

# Genmutationer koblet til Crohns sygdom

Cand.scient. Mads Wichmann Matthiessen & overlæge Jørn Brynskov

Amtssygehuset i Herlev, Medicinsk Gastroenterologisk Afdeling C

## Resumé

Molekylærgenetiske studier har vist, at mutationer i genet *nucleotide oligomerisation domain 2/caspase activating recruitment domain 15* (NOD2/CARD15) er koblet til Crohns sygdom, men ikke til colitis ulcerosa. Selv om allelfrekvenserne for de tre vigtigste punktmutationer *single nucleotide polymorphism* (SNP)8, SNP12 og SNP13 er forholdsvis lave (5-11%), forekommer en af disse hos op til en tredjedel af patienterne. Patienter med en muteret allel har 2-4 gange forøget risiko for at få Crohns sygdom, mens homozygot eller dobbelt heterozygot bærere af mutationerne har 20-40 gange forøget risiko. Mutationer ses hyppigst hos patienter med tidlig sygdomsdebut og stenoserende tyndtarmssygdom. Den bedst karakteriserede NOD2/CARD15-mutation (L1007fsinsC = SNP13) formodes at bidrage til Crohns sygdom ved at nedsætte epitelets evne til at eliminere bakterier fra tarmslimhinden. Generel screening af patienter med Crohns sygdom eller disses pårørende er ikke berettiget på nuværende tidspunkt.

Crohns sygdom og colitis ulcerosa er kroniske inflammatoriske tarmsygdomme, som formodes at opstå som følge af en vedvarende aktivering af det lokale T-lymfocyt-respons udløst af tarmens normale flora [1, 2] eller af en endnu ikke identificeret mikroorganisme [3]. Den nøjagtige mekanisme er ukendt, men involverer formentlig en defekt i den eller de signalveje, der regulerer samspillet mellem tarmfloraen og det lokale immunapparat [1]. Det er i dag veldokumenteret, at genetiske faktorer også er af betydning for udvikling af inflammatorisk tarmsygdom [1]. Klarest er det vist i tvillingestudier, hvor sygdomskonkordansen blandt monozygote tvillinger med Crohns sygdom er ca. 50%, mens den ved colitis ulcerosa er væsentlig lavere (ca. 19%) [4]. Specielt ved Crohns sygdom har man derfor søgt intenst efter gener, som er koblet til sygdommen, og en række nyere molekylærgenetiske studier har bidraget med afgørende viden herom. I denne artikel gennemgår vi den funktionelle og kliniske betydning af de vigtigste mutationer i *nucleotide oligomerisation domain 2/caspase activating recruitment domain 15* (NOD2/CARD15) ved Crohns sygdom.

## Crohns sygdom er koblet til IBD1-området på kromosom 16

I 1996 lykkedes det to uafhængige forskergrupper at koble et område på kromosom 16 (IBD1) til Crohns sygdom, mens koblingen ikke var associeret til colitis ulcerosa [5, 6]. I det ene studie udførte man en koblingsanalyse med polymorfe mikro-

satellitmarkører på hele det humane genom blandt 25 britiske og franske familier med forekomst af Crohns sygdom [5]. Dette resulterede i, at områder på såvel kromosom 1 som kromosom 16 kunne kobles til Crohns sygdom. Undersøgelse af yderligere 53 familier bekræftede koblingen af IBD1-genet til området på kromosom 16 (markør D16S409), men diskvalificerede området på kromosom 1. I det andet studie søgte man at bekræfte disse fund ved en detaljeret koblingsanalyse med 17 mikrosatellitmarkører i IBD1-området [6]. I studiet indgik 48 amerikanske familier med forekomst af Crohns sygdom, 16 familier med colitis ulcerosa og 19 familier, hvor begge sygdomme forekom. Undersøgelsen bekræftede, at IBD1-området på kromosom 16 (omkring markør D16S409 og D16S411) var koblet til Crohns sygdom.

## Mutationer i NOD2/CARD15 er koblet til Crohns sygdom

Undersøgelser af IBD1-området, som indeholder flere kandidatgener, der er involveret i det normale immunrespons, førte til, at flere mutationer i NOD2/CARD15-genet blev identificeret og koblet til Crohns sygdom. De to første studier blev publiceret samtidig i Nature af uafhængige forskergrupper, som i øvrigt havde anvendt helt forskellige metoder til at identificere de sygdomsfremkaldende mutationer [7, 8].

NOD2/CARD15 er nært beslægtet med NOD1, og begge kan aktivere nuklearfaktor (NF)- $\kappa$ B efter stimulation med bakterielt lipopolysakkarid (LPS) in vitro [9]. NF- $\kappa$ B er en central transkriptionsfaktor, der efter binding til DNA, aktiverer immun- og epitelcellers produktion af en bred vifte af proinflammatoriske cytokiner [10]. Endvidere er NOD-proteinerne homologe til en række plantegener, der er involveret i sygdomsresistens (R-proteiner) [11]. Derfor vurderede den amerikanske forskergruppe fra starten, at NOD2/CARD15-genet var en sandsynlig kandidat, og man udvalgte derfor 12 patienter med Crohns sygdom og DNA-sekventerede hele genet [7]. Hos tre af patienterne, men ingen af kontrolperso-

- De tre vigtigste sygdomsfremkaldende mutationer i NOD2/CARD15-genet ved Crohns sygdom (R702W, G908R og L1007fsinsC) forekommer hos ca. en tredjedel af patienterne. Mutationerne resulterer formentlig i, at tarmslimhindens naturlige evne til at eliminere bakterier svækkes.
- Patienter med en mutation har 2-4 gange forøget risiko for at få Crohns sygdom, mens patienter med mere end en mutation har 20-40 gange forøget risiko.
- Mutationerne er ikke koblet til colitis ulcerosa.

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

nerne, identificerede man en punktmutation (*single nucleotide polymorphism* (SNP)13, L1007fsinsC), der afstedkommer, at NOD2/CARD15-proteinet dannes i en forkortet form. Supplerende undersøgelser ved Crohns sygdom viste, at mutationen signifikant hyppigere blev nedarvet fra forældre, der var heterozygote bærere, end forventet (*preferential transmission*), mens dette ikke var tilfældet ved colitis ulcerosa. Desuden var allelfrekvensen af mutationen i dette studie over det dobbelte hos Crohn-patienter (8,2%) end hos colitis ulcerosa-patienter (3,0%) og kontrolpersoner (4,0%).

I det samtidige europæiske studie angreb man problemet systematisk ved at indsnævre det tidligere identificerede IBD1-område vha. en koblingsanalyse af 77 familier, hvor 27 mikrosatellitmarkører blev placeret for hver 1 cM i IBD1-området [8]. Denne analyse begrænsede området til ca. to megabaser. For at nærme sig det sygdomskoblede gen yderligere inddrog man 235 familier med Crohns sygdom og udførte SNP-genotypning af 11 markører, som lå i området. Derved fandtes tre SNP-markører (SNP 8, SNP 12 og SNP 13) (Tabel 1), som alle var koblet til Crohns sygdom, men ikke til colitis ulcerosa, og som alle lå i NOD2/CARD15-genet. Fundet af disse tre nøglemutationer har affødt yderligere undersøgelser for at klarlægge det fulde spektrum af mutationer i domænet. I en stor europæisk mutationsscreening af 453 patienter med Crohns sygdom, 159 med colitis ulcerosa og 103 raske kontrolpersoner fandt man 30 mutationer, der var koblet til Crohns sygdom [12]. De fleste afficerede patienter havde dog en af de tre kendte NOD2/CARD15-mutationer (81%).

### Den relative risiko for udvikling af Crohns sygdom er op til 40 gange større hos bærere af NOD2/CARD15-mutationerne

Antallet af patienter med Crohns sygdom, der bærer en eller flere af de tre hyppigste sygdomsfremkaldende mutationer i NOD2/CARD15, er ganske højt. I en undersøgelse fandt man, at 36% af Crohn-patienter (n = 688) var bærere af mindst en mutation, mens det tilsvarende tal for kontrolgruppen (n = 250) var 14% [13]. Yderligere fandt man, at ingen i kontrol-

#### Forkortelser

NOD2/CARD15: *nucleotide oligomerisation domain 2/ caspase activating recruitment domain 15*

LRR: *leucine-rich repeat domæne*

NF-κB: nuklearfaktor κB

TLR: Toll-lignende receptor

NBD: nukleotidbindende domæne

LPS: lipopolysakkarid

SNP: *single nucleotide polymorphism*

gruppen var homozygote eller dobbelt (*compound*) heterozygote bærere, mens 8% af Crohn-patienterne faldt i disse grupper. I et andet studie, der desuden inkluderede mindre hyppigt forekommende mutationer, var ca. 50% af Crohn-patienterne bærere, mens kun 20% af kontrolgruppen havde mutationer i NOD2/CARD15. Kun patienter med Crohns sygdom havde mere end en mutation (17%) [12]. Den relative risiko for at få Crohns sygdom er 20-40 gange højere hos homozygote og dobbelt heterozygote bærere af de sygdomsfremkaldende mutationer end hos patienter uden mutationer, mens heterozygote bærere kun har 2-4 gange højere risiko (beregnet ud fra genotypning af 2.478 patienter og 1.321 patienter) [7, 8, 13, 17, 19]. Dette tyder på et autosomt recessivt arvemønster med nedsat penetrans, hvilket passer med tidligere studier af Crohns sygdom [20].

Allelfrekvensen af de tre vigtigste sygdomsfremkaldende mutationer ligger omkring 5-11% hos Crohn-patienter, mens frekvensen for kontrolgruppen og colitis ulcerosa-patienter ligger omkring 1-4% (Tabel 1). Der er ingen forskel på allelfrekvensen hos patienter med sporadisk og familiært forekommende morbus Crohn [14].

### Funktionel betydning af NOD2/CARD15-mutationer og patogenesen ved Crohns sygdom

NOD2/CARD15-proteinet findes intracellulært, primært i perifere monocytter, hvor det er involveret i det innate (med-

Tabel 1. Hyppigheden af de tre mest udbredte sygdomsfremkaldende mutationer ved Crohns sygdom.

SNP/mutation <sup>a</sup> (dbSNP)	Allelfrekvens <sup>b</sup>		Molekylær betydning
	Crohns sygdom %	kontrol %	
SNP8/R702W(ss2978536)	11,2	4,2	Aminosyresubstitution N-terminalt for LRR1
SNP12/G908R(ss2978537)	4,7	1,1	Aminosyresubstitution i LRR6
SNP13/L1007fsinsC(ss2978539)	10,7	2,3	Trunkering af proteinet i LRR10

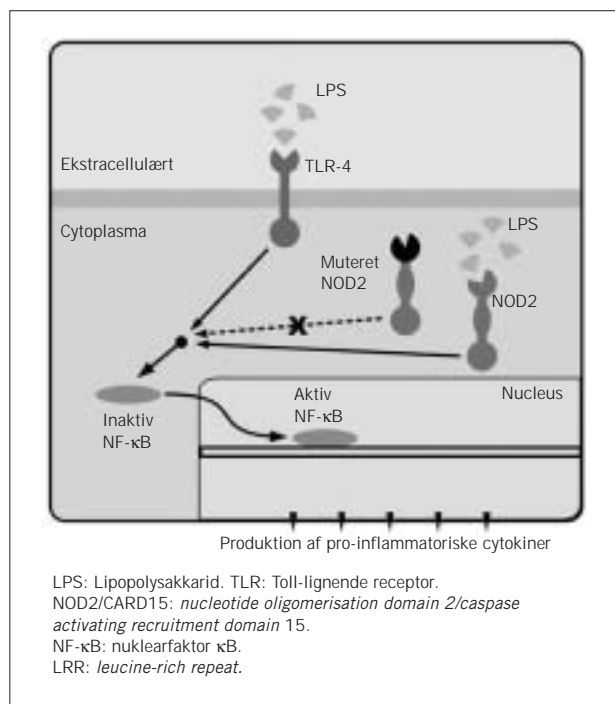
a) Nomenklatur efter Lesage et al [12].

b) Gennemsnit af fire europæiske og to nordamerikanske undersøgelser [8, 12-16]. Allelfrekvensen for L1007fsinsC inkluderer yderligere to europæiske undersøgelser [17, 18].

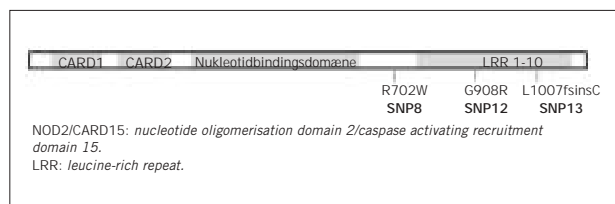
SNP: *Single nucleotide polymorphism*. dbSNP: U.S. National center for biotechnology information SNP database ID. LRR: *Leucine-rich repeat*.

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

fødte) immunrespons imod bakterielt LPS [21] via NF- $\kappa$ B aktivering (**Figur 1**). Sammen med NOD1, som har samme funktion, men som er udtrykt i langt flere væv [9], og den beslægtede Toll-lignende receptor (TLR) 4, som primært er udtrykt i tarmepitel [22], udgør disse proteiner et primært overvågningssystem. Proteinerne indeholder således en LPS-receptor, som består af adskillige *leucine-rich repeat* (LRR)-domæner, der bestemmer deres specificitet over for LPS. NOD-proteinerne indeholder desuden et nukleotidbindende domæne (NBD) og to CARD-domæner, der er afgørende for aktiveringen af NF- $\kappa$ B (**Figur 2**). De tre hyppigste, sygdomsfremkaldende NOD2/CARD15-mutationer forårsager enten en ændring af NOD2/CARD15-proteinets LPS-receptor (LRR-domænet, SNP8 og SNP12) eller for tidlig afslutning af pro-



**Figur 1.** TLR-4, NOD-1 og NOD2/CARD15 aktiverer NF- $\kappa$ B ved genkendelse af LPS, som er en naturlig bestanddel af gramnegative bakteriers overflade. Aktiveret NF- $\kappa$ B bevæger sig ind i cellekernen og aktiverer transkription af en lang række pro-inflammatoriske cytokiner. Mutation af LPS-receptor domænet (LRR) i NOD2/CARD15 forårsager nedsat aktivering af NF- $\kappa$ B.



**Figur 2.** Nucleotide oligomerisation domain 2/caspase activating recruitment domain 15 (NOD2/CARD15)-proteinet består af to caspase activating recruitment-domæner efterfulgt af et nukleotidbindende domæne og ti *leucine-rich repeat* (LRR)-domæner. Proteinet er 1.040 aminosyrer langt. De tre hyppigste sygdomsfremkaldende mutationer er angivet på figuren.

teinsyntesen (trunkering, SNP13) og derved en halvering af LPS-receptoren. Funktionelle transfektionsstudier af proteinerne har vist, at alle tre mutationer fører til et markant nedsat LPS-respons målt ved NF- $\kappa$ B-aktivering [7, 15]. Da langt den overvejende del af de mutationer, der er koblet til Crohns sygdom, findes i området omkring LPS-receptoren (93%), mens sygdomskoblede mutationer i CARD-domænerne og NBD er yderst sjældne [12], tyder det på, at det er genkendelsen af LPS og ikke signaleringen til NF- $\kappa$ B, der har betydning for udvikling af Crohns sygdom ved denne type gendefekter. Andre varianter af NOD2/CARD15 har vist sig at øge immunsystemets følsomhed over for LPS, og det var derfor overraskende, at in vitro-forsøgene med de muterede former af NOD2/CARD15 ved Crohns sygdom havde præcis den modsatte effekt. En mulig forklaring er, at det innate immunrespons ikke bliver aktiveret tidligt eller effektivt nok, og at der derved kommer et kompensatorisk kraftigere respons fra det adaptive (T-celle medierede) immunforsvar, hvilket netop ses ved Crohns sygdom [2]. En anden hypotese er, at mutationer i LPS-receptoren ændrer specificiteten af NOD2/CARD15-proteinet, så det reagerer kraftigere imod LPS fra bakterier, der normalt ikke udløser et immunrespons [7, 15].

Helt nye undersøgelser har imidlertid vist, at NOD2/CARD15 også er direkte involveret i colonepitellets håndtering af lumenale antigener, herunder bakterier. To grupper har påvist NOD2/CARD15-genekspression i såvel transformerede som primære colonepitelceller. Desuden er NOD2/CARD15 opreguleret ved inflammatorisk tarmsygdom og kan yderligere stimuleres med det proinflammatoriske cytokin, tumornekrotiserende faktor (TNF)- $\alpha$  [23-25]. Humane Caco-2-tarmepitelcellelinjer, som er transfekteret med det normale NOD2/CARD15-protein, er i stand til at begrænse væksten af internaliserede *S. typhimurium*-bakterier, mens celler transfekteret med det muterede protein ikke har denne egenskab. Selv om disse funktionelle studier er udført i artificielle cellemodeller viser de tydeligt, at NOD2/CARD15-proteinerne har en lokal antibakteriel virkning, som forsvinder, hvis tarmepitelet kun udtrykker muteret protein. Endvidere bekræfter disse studier, at colonepitelceller hos mennesker formentlig spiller en langt større rolle i reguleringen af tarmens immunrespons end hidtil antaget [26-30]. Det er således nærliggende at antage, men endnu ikke vist, at en lignende defekt elimination af bakterier fra tarmslimhinden kan være en helt central mekanisme i udviklingen af Crohns sygdom [31]. Denne antagelse styrkes af, at der senest er beskrevet kraftig ekspression af NOD2/CARD15 i de såkaldte Panethceller, der er involveret i tarmens immunrespons og især findes i den terminale ileum, hvilket jo er prædilektionsstedet for Crohns sygdom [32].

### Genotype-fænotype-analyse af NOD2/CARD15 ved Crohns sygdom

Crohns sygdom er modsat colitis ulcerosa karakteriseret ved

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

et bredt spektrum af kliniske sygdomsbilleder. Således kan sygdommen være lokaliseret overalt i mave-tarm-kanalen, og nogle patienter har alene tyndtarmsaffektion, mens andre har ren colonsygdom og andre igen både colon- og tyndtarmsaffektion. Ud over variation i sygdomslokaliseringen klassificeres Crohns sygdom i dag også på basis af kliniske fænotyper. Et eksempel er den såkaldt Vienna Classification, hvor patienterne bl.a. klassificeres i henhold til, om sygdommen overvejende udviser et fibrostenoserende forløb (f.eks. recidiverende tyndtarmsstenoser), eller om den tilhører den såkaldte perforerende variant, der er karakteriseret ved udvikling af fistler [30]. I tre større studier har man derfor undersøgt, om der er en sammenhæng mellem de vigtigste NOD2/CARD15-mutationer og den kliniske fænotype. Selv om disse studier har vist varierende resultater, er de gennemgående fund, at NOD2/CARD15-mutationer er associeret til den fibrostenoserende variant af sygdommen, specielt i tyndtarmen, og at patienterne debuterer tidligere end andre [13, 33]. Det er også vist, at mutationerne ikke er associeret til forekomst af ekstraintestinale sygdomsmanifestationer [12].

Senest har man i to store studier vist, at NOD2/CARD15-genotypen ikke har betydning for den kliniske responsrate ved infliximabbehandling. Infliximab (Remicade) er et anti-TNF- $\alpha$ -antistof, som i flere kontrollerede undersøgelser og i klinisk praksis har vist sig at være en effektiv behandling af udvalgte patienter med Crohns sygdom [34, 35]. Den klare kobling mellem NOD2/CARD15-mutationer og Crohns sygdom har også foranlediget en række studier mhp. at undersøge, om disse også er associeret til andre kroniske inflammatoriske sygdomme. Imidlertid er der ikke beskrevet sammenhæng mellem NOD2/CARD15-mutationer og reumatoid artrit [36], ankyloserende spondylit [37] eller psoriasis [38].

### Konklusion

NOD2/CARD15-mutationer er sikkert associeret med Crohns sygdom, specielt tyndtarmsaffektion, hvor de formodes at resultere i en manglende evne til at eliminere lumenale bakterier fra epitelet. Disse mutationer er forholdsvis sjældne, og da de præcise funktionelle konsekvenser endnu ikke er fuldt klarlagt, er det aktuelt ikke berettiget generelt at undersøge Crohn-patienter eller deres pårørende herfor. Derimod anbefales det, at metoder til NOD2/CARD15-genotypning af patienter med Crohns sygdom etableres til videnskabelige formål på specialafdelinger for patienter med inflammatorisk tarmsygdom.

### Metode

Litteraturen anvendt til denne oversigtsartikel er søgt i U.S. National center for biotechnology information PubMed database med kombinationer af ordene: *NOD2*, *CARD15*, *IBD*, *Crohn's disease*, *ulcerative colitis*, *TLR* og anvendelse af Booleske algebraiske søgetermer. Referencerne er fortrinsvis fra origi-

nale artikler i anerkendte internationale tidsskrifter, dog er der medtaget enkelte oversigtsartikler.

Korrespondance: *Jørn Brynkskov*, Medicinsk Gastroenterologisk Afdeling C, Amtssygehuset i Herlev, DK-2730 Herlev.  
E-mail: [jobr@herlevhosp.kbhamt.dk](mailto:jobr@herlevhosp.kbhamt.dk)

Antaget: 4. marts 2004  
Interessekonflikter: Ingen angivet

### Litteratur

- Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002;347:417-29.
- Brynkskov J. Cyclosporin in Crohn's disease. Therapeutic and pathogenetic implications. *Dan Med Bull* 1994;41:332-44.
- Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G et al. Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut* 2003;52:237-42.
- Halfvarson J, Bodin L, Tysk C et al. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology* 2003;124:1767-73.
- Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C et al. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996;379:821-3.
- Ohmen JD, Yang HY, Yamamoto KK et al. Susceptibility locus for inflammatory bowel disease on chromosome 16 has a role in Crohn's disease, but not in ulcerative colitis. *Hum Mol Genet* 1996;5:1679-83.
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:603-6.
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:599-603.
- Inohara N, Ogura Y, Chen FF et al. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides. *J Biol Chem* 2001;276:2551-4.
- Rogier G, Brand K, Vogl D et al. Nuclear factor kappaB is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa. *Gastroenterology* 1998;115:357-69.
- Ogura Y, Inohara N, Benito A et al. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J Biol Chem* 2001;276:4812-8.
- Lesage S, Zouali H, Cezard JP et al. CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet* 2002;70:845-57.
- Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM et al. The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002;122:867-74.
- Vermeire S, Wild G, Kocher K et al. CARD15 genetic variation in a Quebec population: prevalence, genotype-phenotype relationship, and haplotype structure. *Am J Hum Genet* 2002;71:74-83.
- Bonen DK, Ogura Y, Nicolae DL et al. Crohn's disease-associated NOD2 variants share a signaling defect in response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *Gastroenterology* 2003;124:140-6.
- Ahmad T, Armuzzi A, Bunce M et al. The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;122:854-66.
- Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ et al. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 2001;357:1925-8.
- Vavassori P, Borgiani P, D'Apice MR et al. 3020insC mutation within the NOD2 gene in Crohn's disease: frequency and association with clinical pattern in an Italian population. *Dig Liver Dis* 2002;34:153.
- Cavanaugh JA, Adams KE, Quak EJ et al. CARD15/NOD2 Risk Alleles in the Development of Crohn's disease in the Australian population. *Ann Hum Genet* 2003;67:35-41.
- Orholm M, Iselius L, Sorensen TI et al. Investigation of inheritance of chronic inflammatory bowel diseases by complex segregation analysis. *BMJ* 1993;306:20-4.
- Ogura Y, Inohara N, Benito A et al. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J Biol Chem* 2001;276:4812-8.
- Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000;406:782-7.
- Rosenstiel P, Fantini M, Brautigam K et al. TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003;124:1001-9.
- Hisamatsu T, Suzuki M, Hans C et al. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003;124:993-1000.
- Berrebi D, Maudinas R, Hugot JP et al. Card15 gene overexpression in mono-

- nuclear and epithelial cells of the inflamed Crohn's disease colon. *Gut* 2003;52:840-6.
26. Pedersen G, Brynskov J, Saermark T. Phenol toxicity and conjugation in human colonic epithelial cells. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:74-9.
  27. Pedersen G, Saermark T, Bendtzen K et al. Cultures of human colonic epithelial cells isolated from endoscopic biopsies from patients with inflammatory bowel disease. Effect of IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  on viability, butyrate oxidation and IL-8 secretion. *Autoimmunity* 2000;32:255-63.
  28. Pedersen G, Saermark T, Horn T et al. Cytokine-induced impairment of short-chain fatty acid oxidation and viability in human colonic epithelial cells. *Cytokine* 2000;12:1400-4.
  29. Pedersen G, Saermark T, Giese B et al. A simple method to establish short-term cultures of normal human colonic epithelial cells from endoscopic biopsy specimens. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:772-80.
  30. Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 2000;6:8-15.
  31. Swidsinski A, Ladhoff A, Perntaler A et al. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002;122:44-54.
  32. Lala S, Ogura Y, Osborne C et al. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology* 2003;125:47-57.
  33. Abreu MT, Taylor KD, Lin YC et al. Mutations in NOD2 are associated with fibrostenosing disease in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;123:679-88.
  34. Vermeire S, Louis E, Rutgeerts P et al. NOD2/CARD15 does not influence response to infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;123:106-11.
  35. Mascheretti S, Hampe J, Croucher PJ et al. Response to infliximab treatment in Crohn's disease is not associated with mutations in the CARD15 (NOD2) gene: an analysis in 534 patients from two multicenter, prospective GCP-level trials. *Pharmacogenetics* 2002;12:509-15.
  36. Steer S, Fisher SA, Fife M et al. Development of rheumatoid arthritis is not associated with two polymorphisms in the Crohn's disease gene CARD15. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:304-7.
  37. Van der PM, Crusius JB, de Koning MH et al. CARD15 gene mutations are not associated with ankylosing spondylitis. *Genes Immun* 2003;4:77-8.
  38. Young C, Allen MH, Cuthbert A et al. A Crohn's disease-associated insertion polymorphism (3020insC) in the NOD2 gene is not associated with psoriasis vulgaris, palmo-plantar pustular psoriasis or guttate psoriasis. *Exp Dermatol* 2003;12:506-9.

## Statusrapport over udforskningen af Na,K-ATPase, Ca-ATPase og andre P-type-kationpumper

Professor Peter Leth Jørgensen,  
Ph.D. biochemistry Steven J.D. Karlsh &  
professor Arvid B. Maunsbach

Københavns Universitet, August Krogh Institutet,  
Biomembran Center, Weizmann Institute,  
Department of Biological Chemistry, Rehovot, Israel, og  
Aarhus Universitet, Anatomisk Institut,  
Afdeling for Cellebiologi

P-type-pumper er en familie af fem adskilte grupper (P-type ATPase-database: <http://biobase.dk/-axe/Patbase.html>), der omfatter Na,K-ATPase, gastrisk H,K-ATPase, Ca-ATPase i sarkoplasmisk og endoplasmisk reticulum, plasmamembran Ca-ATPase, og plasmamembran H-ATPase i svampe og højere planter. Desuden er der grupper af tungmetalpumper og fosfolipid-pumper. Forskningsfeltet har undergået fundamentale ændringer siden *Jens Chr. Skou* i 1957 [1] beskrev en ATPase fra krabbenerver, der var aktiveret af Na- og K-ioner. Over de sidste 30 år har konferencer om Na,K-pumpen samlet forskere inden for feltet for at præsentere nye data og diskutere den seneste udvikling. Den »10th International Conference on Na,K-ATPase and Related Cation Pumps« blev afholdt i Helsingør, 8.-13. august, 2002 med 247 aktive deltagere.

Især i de seneste to år har vi været vidner til en hurtig udvikling med publikation af den første krystalstruktur af en P-type kationpumpe, Ca-ATPase fra sarkoplasmisk reticulum

ved 2,6 Å resolution i en E<sub>1</sub>Ca-konformation [2]. For at forstå mekanismen bag den aktive kationtransport af enhver P-type-pumpe må vi vide, hvorledes proteinstrukturen ændres i de forskellige trin af den katalytiske cyklus. Et højdepunkt på mødet var præsentationen af en ny struktur ved 3,1 Å resolution af Ca-ATPase i en E<sub>2</sub>-konformation, med bundet Mg og inhibatoren thapsigargin [3]. En sammenligning af strukturerne i E<sub>1</sub>- og E<sub>2</sub>-konformationerne giver en unik indsigt i mekanismen bag den aktive transport af Ca. Disse strukturer har også en enestående værdi for forståelse af struktur og funktion for alle P-type-pumper, og de gør det lettere at planlægge forsøg på at teste detaljer i mekanismerne bag de aktive transportprocesser. Ved konferencen blev den molekylære struktur og funktion af Na,K-ATPase, H,K-ATPases, H-ATPase og Ca-ATPase sammenlignet i flere symposier, og specielle sessioner blev afviklet for at diskutere tungmetalpumper og protonpumper i planter. Uanset at strukturerne ved høj resolution af Ca-ATPase har stor betydning for forståelsen af struktur og mekanisme for alle kationpumper, kan de ikke føre til en komplet løsning af pumpemekanismen for Na,K-ATPase og den gastriske og nongastriske H,K-ATPase, hvor der i tillæg er  $\beta$ -subunits eller regulatoriske subunits (FXYP-proteiner) som diskuteret nedenfor. Generelt kan vi nu se sammenhænge i struktur og funktion for alle P-type-kationpumper som et fælles problem, hvor vi søger efter generelle principper for overførsel af energi fra ATP-spaltning til bevægelse af kationer, selv om der er unikke strukturelle, funktionelle og regulatoriske træk ved hver enkelt gruppe af pumper.