

Bericht über den Stand der Untersuchungen im Rahmen des Projektes „Epigenomweite Assoziationsstudie (EWAS) bei RLS“, das mit einem Betrag in Höhe von 100.000,00 Euro von der RLS e. V. Deutsche Restless Legs Vereinigung unterstützt wurde

Prof. Dr. K. Oexle, Dr. N. Mirza-Schreiber, Dr. B. Schormair, Prof. Dr. J. Winkelmann
Institut für Neurogenomik, Helmholtz-Zentrum München
München, 11. April 2019

Einleitung (und Hinführung zum Thema)

Mit dem Begriff „Epigenetik“ sind vor allem solche molekularbiologischen Prozesse gemeint, die die Umsetzung der genetischen Information regulieren (Abb.1). Diese Prozesse unterliegen wiederum dem Einfluss von Genen. Aber auch die Umwelt nimmt Einfluss auf die epigenetischen Prozesse.

Bei Krankheiten sind epigenetische Prozesse ebenfalls involviert. Manche tragen zur Krankheitsentstehung bei, indem sie einen schädlichen Effekt umsetzen, der von einer krankmachenden Genvariante oder aus der Umwelt stammt, manche sind am Therapiemechanismus beteiligt, indem sie den Effekt eines Medikaments umsetzen, und manche reagieren nur auf die Krankheit oder deren Therapie, also ganz ohne ursächliche Beteiligung.

Es ist dementsprechend interessant und wichtig, die epigenetischen Besonderheiten einer Krankheit zu untersuchen. Das trägt nicht nur zum Verständnis ursächlicher Zusammenhänge bei, sondern zeigt vielleicht neue therapeutische Eingriffsmöglichkeiten auf. Zudem ergeben sich unter Umständen neue Labor-Parameter (sog. „Biomarker“) der Krankheit, so dass die Bestimmung des Krankheitsrisikos, die Diagnostik und die Erkennung von Krankheitsuntergruppen verbessert werden.

Auch beim Restless Legs Syndrom (RLS) haben wir unterdessen mit epigenetischen Untersuchungen begonnen. Da das RLS wahrscheinlich im Gehirn verursacht wird, sind epigenetische Prozesse im Gehirn besonders wichtig. Allerdings ist die Zahl von Betroffenen und Nicht-Betroffenen, welche verfügen, dass ihr Gehirn nach dem Tode der Forschung zur Verfügung gestellt werde, leider immer noch klein. Um dieses Problem zu kompensieren, haben wir beim nachfolgend dargestellten Studienansatz zunächst die Epigenetik anhand von Blutzellen analysiert, da diesbezüglich Untersuchungsmaterial ausreichend vorhanden ist. Die signifikanten Blutzellbefunde, so nahmen wir an, würde später als deutlich verkleinerter Suchraum für die Gehirnuntersuchung dienen können. Außerdem können Blutzellbefunde zumindest als Biomarker dienen.

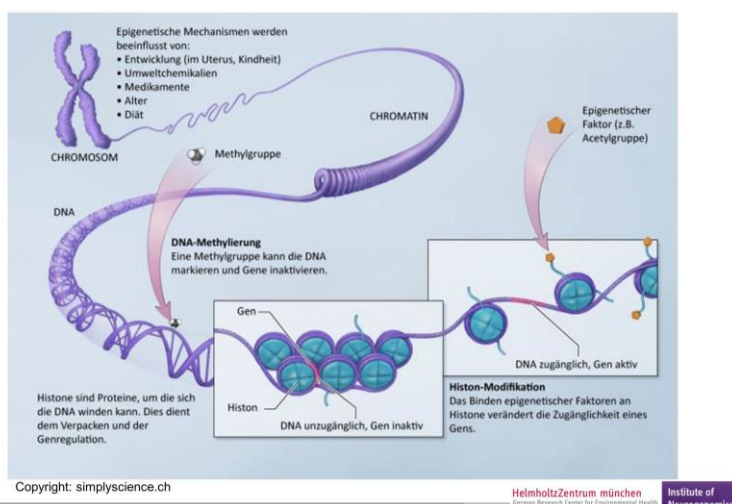


Abb. 1. Die Epigenetik untersucht Modifikationen der DNA und ihrer Verpackung, denn diese regulieren die Aktivität der Gene.

Methoden

Als Untersuchungsverfahren wurde die epigenomweite Assoziationsstudie (EWAS) gewählt. Mittels eines sog. „EPIC“-Arrays der Firma Illumina wurden dabei in den DNA-Proben von Patienten und Kontrollen die DNA-Methylierungen (siehe Abb.1) an jeweils 850.000 Stellen gemessen. Das Untersuchungsprinzip ist in Abb.2 dargestellt. Untersucht wurden aus Blut isolierte DNA-Proben von drei Gruppen von 475, 268 und 430 RLS-Patienten und jeweils gleich vielen gesunden Kontrollen. Außerdem hatten wir durch die großartige Unterstützung der RLS e. V Deutsche Restless Legs Vereinigung die Möglichkeit, aus Gehirn isolierte DNA-Proben von 25 verstorbenen RLS-Patienten zu untersuchen, welche mit entsprechenden Proben nicht-betroffener Kontrollen verglichen wurden.

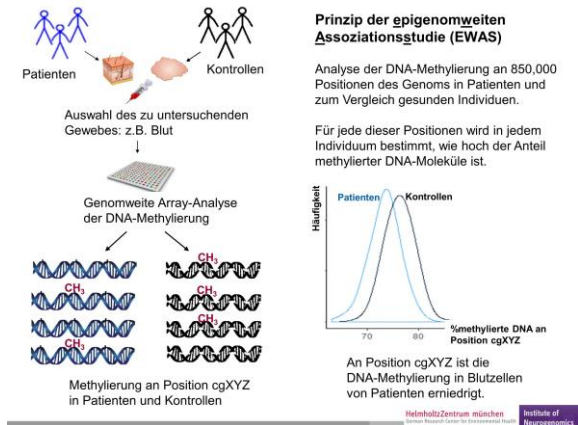


Abb. 2

Ergebnisse

Die EWAS-Befunde in den DNA-Proben aus Blut zeigten eine große Zahl von Veränderungen in der Patientengruppe. Bekanntermaßen reagiert die EWAS sensibel („inflationiert“) auf mögliche Störfaktoren. Zur Kompensation wurden entsprechende Kovarianten in die Analyse aufgenommen. Danach ergab die Meta-Analyse der drei Blut-EWAS 32 Positionen im Genom, die signifikant mit RLS assoziiert sind. Eines dieser Ergebnisse ist als Beispiel in Abb.3 dargestellt. Da die Resultate noch nicht veröffentlicht sind, können die Identitäten der 32 Positionen hier nicht mitgeteilt werden. Diese Ergebnisse stellen potentiell Biomarker des RLS dar.

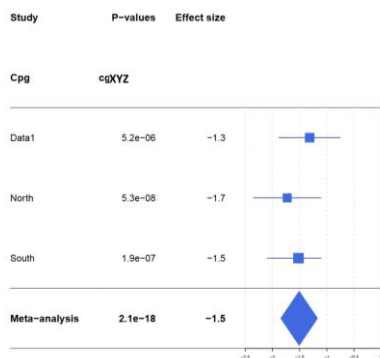


Abb. 3. Beispiel einer CpG-Methylierungsstelle, an der die Methylierung von Blutzell-DNA in RLS-Patienten hochsignifikant erniedrigt ist.

Der Versuch, anhand der Blut-EWAS eine Vorauswahl von potentiell interessanten Methylierungsstellen zu treffen, um dann in diesem verkleinerten Kandidaten-Suchraum auch die Gehirn-EWAS mit den 25 Patienten und 15 Kontrollen aussagekräftig zu machen, war zunächst nicht erfolgreich. Die Untersuchung ist allerdings noch im Gange.

Insbesondere wird sich die Zahl der Gehirnproben demnächst erhöhen, so dass die EWAS mit dadurch erhöhter Untersuchungskraft („Power“) nochmals durchzuführen ist.

Ausblicke (Auswahl)

Die Gehirn-EWAS ist, wie erwähnt, noch nicht abgeschlossen, denn weitere DNA-Proben von Spendern stehen unterdessen zur Verfügung und sollen in die Untersuchung eingeschlossen werden. Die Untersuchung erfolgt in Zusammenarbeit mit der Neuropathologie der Ludwig Maximilian Universität München (LMU).

Die erhobenen Befunde sollen anhand der Daten einer anderen Arbeitsgruppe (Prof. C. Earley, Baltimore) überprüft werden. In einer Meta-Analyse sollen die Ergebnisse beider Arbeitsgruppen zusammengeführt werden.

Die EWAS-Befunde sollen mit den Befunden der letzten genomweiten Suche (GWAS) nach RLS-Genen (siehe Schormair et al 2017) sowie mit den Transkriptom-Befunde der Gehirnproben verglichen werden, um eventuelle Zusammenhänge aufzufinden (Multi-Omics-Analyse).

Die EWAS-Befunde sollen unter Anwendung von „machine learning“ in den vorhandenen „RLS risk score“ eingebaut werden, um so im Rahmen von Präventionsmedizin die Zuverlässigkeit der Prädiktion zu verbessern.

Danksagung

Wir möchten allen RLS-Patienten, die unsere Forschung unterstützt haben, unseren größten Dank aussprechen! Ohne diese Unterstützung hätte die Studie nicht zum Erfolg geführt.

Prof. Dr. K. Oexle