

Många milstolpar i genetikens historia

Framgångsrik genterapi kan snart vara en realitet

Under det gångna seklet har sjukdomspanoramata i vårt land förändrats markant: Förbättrade sociala förhållanden och nya och bättre behandlingsmetoder har gjort att prevalensen av genetiskt betingade sjukdomar och utvecklingsrubbingar har ökat. Idag är flertalet folksjukdomar ärftligt betingade. Dit hör bl a allergier, hjärt-kärlsjukdomar och diabetes.

Det är nu möjligt att medelst bl a DNA-teknik spåra anlagsbärare av obotliga ärftliga sjukdomar. Att framgångsrikt kunna byta ut sjuka gener mot friska, dvs genterapi, är en inte alltför avlägsen möjlighet.

Författare

KARL-HENRIK GUSTAVSON professor, avdelningen för klinisk genetik, Rudbecklaboratoriet, Akademiska sjukhuset, Uppsala.

E-post:

Karl-Henrik.Gustavson@genpat.uu.se

Sedan urminnes tider har man spekulerat beträffande ärftlighetens natur. Man har byggt iakttagelserna dels på människan själv och hennes familj, dels på erfarenheter från djuravel och växtodling. Den äldsta kända släkttavlan är över hästavel i Kaldéen i Mesopotamien för 5 000 år sedan.

Tidig kunskap

De observationer och erfarenheter man gjorde beträffande utseendemässiga likheter och förekomst av samma sjukdom eller missbildning hos flera av en familjs medlemmar gjorde att man trodde på någon form av biologiskt arv även för människan. I judarnas heliga bok Talmud föreskrevs att söner till kvinnor som tidigare fött en son som dött i förblödning efter omskärelsen skulle befrias från omskärelse; även systemsöner till dessa kvinnor befriades från omskärelseplikten. Således förstod judarna redan för flera tusen år sedan att blödersjuka ärvs könsbundet och drabbar endast män.

Enligt Aristoteles (384–322 f Kr) var det kvinnan som bidrog med »materialiet» till det väntade barnet; mannen stod för »formgivningen». Så skulle mycket »manliga» män oftare få söner än döttrar.

En annan uppfattning under antiken var att könet bestämdes av vindriktningen vid befruktningen: en kall vind verkade i hanlig riktning, en varm i honlig. Hippokrates (460–357 f Kr) menade att arvssubstans från föräldrarna, utsondrad till blodet från kroppens olika organ, blandades. Friska organ bildade normal arvssubstans, sjuka eller missbildade organ lämnade sjuka faktorer i arvssubstansen. Därav följde exempelvis att blåögda föräldrar oftast får blåögda barn, och att skelögda föräldrar riskerar att få skelögda barn.

Ännu i början av 1800-talet höll man fast vid tron att individen var en frukt av blandningen av föräldrarnas olika vätskor. Denna gamla föreställning avspeglas i uttrycken blodsband, halvblod och blodskam.

I forna tider hade man en statisk bild av naturen. Starkt bidragande till detta var bibelns beskrivning av skapelsen som en en gång för alla avslutad process. Carl von Linné ansåg således att arterna var oföränderliga; de såg ut som de alltid gjort.

Ung vetenskapsgren

Genetiken är som vetenskapsgren ung, och går tillbaka till Darwins formulering av evolutionsläran i boken »On the origin of the species by means of natural selection», utgiven 1859. Darwin kunde dock aldrig förklara hur en ny variation av egenskaper kunde uppkomma, eftersom mutationer på den tiden var ett okänt begrepp.

Om Darwin hade känt till Gregor Mendels epokgörande arbete »Versuche über Pflanzen-Hybriden», publicerat i Verhandlungen des Naturforschenden Vereins, Brünn 1865, kunde han ha fått förklaringen till hur ny ärftlig variation kan bibehållas i kommande släktled. Man lär ha hittat Mendels epokgörande publikation i ett oöppnat brev från Mendel i Darwins kvarlätenhet!

Mendel drog slutsatsen från sina försök med korsningar av olika ärtsorter att arvet bestäms av arvsfaktorer som nedärvs oberoende av varandra, och att omkombinationer av arvsfaktorerna medför en lagbunden variation av egenskaperna hos avkomman.

Det är märkligt att Mendels iakttagelser hur monogena egenskaper nedärvs lämnades obeaktade fram till år 1900, då Mendels resultat återupptäck-

FISH (fluorescens-in situ-hybridisering) av prometafaskromosomer från en utvecklingsstörd pojke med missbildningar. Bilden visar en translokation mellan kromosomerna 4 (röd) och 7 (grön). Ett extra segment av långa armen från en kromosom 4 är translokerad till en kromosom 7.

För bilden svarar Lore Zech och Anna Almegård, avdelningen för klinisk genetik, Rudbecklaboratoriet, Akademiska sjukhuset, Uppsala.

tes. Den biologiska forskningen kom därmed in i ett nytt och fruktbart skede.

1900 – blodgrupperna

År 1900 upptäckte Landsteiner blodgruppsystemet AB0, och 1911 visades att dessa blodgrupper ärvs mendelskt.

1901 – termen mutation

År 1901 skapade de Vries termen mutation, betecknande en plötslig och bestående förändring av arvsanlag.

1902 – kromosomerna bärare av arvsanlagen

År 1902 sjösatte Sutton och Boveri konceptet att kromosomerna var bärare av arvsanlagen, att de överförs med könscellerna till nästa generation och att kromosomernas fördelning vid meiosen förklarar mendelsk nedärvning.

Samma år rapporterade Garrod sina undersökningar av alkaptonuri och visade för första gången att en sjukdom kan ärvas enligt de mendelska ärftlighetslagarna. Garrod lade fram hypotesen att ärftliga ämnesomsättningsjukdomar orsakas av en autosomalt recessivt nedärvd specifik enzymbrist, som leder till anhopning av symtomframkallande metaboliter.

Detta paradigm, »inborn errors of metabolism», har senare till fullo bekräftats av genetisk biokemisk forskning, och man har påvisat en specifik biokemisk rubning vid närmare 500 olika ärftliga ämnesomsättningsjukdomar. Studiet av dessa sjukdomar har varit av central betydelse för kartläggningen av den normala intermedieärmetabolismen.

De första årtiondena

Experimentella undersökningar och teoretiska koncept dominerade genetisk forskning under vårt sekels första år-

tionden. År 1906 upptäckte och beskrev Bateson och Punnett det s k kopplingsfenomenet i ett arbete med korsningar mellan olika ärtsorter.

Bananflugan introducerades i genetisk forskning av Castle 1905. På grund av att bananflugans kromosomer i spottkörtelcellerna är mycket stora kan de studeras i detalj i vanligt ljusmikroskop. Morgan och hans elever Bridges och Sturtevant kunde genom att undersöka ärftliga egenskaper hos bananflugor visa att generna är linjärt ordnade på kromosomerna, att koppling föreligger mellan gener som är belägna nära varandra i samma kromosom och att kopplingsgraden är omvänt proportionell mot genernas avstånd från varandra.

Detta kom att få mycket stor betydelse för utvecklingen inom genetisk forskning. Kopplingsanalys är numera en huvudmetod för att skapa genetiska kartor, varvid man undersöker hur ofta två markörer, exempelvis en ärftlig sjukdom och en specifik DNA-sekvens, ärvs tillsammans. Vid bildningen av könsceller följs gener som ligger nära varandra på samma kromosom oftare åt än gener som ligger på olika kromosomer. Graden av koppling betingas av avståndet mellan generna, vilket kan definieras med sannolikheten för att en överkorsning och utbyte av generna mellan homologa kromosomer skall inträffa under könscellbildningen. Avståndet mellan generna (genloci) mäts i

överkorsningsprocenten och anges i centimorgan, som motsvarar ca 1 miljon baspar.

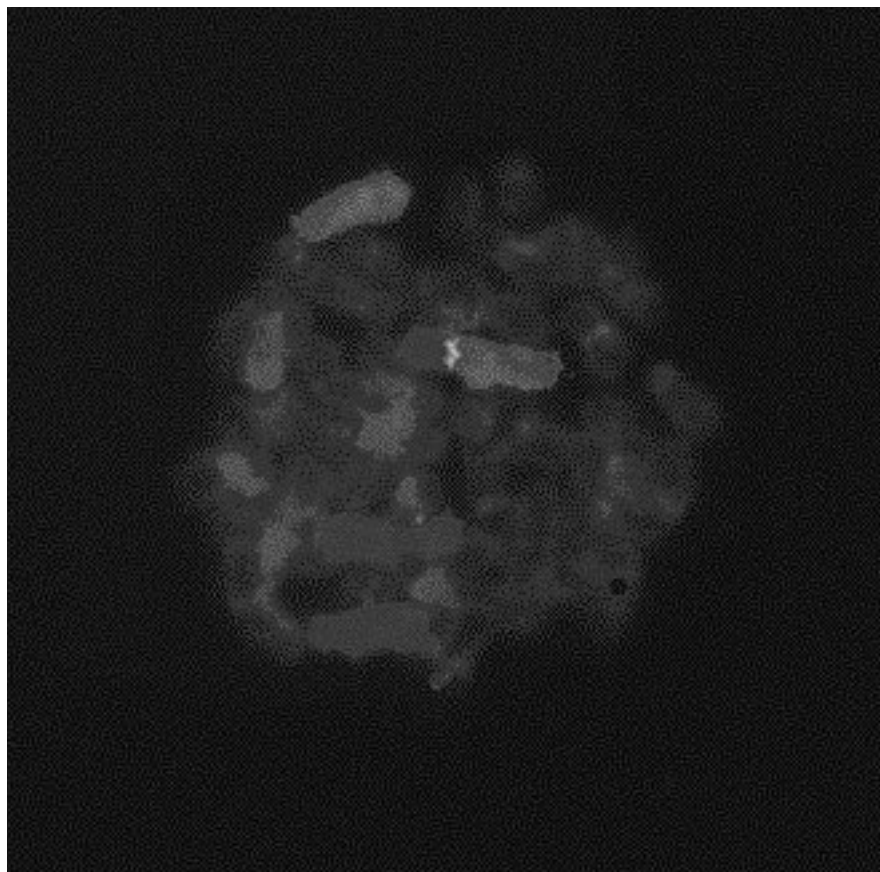
Galton (1822–1911), tvillingforskningsens grundläggare, studerade kontinuerliga variablers nedärvning, t ex intelligens och kroppslängd. Han fann att nedärvningsmönstret inte stämde med enkel mendelsk nedärvning.

År 1918 visade Fisher att nedärvningen av egenskaper med kontinuerlig variation var polygenetisk, med nedärvning av flera olika gener, var och en med en liten men additiv effekt. Det är välkänt att nära släktingar liknar varandra mer än icke besläktade individer. Detta gäller inte bara normala egenskaper utan också flertalet vanliga sjukdomar som allergier, diabetes, hjärt-kärlsjukdomar, högt blodtryck och de vanligaste missbildningarna.

Gemensamt för dessa normala egenskaper och folksjukdomar är att de beror på en samverkan mellan polygener och miljöfaktorer. Man brukar tala om komplexa, multifaktoriellt betingade sjukdomar med polygen nedärvning. Stora satsningar görs nu för att identifiera och kartlägga gener som disponerar för dessa folksjukdomar. Därmed ges förutsättningar för förebyggande insatser och tidigt insatt behandling.

1927 – strålningens effekt

År 1927 påvisade Müller i experiment med röntgenstrålning av banan-



flugor den joniserande strålningens mutationsframkallande effekt.

40- och 50-talen – DNA och arvsmassan

År 1943 visade Avery och medarbetare att arvsmassan består av DNA.

Människans normala kromosomtäl, 46, fastställdes av Tjio och Levan i Lund 1956, vilket banade vägen för kromosomforskningen.

År 1959 rapporterade Lejeune den första kromosomavvikelsen hos människa, 21-trisomin vid Downs syndrom, vilket blev startpunkten för klinisk cytogenetik.

Ett annat epokgörande arbete var upptäckten av Caspersson och Zech vid Karolinska institutet att kromosomerna har ett specifikt bandmönster som gör att de kan identifieras och detaljstuderas individuellt.

Molekylärgenetiken föddes 1953, då Watson och Crick klarade DNA-molekylens uppbyggnad. Detta arbete, »Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid», är »århundradets upptäckt» inom det biologiska forskningsfältet och startpunkten för molekylärgenetiken, dvs studiet av geners struktur och funktion på molekylär nivå.

År 1956 visade Ingram att sicklecellbetaglobingen hade aminosyran valin i stället för, som normalt, glutamin i position 6, vilket för första gången visade att en mutation i en strukturgen kan leda till en förändring av ett proteins aminosyraskvens. Detta blev startpunkten för studiet av ärftliga proteindefekter och proteinvariationer i relation till hälsa och sjukdom: biokemisk genetik.

Genombrottet för den moderna gen-tekniken kan dateras till 1970, då Amber och Smith lyckades isolera ett *s k* restriktionsenzym som kunde känna igen en viss basparssekvens i DNA-molekyl och specifikt klippa av DNA-molekyl mitt i den sekvensen.

Ett viktigt metodologiskt genombrott kom 1975, då Southern introducerade en metod att efter klyvning av DNA med restriktionsenzym skilja alla DNA-fragment med olika storlek från varandra med hjälp av filterhybridiseringsteknik. Med denna *s k* Southern blot-metod kan ett fragment som inne-



Albert Levan (1905–1998), bilden, fastställde tillsammans med Joe Hin Tjio att människans normala kromosomtäl är 46.

håller en viss gen specifikt identifieras, något som fått stor diagnostisk tillämpning.

Ett annat metodologiskt genombrott var »polymerase chain reaction»-metoden (PCR), som gör att en viss DNA-sekvens snabbt kan masskopieras för analys av olika molekylärgenetiska avvikelser.

Tack vare dessa och en serie andra landvinningar inom molekylärgenetiken har utvecklingen inom detta område genomgått en dramatisk utveckling, vilket avspeglas i ett stort antal Nobelpris.

Den humana genomforskningens motor och koordinator har varit det humana genomprojektet HGP, ofta kallat HUGO-projektet, som inleddes 1990. Vid starten fanns inte den teknik som behövdes för uppgiften. Den tekniska utvecklingen har dock överträffat alla förväntningar, och den ursprungliga

målsättningen att det humana genomet skall vara fullständigt kartlagt och sekvensbestämt år 2005 tycks infrias med god marginal.

1960-talet – kromosomavvikelser

År 1960 påvisade Nowell och Hungerford den första specifika kromosomförändringen vid en cancersjukdom: en deletion av ett segment på långa armen av kromosom 22 i benmärgsceller från patienter med kronisk myeloisk leukemi. Därefter har specifika kromosomavvikelser påvisats vid ett stort antal olika tumorsjukdomar. Molekylärgenetisk karakterisering av gener lokaliserade vid kromosombrottspunkter för tumörassocierade specifika kromosomavvikelser har givit ökad kunskap om avvikelsernas patogenetiska betydelse och lett till att onkgener och tumorsuppressorgener av betydelse för tumöruppkomst har identifierats och karakteriserats, vilket också har givit möjlighet till specifik molekylärgenetisk diagnostik av tumorsjukdomar.

En grupp sjukdomar vars nedärvningsmönster ej sällan avviker från mendelsk nedärkning är de mitokondriella sjukdomarna, som först beskrevs av Luft och medarbetare 1962. Dessa sjukdomar har en sjukdomsbild som ibland är generaliserad, men oftast är begränsad till ett eller ett par organ. De nedärvs

inte bara enligt Mendels ärftlighetslagar via nukleärt kromosomtäl DNA utan också via maternell transmission av mitokondriellt DNA. Allt fler sjukdomar visar sig vara betingade av mitokondriella DNA-mutationer.

1991 – en ny mutationstyp

År 1991 påvisades med hjälp av DNA-teknik en helt ny mutationstyp, nämligen en expansion av trebasparsupprepnings CGG i genen för fragil X-syndromet. Dylika symtomgivande trinukleotidupprepningar är en helt ny observation, tidigare okänd även bland andra species. Expanderande trinukleotidupprepningar har påvisats i generna för en rad andra sjukdomar, vanligtvis dominant nedärvda neurodegenerativa sjukdomar.

Typiskt för denna form av nedärkning är att trinukleotidupprepnings

kan öka i storlek och ge svårare symtom från generation till generation.

Ett annat nytt centralt koncept är genomisk prägling, som införts för att beteckna skillnader i genuttryck beroende på om genen är nedärvd från modern eller från fadern, dvs belägen på den maternellt nedärvda eller på den paternellt nedärvda kromosomen. Tidigare ansågs det att en gen fungerade på samma sätt oberoende av om den nedärvs från fadern eller från modern.

Det är endast vissa gener som präglas, framför allt gener som styr differentiering och tillväxt. Präglingen sker huvudsakligen under könscellsbildningen och tidigt fosterstadium. Genetisk prägling kan leda till specifika missbildningssyndrom och tumörsjukdomar.

De transgena mössen

Skillnaderna mellan människans och musens arvs massa är liten; genomodifierade, så kallade transgena, möss och andra djurmodeller används alltmer för att studera olika molekylärbio logiska fenomen och för att testa nya behandlingsmetoder vid ärftliga sjukdomar.

Ett av de första och mest uppmärksammade exemplen var en transgen mus med tillväxthormongen från råttan. Musen uppnådde råttstorlek.

In situ-hybridisering

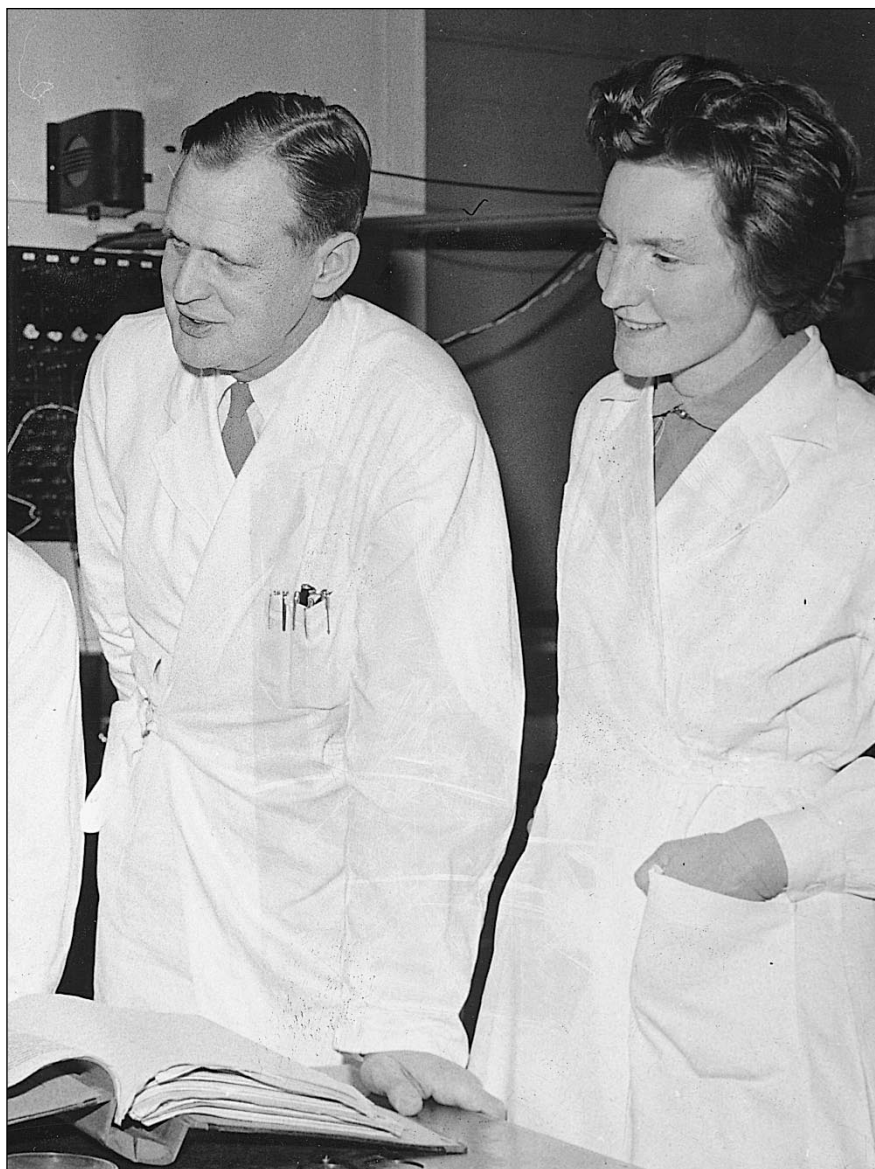
In situ-hybridisering, där en kombination av cytogenetiska och molekylär-genetiska metoder används, har givit helt nya möjligheter att påvisa var ett arvsanlag är beläget. Metoden tillämpas i två principiellt olika sammanhang:

Man kan med denna metodik undersöka i vilka celler olika arvsanlag kommer till uttryck i samband med mikroskopisk undersökning av cytologiska preparat eller i vävnadssnitt. Därigenom kan en bild erhållas av vilka gener som uttrycks i olika cellpopulationer vid sjukdomstillstånd.

Med in situ-hybridisering kan man också undersöka var specifika arvsanlag är belägna utefter en kromosom, och identifiera såväl mikroskopiska som submikroskopiska kromosomavvikelser. Metoden används med stor framgång inom såväl forskning som diagnostik.

Kloningen av Dolly

Nyheten i februari 1997 att Wilmut och medarbetare hade lyckats klonat ett djur, lammet Dolly, slog ned som en bomb och ledde till en enorm mediastorm. Det som tidigare betraktats som ren science fiction blev nu verklighet. Detta är ett stort vetenskapligt genombrott, som visar att cellkärnorna från åtminstone vissa somatiska celler



Torbjörn Caspersson (t v) och Lore Zech fann att kromosomerna har ett specifikt bandmönster som gör att de kan identifieras och detaljstuderas individuellt.

är totipotenta och kan omprogrammeras genetiskt så att de kan styra en normal embryo- och fosterutveckling.

Detta öppnar hisnande perspektiv inom humanmedicinen, eftersom det bl a kan bli möjligt att ersätta celltyper som vid vissa sjukdomar är skadade eller saknas.

Förändrat sjukdomspanorama

Sjukdomspanoramat i vårt land har förändrats markant under det gångna seklet. Förbättrade sociala förhållanden och nya och förbättrade behandlingsmetoder har medfört att prevalensen av genetiskt betingade sjukdomar och utvecklingsrubbingar har ökat markant.

Flertalet folksjukdomar har en ärftlig disposition. Dit hör bl a allergier, hjärt-kärlsjukdomar och diabetes. Ca 8 procent av alla barn har en allvarlig ärftlig utvecklingsrubbing eller sjukdom, eller riskerar att under sin livstid drab-

bas av en dylik. De ärftligt betingade sjukdomarna, som ofta är livslånga, har avsevärda konsekvenser för såväl individ och familj som samhälle.

Två olika verksamhetsområden kan identifieras för klinisk genetik: en kliniskt inriktad och en laborativt inriktad. Den kliniska verksamheten omfattar utredning av olika genetiskt betingade sjukdomar och utvecklingsrubbingar samt genetisk information till patienter och deras familjer.

Att spåra anlagsbärare

Möjligheterna att med DNA-teknik och biokemisk teknik spåra anlagsbärare för monogent nedärvda sjukdomar ökar snabbt, och därmed möjligheten att förutsäga om en person kommer att insjukna i sjukdomen eller ej. Nyföddhetscreening för fenyylketonuri (PKU) och vissa andra medfödda, vanligtvis autosomt recessivt ärftliga, äm-

nesomsättningsjukdomar blev praktiskt möjlig i början av 1960-talet med mikrobiologisk teknik. Nyföddhetscreening för PKU infördes i vårt land 1965; därefter har screeningundersökningen utökats till att gälla också andra medfödda ämnesomsättningsjukdomar, där det för effektiv förebyggande behandling är viktigt att diagnosen ställs snarast efter födelsen.

Presymtomatisk mutationsdiagnostik av ärftlig bröstcancer och vissa andra monogent nedärvda cancerformer möjliggör att anlagsbärare som löper stor risk för cancer identifieras och erbjuds regelbundna kontroller och eventuell förebyggande behandling.

När det gäller presymtomatisk genetik diagnostik av svåra, icke behandlingsbara, ärftliga sjukdomar – som Huntingtons korea och andra neurodegenerativa sjukdomar där anlagsbärarna ofta hunnit bilda familj innan sjukdomen manifesterar sig – ställs riskindivider inför svåra ställningstaganden.

Farmakogenetik

Ett område som har utvecklats snabbt under senare år är farmakogenetiken. Med farmakogenetik avses genetiska faktorerens betydelse för individuella olikheter i läkemedelsomsättning, terapeutiska effekter och biverkningar. Förutom biokemiska analyser har DNA-baserade undersökningar kommit till användning för att avgöra huruvida ett visst läkemedel passar för en viss patient och för individuell dosering.

Pionjärarbetena av Tjio och Levan 1956, Lejeune 1959, Caspersson och Zech 1968 följdes av en hel serie viktiga undersökningar som visade kromosomavvikelsebetydelse för uppkomsten av reproduktionsrubbingar, missbildningar, utvecklingsstörningar, tumörsjukdomar. Den kliniska cytogenetiken dominerade klinisk genetik forskningsmässigt och diagnostiskt under 1960- och 1970-talen.

Prenatal diagnostik

År 1968 rapporterade Breg och Steel den första prenatala kromosomanalysen, som utfördes på odlade celler från fostervatten. Fostervattensprovtagning i graviditetsvecka 13–15 för kromosomanalys är fortfarande den vanligaste fosterdiagnostiska metoden. Prov från moderkaka, s k korionbiopsi, i graviditetsvecka 9–11, en metod som utvecklades i början av 1980-talet för kromosomal fosterdiagnostik, används rutinmässigt för DNA-baserad diagnostik.

Preimplantatorisk diagnostik, dvs att efter s k provrörsbefruktnings undersöka om fostret är sjukt eller friskt genom

att ta ut enstaka celler från det befruktade ägget för analys, har kommit till användning i fall då sedvanlig fosterdiagnostik ej är tillämpbar. Endast ett foster utan sjukdomsanlaget eller kromosomavvikelsen i fråga förs då in i livmodern.

Många missbildningar kan upptäckas tidigt

Utvecklingen inom ultraljudsdiagnostiken har medfört att många – oftast genetiskt betingade – missbildningar, utvecklingsrubbingar och sjukdomar hos fostret upptäcks både tidigare och säkrare än förut. Tidigare ledde detta ofta till att graviditeten avbröts. Idag kan man många gånger ge prenatal behandling eller tidigarelägga en kirurgisk åtgärd.

År 1978 utfördes den första DNA-analysbaserade diagnostiken av en sjukdom (sicklecellsanemi). Idag kan sjukdomsanlag för flera hundra olika genetiska sjukdomar påvisas med DNA-baserad diagnostisk teknik. Genom karakterisering av gendefekten öppnas möjligheter till förebyggande behandling, kausal farmakologisk behandling och generapi.

Försök med genöverföring

Flertalet genetiskt betingade sjukdomar kan idag inte behandlas, vilket har stimulerat till försök att föra in en frisk gen i patientens celler, dvs generapi. Den första genterapien av en monogen sjukdom utfördes 1990 på ett barn med medfödd adenosindeaminasbristbetingad (ADA) svår immundefekt.

Därefter har ett flertal genterapiförsök gjorts. Den helt dominerande indikationen är cancer, följd av monogena sjukdomar och HIV-infektion. Endast ett fåtal lyckade behandlingsförsök har hittills rapporterats. Den begränsande faktorn är fortfarande metoderna för genöverföring.

Mendels lagar fortfarande fundamentet

De mendelska ärftlighetslagarna utgör fortfarande fundamentet såväl för genetiska faktorerens betydelse för variationer i normala egenskaper som för uppkomsten av sjukdomar och utvecklingsrubbingar. Cytogenetik och molekylärgenetisk forskning har givit oss en markant ökad kunskap om genetiska faktorerens betydelse för normala egenskaper, sjukdomar och sjukdomsdisposition, en kunskap som kan komma att accelerera i en dimension som vi hittills bara anat.

Det är därför viktigt med en allmän etisk debatt beträffande tillämpningen av forskningsresultaten kring människans arvs massa.

Referenser

- Brändén H. Molekylärbiologi. Lund: Studentlitteratur, 1997.
- Harper PS, Clarke AJ. Genetics, society and clinical practice. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltd, 1997.
- Hsu TC. Human and mammalian cytogenetics. An historical perspective. New York, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1979.
- Landegren U. Laboratory protocols for mutation detection. Oxford: Oxford University Press, 1996.
- McKusick V. History of medical genetics. In: Rimoin DL, Connor JM Pyeritz RE, eds. Principles and practice of medical genetics. London, New York: Churchill Livingstone, 1996: 1-31.
- Petterson U. Genomforskningen går på högvarv. Läkartidningen 1999; 96: 4528-32.
- Petterson U. Genomforskningen genererar många etiska problem. Läkartidningen 1999; 96: 4660-4.
- Sturtevant AH. History of genetics. New York: Harper & Row, 1966.
- Wadelius C. Omvälvande framsteg förutspås när sjukvården präglas av genetik. Läkartidningen 1999; 96: 4524-6.
- Vogel F, Motulsky AG. Human genetics. Problems and approaches. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer-Verlag, 1997.