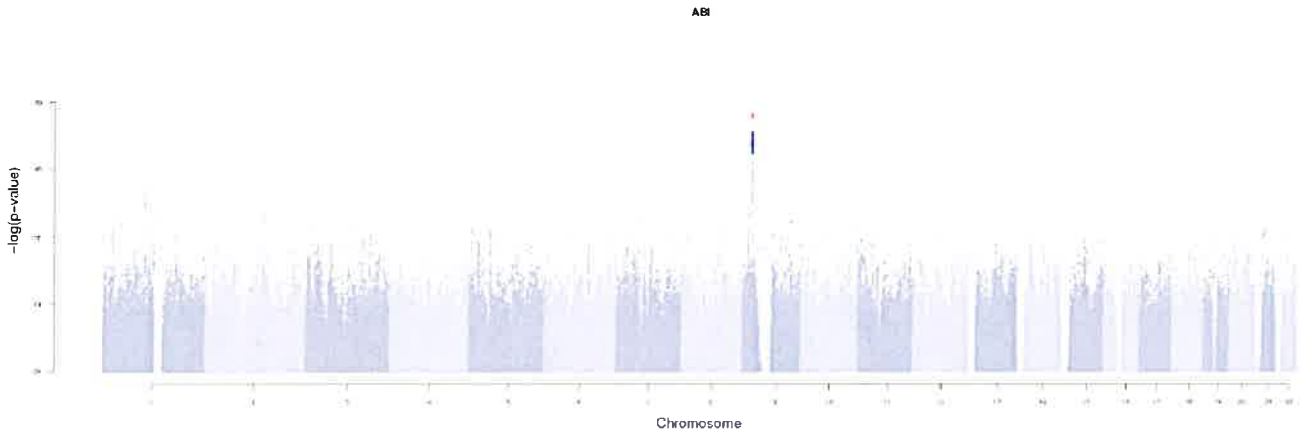


Abbildung 2: Manhattan Plot der Ergebnisse mit dem Top Hit auf Chromosom 9 der Metaanalyse der genomweiten Assoziationsstudien zum Knöchel-Arm Index im CHARGE Konsortium.

In Abbildung 3 ist noch einmal die Region um den Top Hit auf Chromosom 9 in Form eines "regional plots" dargestellt.

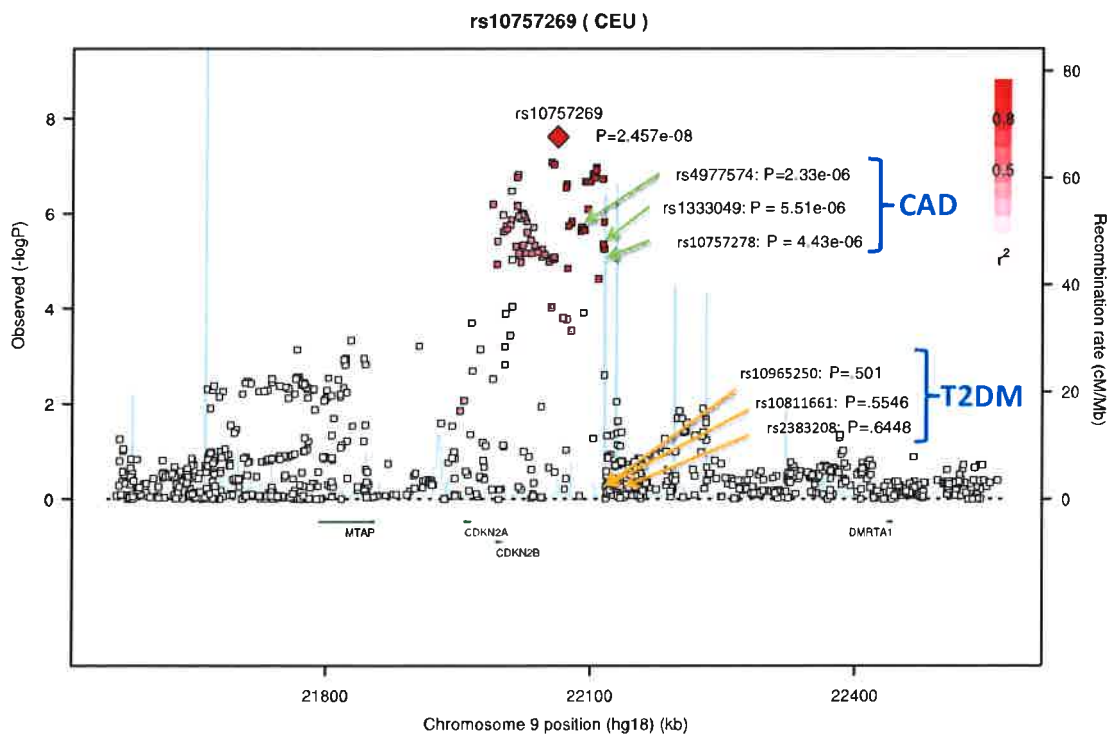


Abbildung 3: Regional plot der Ergebnisse zum Top Hit auf Chromosom 9 aus der Metaanalyse der genomweiten Assoziationsstudien zum Knöchel-Arm-Index im CHARGE Konsortium.

Der Hit auf Chromosom 9 ist mit dem schon bekannten Myokardinfarkt Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) korreliert (rs133049). Dabei ist allerdings interessant, dass das signifikante Ergebnis bestehen bleibt, auch wenn man auf das Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung adjustiert, was wiederum darauf hinweist, dass die beobachteten Assoziationen zumindest teilweise vom Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung unabhängig sind.

In einem nächsten Schritt haben wir versucht, die in der Metaanalyse aller genomweiten Analysen gefundenen, vielversprechendsten Gene in Replikationsanalysen in anderen Kollektiven zu bestätigen. Für dieses Vorhaben standen insgesamt fast 17.000 Probanden zur Verfügung. Unsere Innsbrucker Gruppe hat dazu Proben von mehr als 7000 Probanden mit zwei populations-basierenden Studien (Bruneck-Studie und Copenhagen City Heart Study) und zwei Fall-Kontroll-Studien bestehend aus Teilnehmern der CAVASIC und LIPAD Studien eingebracht. Wir haben die entsprechenden Assays für die Einzelgenotypisierungen designed und die Genotypisierungen wurden dann teilweise in Innsbruck und teilweise in Copenhagen durchgeführt (Copenhagen darf nämlich aufgrund ihrer eigenen Richtlinien die DNA nicht an andere Labors herausgeben). Die Kosten für beide Genotypisierungen wurden von uns getragen.

Die Daten wurden nun in einer Meta-Analyse analysiert und es konnte das Ergebnis auf Chromosom 9 eindeutig bestätigt werden. Ein entsprechendes Manuskript wurde unter der gemeinsamen Federführung Framingham und Innsbruck geschrieben und soeben an "Circulation: Cardiovascular Genetics" eingereicht (siehe Beilage).

Aufgrund der beiden von uns verantworteten großen Studien KORA F3 und F4 und der von uns eingebrachten Replikationskohorten haben wir in diesem weltumspannenden Konsortium eine federführende Rolle einnehmen können. Aufgrund unserer Beiträge sowohl bei der genomweiten Assoziationsstudie, den Replikationsgenotypisierungen, der Kandidatengensuche und Evaluierung in den GWAS-Kohorten sowie der bioinformatischen Analysen haben wir sehr frühzeitig eine Führungsrolle einnehmen können, was wiederum dazu geführt hat, dass wir im ersten Manuskript bei fast 130 AutorInnen immerhin eine "shared first author"-Position für Dr. Claudia Lamina und die letzte Letztautorenposition sowie korrespondierende Autorenposition für Prof. Kronenberg einnehmen konnten. Insgesamt kommen 15 Autoren auf diesem Manuskript aus den von uns eingebrachten Kohorten. Nachdem in diesem Konsortium so bekannte Studien wie Framingham, ARIC, Family Heart Study, Cardiovascular Health Study oder Rotterdam Study mitgearbeitet haben, erfüllt uns dies durchaus mit Stolz.

Ausblick:

Insgesamt hat sich das Projekt als wesentlich arbeitsintensiver als ursprünglich angenommen, herausgestellt. Nichts-desto-trotz ist es gelungen, den ersten Teil des Projektes erfolgreich zum Abschluß zu bringen. Im zweiten Teil geht es nun darum, die im Rahmen des CARE-Consortiums durchgeführten Genotypisierungen mittels eines Spezialchips von kardiovaskulären Kandidatengen in Hinblick of ABI und PAD zu untersuchen. Die ersten Analysen sind bereits gelaufen und wir werden wahrscheinlich bereits bald in die Replikationsanalysen einsteigen. **Aufgrund der noch anfallenden Arbeiten ersuchen wir, um kostenneutrale Verlängerung des Projektes bis voraussichtlich Ende des Jahres 2012.**

Ich bedanke mich sehr herzlich für die Unterstützung des Projektes.

Mit besten Grüßen



Univ.-Prof. Dr. Florian Kronenberg