

Epigenetik – cellens minne – påverkar utvecklingen av sjukdom



ROLF OHLSSON, professor
rolf.ohlsson@ebc.uu.se
ANITA GÖNDÖR, MD, doktorand;
båda vid avdelningen för zoo-

logisk utvecklingsbiologi,
Evolutionsbiologiskt centrum,
Uppsala

Det är ett oomstritt faktum att epigenetiken är i färd med att i grunden förändra många av våra hemvanda perspektiv inom alla former av biologi, särskilt medicin. Anledningarna till detta konstaterande är många. Exempelvis kontrollerar epigenetiken när, var och hur ett arvsanlag uttrycks under t ex fosterutvecklingen [1]. Eftersom dessa cellminnen kan nedärvas stabilt från en cell till en annan är epigenetiska tillstånd – till skillnad från genetiska – reversibla och dynamiska.

Baksidan av denna bild är att epigenetisk obalans kan förändra expressionen av vitala genfunktioner och orsaka sjukdomar, som t ex cancer [2]. Vi kan på goda grunder förmoda att de flesta cancerformer – om inte alla – har en epigenetisk obalans som driver på uppkomsten av sjukdom under både tidiga och sena stadier. Cancerepigenetiken beskriver selektionen av en liten population snabbväxande celler med abnorma epigenetiska tillstånd, men rubbade epigenetiska tillstånd (epimutationer) kan gripa in i många olika syndrom och andra sjukdomsbilder med mera komplexa inslag.

Vi vill med denna artikel sprida information om epigenetiken och hur den griper in och kanske kommer att påverka vardagen för såväl forskare som kliniker.

Dagens definition av epigenetik

Prefixet »epi« är grekiska och kan översättas på olika sätt, t ex »på«, »vid«, »på grund av«, »i tillägg« osv. Det är därför inte förvånande att ordet epigenetik har olika innebörd i olika discipliner och olika tidsåldrar. Det tolkningsföreträde som nu gäller handlar mestadels om arvsmassans »kläder«, kromatinet, och definieras rutinmässigt som t ex »stabil nedärvning av aktiva och inaktiva tillstånd som inte beror på arvsmassans sekvens«.

Detta betyder antagligen inte särskilt mycket för dem av oss som inte sysslar med epigenetik dagligen. Ämnet är utan tvivel mycket svårt, även för experterna. Detta är sannolikt förklaringen till att epigenetiken fortfarande inte är något allmän-gods på den massmediala arenan, trots att viktiga upptäckter ligger både ett och två decennier tillbaka i tiden. För att öka förståelsen för epigenetiken för en större grupp läsare kan det därför vara väsentligt att gå igenom de viktigaste grundprinciperna genom att använda liknelser.

Det operativa systemet i människans hårdisk

En liknelse bygger på binomialspråket, där 1 motsvarar en aktiv gen och 0 en inaktiv gen. Med antagandet att det finns ca 32 000 gener hos människan har varje enskild cell ett maximalt informationsinnehåll om 4 kilobyte eller mer än 240 000 gigabyte för en vuxen individ, beroende på den dagsfärska uppskattningen av antalet arvsanlag hos människan! Medan denna imponerande hårdisk enbart handlar om blåkopian kan det operativa systemet liknas vid epigenetiken. I denna analogi styr epigene-

tiska mekanismer åtkomsten av det enorma informationsflödet från det mänskliga genomet.

Skillnaden mellan embryonal stamcell och differentierad cell

Av denna diskussion är det uppenbart att epigenetiska tillstånd utgör det första och viktigaste filtret för hur arvsmassan fungerar. Vårt exempel kan byggas vidare genom att likna kombinationen hårddisk och operativt system i varje enskild cell med ett cellulärt minne. Detta minne innehåller information om cellens förflutna, vilket i sin tur styr hur cellen svarar på omgivningens signaler i exempelvis ett foster under utveckling.

Det cellulära minnet är således en funktion som tillåter cellen under utveckling att orientera sig i en mognadsprocess i en föränderlig omgivning. Med detta synsätt utgör det epigenetiska tillståndet den principiella skillnaden mellan en embryonal stamcell och en terminalt differentierad cell.

Analogt kan skapandet av minne i centrala nervsystemet involvera stabila förändringar i epigenetiska tillstånd i en subpopulation av neuronala celler. Innebär detta att hjärnans funktioner kan manipuleras hos t ex psykiatriska patienter? Kan man därmed också skapa embryonala stamceller från en terminalt differentierad cell som skulle kunna tjäna som individspecifika »verktygslådor« för patienter? Vi återkommer till dessa frågor i slutet av artikeln.

Kromatinet säkerställer arvsmassans packning

Två kriterier måste uppfyllas för att ett tillstånd ska få kallas epigenetiskt. Dessa måste inte bara vara stabilt nedärvbara från en cellgeneration till nästa utan också reglera när, var och hur ett arvsanlag uttrycks under t ex en mognadsprocess. Kromatinet är därför i blickfånget, eftersom kromatinstrukturer uppfyller dessa båda centrala kriterier.

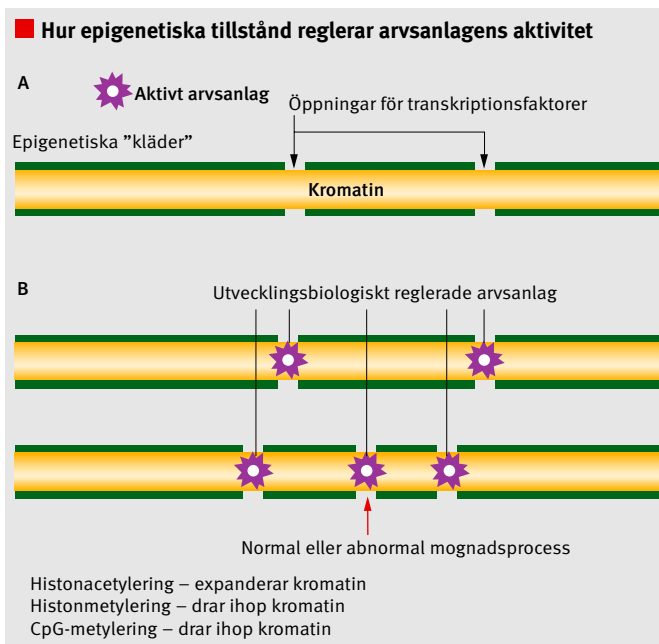
Varför? Helt enkelt därför att människans arvs massa, som i utsträckt tillstånd omfattar en ca 2 meter lång DNA-tråd, ska packas i en cellkärna osynlig för blotta ögat. Denna packning ska säkerställa korrekt kopiering och en transkriptionsprofil som är specifik för varje individuell cell (Figur 1), som beskriver hur kromatinstrukturer styr tillgängligheten för transkriptionsfaktorer och hur sådana strukturer kan förändras under en mognadsprocess. Principen har sin utgångspunkt i nukleosomen, som är den primära kromatinstruktur kring vilken DNA-tråden virar sig. Nukleosomen består i sin tur av två upp-

SAMMANFATTAT

Epigenetiska tillstånd definierar cellulära minnen som länkar en cells historia med dess framtida öde.

Vi diskuterar översiktligt hur det cellulära minnet manifesteras och konsekvenserna av ett rubbat cellminne vid t ex komplexa sjukdomar, cancer och syndrom med väldefinierade mutationer i regulatoriska faktorer som kontrollerar epigenetiska tillstånd.

Som exempel på kliniska applikationer spekulerar vi över hur epigenetiken kan komma att förändra diagnostiken, behandlingen och kanske också uppföljningen av vissa sjukdomar.



Figur 1. Schematisk bild över hur epigenetiska tillstånd reglerar arvsanlagens aktivitet. A: Stjärna anger aktivt arvsanlag och gröna fält epigenetiskt inaktiva tillstånd som »kläder« DNA-tråden (mörkgult). B: Illustration av hur epigenetiska tillstånd reglerar arvsanlagens tillgänglighet för transkriptionsfaktorer under en normal utvecklingsbiologisk process eller under sjukdomsuppkomst.

sättningar vardera av fyra olika histoner (H2A, H2B, H3 och H4), som samlas i komplex med åtta histoner. Interaktionen mellan DNA-tråden och nukleosomen är av fundamental betydelse för vår förståelse av epigenetiska tillstånd. I heterokromatin, som indikerar inaktiva regioner i arvsmassan, är kromatinet mera kompakt packat, med tätare interaktion mellan DNA och dess nukleosomer, vilket förhindrar åtkomst för transkriptionsfaktorer.

I eukromatinet, som kännetecknas av antingen transkriptionellt aktiva arvsanlag eller arvsanlag som har potential att bli aktiverade under exempelvis en mognadsprocess, är arvsmassan tvärtom mer tillgänglig för transkriptionsfaktorer. Man kan därför likna kromatinet vid en komplex struktur som andas in och andas ut i olika mönster under olika utvecklingsbiologiska processer och under sjukdomsuppkomst. I denna liknelse är utandningen synonym med skapandet av heterokromatin, medan inandningen är synonym med expansion av kromatinet och skapandet av eukromatin.

Vältajmat system som snabbt kan ställas om

Denna till synes enkla princip är i själva verket mycket komplicerad, eftersom den involverar olika nivåer av strukturer som vi vet mycket lite om. Vi saknar därmed kanske den viktigaste pusselbiten när det gäller vår förståelse av hur epigenetiska tillstånd uppstår, propageras och raderas ut i utvecklingsbiologiskt vältajmade händelser.

Denna slutsats understryks av åtskilliga återkopplingar mellan kromatinstruktur och kopiering av arvsmassan under S-fasen. En grundregel är att inaktiva gener/heterokromatin kopieras sent, medan aktiva gener/eukromatin replikeras tidigt, dvs de aktiva respektive de inaktiva tillstånden reglerar när arvsmassan replikeras. Betydelsen av detta faktum framstår i all sin tydlighet när man betänker att replikasets sammansättning, dvs det komplex som kopierar arvsmassan, varierar under

S-fasen [3]. En grundtanke inom epigenetisk frontlinjeforskning är att man kan förändra ett epigenetiskt tillstånd genom att förändra när en sekvens replikeras. Vår egen forskning har visat att replikationstajmningen beror på skillnader i kromatinets konformation, som i sin tur regleras av en faktor som kallas CTCF [Bergström, Ohlsson, opublicerat, 2006]. Eftersom epigenetiska tillstånd också kan styra hur sådana faktorer interagerar med arvsmassan kan systemet därmed snabbt ställas om för att skapa nya cellulära minnen.

Den epigenetiska kodens alfabet

Den epigenetiska koden är skriven med ett alfabet av post-translacionella modifieringar av histoner och andra kromatinproteiner och specifik metylering av själva blåkopian, arvsmassan. Eftersom det finns många variabler, särskilt posttranslacionella modifieringar, t ex acetylering eller metylering av lysin, treonin/serinfosorylering, argininmetylering och glutamatpoly(ADP-ribosyl)ering [4] är den epigenetiska kodens kombinatoriska komplexitet teoretiskt enormt stor [5]. Dessa specifika kombinationer av koden anses allmänt förändra kromatinets egenskaper, antingen genom att t ex reducera dess elektriska laddning eller genom att presentera ett specifikt epigenetiskt »mönster«. Grundbulten i hur dessa mönster tolkas är hur kromatinets konformation, och därmed tillgängligheten för de vitala transkriptionsfaktorerna, regleras.

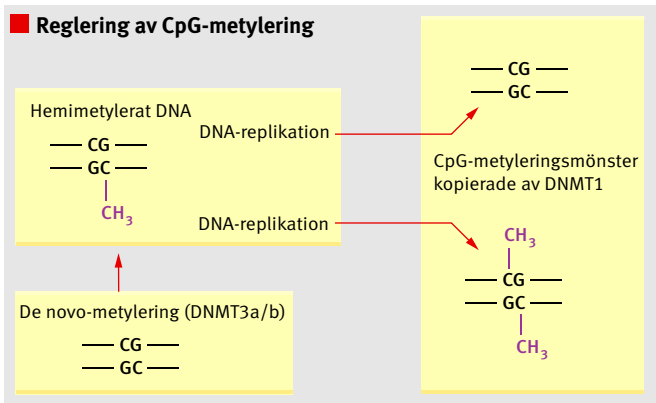
Men hur sätts bokstäverna ihop?

Problemet är att vi, trots att vi känner till »alfabetets« sammanfattning, vet mycket lite om hur bokstäverna sätts ihop och bildar ord och meningar. En central fråga i detta sammanhang är om alla dessa förändringar verkligen kan kallas epigenetiska. Även om instabiliteten i histonernas acetyleringsstatus diskvalificerar denna förändring som en epigenetisk markör i sig utgör den ändå sannolikt en gemensam nämnare för alla stabila epigenetiska signaler. Dels reglerar histonernas acetyleringsstatus affiniteten mellan nukleosomer och arvsmassan, vilket är en viktig komponent i kromatinets tillgänglighet för transkriptionsfaktorer. Frånvaro av lysinacetylering innebär en generell tätare interaktion mellan nukleosomer och arvsmassa, medan acetylerade lysiner öppnar kromatinstrukturen. Dels kan samma lysin också metyleras, med motsatt resultat, dvs metylerade histoner inducerar i allmänhet bildandet av heterokromatin [5].

DNA-metylering och genreglering

Detta acetylerings-/metyleringsrelä är därför en given knutpunkt för stabila epigenetiska signaler, som DNA-metylering (Figur 2). Majoriteten av DNA-metyleringar omfattar byggstenen cytosin, som kan metyleras när den följs av guanosin i arvsmassan. Denna dinukleotid, som kallas CpG, är representerad framför allt i s k CpG-öar, som utgör CpG-anrikade regioner som ofta finns i anslutning till genpromotorer. Det kan därför förefalla som en paradox att majoriteten av CpG-metyleringar hos kroppscellerna normalt återfinns utanför CpG-öarna.

Metylering av CpG-dinukleotider (Figur 2) har en mångfald effekter på hur arvsmassan används. Exempelvis kan metylering av ett cis-element direkt påverka hur detta interagerar med en viktig transkriptionsfaktor. Analogt kan metylering av en promotorregion (definierar sekvenser som är väsentliga för initiering av transkription) attrahera proteiner som MeCP2 och/eller MBD2, som kan inaktivera arvsanlag genom att rekrytera histondeacetylaser till sekvenser med metylerade CpG [6]. Detta är emellertid ett starkt förenklat sätt att se på kopplingen mellan DNA-metylering och genreglering. Bland åtskilliga undantag kan nämnas att s k silencer-element måste ibland vara



Figur 2. Reglering av CpG-metylering. Hos däggdjur finns det två principellt olika typer av DNA-metyltransferaser. De novo-metyltransferaser (DNMT3a och DNMT3b) använder ometylerat DNA som substrat, och ett s k maintenance-metyltransferas (DNMT1) använder hemimetylerat DNA (metylerat på ena DNA-strängen) som substrat. Medan DNMT1 upprätthåller ett metyleringsmönster under DNA-kopieringen är DNMT3a och b ansvariga för de novo-metyleringen av CpG-dinukleotider. Själva metylgruppen är rödmarkerad i bilden.

ometylerade för att kunna inducera metylering hos intilliggande gener.

Instabil signal ger underlag för stabilt tillstånd

En annan, besläktad forskningsinriktning fokuserar på korskommunikation mellan olika epigenetiska signaler [6]. Exempelvis finns det en väl dokumenterad interaktion mellan HPI, ett protein som organiserar repressiva kromatinstrukturer, och metylering av lysin 9 inom histon H3. Interaktionerna är komplexa, eftersom metylerat lysin i histon H3 också är en signal för de novo-metylering av CpG-dinukleotider (Figur 3). Detta arrangemang är mycket fiffigt, eftersom det visar att instabila epigenetiska signaler ger underlag för mer stabila epigenetiska tillstånd.

Detta sker kontinuerligt under organogenesis. På så sätt kan ett minne av en övergående utvecklingsbiologisk process be-

hållas trots att den initiala induktiva signalen inte längre finns kvar.

Epigenetik och sjukdom

Det faktum att epigenetiska mekanismer styr utvecklingsbiologiska processer genom att skapa cellulära minnen är intimt förknippat med dysreglering av epigenetiska tillstånd i samband med sjukdomsuppkomst. Denna relation kan vara direkt eller indirekt. Faktum är att vi inte vet, förutom i några isolerade exempel, om den epigenetiska rubbningen är orsak eller konsekvens. Däremot finns det hållpunkter för att epigenetiken påverkar etiologin och patogenesen hos många sjukdomar, t ex präglingssjukdomar, cancer och andra sjukdomar som diabetes mellitus typ 2, schizofreni eller kardiovaskulär sjukdom (Tabell I–III). Hur kan stabiliteten i epigenetiska tillstånd gå förlorad under sjukdomsuppkomst?

Syndrom med rubbning i den genomiska prägligen

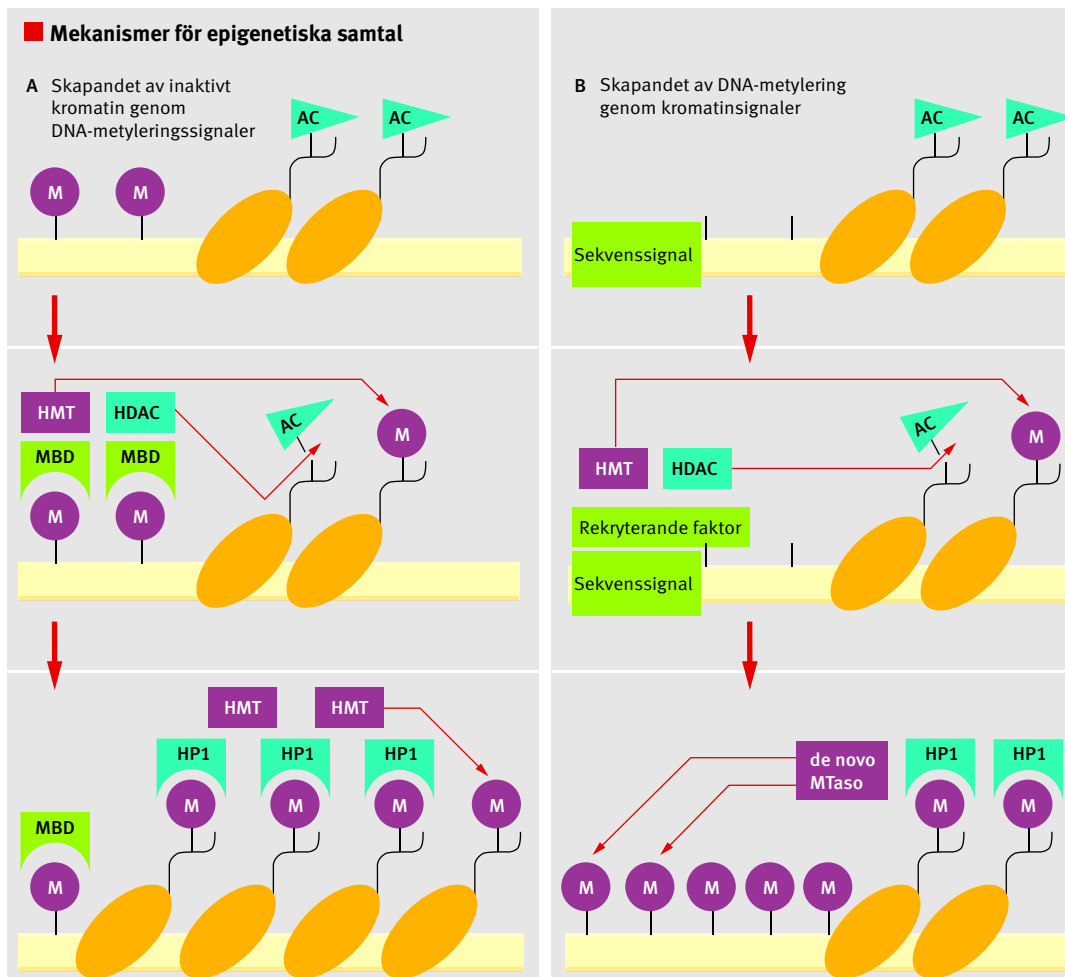
Som ovan nämnts stabiliserar epigenetiska markörer utvecklingsbiologiskt viktiga processer. Denna egenskap kan störas genom genetiska eller epigenetiska mutationer som interfererar med de funktioner hos proteiner som reglerar kromatinstrukturen i t ex DNA-metyltransferaser. Dessutom kan den funktion hos proteiner som tolkar den epigenetiska markören störas eller förloras. I alla dessa fall kan komplicerade sjukdomsbilder, syndrom, uppstå.

Tabell I visar exempel på syndrom som inbegriper mutationer i gener som producerar kromatinremodelleringsfaktorer, DNA-metyltransferaser och DNA-metylbindande proteiner. Det kan vara intressant att notera att patienter med mutationer i dessa funktioner har omfattande förändringar i kromosomernas och kärnans struktur. Patienter med ICF (immunodeficiency, centromeric region instability and facial anomalies), som har en mutation i de novo-metyltransferaset DNMT3b, är mentalt retarderade.

Ett annat exempel är Williams' syndrom, som orsakas av en mikrodeletion i BAZ1B-genen. Eftersom produkten av denna gen rekryterar kromatinremodelleringskomplex till vitamin D-reglerade genpromotorer har Williamspatienter en rubbning i epigenetiskt status i en subpopulation av arvsanlag med

TABELL I. Epigenetiska sjukdomar: syndrom som orsakas av mutationer i faktorer som reglerar kromatinstrukturen.

Sjukdom	Symtom	Etiologi	Referenser
ATR-X-syndrom	Mental retardation, α -talassaemi	Mutation i ATRX-genen, hypometylering av repetitiva sekvenser och satellitsekvenser	Egger [13]
Fragil X-syndrom	Mental retardation	Expansion och metylering av CGG-repeat i FMR1 5'UTR, promotormetylering	Egger [13]
ICF-syndrom	Mental retardation, immuninsufficiens	DNMT3b-mutation, DNA-hypometylering	Egger [13]
Retts syndrom	Mental retardation	MeCP2-mutationer	Egger [13]
Rubinstein–Taybis syndrom	Mental retardation	Mutation i CREB-bindande protein (histonacetylering)	Egger [13]
Coffin–Lowrys syndrom	Mental retardation	Mutation i RSK-2 (histonfosforylering)	Cho [14]
Townes–Brocks syndrom	Njur- och hjärtanomalier, ej perforerad anus	Mutation i SALL1 (associerad med HDACs, lokaliserar sekvenser till heterokromatin)	Sato [15]
Williams' syndrom	Rubbade vitamin D-metabolism, mental retardation, supraavalvulär aortstenos, artärstenoser perifert i lunga, tillväxthämning	Mikrodeletion i BAZ1B, som rekryterar kromatinremodellerande faktorer till vitamin D-reglerade promotorer	Cho [14]
Schminkes immunoosseösa dysplasi	T-cellsimmunbrist, spondyloepifyseal dysplasi, njursvikt, hypotyroidism, episodisk cerebral ischemi	Mutationer i SMARCA1, som är en kromatinremodellerande faktor	Cho [14]
Cerebro-okulo-facio-skeletalt syndrom, Cockaynes syndrom	Neurologisk degeneration, tillväxthämning, katarakt, UV-känslighet	Mutation i ERCC6, en kromatinremodellerande faktor	Cho [14]



Figur 3. Mekanismer för epigenetiska samtal. A. Skapande av inaktivt kromatin medelst DNA-metylering. Metylerat cytosin rekryterar histondeacetylasor (HDACs) och histonmetylas (HMT). Dessa enzymer plockar bort acetyl-(AC) och lägger till metyl(M)grupper till »histonsvansar« (åskådliggörs som gula ovaler med svans) på nukleosomer. Dessa kan därefter läsas av kromatin-silencers, t ex HP1, och därmed skapa ett inaktivt tillstånd. Detta kan i sin tur spridas till flankerande sekvenser genom att HP1 rekryterar HMT, som därefter metylerar histoner etc. B. Skapande av DNA-metylering genom att DNMT3a/b känner igen metylerat histon (efter Ben-Porath och Cedar [6]).

stora konsekvenser: tillväxthämning och mental retardation. Många syndrom uppstår som en konsekvens av en rubbning i den genomiska präglingen. Detta fenomen beror på att ett drygt 100-tal arvsanlag är aktiva bara när de nedärvs från den ena föräldern. Exempel på sådana sjukdomar är Beckwith–Wiedemanns (BWS), Angelmans och Prader–Willis syndrom (Tabell II). Hos patienter med dessa syndrom har präglade arvsanlag förlorat sin prägling i könscellerna från mamman eller pappan. Alternativt har endera mammans eller pappans kromosom duplicerats, med motsvarande förlust av den motsatta kromosomen (uniparental disomi). Exempel på detta är BWS, som karakteriseras av förstörade organ och associering med embryona

tumörer som Wilms’ tumör. BWS kan härledas till en ansamling präglade arvsanlag på kromosom 11p15.5. Således kan samma syndrom härledas till antingen en genetisk eller en epigenetisk förändring involverande samma arvsanlag.

Cancer – darwinism i mikrokosmos

Cancer är darwinism i mikrokosmos: Patologiskt förändrat epigenetiskt status i en enda cell kan bädda för selektion om förändringen ger cellen möjlighet att undkomma de begränsningar vävnaden tillhandahåller, dvs tillväxtegenskaper, förmåga att inducera angiogenes och/eller att undkomma immunförsvaret. Det finns många exempel på hur epigenetiska tillstånd an-

TABELL II. Epigenetiska sjukdomar: syndrom med rubbad genomisk prägling.

Sjukdom	Symtom	Etiologi	Referens
Angelmans syndrom	Mental retardation	Dereglering av en eller flera präglade gener på 15q11–13 (mammans allel)	Butler [16]
Prader–Willis syndrom	Fetma, mental retardation	Dereglering av en eller flera präglade gener på 15q11–13 (pappans allel)	Butler [16]
Beckwith–Wiedemanns syndrom	Förstörade organ, ökad cancerrisk	Dereglering av en eller flera präglade gener på 11p15.5 (IGF2, CDKN1C; mammans allel)	Butler [16]
Silver–Russells syndrom	Tillväxthämning	Maternell uniparental disomi (UPD), kromosom 7 (GRB10-genen), maternell UPD, kromosom 11 (IGF2-genen)	Butler [16]
Pseudohypoparathyreoidism typ 1B	Hypokalcemi, hyperfosfatemi, epilepsi	Dereglering av en eller flera präglade gener på 20q13.3 (Gsa)	Butler [16]

TABELL III. Epigenetiska förändringar potentiellt involverade i komplexa sjukdomar.

Sjukdom	Epigenetisk rubbning	Möjligt epigenetiskt bidrag till patogenes/etiologi	Referenser
Arterioskleros	<ul style="list-style-type: none"> •Hypometylering av hela arvsmassan; •Regional hypermetylering (östrogenreceptor 2) i glattmuskelceller 	Epigenetiska förändringar antingen bidrar till eller är en konsekvens av ökad tillväxt av glatta muskelceller	Hiltunen [17]
Diabetes mellitus typ 2	<ul style="list-style-type: none"> •Insulinexpressionen under kontroll av histonacetyltransferaser (HAT); •MODY 1–6-generna interagerar med HAT; •Dominantnegativa former av HNF-1 har starkare affinitet till CBP eller P/CAF, vilket reducerar HAT-aktiviteten 	<ul style="list-style-type: none"> •HDAC2 (histondeacetylas) och Sir2 är lokaliserade till kromosom 6q21 respektive 19q13, som båda är genetiskt kopplade till DM; •HAT-beroende kromatinremodellering spelar en roll i pankreas utveckling och glukoshomeostas och kan vara direkt eller indirekt involverad i DM 	Gray [18]
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	<ul style="list-style-type: none"> •Hypometylering av hela arvsmassan i T-lymfocyter; •60-procentig minskning av DNMT1-aktiviteten i T-lymfocyter; •Aktivering av LFA1 i T-celler och av endogena retrovirus i PBMC medelst demetylering; •Hypometylerat DNA i cirkulerande nukleosomer 	<ul style="list-style-type: none"> •Hypometylering av hela arvsmassan kan leda till dysreglerad genexpression och differentiering för T- och B-celler; •Eftersom endogena retrovirus visar stor likhet med kärnantigener kan de orsaka korsreaktivitet; •Hypometylerade CpG-dinukleotider kan härma mikrobiellt DNA i blodomloppet och inducera immunreaktion 	Januchowski [19]
Fetma	Epigenetiska rubbningar är ett vanligt fenomen i klonade möss liksom i första generationens hybridmöss	Fetma utvecklas på grund av förändringar i leptin–insulin–melanokortinsignalsystemet	Shi [20], Inui [21]
Schizofreni	<ul style="list-style-type: none"> •Hypermetylering av promotor för Reelin-genen (RELN); •Glutaminsyradekarboxylas 67(GAD67)-expressionen är nedreglerad, medan DNMT1-expressionen är uppreglerad i kortex hos schizofrena patienter; •Postzygotiska skillnader i metyleringsstatus hos Not1 (metyleringskänsligt restriktionsenzym)-klyvningsställen hos diskordanta, monozygotiska tvillingar 	<ul style="list-style-type: none"> •RELN kodar för ett protein som är nödvändigt för neuronal migration, synaptogenes och cell-signalering – expressionen är starkt reducerad i hjärnor undersökta efter döden •Metionin, en prekursor till S-adenosyl-metionin, förvärrar symtomen; •Skillnader i DNA-metyleringsmönster vid Not1-klyvningsställen indikerar förändringar i hela arvsmassan 	Singh [22]

tingen helt försvinner eller skapas vad gäller arvsanlag som normalt inte får inaktiveras. Till denna grupp av gener hör tumörsuppressorgener, som kan inaktiveras inte bara via genetiska utan också via epigenetiska mutationer. Detta hänger ofta ihop med att tumörsuppressorgenerna normalt har en ometylerad CpG-ö i sin promotorregion. En patologisk förändring genom t ex hypermetylering kan förändra kromatinets struktur och därmed manifesteras transkriptionellt inaktivt tillstånd.

Vi tror att i vävnad med kraftigt ökad cancerriksk på grund av epigenetisk instabilitet kan de flesta CpG-dinukleotider vara metylerade eller ometylerade i komplexa mönster. Därmed bäddas det för en selektion av celler med epigenetiskt inaktiverade tumörsuppressorgener, som normalt fungerar som broms för okontrollerad celltillväxt. Analogt selekteras celler som uppvisar epigenetiskt rubbade (onormalt aktiva) cancergener. I frånvaro av detta selektionstryck kollapsar epigenetiska mönster. Allt detta innebär att cancerceller uppvisar epigenetisk heterogenitet, vilket försvårar analyser av epigenetiska mönster i tumörvävnad och därmed av orsak och verkan.

Epigenetisk rubbning i stamcell – grunden för cancer

Det finns många grundläggande frågor inom cancerepigenetiken som fortfarande väntar på svar. En central fråga rör huruvida epimutationer föregriper genetiska förändringar, eller tvärtom. Svaret på frågan kan, inte helt oväntat, vara både–och även om det finns tecken på att epigenetiska rubbningar i stamceller kan driva bildningen av cancerstamceller. Vi vet att bial-

lelisk aktivitet hos IGF2-genen (som normalt är epigenetiskt inaktiverad på mammans allel) i vissa former av tjocktarmscancer är ett resultat av en epimutation som bäddar för en expansion av stam/progenitorceller, vilka i sin tur predisponerar för cancer [7]. Dessa och andra data har lett till postulatet att epigenetiska rubbningar i stamceller är en gemensam nämnare för i princip alla former av cancer [8].

Även om vi fortfarande inte känner till den bakomliggande mekanismen för en aktivering av mammans IGF2-allel tror vi att dessa förstadier har en omfattande epigenetisk rubbning, som så småningom drabbar mismatch-reparationsgener [9]. Detta i sin tur skapar genetisk instabilitet och därmed cancerprogression med epigenetiska förtecken [2]. På liknande sätt har den globala hypometyleringen i cancerceller kopplats till ett genetiskt instabilt genom, medan genetiska förändringar bäddar för epigenetisk instabilitet [2].

Av potentiellt mycket stort intresse är observationer att den genetiska bakgrunden påverkar risken för cancer via epigenetiska rubbningar. Bland många exempel i litteraturen kan nämnas att en viss polymorfism i DNMT3B-promotorn är kopplad till ökad risk för lungcancer [10].

Näring och epigenetisk stabilitet

Frågan om varför epigenetisk stabilitet kan förloras är fortfarande en gåta. Medan man kan kalkylera att epimutationer är mer än 10 000 gånger vanligare än genetiska mutationer är det sannolikt interaktioner mellan genetik och omgivning som på-

annons

verkar frekvensen av epimutationer och cancerrisken. Miljön i form av t ex folsyra, som finns i vår mat och är en prekursor till metylgruppen på bl a metylerat CpG och histon H3, är en av många kandidater. Denna mycket intressanta typ av forskning, som kopplar ihop näring med epigenetisk stabilitet, är fortfarande på jungfrulig mark.

Komplexa sjukdomar orsakas av ackumulerade, subtila genetiska och epigenetiska förändringar, som var för sig inte är tillräckliga för att inducera sjukdom. Emellertid kan dessa förändringar tillsammans och i vissa kombinationer utmed en kritisk funktionell process vara sjukdomsalstrande. Genetiska förutsättningar kan tillsammans med komplexa interaktioner med miljön bestämma sjukdomstypen på ett sätt som inte kan förstås utan att det epigenetiska konceptet inkluderas. Epigenetiska mekanismer kan särskilt väl förklara icke-mendelska egenskaper hos komplexa sjukdomar som t ex diskordans hos enäggstvillingar, åldersrelaterad symtomdebut och ofullständig penetrans (Tabell III).

Relationen mellan komplexa sjukdomar och epigenetik är extremt intressant, däremot är det inte lätt att fastställa orsak och verkan. En epimutation kan predisponera för sjukdomen, men den kan också induceras direkt eller indirekt av miljön i kombination med sjukdomsuppkomst. Som framgått ovan är miljöns inflytande över den epigenetiska stabiliteten erkänd men föga känd. Epidemiologiska studier har tillhandahållit bevis för att det finns en koppling mellan rubbning av näringstillståndet under tidig fosterutveckling och riskfaktorer för diabetes, kardiovaskulära sjukdomar, högt blodtryck och fetma i vuxen ålder. En mängd publikationer har föreslagit att en interaktion mellan den pre- och postnatale miljön och epigenetiken kan påverka hälsostatus under vuxenlivet. Ett särskilt intressant exempel på detta rör observationen att näringsstatus hos farföräldrar påverkade dödligheten i diabetes och kardiovaskulära sjukdomar [11].

Kliniska möjligheter

Vi har här summerat bakgrunden för ämnet epigenetik och hur den har ett avgörande inflytande över sjukdomsbilden hos människan. Det är omöjligt att få med mer än en bråkdel av ett enormt informationsflöde inom detta heta ämnesområde. Vi har fokuserat på att framför allt ge en principiell förståelse för epigenetiken följt av några exempel på hur epigenetiken börjar påverka vår syn på sjukdomar hos människan. Det finns all anledning att förmoda att epigenetikens inflytande över vår förståelse för en mängd medicinska problemställningar bara kommer att öka. Framför allt vill vi peka på två faktorer, som utgör utomordentliga möjligheter inom kliniken.

För det första: Epigenetiska tillstånd uppstår generellt långt innan de manifesteras i aktivering eller inaktivering av ett arvsanlag. Detta faktum gör det angeläget att införa analys av epigenetiska »profiler« över hela arvsmassan. Detta kan tillåta mera precisa diagnoser i ett tidigare stadium än med någon annan teknik, inklusive expressionsmikroarray och CHIP-chip-profiler [12]. För det andra: De epigenetiska tillståndens reversibilitet bär för en ny generation av terapeutiska åtgärder för en mångfald olika sjukdomar. Detta senare är inte science fiction utan redan i gång i kliniska försöksprogram. Redan används substanser som påverkar epigenetiska tillstånd (histonacetyleringsstatus), t ex med valproinsyra, för att behandla patienter med epilepsi. I fallet 5-azacytidin (Vidaza), som är en DNMT-inhibitor, har fas III-undersökningar genomförts med framgång, särskilt för behandlingen av myelodysplastiskt syndrom. Eftersom valproinsyra, Vidaza och liknande substanser påverkar epigenetisk status i alla kroppens organ kommer behovet av att skraddarsy sådana substanser att öka. Hastigheten

varmed epigenetiken kan bidra till kliniska applikationer beror därmed till en stor del på läkemedelsindustrin.

Epigenetiken erbjuder inte bara ett djupare perspektiv på mekanismtänkande och ökad diagnostisk träffsäkerhet utan också möjligheter till nya behandlingsformer. I ett längre perspektiv kommer det sannolikt att vara möjligt att skapa individspecifika embryonala stamceller. Med detta menas en omprogrammering av kroppsceller från en patient till pluripotenta stamceller. Dessa kan därefter deriveras till celltyper för transplantation till patienter med exempelvis diabetes. Minst ett dussintal laboratorier, inkluderande vårt eget, har pågående försök enligt detta scenario.

Samtidigt som vi har pratat oss varma för alla dessa möjligheter som den epigenetiska forskningen tillhandahåller finns det också en mörk baksida. Således bör vi ha en mental beredskap för olämpliga tillämpningar, som syftar till att möjliggöra epigenetisk manipulering av arvsanlag som styr vår personlighet.

annons

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

■ *Professor Erik Larsson har bidragit med kritiska synpunkter. Cancerfonden, Barncancerfonden, Vetenskapsrådet och Lundbergs stiftelse har bidragit med stöd som möjliggjort denna artikel.*

REFERENSER

- Ohlsson R, Kanduri C, Whitehead J, Lobanenko V, Feiberg A. Epigenetic variability and evolution of human cancer. *Adv Cancer Res* 2003;88:145-69.
- Yu WQ, Ginjala V, Pant V, Chernukhin I, Whitehead J, Mukhopadhyay R, et al. Poly(ADP-ribose)ylation regulates CTCF-dependent chromatin insulation. *Nat Genet* 2004;10: 1105-10.
- Jenuwein T, Allis C. Translating the histone code. *Science* 2001; 293: 1074-80.
- Ben-Porath I, Cedar H. Epigenetic crosstalk. *Mol Cell* 2001;8:933-5.
- Sakatani T, Kaneda A, Iacobuzio-Donahue C, Carter M, de Boom Witzel S, Okano H, et al. Loss of imprinting of Igf2 alters intestinal maturation and tumorigenesis in mice. *Science* 2005;307:1976-8.
- Feinberg A, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Gen* 2006;7: 21-33.
- Cui H, Horon IL, Ohlsson R, Hamilton SR, Feinberg AP. Loss of imprinting in normal tissue of colorectal cancer patients with microsatellite instability. *Nat Med* 1998; 4:1276-80.
- Shen H, Wang L, Spitz M, Hong W, Mao L, Wei Q. A novel polymorphism in human cytosine DNA-methyltransferase-3B promoter is associated with an increased risk of lung cancer. *Cancer Res* 2002;62: 4992-5.
- Kaati G, Bygren L, Edvinsson S. Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *Eur J Hum Genet* 2002;10:602-8.
- Mukhopadhyay R, Yu W, Whitehead J, Xu JW, Kanduri C, Kanduri M, et al. The binding sites for the chromatin insulator protein CTCF map to DNA methylation-free domains genomewide. *Genome Res* 2004;14: 1594-602.
- Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones P. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004;429:457-63.
- Cho K, Elizondo L, Boerkoel C. Advances in chromatin remodelling and human disease. *Curr Opin Genet Dev* 2004;14:308-15.
- Sato A, Kishida S, Tanaka T, Kikuchi A, Kodama T, Asashima M, et al. Sall1, a causative gene for Townes-Brocks syndrome, enhances the canonical Wnt signaling by localizing to heterochromatin. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;319:103-13.
- Butler M. Imprinting disorders: non-Mendelian mechanisms affecting growth. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002;15:1279-88.
- Hiltunen M, Ylä-Herttua S. DNA methylation, smooth muscle cells, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1750-3.
- Gray S, De Meyts P. Role of histone and transcription factor acetylation in diabetes pathogenesis. *Diabetes Metab Res Rev* 2005;21:416-33.
- Januchowski R, Prokop J, Jagodzinski P. Role of epigenetic DNA alterations in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Appl Genet* 2004;45:237-48.
- Shi W, Lefebvre L, Yu Y, Otto S, Krella A, Orth A, et al. Loss-of-imprinting of Peg1 in mouse interspecies hybrids is correlated with altered growth. *J Cell Sci* 2004;117: 2491-501.
- Inui A. Obesity - a chronic health problem in cloned mice? *Trends Pharmacol Sci* 2003;24:77-80.
- Singh S, McDonald P, O'Reill R. Incidental neurodevelopmental episodes in the etiology of schizophrenia: an expanded model involving epigenetics and development. *Clin Genet* 2004;65:435-40.