

# Växande gener orsakar neurologiska sjukdomar

**En växande grupp av ärftliga neurodegenerativa sjukdomar, inkluderande Huntingtons sjukdom, har visat sig orsakas av expanderade trebasarsuppreppningar i sjukdomsgenen. Nya forskningsrön belyser likheter mellan dessa polyglutaminsjukdomar och erbjuder förenklade diagnostikmöjligheter genom tillgång till DNA-baserade test.**

Det är nu 15 år sedan James Gusella och hans grupp i Boston lokaliserade genen för Huntingtons sjukdom till korta armen av kromosom 4 [1]. Upptäckten gav förhoppningar om en säkrare och tidigare diagnostik av denna svåra neurologiska sjukdom.

Man hoppades även på en snar identifikation av sjukdomsgenen och dess genprodukt, vilket skulle kunna leda fram till en effektiv behandling av sjukdomen. Det visade sig emellertid att identifikationen av genen skulle bli svårare än förväntat och ta ytterligare 10 år [2].

Under senare år har dock antalet

identifierade sjukdomsgener ökat dramatiskt, till stor del beroende på den snabba utvecklingen inom molekylär-genetiken.

Analysen av ett flertal gener som orsakar neurogenetiska sjukdomar har lett till upptäckten av en ny typ av dynamisk mutation där expanderade instabila trebasarsuppreppningar, s k trinucleotide repeats, orsakar sjukdom. Hittills har ett dussintal sjukdomar visat sig bero av denna typ av mutation, och de kan indelas i två huvudgrupper.

## **Ena gruppen innefattar olika trinucleotidsekvenser ...**

Den ena gruppen innefattar olika typer av expanderade trinucleotidsekvenser lokaliserade i icke-kodande DNA. Denna grupp inkluderar bland annat fragil X-syndromet där man ser CGG/CCG-expansioner 5' om genen, dystrophia myotonica med en CTG-expansion i icke translaterade 3'-delen av genen och slutligen Friedreichs ataxi där GAA-expansioner är lokaliserade i genens intronsekvens [3-5].

Gemensamt för dessa sjukdomar är att DNA-sekvensen på den normala kromosomen bär ett relativt lågt antal repeats (5-50) medan den muterade kromosomen vid samma lokus kan bära hundratals till tusentals repetitioner [6]. Dessa expanderade trinucleotiduppreppningar leder till varierade kliniska manifestationer som drabbar olika organ men framförallt nervsystemet och därigenom yttrar sig som neurologiska sjukdomar.

## **... den andra utgörs av tio neurodegenerativa sjukdomar**

Den andra gruppen utgörs av tio neurodegenerativa sjukdomar där den expanderade sekvensen i de flesta fall utgörs av en CAG-uppreppning lokaliserad i den kodande delen av genen. I nio fall kodar denna region för en polyglutamindomän och dessa sjukdomar går därför även under benämningen polyglutaminsjukdomar.

Den tionde sjukdomen, okulofaryngeal muskeldystrofi (OPMD), orsakas även den av ett expanderat repeat i den kodande delen av sjukdomsgenen. Vid OPMD har den repeterade regionen

sekvensen GCG, vilket kodar för aminosyran alanin; OMPD kan följaktligen kallas en polyalaninsjukdom [7].

Bland polyglutaminsjukdomarna finner vi Huntingtons sjukdom (HD), de spinocerebellära ataxierna (SCA1, 2, 3, 6 och 7) samt dentatorubral-pallidoluisian atrophy (DRPLA), spinobulbar muskelatrofi (SBMA/Kennedys sjukdom) och autosomt dominant spastisk paraplegi (ADPSP) (Tabell I). De olika sjukdomarna har jämförbart antal CAG-uppreppningar där de normala generna generellt bär på 10-35 enheter. Den patologiska tröskeln för expansionernas storlek ligger runt 37-40 enheter, med en övre gräns som sällan överstiger 100-150 glutaminenheter. Undantaget är SCA6 där en glutamin-expansion på endast 20 enheter leder till sjukdom samt OMPD som ger symtom redan med 1-2 alaninexpansioner.

## **Anticipation**

Polyglutaminsjukdomarna har många gemensamma drag. Alla är neurodegenerativa sjukdomar, som uppvisar en selektiv nervcellsöd där de drabbade neuronens funktion är avgörande för sjukdomens symtom.

Samtliga, med undantag av den X-bundna SBMA, är autosomt dominant nedärvda. Vidare uppvisar alla dessa sjukdomar anticipation, dvs barnen tenderar att insjukna tidigare och med mer uttalade symtom än deras sjuka föräldrar.

Det finns en stark negativ korrelation mellan polyglutaminens längd och sjukdomssymtomens svårighetsgrad, där längre polyglutaminkedjor leder till tidigare sjukdomsdebut och snabbare sjukdomsförlopp.

Anticipationen beror på att basarsuppreppningarna ökar i antal från generation till generation. Ett slående exempel på detta fenomen är en svensk man som debuterade med SCA7 (spinocerebellär ataxi med retinal degeneration) vid 35 års ålder och som vid DNA-analys uppvisade 49 CAG-uppreppningar, medan hans son debuterade i tidig småbarnsålder och avled bara några månader därefter.

Sonen uppvisade vid DNA-test över 200 CAG-uppreppningar, vilket demon-

## **Författare**

JENNI JOHANSSON

fil lic, doktorand, avd för klinisk genetik/institutionen för cell- och molekylärbiologi, Umeå Universitet

GÖSTA HOLMGREN

professor, chefsöverläkare, avd för klinisk genetik, Norrlands Universitetssjukhus, Umeå

LARS FORSGREN

professor, överläkare, institutionen för klinisk neurovetenskap, Norrlands universitetssjukhus, Umeå

MONICA HOLMBERG

fil dr, forskarassistent, avd för klinisk genetik/institutionen för cell- och molekylärbiologi, Umeå universitet.

**Tabell I.** En sammanställning av de idag kända polyglutaminsjukdomarna.

Sjukdom	Kromosomal lokalisation	Protein	Funktion	Normal allel	Expanderad allel	DNA-baserad diagnostik möjlig
HD	4p	Huntingtin	Okänd	6–36	41–180	Ja
SBMA/Kennedy	X	Androgenreceptorn	Hormonreceptor	9–36	38–62	Ja
DRPLA	12	DRPLA	Okänd	3–36	49–88	Ja
SCA1	6p	Ataxin-1	Okänd	6–39	39–83	Ja
SCA2	12q	Ataxin-2	Okänd	14–32	34–77	Ja
SCA3	14q	Ataxin-3	Okänd	12–40	62–86	Ja
SCA4	16q	Ej identifierad	–	–	–	Nej
SCA5	11	Ej identifierad	–	–	–	Nej
SCA6	19	CACNL1A4	Jonkanal	4–18	21–30	Ja
SCA7	3p	Ataxin-7	Okänd	7–17	38–>200	Ja
ADPSP	2p	Ej identifierad	–	–	>60	Nej

strerar den största ökningen av polyglutaminheter som hittills rapporterats [8].

### Olika sjukdomar, samma mekanism?

Trots intensiv forskning är ännu litet känt om mekanismerna bakom polyglutaminsjukdomarna. Av de nio sjukdomsgener med CAG-expansioner som hittills identifierats är det bara två vars genprodukt har en känd normalfunktion; androgenreceptorn som är förändrad i SBMA/Kennedy och den kalciumkanal som med relativt små CAG-expansioner orsakar SCA6 [9, 10].

De nio generna har, förutom den reputerade regionen, inga påtagliga likheter i DNA-koden sinsemellan. Detta faktum, samt rapporter om patienter som trots deletioner i androgenreceptorgen inte uppvisar neurodegenerativ sjukdom, har lett till en allmänt vedertagen teori att den expanderade polyglutamindomänen ger dessa proteiner en ny gemensam funktion, en så kallad gain-of-function, genom vilken den specifika nervcellsdöden uppstår.

Denna teori stärks ytterligare av de musmodeller som konstruerats för de olika sjukdomarna. Man har visat att en transgen mus som bär på en expanderad polyglutamin utan omgivande gensekvens utvecklar neurodegenerativa symtom [11, 12].

Vidare har man introducerat en expanderad polyglutamin i en gen, hypoxanthine phosphoribosyltransferase (HPRT), som normalt inte bär denna typ av domän. Möss som uttrycker denna form av HPRT utvecklar en fenotyp som liknar polyglutaminsjukdomarna hos människa [13].

### Inklusionskroppar skadar neuroner?

Många frågor står dock ännu obesvarade, t ex varför bara vissa neuroner tar skada av polyglutaminkedjorna trots att proteinerna i de flesta fall är uttryckta i alla analyserade hjärnregioner samt många andra av kroppens vävnader. En

teori är att de expanderade polyglutaminindomänerna interagerar med andra faktorer och att det är dessa faktorer som svarar för cellspecifitet.

Sökandet efter denna typ av faktorer har pågått i många år, och även om många »polyglutaminpartners» har identifierats har expressions- och interaktionsmönster inte kunnat förklara den celltypspecifika celldöd som observeras vid de olika sjukdomarna.

Nyligen identifierades dock ett protein, leucin-rich acidic nuclear protein (LANP), som interagerar med en expanderad form av ataxin-1, det protein som orsakar SCA1 [14]. Detta protein uttrycks också i första hand i de celler som primärt drabbas vid SCA1, såsom lillhjärnans Purkinjeceller och delar av hjärnstammen, och anses därför vara en god kandidat för förmedlandet av cellspecifitet i denna sjukdom.

Under 1997 gjordes en viktig upptäckt som kan börja förklara vad som orsakar celldöden i de utvalda neuronerna. Hos möss transgena för expanderad huntingtin (proteinet som är muterat vid HD), samt i hjärnvävnad från HD-, SCA1-, SCA3- och SCA7-patienter, fann man så kallade nukleära inklusionskroppar, små proteinaggregationer i nervcellskärnorna. Dessa inklusionskroppar återfanns endast i hjärnans nervceller och främst i de av sjukdomen drabbade regionerna.

Inklusionerna har visat sig innehålla det expanderade polyglutaminproteinet samt ubiquitin, ett intracellulärt protein som binder till andra proteiner som skall nedbrytas, i alla studerade fall. Hur dessa inklusioner bildas och i vilken utsträckning de bidrar till nervcellens död är ännu oklart [15–19]. De senaste rönen inom detta område indikerar dock att dessa inklusionskroppar i sig inte orsakar nervcellsdöden, utan snarare utgör ett sätt för cellen att ta hand om de muterade och förmodat toxiska proteinerna [20–22].

Det har dock visat sig att expanderad huntingtin uttryckt in vitro och in vivo bildar aggregat och att dessa aggregat

uppvisar en struktur som liknar de  $\beta$ -pleated sheets som ses vid amyloidosisjukdomar och Alzheimers sjukdom.

Nya upptäckter har visat att de amyloidinlagringar som man ser vid familjär amyloidosis med polyneuropati (FAP-met 30) frigör syraradikaler med toxisk effekt på nervfibrer och annan omgivande vävnad [23]. Även i polyalanin-sjukdomen OPMD är det sedan länge känt att drabbade muskelceller innehåller en form av nukleära inklusioner [7].

### Spinocerebellär ataxi typ 7 (SCA7)

I Sverige är Spinocerebellär ataxi typ 7 (SCA7), vid sidan av Huntingtons sjukdom, en av de vanligaste polyglutaminsjukdomarna. SCA7, tidigare kallad olivopontocerebellär atrofi typ III (OPCA III), är en cerebellär ataxi med retinal degeneration. Sjukdomen leder till neurologiska symtom som gångsvårigheter, talsvårigheter och synnedsetning.

En av världens största SCA7-familjer med 20 sjuka personer har kartlagts i Västerbotten [24]. Analys av debutåldern i denna familj visar kraftig anticipation där debutåldern sjunker från ca 40 år till 0–1 år över tre generationer. Familjer med denna typ av cerebellär ataxi har beskrivits i flera olika delar av världen och i samtliga fall har den ansvariga genen visat sig vara lokaliserad till den korta armen av kromosom 3. Genen för SCA7 identifierades helt nyligen av en forskargrupp i Frankrike [25] och visade sig, liksom alla de hittills kända SCA-formerna, innehålla expanderade CAG-upprepningar hos samtliga sjuka individer.

Även i den svenska familjen visar analys av SCA7-genen att alla sjuka individer bär på en expanderad CAG-region. Vidare ser man en stark negativ korrelation mellan antalet CAG och debutålder hos patienterna.

I Sverige har idag ytterligare fyra familjer med SCA7 identifierats, där samtliga patienter bär expanderade CAG-repeats. Studier med genetiska

**ANNONS**

markörer, s k haplotypanalys, har genomförts i samtliga svenska familjer och resultaten indikerar möjligheten att de fem släkterna har en gemensam anfader eftersom samtliga patienter har en specifik haplotyp i det område på kromosom 3 där SCA7-genen ligger [8].

### Förenklad presymtomatisk och prenatal diagnostik

Dessa vetenskapliga genombrott inom forskningen kring Huntington och andra trinukleotidsjukdomar innebär att presymtomatisk och prenatal diagnostik dramatiskt har förenklats genom tillgången till DNA-baserade test (Tabell I).

Det är nu möjligt att genom analys av ett blodprov från en enskild individ fastställa om vederbörande är bärare av den sjukdomsframkallande förändringen i genen eller inte. Detta innebär en stor förenkling jämfört med tidigare indirekta DNA-analys, där man med hjälp av genetiska markörer var nödgad att testa flera friska och sjuka släktingar. Detta innebär att släktingar med risk att bära på anlaget ofta inte ville eller vågade ställa upp för provtagning. Med den nya, direkta mutationsanalysen begränsas undersökningen till de personer som är intresserade och mogna att få denna information.

Mutationsanalys av Huntingtons sjukdom, Friedreichs ataxi, dystrophia myotonica, fragilt Xa, Kennedys sjukdom/spinobulbar muskelatrofi samt SCA7 finns tillgänglig som diagnostiskt redskap vid ett antal klinisk-genetiska laboratorier i landet, bl a vid Norrlands Universitetssjukhus.

### Referenser

- Gusella JF, Wexler NS, Conneally PM, Naylor SL, Anderson MA, Tanzi RE et al. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntingtons disease. *Nature* 1983; 306: 234-8.
- The Huntingtons Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntingtons disease chromosomes. *Cell* 1993; 72: 971-83.
- Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991; 65: 905-14.
- Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, Aburatani H et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 1992; 68: 799-808.
- Campuzano V, Montermini L, Moltò MD, Pianese L, Cossée M, Cavalcanti F et al. Friedreichs ataxia: Autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996; 271: 1423-7.
- LaSpada AR, Paulson HL, Fischbeck KH.

Trinucleotide repeat expansion in neuro-logical disease. *Ann Neurol* 1994; 36: 814-22.

- Brais B, Bouchard J-P, Xie Y-G, Rochefort DL, Chrétien N, Tomé FMS et al. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Genet* 1998; 18: 164-7.
- Johansson J, Forsgren L, Sandgren O, Brice A, Holmgren G, Holmberg M. Expanded CAG repeats in Swedish spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) patients: Effect of CAG repeat length on the clinical manifestation. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 171-6.
- LaSpada AR, Wilson EM, Lubhan DB, Harding AE, Fishbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked bulbular muscular atrophy. *Nature* 1991; 352: 77-9.
- Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashiva T, Stockton DW, Amos C et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha1A-voltage-dependent calcium channel. *Nat Genet* 1997; 15: 62-9.
- Mangiarini L, Sathasivam K, Seller M, Cozens B, Harper A, Hetherington C et al. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 1996; 87: 493-506.
- Ikeda H, Yamaguchi M, Sugai S, Aze Y, Narumiya S, Kakizuka A. Expanded polyglutamine in the Machado-Joseph disease protein induces cell death in vitro and in vivo. *Nat Genet* 1996; 13: 196-202.
- Ordway JM, Tallaksen-Greene S, Gutekunst C-A, Bernstein EM, Cearley JA, Wiener HW et al. Ectopically expressed CAG repeats cause intranuclear inclusions and a progressive late onset neurological phenotype in the mouse. *Cell* 1997; 91: 753-63.
- Matilla A, Koshy BT, Cummings CJ, Isobe T, Orr HT, Zoghbi HY. The cerebellar leucine-rich acidic nuclear protein interacts with ataxin-1. *Nature* 1997; 389: 974-8.
- Di Figlia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, Bates GP, Vonsattel JP et al. Aggregation of Huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in bBrain. *Science* 1997; 277: 1990-3.
- Davies SW, Turmaine M, Cozens BA, DiFiglia M, Sharp AH, Ross CA et al. Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* 1997; 90: 537-48.
- Skinner PJ, Koshy BT, Cummings CJ, Klement IA, Helin K, Servadio A et al. Ataxin-1 with an expanded glutamine tract alters nuclear matrix-associated structures. *Nature* 1997; 389: 971-4.
- Paulson HL, Perez MK, Trotter Y, Trojanowski JQ, Subramony SH, Das SS et al. Intranuclear inclusions of expanded polyglutamine protein in spinocerebellar ataxia type 3. *Neuron* 1997; 19: 333-44.
- Holmberg M, Duyckaerts C, Dürr A, Cancel G, Gourfinkel-An I, Damier P et al. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7): a neurodegenerative disorder with neuronal intranuclear inclusions. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 913-8.
- Klement IA, Skinner PJ, Kaytor MD, Yi H, Hersch SM, Clark HB et al. Ataxin-1 nuclear localization and aggregation: Role in polyglutamine-induced disease in SCA 1 transgenic mice. *Cell* 1998; 95: 41-53.
- Li M, Nakagomi Y, Kobayashi Y, Merry DE, Tanaka F, Doyu M et al. Nonneuronal nuclear inclusions of androgen receptor protein in spinal and bulbar muscular atrophy. *Am J Pathol* 1998; 153: 695-701.
- Saudou F, Finkbeiner S, Devys D, Greenberg ME. Huntingtin acts in the nucleus to induce apoptosis but death does not correlate

with the formation of intranuclear inclusions. *Cell* 1998; 95: 55-66.

- Ando Y, Nyhlin N, Suhr O, Holmgren G, Uchida K, El Salhy M et al. Oxidative stress is found in amyloid deposits in systemic amyloidosis. *Biochem, Biophys Res Comm* 1997; 232: 497-502.
- Holmberg M, Johansson J, Forsgren L, Heijbel J, Sandgren O, Holmgren G. Localization of autosomal dominant cerebellar ataxia with retinal degeneration and anticipation to chromosome 3p12-21.1. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1441-5.
- David G, Abbas N, Stevanin G, Dürr A, Yvert G, Cancel G et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet* 1997; 17: 65-70.

### Summary

#### Growing genes cause neurological diseases

Jenni Johansson, Gösta Holmgren, Lars Forsgren, Monica Holmberg

*Läkartidningen* 1999; 96: 897-900

A growing number of hereditary neurodegenerative disorders have been found to be caused by expansion of trinucleotide repeats. A smaller number of diseases such as fragile X syndrome, myotonic dystrophy, and Friedreich's ataxia, have been found to be due to expansions in non-coding DNA. In a large group of diseases, the expansion consists of CAG repeats in the coding region of the gene, producing an expanded polyglutamine sequence in the protein. Nine diseases have so far been identified as belonging to this group: Huntington's disease, spinobulbar muscular atrophy (SBMA), dentatorubral pallidoluysian atrophy (DRPLA), autosomal dominant »pure« spastic paraplegia (ADPSP), and five forms of spinocerebellar ataxia (SCA 1, 2, 3, 6 and 7). Except for SBMA, all of the CAG repeat disorders are characterised by autosomal dominant heredity and anticipation (i.e., earlier onset age and increasing severity in successive generations). The mutated protein causes disease via an as yet unidentified gain-of-function mechanism in specific subsets of neurones. Today, DNA analysis permits the diagnosis of a trinucleotide disease in individual cases.

*Correspondence:* Jenni Johansson, Dept of Cellular and Molecular Biology, University of Umeå, SE-901 85 Umeå, Sweden.