

Unga hårsäckar med hjälp av genreparation

Att hjälpa gråa hårstrån att återfå sin pigmentering med hjälp av genterapi kan tyckas vara att lägga ned för mycket kraft på ett lyxproblem. Men om man istället tänker på plågsamma hudsjukdomar får upptäckten ny dignitet. Med en ny typ av genterapi har Kyonggeun Yoon vid Thomas Jefferson-universitetet i Philadelphia lyckats reparera punktmutationer i hårsäckarna hos möss.

Genterapi strävar efter att föra in en ny, frisk gen för att återskapa den funktion som den skadade genen inte klarar av. Problemet är att den nya genkopien ligger utanför cellens normala regleringsmekanismer och utan reglering kan genens proteinproduktion skapa problem. Dessutom används virala vektorer för att föra in den nya genen och även om använda virus gjorts ickeinfektuösa diskuterar riskerna för återmutation.

Doktor Kyonggeun har därför utvecklat en ny typ av genterapi som istället rättar till felet i den förändrade genen med hjälp av chimära dubbelsträngade oligonukleotider. Ena strängen består av DNA, medan den andra består av en kort DNA-sträng motsvarande den felaktiga genbiten, flankerad av långa sekvenser av RNA. Den artificiella nukleotiden tas upp av cellen och RNA-bitarna ser till att oligonukleotiden effektivt binder till cellens eget DNA. Väl där luras det cellulära maskineriet att med homolog rekombination reparera cellens felaktiga DNA.

På så vis kan punktmutationer lagas och i mössens fall var det enzymet tyrosinas som reparerades. Tyrosinas krävs för att melanocyterna ska kunna bilda melanin som ger håret dess färg och hos albinomössen kunde forskarna efter behandling se utväxt av svarta hårstrån. Men hittills har det varit svårt att få tillräckligt många celler att ta upp reparationsnukleotiderna och mössen fick bara enstaka svarta hår i sin vita päls.

Kyonggeun är dermatolog och arbetar nu med att utveckla tekniken för att kunna reparera de mutationer som leder till hudsjukdomar som epidermolysis bullosa. Men då krävs att åtminstone en tredjedel av cellerna kan repareras. Eftersom cellerna i huden har en livstid på bara någon månad innan de byts ut, behöver man också se till att kunna genetiskt modifiera de djupt liggande celler som fungerar som hudens stamceller.

Lotta Fredholm

fredholm@bahnhof.se

Nature Biotechnology 2000; 18: 43-7

Gallgångsatresi hos spädbarn i Storbritannien

Bättre prognos efter tidig operation på kirurgenhet med mer erfarenhet

Gulsot hos nyfödda förekommer ofta. I denna stora grupp finns också barn med gallgångsatresi, som är en sällsynt och svårdiagnostiserad missbildning. Frekvensen av, och prognosen vid, extrahepatisk gallgångsatresi bestämdes i en 5-årig prospektiv studie. Landets samtliga barnspecialister rapporterade 1993–1995 månatligen alla nya misstänkta fall till ett nationellt register, British Paediatric Surveillance Unit. Fallen följdes upp initialt med enkäter för att bekräfta diagnosen och i ytterligare 3 år för att följa behandling och förlopp.

Opererande centra delades in i två grupper; de som opererat fler än fem fall under studieperioden (grupp A) och övriga (grupp B).

Rekommendationen är i Storbritannien som i Sverige att före 2 månaders ålder operera dessa barn med en så kallad Kasai-procedur (en Roux-en-Y-slynga av jejunum läggs upp mot leverhilus för att dränera gallflödet till tarmen). Barnet kan då överleva och en annars oundviklig levertransplantation skjutas på framtiden.

Kasai-operationen ansågs lyckad om S-bilirubin vid något provtagningstillfälle understeg 20 mmol/l.

Resultatet visade att 93 fall kunde verifieras. Frekvensen blev då 1/16 700 levande födda. 91 av de 93 opererades enligt Kasai, övriga två i stället med pri-

mär levertransplantation eftersom de remitterats så sent att de befann sig i slutstadiet av sin kolestatiska leversjukdom.

För 50 av de 91 (55 procent) Kasai-opererade lyckades ingreppet och hos 41 (45 procent) misslyckades det.

Sammanlagt 37 barn levertransplanterades under studietiden. 33 av dessa (89 procent) levde fortfarande vid 5-årsuppföljningen.

Skillnaderna i 5-årsöverlevnad mellan barn i grupp A och B var stor. Av icke transplanterade barn överlevde bara 13,7 procent av dem som fått sin Kasaioperation gjord på en kirurgisk B-enhet, medan 61,3 procent av dem som opererats på en A-enhet överlevde. Skillnaden var statistiskt signifikant.

Då man korrigerade för tänkbara confounding factors (gestationsålder, ålder vid operation, kön, associerad missbildning) kvarstod skillnaderna i resultat mellan A- och B-centra.

Författarna kommenterar att jämfört med en tidigare brittisk studie från 1985 har prognosen förbättrats. Barnen kommer nu tidigare till operation och den totala 5-årsöverlevnaden har stigit från 57 till 85 procent.

Bengt Sunnerstam

bengt.sunnerstam@telia.com

Lancet 2000 Jan; 355: 25-29

*

Kan erytromycin orsaka hypertrofisk pylorusstenos?

Kräkningar hos spädbarn är mycket vanliga. Hos en liten men ofta svårdiagnostiserad grupp beror kräkningarna på hypertrofisk pylorusstenos. Efter en anhopning av neonatal pertussis vid en förlossningsklinik i USA gavs erytromycinprofylax till alla nyfödda vid kliniken under februari månad 1999.

I slutet av mars slog regionens barnkirurgiska klinik larm om att sju barn opererats för pylorusstenos (IHPS) under två veckors tid. Samtliga hade fått erytromycin. I samarbete med Centers for Disease Control and Prevention

(CDC) gjordes en retrospektiv studie med historiska kontroller.

Diagnosen IHPS, som ställts genom ultraljud, validerades av en oberoende röntgenolog som var ovetande om de ursprungliga bedömningarna. Journalerna för samtliga fall av IHPS som diagnostiserats 1998 (historiska kontroller) gick igenom och bl a erytromycinförskrivning noterades. Incidensen av IHPS vid regionens samtliga sex förlossningskliniker beräknades för perioden 1997–1999.

En telefonenkät till mödrar som för-

Svensk frontlinjeforskning

Överproduktion av receptorn för hepatocyte growth factor (HGF) kan bidra till utveckling av sarkom

Wallenius V, Hisaoka M, Helou K, Levan G, Mandahl N, Meis-Kindblom JM, Kindblom LG, Jansson JO. Overexpression of the hepatocyte growth factor (HGF) receptor (Met) and presence of a truncated and activated intracellular HGF receptor fragment in locally aggressive/malignant human musculoskeletal tumors. *Am J Pathol* 2000 Mar; 156(3): 821-9

Wallenius V, Rawet H, Skrtic S, Helou K, Qiu Y, Ekberg S, Carlsson B, Levan G, Isaksson OGP, Nakamura T, Jansson J-O. Chromosomal localization of rat Hepatocyte Growth Factor (HGF) and HGF receptor (MET) and characterization of HGF receptor cDNA. *Mammalian Genome* 1997, 8: 661-7

Sarkom är en relativt sällsynt typ av maligna mjukdelstumörer hos människa; de utgör ca 1 procent av alla maligniteter hos vuxna och ca 20 procent av maligniteter hos barn och tonåringar. Det morfologiska, kliniska och biologiska spektret är mycket brett hos dessa tumörer. Orsakerna till uppkomsten av sarkom är okända, med undantag av vissa ärftliga former och efter tidigare strålbehandling.

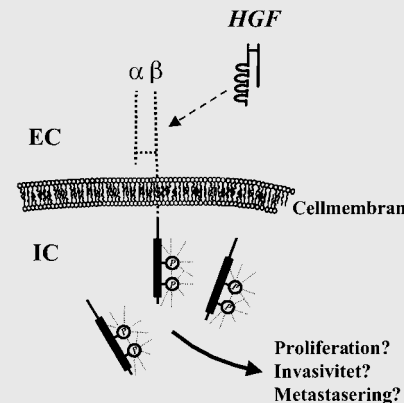
Onkogenen Met identifierades först som en del av ett fusionsprotein med tumörtransformerande effekt och senare påvisades att Met är den cellmembransbundna receptorn till tillväxtfaktorn hepatocyte growth factor (HGF). HGF är en potent tillväxtfaktor för de flesta epiteliala celler där receptorn normalt finns men även för mjukdelstumörer, som utgår från icke-epiteliala vävnader som normalt inte alls uttrycker receptorn.

Vi har visat att en överproduktion av HGF-receptorn är vanligare i maligna mjukdelstumörer (sarkom) än i benigna tumörer och att ett stympat, intracellulärt HGF-receptorfragment

finns i vissa sarkom. I vissa sarkom (malignt fibröst histiocytom) är den dessutom aktiverad – trots att fragmentet saknar extracellulärdel. Den här typen av HGF-receptorfragment har inte tidigare påvisats i humana tumörer.

Insättande av artificiella stympade intracellulära HGF-receptorfragment i en fibroblastcellinje ger cellerna tumöregenskaper då de injiceras på nakna möss. Dessa tumörer växer mer aggressivt och bildar metastaser i större utsträckning än tumörer med normal fullängdsreceptor i cellen. De korta stympade formerna ger alltså tumörcellerna ett mer aggressivt beteende än fullängdsreceptorn.

Aven våra egna tidigare djurförsök



HGF-receptorn består av två proteinkedjor, α och β . Den ligandbindande extracellulära (EC) delen (streckad) av HGF-receptorn saknas i de stympade fragmenten. Den intracellulära (IC) delen är trots detta fosforylerad (P) och aktiverad och kan därmed inducera celledelning och cellmigration. Den tjockare linjen symboliserar den intracellulära katalytiska tyrosinkinasedelen av receptorn.

talar för ett samband mellan HGF-receptorer och sarkom. Den vanligaste genetiska förändringen i experimentellt inducerade sarkom hos råttor är en upp till 80-faldig amplifiering av HGF-receptorgen kopplad till överproduktion av HGF-receptorproteinet. Däremot verkade överproduktion av liganden HGF inte vara viktig för tumörutvecklingen.

Ur klinisk synvinkel kan HGF-receptorn vara viktig på flera sätt. Eftersom receptorn är vanligare i maligna tumörer kan påvisande av HGF-receptorer vara till hjälp i svårdiagnostiserade fall, samt bidra till bättre möjligheter att bedöma prognosen. Vidare kan man tänka sig att behandla tumörer som innehåller HGF-receptor med receptorantagonister eller medel som hämmar de intracellulära signaleringsvägarna för HGF-receptorn.

Man kan även tänka sig att hämning av aktiveringen av HGF skulle kunna hämma tumörtillväxt, åtminstone i de tumörer som har den normala ligandbindande formen av receptorn. I tumörer som uttrycker den stympade intracellulära formen av receptorn skulle hämning av den intracellulära signaleringen kunna vara bättre lämpade.

Ännu återstår dock att hitta det bästa sättet att hämma HGF-receptors aktivitet och att se om hämning av denna receptor – som i djurförsök varit en så potent tumörfaktor – kan hämma tillväxten av humana tumörer.

Ville Wallenius
Sahlgrenska Universitetssjukhuset
Göteborg

Ville.Wallenius@medic.gu.se

lösts vid den aktuella förlossningskliniken i januari (före erytromycinförskrivningen) och i februari (under erytromycinförskrivningen) gjordes i april 1999. Man frågade där efter erytromycinintag och gastrointestinala symtom hos det nyfödda barnet.

Resultaten visade att den oberoende röntgenologen verifierade IHPS-diagnosen hos alla de sju opererade barnen och negerade diagnosen hos sju friska ultraljudsundersökta kontroller.

40 fall av IHPS hade diagnostiserats 1998 (historiska kontroller) och inget

av dessa barn hade fått erytromycin. De sju indexfallen skilde sig från kontrollerna genom att som grupp vara födda närmare fullgången tid, ha svagare hereditet för IHPS och vara yngre då diagnos ställdes. Skillnaderna var dock inte statistiskt signifikanta.

Incidensen av IHPS hos barn födda under kontrollåren 1997 och 1998 var 4,7/1 000 medan den i februari 1999 motsvarade 32,3/1000. Ett signifikant större antal barn bland dem som fått erytromycin än bland dem som inte fått erytromycin hade enligt telefonenkäten

utvecklat matningsproblem och sökt sjukhusvård för kräkningar.

Författarna kommenterar att motilagonisten erytromycin i farmakologiska doser ger upphov till kraftiga kontraktioner i antrum och pylorus. Dessa kontraktioner kan tänkas leda till en hypertrofiering av pylorus och utveckling av pylorusstenos. Man rekommenderar tills vidare försiktighet med erytromycinprofylax till nyfödda.

Bengt Sunnerstam
bengt.sunnerstam@telia.com

Lancet 1999; 354: 2101-5