

– Efter det första sjukdomsskoven blir musen åter lite friskare men får sedan förnyade skov utan att vi gör något. Sjukdomsförloppet blir kroniskt. När det efter det första skoven blev en inflammation i musens centrala nervvävnad förefaller det som om denna frisätter nya peptider från förstörda myelinproteiner. Dessa peptider kan tas upp av MHC-molekyler som presenterar dem för immunsystemets T-celler. Kanske är det så att för varje skov blir det ett nytt immunsvär mot peptider som musen tidigare inte exponerats för [2, 3].

Blockad av adhesionsmolekyler

För att de inflammatoriska cellerna ska kunna ta sig in genom blod–hjärnbarriären måste de först häfta fast i kärlväggarna och därefter tränga igenom endotelet. I det sammanhanget spelar adhesionsmolekylerna på cellernas yta en viktig roll. Det är dessa som avgör var, och hur hårt på kärlväggen de immunologiska cellerna fäster. Inom svensk MS-forskning har man ännu inte tittat så mycket på vilka terapeutiska möjligheter som kan uppnås genom att påverka adhesionsmolekyler.

– Problemet med adhesionsmolekylerna är att de är så generella, de finns överallt och behövs i många immunreaktioner. MS är en sjukdom som sträcker sig över 20–30 år, det är inte lika lätt att rikta in terapin mot adhesionsmolekyler som det är vid mer kortvariga akuta tillstånd. Men jag vet att det finns grupper på andra håll i världen som överväger kliniska studier där adhesionsmolekyler blockeras vid MS, och man har sett att det kan fungera i djurmodeller. Även vi ska börja titta mer på adhesionsmolekylerna, säger Tomas Olsson.

Peter Örn

Litteratur

1. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1993; 43: 655-61.
2. Jansson L, Diener P, Engström A, Olsson T, Holmdahl R. Spreading of the immune response to different myelin basic protein peptides in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis in B10.RIII. *Eur J Immunol* 1995; 25: 2195-200.
3. Sundvall M, Jirholt J, Yang HT, Jansson L, Engström A, Pettersson V et al. Identification of murine loci associated with susceptibility to chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Genet* 1995; 10: 313-17.

GEN-SCANNING AVSLÖJAR REGIONER FÖR MS OCH RA

Vid autoimmuna sjukdomar som reumatoid artrit (RA) och multipel skleros (MS) är den ärftliga belastningen förmodligen relativt svag. Det är ändå viktigt att identifiera sjukdomsgenerna, bl a för att kunna gå vidare i forskningen med djurmodeller. Med ny teknik söks genomet av och nu finns ett flertal genregioner lokaliserade som kan kopplas till MS och RA.

Både reumatoid artrit (RA) och multipel skleros (MS) är till viss del polygena sjukdomar, dvs det finns en ärftlig benägenhet och ett flertal gener är inblandade. Men hur stor roll den ärftliga belastningen spelar finns det inga vetenskapliga belägg för. Normalt uppskattas 10–30 procent av fallen ha ärftliga samband.

En viktig genregion för utveckling av RA och MS är lokaliserad till MHC (the major histocompatibility complex)-regionen på kromosom 17, som styr transplantationsantigenerna. MHC-molekyler sitter på alla cellers yta. Genom att plocka upp fragment av främmande ämnen som tagit sig in i cellen kan MHC-molekylerna utlösa en attack från immunförsvaret. Vid RA kan MHC plocka upp fragment av broskproteiner, t ex av kollagen 2, och presentera det som ett främmande ämne på cellens yta vilket i sin tur kan leda till en autoimmun reaktion. Vid MS rör det sig om fragment av proteiner som är specifika för myelinskidan kring nervfibrer i centrala nervsystemet.

Men detta beteende beror inte på någon genetisk defekt. Visst skiljer sig MHC-molekyler som presenterar just dessa kroppsegna proteiner från andra MHC-molekyler. I transgena möss handlar det om en skillnad på sex nukleotider i genomet. Fyra aminosyror i MHC-proteinet skiljer mellan friska och sjuka möss. Det är en mycket liten skillnad, en naturlig polymorfism bland många som vi behöver för att få variationsrikedom i befolkningen.

Dessa annorlunda MHC-molekyler kan också ha en skyddande effekt, fram-

för allt mot vissa parasiter och tropiska virus.

Genomets markörer

Bland dem som drabbas av RA och MS, och där den ärftliga belastningen tros vara en förutsättning (10–30 procent av fallen), beräknas de annorlunda MHC-molekylerna ansvara för 40–50 procent av den ärftligheten. Den uppskattningen är dock mycket grov. Det går inte att utesluta att det även finns defekta gener som i vissa fall kan ligga bakom RA och MS. För genetiker som söker orsaker till RA och MS handlar det ändå främst om att hitta normala gener som man inte har något intresse av att förändra, bara att förstå för att den vägen hitta bra behandlingar.

Professor Rikard Holmdahl på institutionen för cell- och molekylärbiologi, avdelningen för medicinsk inflammationsforskning vid Lunds universitet, arbetar med försöksdjur för att lokalisera fler genregioner som kan ha betydelse för RA och MS. Sedan några år används en ny teknik kallad mikrosatellit-baserad genkartering; genom att använda repeterande DNA-element, oftast nukleotiderna cytosin och adenin som finns i repeterande följd i olika längd och utspridda över hela genomet, får man en sorts orienteringskarta i genomet med olika markörer.

5 000 genetiska markörer

Idag finns omkring 5 000 genetiska markörer tillgängliga för alla som forskar kring arvsmassan. Vid kontrollerade korsningar av möss, med en mamma som är känslig för sjukdom och en pappa som inte är det (eller tvärtom), kan man hos avkomman identifiera regioner som motsvarar känslighet för en sjukdom.

– Med hjälp av en modell för MS i möss i vilken kronisk sjukdom utvecklas har vi kommit i närheten av de gener som styr sjukdomen. Det finns åtminstone på fem olika lokaliseringar i arvsmassan gener som avgör om mössen ska bli friska eller sjuka. På kromosom 17 finns sannolikt en gen som kodar för en MHC klass II-molekyl. Dessutom finns det andra viktiga gener på kromosom 17, kromosom 3 samt på X-kromo-

Genom att studera RA som MS samtidigt påskyndas forskningen, menar professor Rikard Holmdahl, institutionen för cell- och molekylärbiologi i Lund.

– Med hjälp av en modell för MS i möss i vilken kronisk sjukdom utvecklats har vi kommit i närheten av de gener som styr sjukdomen. Men vi känner ännu bara till regionerna, inte exakt vilka gener det handlar om.

somen. Men vi vet ännu inte exakt vilka de är. Den gen som finns på X-kromosomen skulle kunna förklara varför honnor är mer känsliga än hanar för att få den experimentella sjukdomen, förklarar Rikard Holmdahl.

Rikard Holmdahls grupp har också sett att den gen som sitter på kromosom 3 kan samverka med den på kromosom 15. Exakt vilka gener det rör sig om vet forskarna ännu inte, bara i vilka regioner de finns.

Forskningen för deskriptiv

Rikard Holmdahl menar att forskningen kring RA och MS har varit för deskriptiv: man har kunnat visa hur processerna ser ut och sedan spekulerat om orsakerna. Med transgen-teknik ökar möjligheterna till manipulerande forskning och analys av det man ser. Kartläggning av mössens genom är enligt honom ett stort steg åt det hållet. Med djurmodeller finns en möjlighet att ta reda på om de eventuella sjukdomsgenerna som upptäckts är de samma för RA och MS, eftersom mössen har samma genetiska bakgrund för bägge sjukdomarna.

– Genom att studera bägge sjukdomarna samtidigt påskyndas forskningen; är de genetiska faktorerna gemensamma måste man koncentrera sig på likheterna i de processer som leder till sjukdomarna, och är det något som genetiskt skiljer dem åt så måste man koncentrera sig på att hitta skillnaderna.

Forskargruppen studerar även broskmolekylen kollagen. Kollagen är

en vanlig broskmolekyl och immunsystemet ska ju normalt inte ge sig på något det är vant att möta. Det måste finnas genetiska orsaker till att toleransen bryts. Nu letar man efter de strukturer, peptider, i kollagenet som känns igen av immunsystemet. Sedan återstår det att identifiera de gener som styr uppbyggnaden av kollagen och slutligen genom transgen-teknik efterlikna kollagenstrukturen i möss.

– Då har vi de redskap som behövs för att se hur olika miljöfaktorer kan orsaka uppkomsten av RA. Vi har ju redan transgena möss med förändrat kollagen och kan styra utveckling av sjukdomen. Men så kontrollerat fungerar det ju inte i människan, och vi vill ha en modell som efterliknar människan så mycket som möjligt, säger Rikard Holmdahl.

Lättast att framkalla MS

Liksom brosket har sina specifika proteiner så har myelinskidan sina proteiner som har betydelse för uppkomsten av MS. Två myelinspecifika proteiner som studerats mycket är myelin basic protein (MBP) och proteolipoprotein (PLP). I djurförsök har man sett hur åtminstone PLP kan framkalla en MS-lik sjukdom. Forskningen på djur har kommit längre kring myelinspecifika proteiner än kring de broskspecifika eftersom det är lättare att framkalla MS än RA på djur. Blod-hjärnbarriären gör att myelin normalt inte i samma utsträckning som brosk exponeras för olika ämnen och myelinproteinerna har därför en lägre tolerans.

– Man har jobbat mycket med modeller av akut sjukdom, vilket är naturligt eftersom immunförsvaret går till attack då ett främmande ämne i en djurmodell uttrycks. Men varför blir MS kronisk? Vi vet idag väldigt lite om strukturen i myelinspecifika proteiner, hur de fungerar och varför MS blir kronisk, säger Rikard Holmdahl.

Han tror att alla proteiner som är specifika för myelinskidan kan ha betydelse för utveckling av MS. Hans egen forskargrupp har mest arbetat med proteinet MBP, bl a i samarbete med professor Tomas Olsson på Karolinska sjukhuse (se separat artikel).

– Vi försöker modifiera gener på olika sätt för att kunna skärpa analysen av hur MS och RA fungerar. Det gör vi dels genom att använda humana gener i möss, dels genom riktade mutationer i befintliga gener. Vi förändrar bl a de epitoper, delar av antigenet, som känns igen av T- och B-lymfocyter för att förstå hur immunsystemet känner igen dessa.

Djurmodeller nödvändiga

Djurmodeller är nödvändiga för att förstå processerna vid RA och MS, och även för att testa nya mediciner. Det visade bl a den optimistiska engelska patientstudie som publicerades i Lancet på 1980-talet, då en grupp patienter fått gamma-interferon som behandling mot MS. Terapin hade inte testats i djurmodeller och en tid efter publiceringen blev patienterna mycket sämre. En patient avled.

Vid MS-forskning används djurmodeller även för mikrosatellit-baserad genkartering då det är svårt att hitta tillräckligt många MS-familjer, dvs familjer med fler än en drabbad, bland patientgrupperna. Sjukdomen utvecklas oftast på olika sätt i djurmodeller och med genkartering kanske man kan hitta de gener som avgör utvecklingen. Det skulle på sikt kunna leda till mer individuella terapier.

– Vi förstår fortfarande inte tillräckligt mycket om sjukdomsprocessens komplexitet. Vi förstår inte hur faktorer som kan te sig obetydliga ändå kanske påverkar förloppet, t ex vilken tidpunkt på dygnet man administrerar ett visst läkemedel.

En ökad kunskap om genernas betydelse, och vilka genregionen utöver MHC-regionen som kan vara viktiga vid RA och MS, kan skapa bättre förutsättningar för terapiförsök och en ökad förståelse för sjukdomsprocessen.

Peter Örn