

Rör, tumörer och brunt fett - tre forskningsområden vid
avd för medicinsk och klinisk genetik

Föredragshållare: Anne Uv, Tommy Martinsson och Sven Enerbäck

Göteborgs Läkaresällskap onsdagsmöte 090930

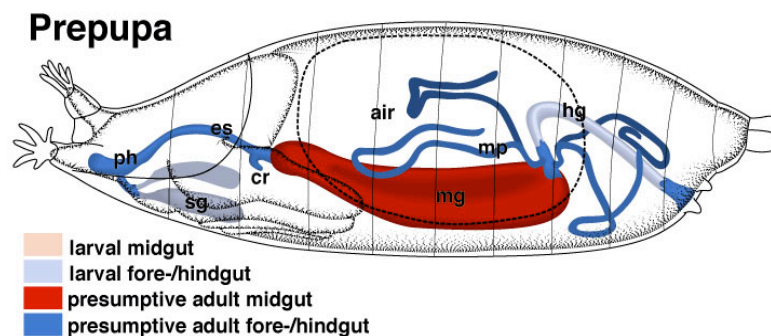
Skriven av: Ka-Wei Tang

Avdelningschefen, professor Sven Enerbäck presenterade avdelningen för medicinsk genetik och klinisk genetik. Verksamheten är väldigt bred och berör allt från basal utvecklingsbiologi till patienters genetiska uppsättning vilket avspeglas i både forskningsmetoderna och modellorganismer.

Anne Uv – Rör

En befruktad äggcell kan efter förökning och differentiering bilda en människa med alla dess celltyper och strukturer. Utvecklingsbiologer som Anne använder sig av modellorganismer för att studera dessa processer. Anne pratade om hur hon använder sig av bananflugor som modellsystem för att studera produktionen av vävnads-rör. Rör-strukturer återfinns överallt i kroppen, t.ex. blod- och lymf-kärl, men även det respiratoriska och gastrointestinala systemet består till större delen av rör. Rören har dessutom samma dimensioner för alla individer. Frågan som Anne försöker besvara är: "Hur bestäms formen och storleken på rören?"

Modellorganismen som främst används i Annes grupp är bananflugan (*Drosophila melanogaster*). Bananflugan genomgår två stadier i sitt liv, först ett larv-stadium och därefter ett flug-stadium. Detta sker efter en dags embryogenes respektive metamorfos som tar fem dagar. Man kan identifiera ett flertal rör-liknande strukturer i bananflugans larvstadium. I nedanstående bild ser man det gastrointestinala systemet, bestående av foregut (ph+es), midgut (rött, mg) och hindgut (hg (med intilliggande njurar (mp))). Även larvens hjärta och andningsorgan är formade som rör. Hjärtat består av ett långt kontraherande rör och andningsorganet förgrenar sig till successivt mindre rör (trakéer). Alla rör i larven, liksom hos människan är beklädda med ett enkelt epitilialt lager.



Utvecklingen av larvens andningsorgan är förutsägbart och man kan observera en 3-5 gångers ökning av diametern av luftrören efter 3 timmar, därefter avstannar tillväxten av tjockleken och istället sker en längdtillväxt. Med hjälp av larv-mutanter (skapade slumpvis efter kemikalisk behandling eller bestrålning) kan man leta fram larver med specifika fenotyper och därefter kartlägga de genetiska mutationerna som är ansvariga för patologin (pionjärerna som utvecklade denna metod belönades med nobelpriset i fysiologi eller medicin 1995). Annes grupp hittade en mutant där luftröret inte blev jämt utan hade områden med ökad/minskad diameter (bubblor). De kunde senare identifiera att det enzym som saknades i denna larv var kitin syntetas. Enzymets funktion är att polymerisera sockermolekyler till kitin. Liknande rör med bubblor kunde de inducera vid användandet av nikomycin (kitin syntetas-inhibitor) och kitinas (bryter ner kitin). Andra mutanter med mutationer i samma reaktionsväg ger liknande malformationer. I enlighet med resultaten formulerades modellen att kitinfilament ackumuleras i lumen och fungerar som en kabel och formar röret. Allteftersom ansamlingen av kitin ökar så följer expansion i breddled därefter.

Man noterade även att kitinmutanterna hade ovanligt långa luftrör. Kitins funktion vid längdtillväxt verkade vara hämmande, tvärt emot funktionen vid breddökning. Publicerat material från andra grupper visar att elongeringen styrs av andra faktorer, t.ex. begränsas

det av en spiral av aktin runt röret (lik en dammsugarslang) som endast tillåter rörelse i längdriktning. Däggdjur har till skillnad från bananflugan inget kitin, men det har visat sig att lektin istället kan fylla de ovanstående beskrivna funktionerna hos däggdjur. I det gastrointestinala systemet hos bananfluga såväl som däggdjur finns det muciner. Dessa har liksom kitinet i luftrören funktionen att fylla lumen vid embryogenesen och skapa en lagom tjocklek på tarmen. Om man slår ut mucin-generna ("knock-out") så får bananflugorna en lång tarm och om man tvärtom överuttrycker mucin-generna så får man en tjock tarm.

Tommy Martinsson – Tumörer

Neuroblastom är den vanligaste och dödligaste solida tumören utanför kraniet hos barn. Det är fler pojkar som drabbas av sjukdomen än flickor. Mutationer i genen ALK återfinns i 10% av alla sporadiska fall och andra kandidatgener som är involverade i DNA-reparation misstänks vara involverade i uppkomsten av sjukdomen. Göteborg tjänar som neuroblastom-centrum för Sverige och har därför tillgång till provmaterial från alla patienter med denna sjukdom. Med hjälp av microarray-chip gör Tommys grupp genetiska studier för att kartlägga den bakomliggande orsaken till neuroblastom. På dessa microarray-chip representeras en stor del av det mänskliga genomet och ger en högre upplösning än vad det tidigare har varit möjligt.

Förr klassificerades neuroblastom-tumörerna utefter hur kirurgiskt åtkomliga de var, men i och med utvecklingen av nya cytostatika görs nuförtiden en radiologisk indelning av stadium där analys av kromosomer ingår. Historiskt sett har neuroblastom-diagnostiken baserats på kromosomanalyser i metafase som uppvisade kromosomer med s.k. HSR (homogenously staining regions) vilket senare visade sig bestå av kopior av onkogenen N-myc på kromosom två. Man kunde senare använda sig av FISH-teknik (fluorescent in situ hybridization) där man m.h.a. lysande DNA-sonder kan uppnå en högre upplösning. När man använder sig av en DNA-sond riktad mot N-myc-genen så ger det normalt sett två signaler per kärna. När man får ett myller av signaler (shotgun) så innebär det ett högt kopieantal av N-myc och liksom HSR i kromosomerna så innebär detta en dålig prognos. På microarray-chipen har man fäst dit hundratusentals korta enkelsträngade DNA-strängar med känd sekvens på specifika punkter. Efter att ha märkt patient-/tumör-DNA med fluorokrom och låtit dessa binda till de specifika sekvenserna på microarray-chipen så kan man avläsa färgerna (in silico). Därefter gör en dator beräkningar utifrån intensiteten på punkterna på chipen och får därmed en översikt på eventuella deletioner/amplifieringar. Intressant nog kan det råda en heterogenitet i en tumör. Analysmetoden är en lång process som tar drygt fyra dagar och ger en helhetsbild över genomet med en hög upplösning. I Tommys grupp har det även gjorts traditionell sekvensering av repetitionerna för att karaktärisera brytpunkterna för den repeterade sekvensen.

Under de senaste 20 åren har vi i Sverige haft drygt 200 fall av neuroblastom. Dessa har analyserats med ovan beskrivna metod och genom att jämföra sjukdomsprogress med de genetiska resultaten har man hittat samband som har lett till reviderade behandlingsrutiner. T.ex. har man retrospektivt sett att 11q-deletion har en dålig prognos och får därför den kraftigaste behandlingen. Däremot har "numeriska kromosomer" dvs. dubbling eller halvering av vissa områden en god prognos och kan oftast botas. De två fall där patienter med numeriska kromosomer har avlidit har varit av iatrogen orsak (kirurgi).

Sven Enerbäck – Brunt fett

I Svens grupp studerar man fettväv i möss och människor. Brunt fett kommer från det paraxiala mesodermet (släkt med muskler och innehar den största förmågan att utföra beta-oxidation) och vitt fett kommer från det laterala platta mesodermet (släkt med pericyter). När den vita fettväven är "full" lagras mer energi i andra organ som t.ex. lever, muskler och bukspottskörtel vilket kan ge upphov till insulinresistens som i sin tur leder till mikro-/makro-vaskulär sjukdom. Om man behandlar bort insulinresistensen sänks dessutom tumörförekomsten med 30-40% (detta beror troligen på det faktum att insulin är en tillväxtfaktor).

Genom att använda sig av tekniker för att genmodifiera möss har Svens grupp överuttryckt en gen vid namn FOXC2 i möss som får en fenotyp med mer brunt fett. Dessa möss har dessutom mindre lipider, triglycerider, fria fettsyror, glukos och insulin i blodet. När mössen utsätts för glukos så förbrukas det snabbare och använder mindre insulin i jämförelse med kontroll-möss. I musklerna man kan mäta en högre insulinkänslighet, ökat glukosupptag och en låg koncentration fria fettsyror. Dessutom finner man mindre insulinproducerande öar i FOXC2-mössen i jämförelse med vildtyp vilket troligen återspeglar insulinbehovet i dessa möss. FOXC2 ökar signaler från beta-adrenerga nerver som via noradrenalin och dess receptor ökar koncentrationen cAMP och via PKA ökar uttrycket av UCP1. UCP1 har funktionen att istället för att använda energin från cellandningen till att bilda ATP så frigörs värme.

Positronemissionstomografi (PET) kan användas för att leta efter brunt fett i människor (finns i vissa fall av fäeokromocytom). Genom att använda sig av radioaktivt märkt glukos så ansamlas isotoperna i glukos-konsumerande celler och om man utsätter patienten för kyla (kallt rum) så ansamlas isotoperna i öar paracervikalt. Vid operation för att avlägsna dessa paracervikala öar upptäckte man en brun fettbit som enligt kirurgen "kändes annorlunda". Vid analys av denna vävnad kunde man se uppreglerat mRNA och protein-nivåer av UCP1. Även histologiskt ser man skillnaden mellan den bruna och vita fettväven och med immunhistokemi kan man hitta ansamlingen av UCP1 i brun fettväv. Man kan dessutom m.h.a. laseraktiverade färger lokalisera och identifiera UCP1 och mitokondrier som visar sig sammanfalla i samma lokaler i cellen.

Presentationerna berörde främst de grundvetenskapliga ämnesområdena vilket passar undertecknat utmärkt då jag arbetar på grannavdelningen där vi använder oss av liknande forskningsmetoder. Det krävdes en hel del rekapitulation av svunnen kunskap för att förstå allt som sades, men föreläsarna höll det på en relativt grundlig nivå.