

Über das Molekulargenetische Forschungsprogramm in LIFE

Markus Scholz
IMISE, LIFE
Universität Leipzig

TransferMeeting „Zivilisationserkrankungen“
Leipzig, 17.09.2018

Motivation



- Rauchen
- Softdrinks
- †92



- Rauchen
- Übergewicht
- Kein Sport
- †90



- Marc-Vivien Foé
- †28 (Herzversagen)

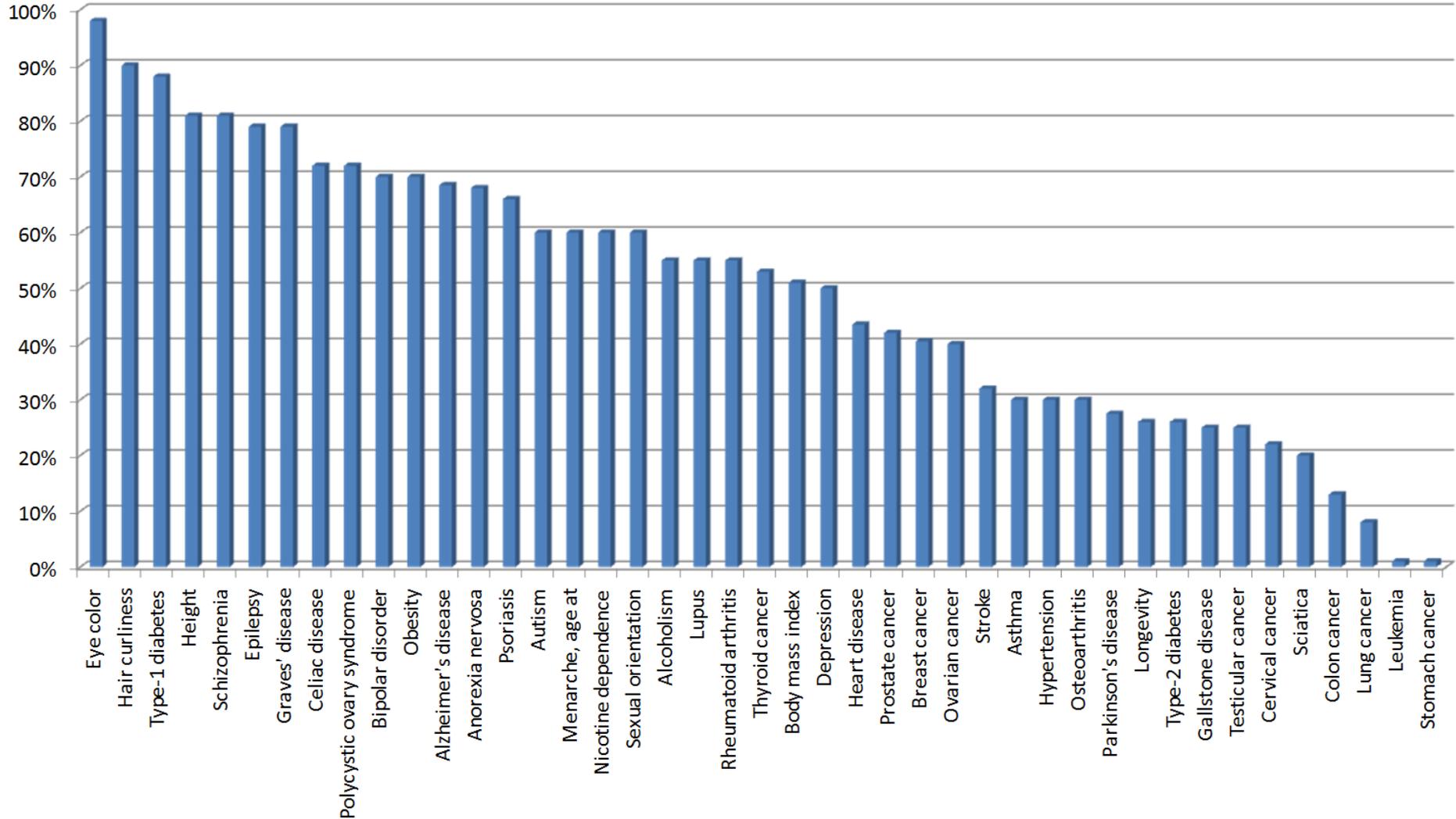


- Antonio Puerta
- †22 (Herzversagen)

Neben Umweltfaktoren spielen genetische Faktoren eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Erkrankungen

Vererbbarkeit von Merkmalen/Erkrankungen

Heritability Est.



Wichtige Ziele der Molekulargenetischen Forschung in der Medizin

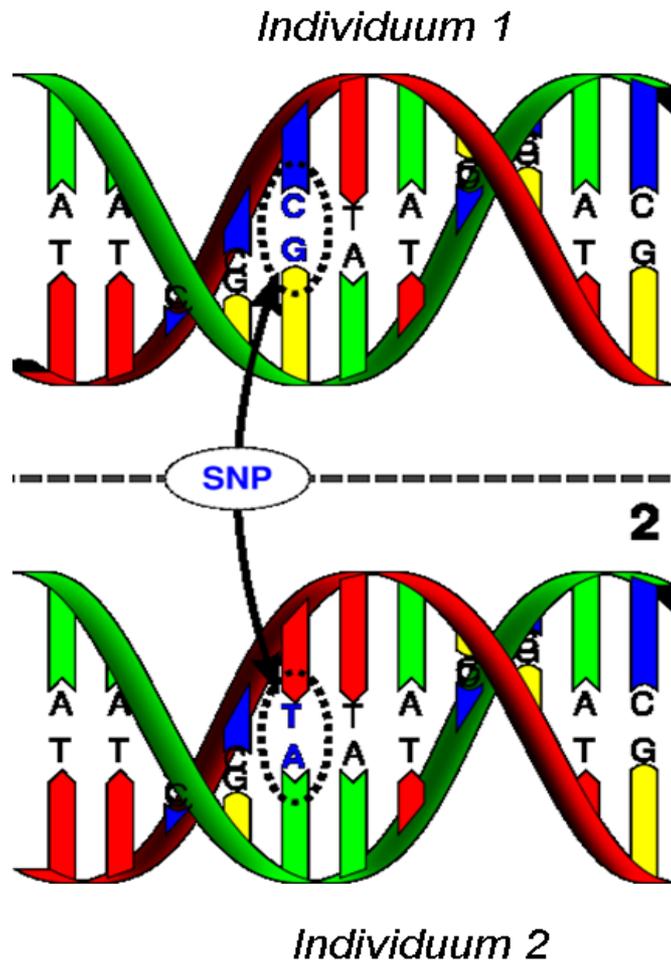
- Entdeckung von molekularen **Mechanismen**, die zur Krankheitsentstehung beitragen
- Identifikation von **Zielen für therapeutische Interventionen** (Beispiele: Statine, PCSK9-Hemmer)
- Entwicklung diagnostischer und prognostischer **Biomarker** (Beispiele: Troponin, PSA)
- **Personalisierte Medizin** (Pharmakogenetik, Klassifikation von Erkrankungen, Gendiagnostik)

Molekulare Messprogramme in LIFE

- Kohorten:
 - LIFE-Adult
 - LIFE-Heart
 - LIFE-Child
 - LIFE-Kopf/Halstumoren
- Methoden:
 - Genetik
 - Genexpression (Aktivität der Gene)
 - Metabolite (Produkte des Stoffwechsels)

Genetische Analysen in LIFE

SNPs als genetische Marker



SNP = single nucleotide polymorphism

Messmöglichkeiten:

- Quantitative PCR
- **SNP-Arrays**
- Sequenzierung

SNP-Array Messungen in LIFE

- DNA aus Blut extrahiert
- Technologie: Axiom CEU Array (Affymetrix)
- 587.352 SNPs parallel gemessen

Axiom Array
(Messplattform)



1 x 96 configuration

- Supports Axiom myDesign TG and GW Arrays
- 1,500 to 675K markers per sample
- 96 samples per plate

Axiom Gene Titan
(Messung)



cSNP – synonymous	5,020
cSNP – nonsynonymous	10,648
Splicing and untranslated regions (UTR)	13,269
MHC	7,914
ADME	4,603
Genic	263,062
Conserved	28,910
Inflammation and immunity pathway	4,532
NHGRI disease associated	1,610
miRNA associated and mitochondrial	266
Chromosome X	16,413
Chromosome Y	1,718
In/dels	11,501
Total biologically relevant SNPs	369,466
Genic	263,062
Non-genic	324,290
Total	587,352

Grundidee genetischer Assoziationen

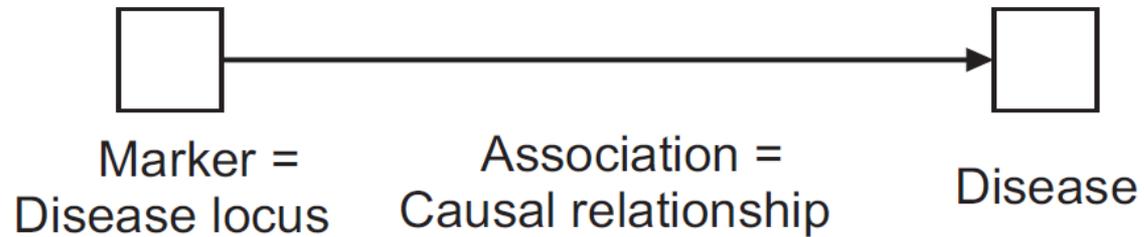
	Krank	Gesund
SNP Allel A	500	800
SNP Allel B	500	1200
Häufigkeit von A	50%	40%

SNP dient als Stellvertreter (**proxy**) eines Krankheitslokus.

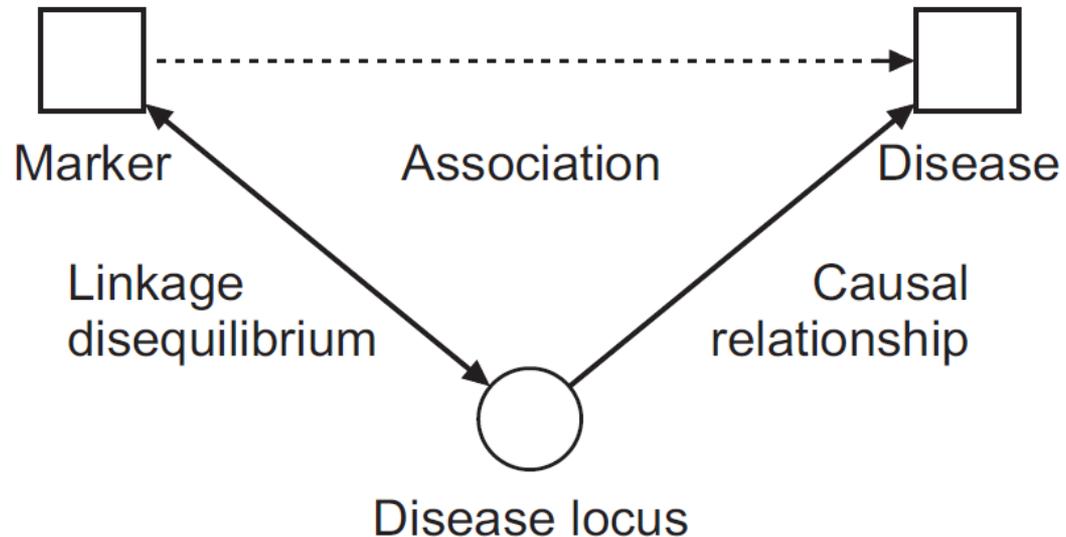
SNP muss selbst nicht kausal sein, sondern es genügt **Kopplungsungleichgewicht** (Korrelation) mit kausaler Variante.

Ursprung genetischer Assoziationen

Variante A:
Direkte
Kausalität



Variante B:
Indirekte
Kausalität

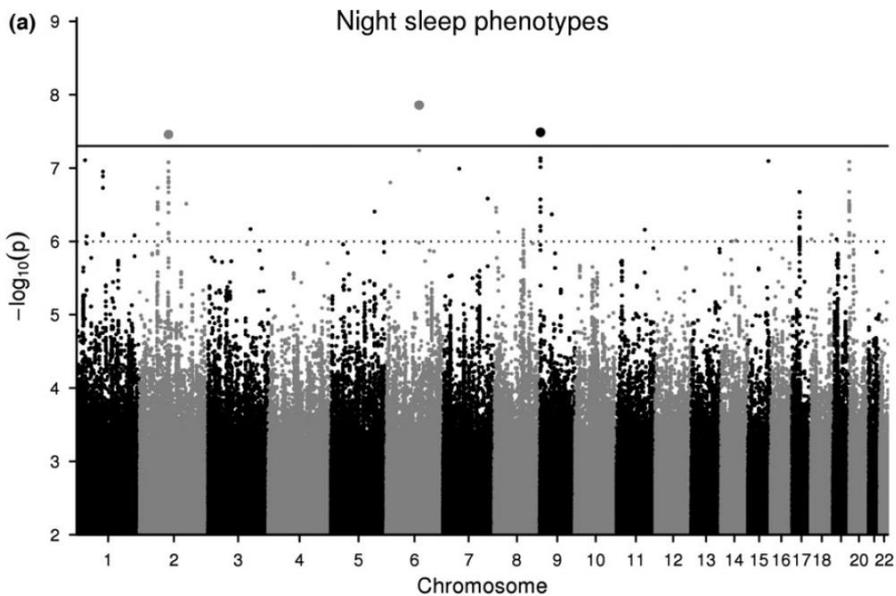


Rationale genomweiter Assoziationsstudien

- Ziel: Identifikation genetischer Modifikatoren beobachtbarer Phänotypen
- Hinweise für Vererbbarkeit aus z.B. Zwillingsstudien
- „Komplexe Erkrankungen“ \Rightarrow Polygenetische Effekte: Häufige Varianten mit geringer Penetranz, seltene Varianten mit höherer (?) Penetranz
- Kandidatengenansätze häufig nicht replizierbar \Rightarrow hypothesenfreie Ansätze \Rightarrow Screening des gesamten Genomes mittels Marker (SNPs)
- Aktuell ca. 2240 publizierte GWAS, mehrere hundert verschiedenen Phänotypen

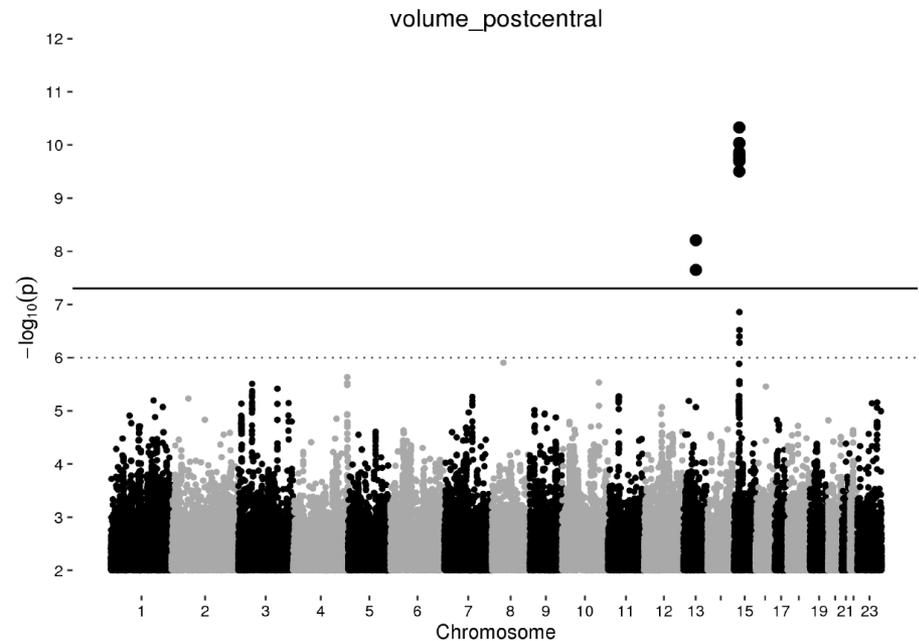
Ergebnisse aus LIFE-Adult

Nachtschlaf



Spada, J. Sleep Res. 2016

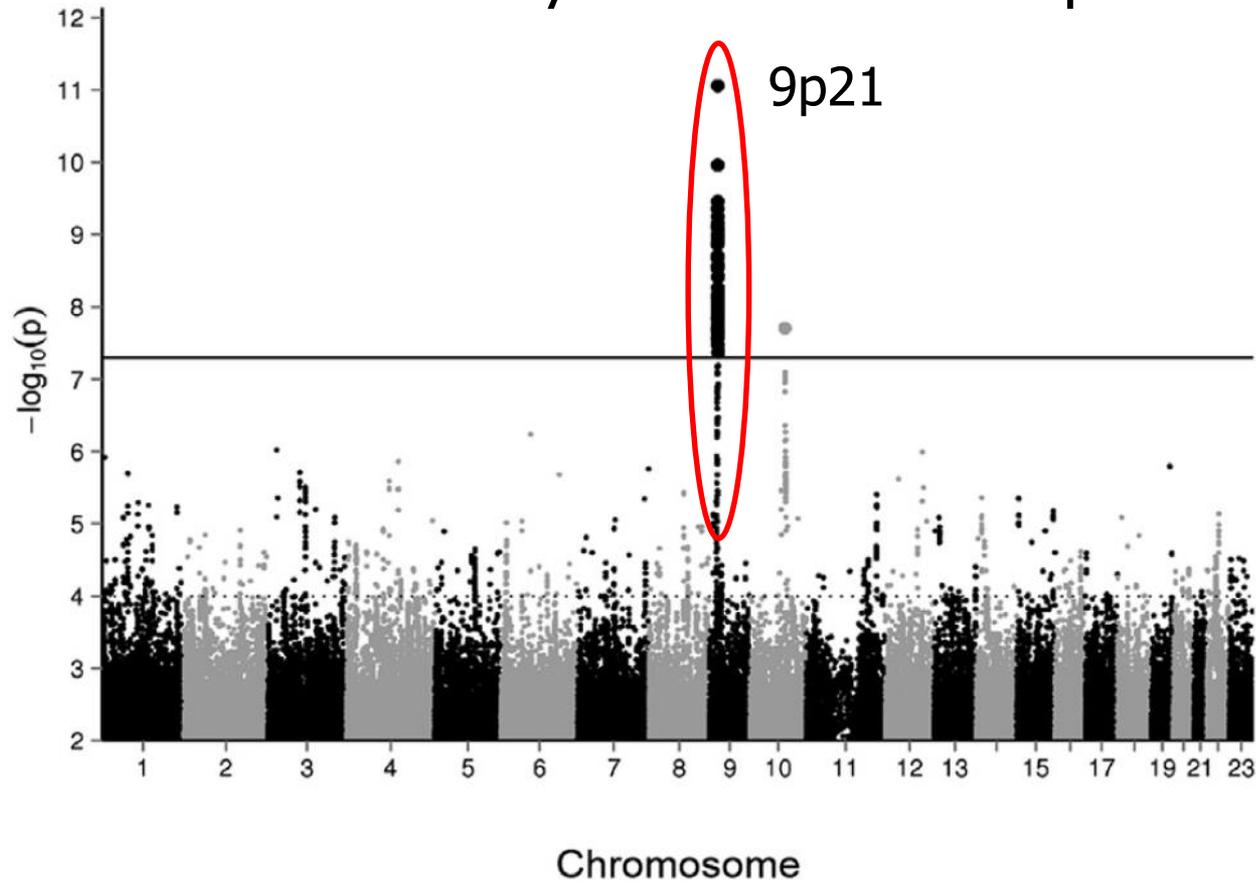
Kopf-MRT



Vojinovic, Nat. comm., to appear

Ergebnisse aus LIFE-Adult+Heart

Meta-Analyse zu Karotis-Plaques

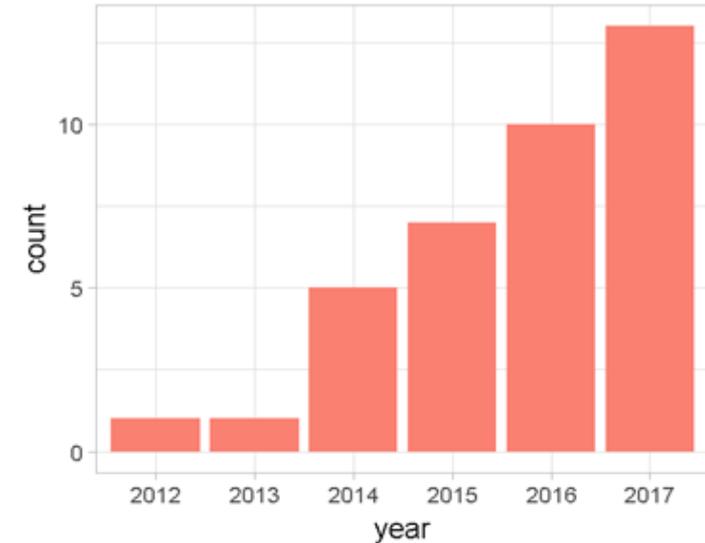


Pott et al., Atheros. 2017

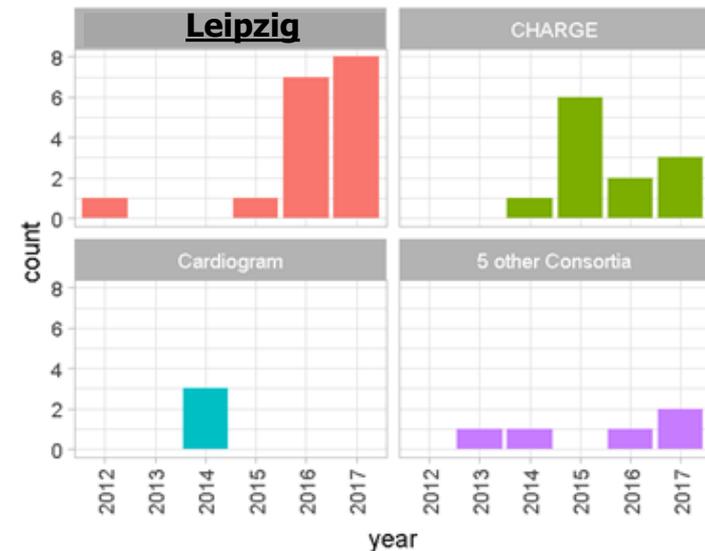
Übersicht laufende Genetik-Projekte

Phänotyp	Phänotyp-Gruppe	Anzahl Analysen	Projekt-start	Konsortium	LIFE-Adult	LIFE-Heart	LIFE-Child	Analyse
Koronare Herzerkrankung	Krankheit	<10	01.01.2014	Cardiogram		x		√
Koronare Herzerkrankung, Chr X	Krankheit	<10	01.05.2014	Cardiogram		x		√
Koronare HerzerkrankungxGeschlecht	Krankheit	<10	01.05.2014	Cardiogram		x		√
CERAD	Kognition	<10	01.08.2014	CHARGE	x			√
Intima-media Dicke	Gefäß	<10	01.03.2015	CHARGE	x	x		√
Eisenmetabolismus	Labor	<10	01.06.2015	CHARGE	x	x		√
kognitive Funktion	Kognition	<10	01.08.2015	CHARGE	x			√
Vitamin D	Labor	<10	01.09.2015	CHARGE	x	x		√
MRT Volumetrie	MRT	<10	01.09.2015	CHARGE	x			√
Gedächtnis	Kognition	<10	01.10.2015	CHARGE	x			√
White matter hyperintensity	MRT	<10	01.03.2016	CHARGE	x			√
Kortikale ROIs	MRT	10-100	01.07.2016	CHARGE	x			√
Ventrikular Volume 2nd wave	MRT	<10	01.02.2017	CHARGE	x			in Arbeit
Kortikale ROIs / PCA	MRT	<10	01.03.2017	CHARGE	x			in Arbeit
White Matter Hyperi. x Age	MRT	<10	01.06.2017	CHARGE	x			in Planung
Nierenerkrankungen	Krankheit+Labor	10-100	01.07.2016	CKDGen	x	x	x	in Arbeit
Genexpression (eQTL)	Labor	>100	01.10.2014	eQTL-Gen	x	x	x	v+weitere
Inzidente Ereignisse bei KHK	Krankheit	<10	01.09.2013	Genius-CHD		x		in Arbeit
Anthropometrie	Sonstige	<10	01.01.2017	GIANT	x	x		in Planung
Lipidphänotypen	Labor	<10	01.01.2017	GLGC	x	x		in Planung
Metabolom	Labor	>100	01.12.2012	LIFE	x	x		v+weitere
Schlaf	Sonstige	10-100	01.02.2015	LIFE	x			√
oGTT Phänotypen	Labor	<10	01.01.2016	LIFE			x	in Arbeit
Diabetes Labor-Phänotypen	Labor	<10	01.01.2016	LIFE			x	in Arbeit
PCSK9	Labor	<10	01.02.2016	LIFE		x		√
Bodyscanner	Sonstige	>100	01.02.2016	LIFE	x			in Arbeit
Mini mental state	Kognition	<10	01.03.2016	LIFE	x			in Arbeit
Sexualhormone	Labor	10-100	01.04.2016	LIFE	x	x		
Fettverteilung	MRT	<10	01.01.2017	LIFE	x			in Arbeit
Karotis-Plaques	Gefäß	<10	01.02.2017	LIFE	x	x		√
Pulsweite	Gefäß	<10	01.06.2017	LIFE	x			in Planung
Phytosterole	Labor	10-100	01.06.2017	LIFE	x	x		in Planung
HDL Lipidfraktion	Labor	<10	01.06.2017	LIFE		x		in Planung
Apo-Lipoproteine	Labor	<10	01.06.2017	LIFE		x		in Planung
Riechen	Sonstige	<10	01.09.2017	LIFE	x			in Planung
Adipokine	Labor	<10	01.07.2016	LIFE/IFB	x	x		v+weitere
MRT Bewegungen	MRT	<10	01.03.2017	LIFE+Charge	x			in Arbeit

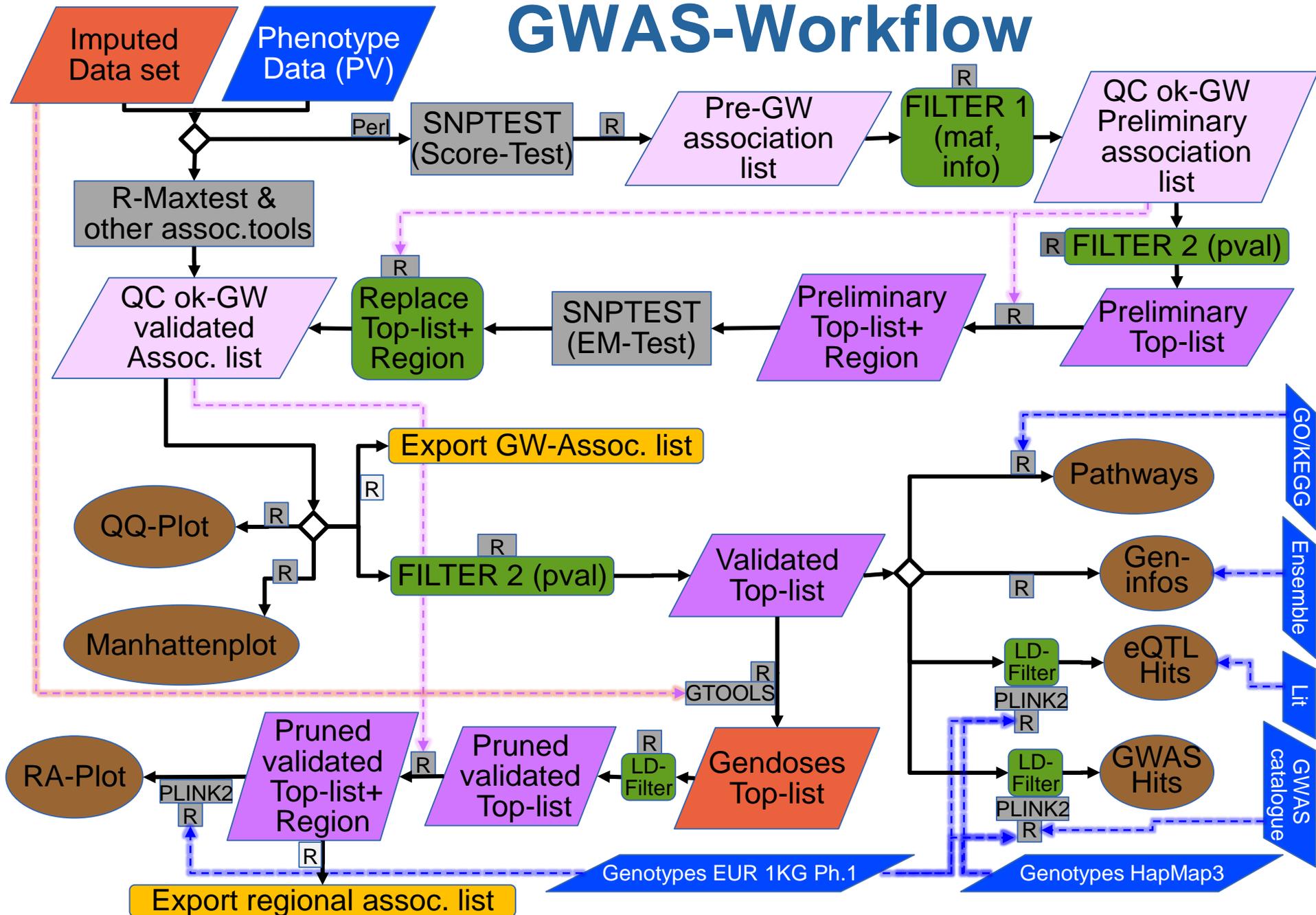
Total GWAS



GWAS per consortium



GWAS-Workflow



IT Infrastruktur für molekulare Datenanalysen

Genotype-Calling

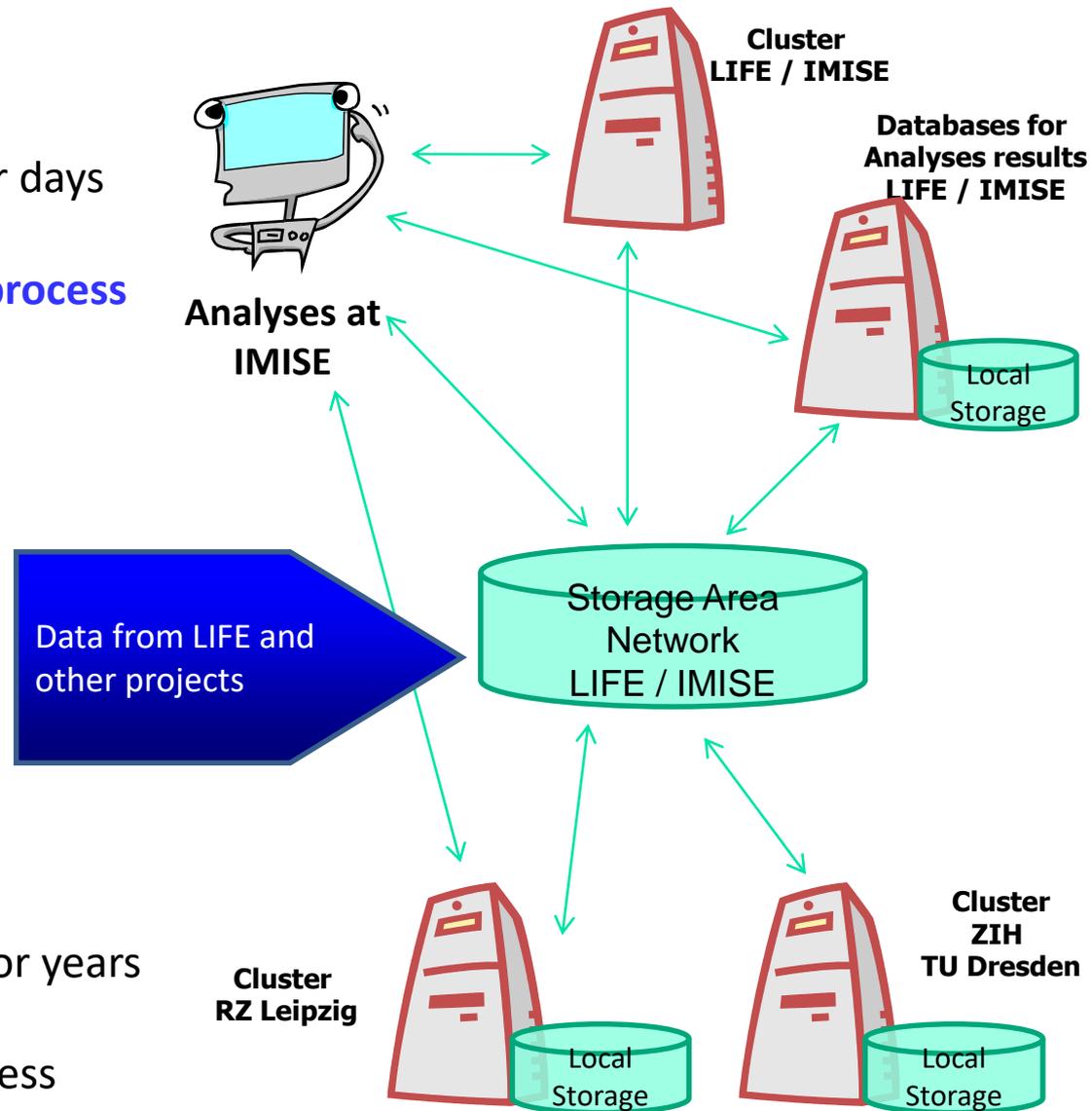
- Raw data → ~ 150 GB
- Calculations → ~ 100 processor days
- Results → ~ 100 GB
- Working memory → **> 4-64 GB per process**

Genotype-Imputation

- Raw data → ~ 100 GB
- Calculations → **~ 4 processor years**
- Results → ~ 300 GB
- Working memory → ~ 8 GB per process

eQTL-analyses, GxG

- Raw data → ~ 400 GB
- Calculations → ~ 0,1-2 processor years
- Results → **~ 10 TB in DB**
- Working memory → ~ 4 GB per process



Genetik ist erst der Anfang...



Sichtbarer Phenotype

Organe, Gewebe, und Zellen

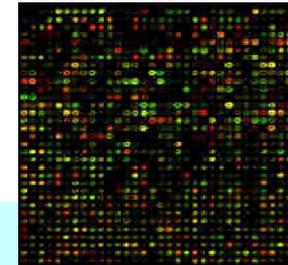
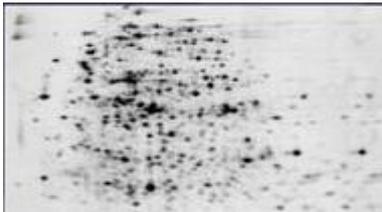
Proteom

Transkriptom

Genom

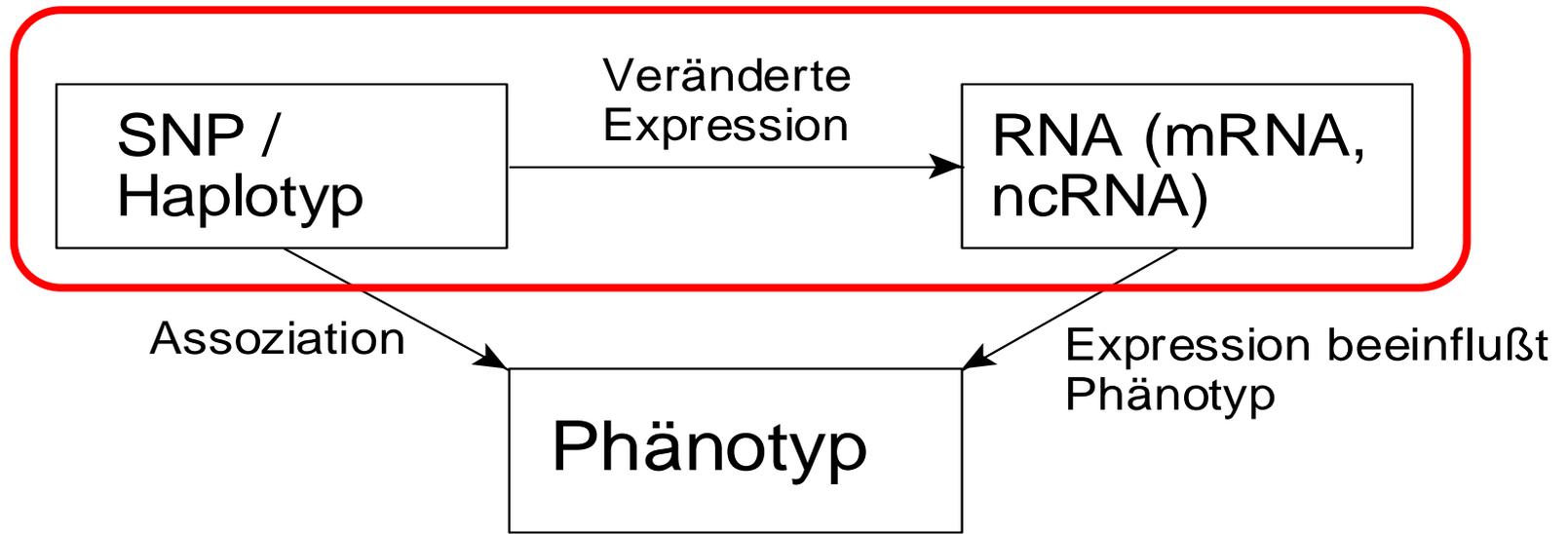
Posttranslationale Regulation

Epigenetische Regulation



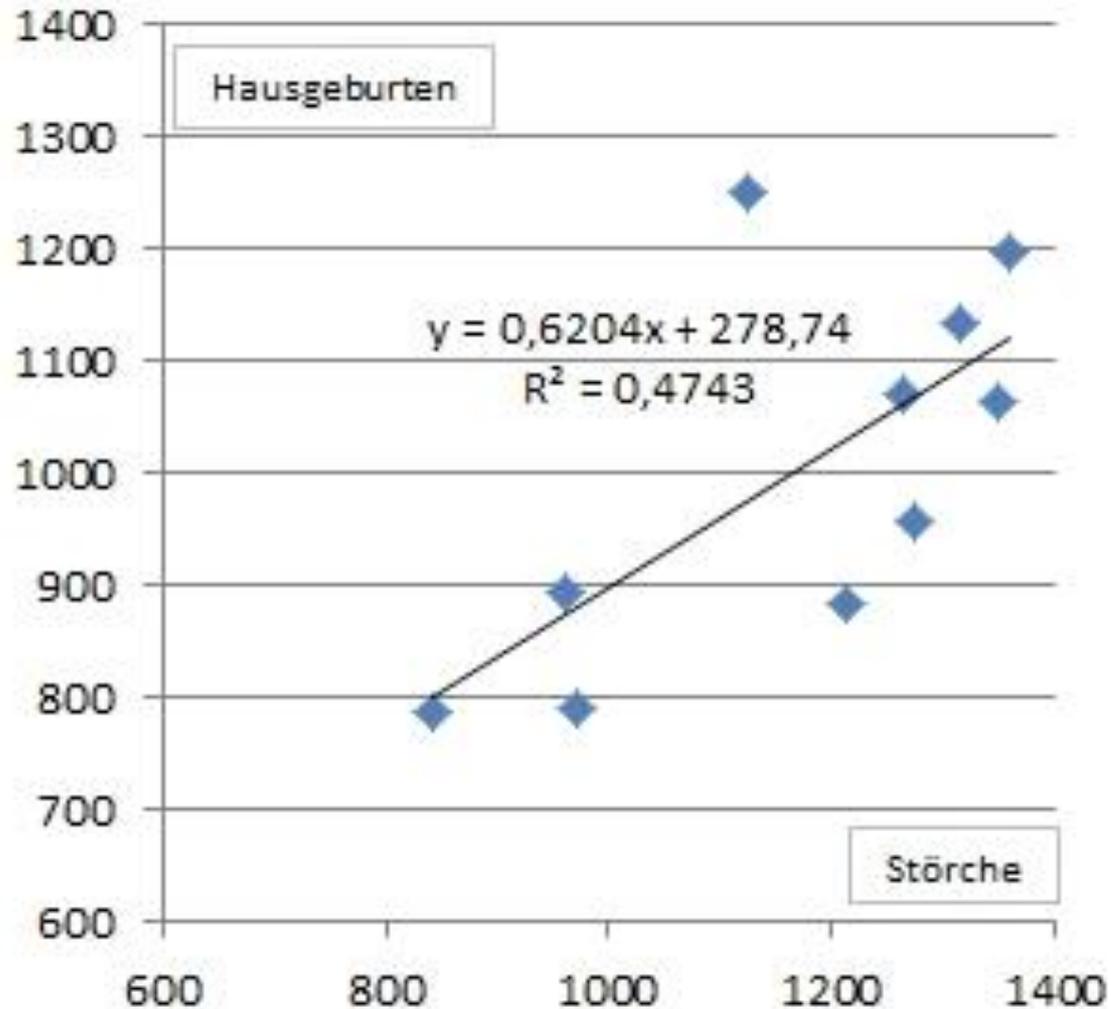
Konstruktion kausaler Netzwerke

Motivation



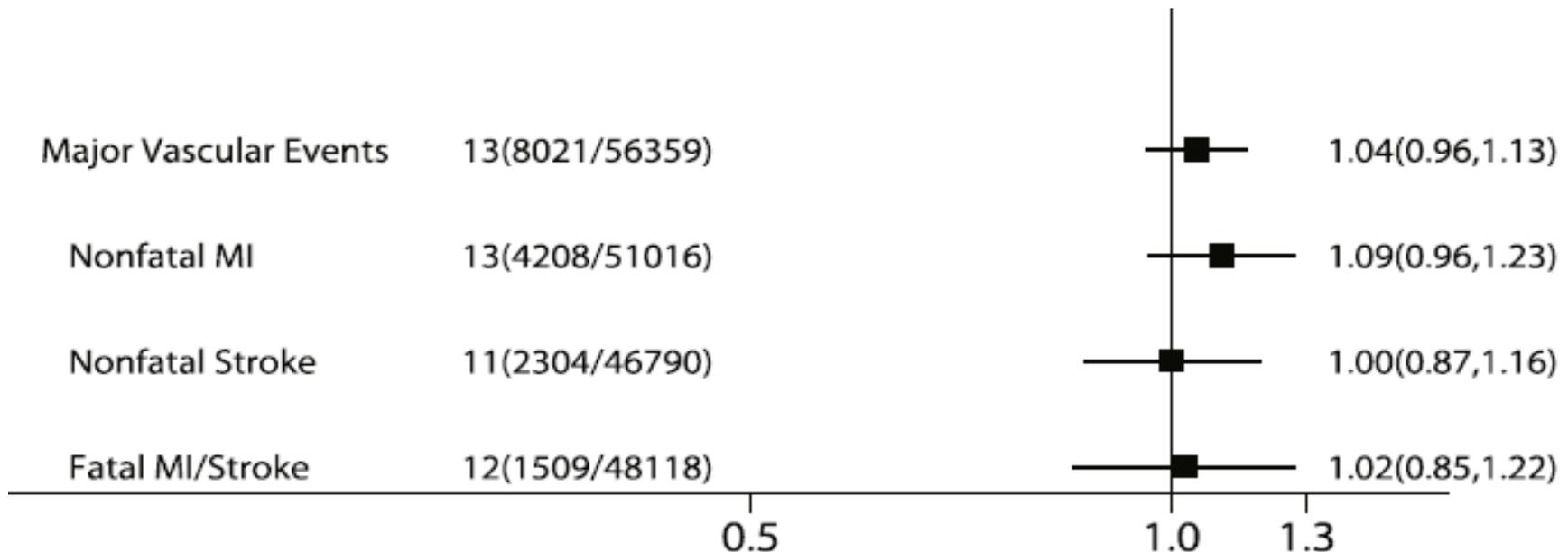
Genotyp-Phänotyp Assoziationen ergänzt durch funktionelle Analysen (z.B. Genotyp-Expression oder Expression-Phänotyp Korrelationen) ergeben Hinweise auf **Pathomechanismen**.

Korrelation \neq Kausalität



Warum ist Kausalität wichtig?

- Beispiel: Varespladib ist ein Phospholipase A2 (sPLA2) Inhibitor
- Hoffnung auf Verringerung kardiovaskulärer Ereignisse mittels reduzierter LDL-C Bindung an Gefäßwänden, durch Tierversuche bestätigt
- Aber: Phase III Studie beim Menschen gestoppt (kein Effekt, VISTA-16 Studie, 2012)
- Später wurde gezeigt, dass es keine kausale Beziehung zwischen sPLA2 Enzymaktivität / -masse und kardiovaskulären Ereignissen beim Menschen gibt (Holmes, JACC 2013):

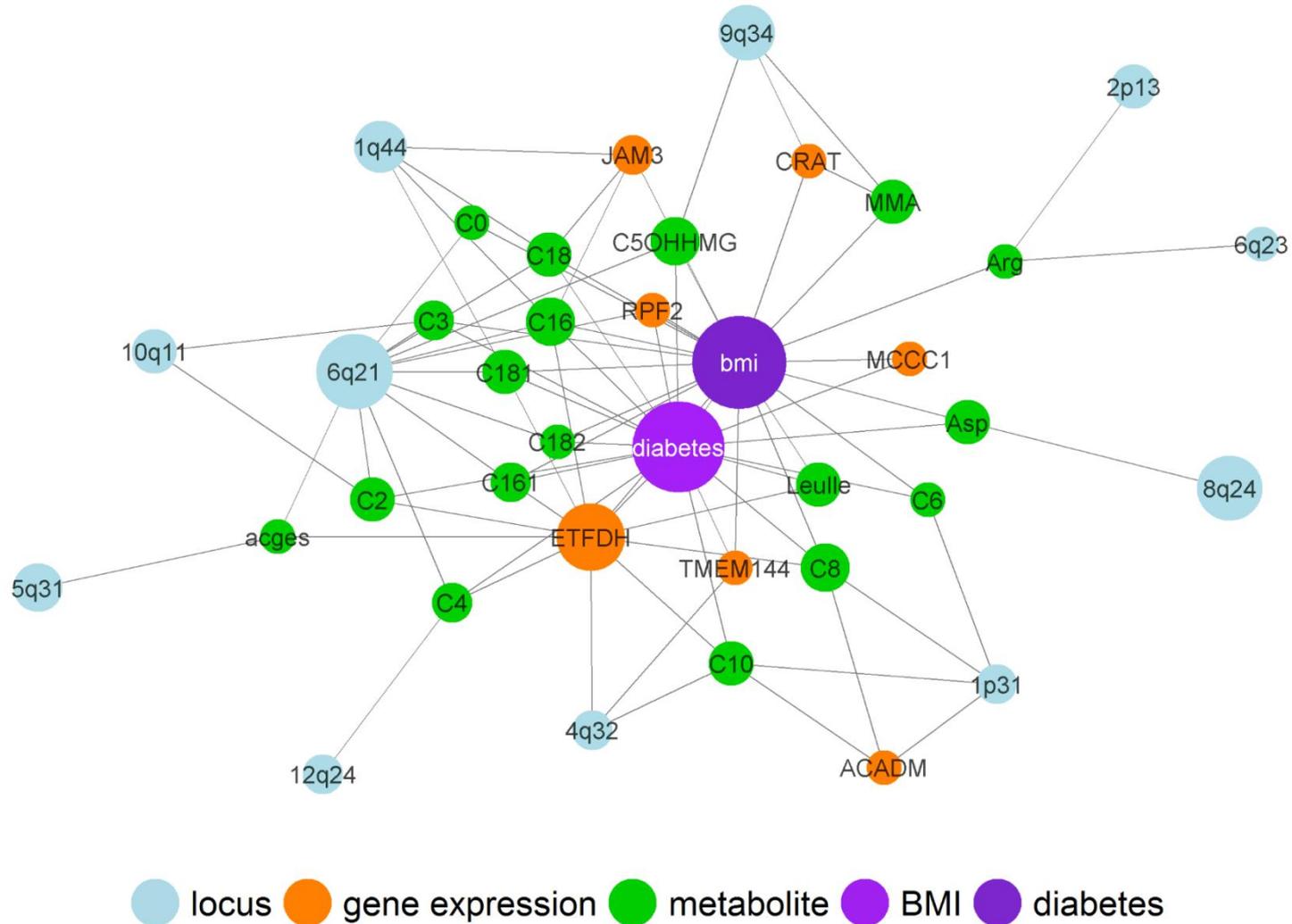


Kausalität

Beispiel PCSK9 und kard. Endpunkte

Zielgröße	Korrelation		Kausalität	
	Beta	P-Wert	Beta	P-Wert
Koronare Herzerk.	0.20	0.094	1.08	2.7×10^{-4}
Mehrfäß- Erk.	0.19	0.068	1.39	1.7×10^{-7}
Plaque	0.31	0.003	0.53	3.3×10^{-2}

Kausales Netzwerk (LIFE-Heart)



Ausblick

- Weitere Messungen:
 - Molekulare Charakterisierung der LIFE-Kohorten vervollständigen
 - Weitere molekulare Ebenen messen (Epigenetik, Lipidom) um molekulare Mechanismen besser zu verstehen
- Weitere Analysen:
 - Analyse der reichhaltigen Phänotypen in den LIFE-Kohorten hinsichtlich molekularer Einflussfaktoren
 - Kohortenübergreifende Analysen
 - Analyse von follow-up Daten
- Translation:
 - Integrative Analysen und Konstruktion kausaler Netzwerke
 - Funktionelle Analysen und Translation in Biomarker, therapeutische Ziele

⇒ **Reichhaltiges Forschungspotential für noch mind. 5 Jahre**

AG Genetische Statistik



Homepage: www.imise.uni-leipzig.de/genstat