

Åsa Petersén, med kand, doktorand

Oskar Hansson, med kand, doktorand

Patrik Brundin, leg läkare, professor i neurovetenskap; samtliga sektionen för nervcellsöverlevnad, Wallenberg neurocentrum, Lunds universitet (patrik.brundin@neuro.lu.se)

Huntingtons sjukdom – ännu ett galet protein?

■ Huntingtons sjukdom är en autosomt dominant nedärvd neurodegenerativ sjukdom som orsakas av en expanderad CAG-repetition i en gen på korta armen av kromosom 4. Prevalensen är i genomsnitt 5–10 på 100 000. Drabbade personer får ofta först personlighetsförändringar med depressioner innan ofrivilliga motoriska rörelser uppträder, vilket har gett sjukdomen namnet Huntingtons chorea eller danssjuka (chorea, dans på grekiska). Påverkan på kognitiva funktioner är också vanligt. Personer med Huntingtons sjukdom får vanligtvis symtom i medelåldern och dör efter 15–20 år i komplikationer till immobilitet, så som pneumoni. Neuropatologin är fokuserad på striatum i basala ganglierna och på cerebrala cortex, där cellerna utvecklar inklusioner av proteinaggregat och sedan dör [1]. Genen för Huntingtons sjukdom identifierades 1993 tack vare ett multicentrumprojekt organiserat av Hereditary Disease Foundation från USA [2]. Under många år hade man samlat in patientmaterial från ett område i Venezuela runt sjön Maracaibo, där prevalensen av sjukdomen visat sig vara ovanligt hög, 1 på 500 (Figur 1).

Mutationer som stammar

Det finns minst åtta andra neurologiska sjukdomar (Tabell I) som också beror på en expanderad CAG-repetition i kodande delar av genomet. En CAG-triplett kodar för aminosyran glutamin. Vid ett visst antal glutaminer (runt 30–40 i de olika sjukdomarna) uppnås ett kritiskt tröskelvärde där proteinerna som innehåller ett polyglutaminavsnitt aggregerar och sjukdomen bryter ut. Alla CAG-sjukdomar är progressiva och debuterar vanligtvis i medelåldern. Ju fler CAG-repetitioner som finns i de specifika sjukdomsgenerna, desto tidigare debuterar sjukdomarna. Sjukdomarna uppvisar ibland anticipation (det vill säga tidigare debutålder i efterföljande generationer) i samband med att expansionen av CAG-repetitionen ökar. Trots att CAG-repetitionen är lokaliserad i helt olika gener uppvisar sjukdomarna flera likheter, vilket antyder att de patogenetiska processerna påminner om varandra. Dock spelar det protein som bär på polyglutaminavsnittet en kritisk roll eftersom olika hjärnregioner är drabbade i de olika polyglutaminsjukdomarna. Dessa skillnader förklaras inte av skillnader i de olika proteinernas uttrycksmönster i hjärnan eftersom dessa inte följer sjukdomarnas neuropatologiska utbredning. Aggregat av proteiner som inte innehåller polyglutaminavsnitt förekommer

SAMMANFATTAT

Huntingtons sjukdom är en av flera kända neurologiska sjukdomar som beror på en expanderad CAG-repetition. Symtomen karakteriseras av motoriska, psykiska och kognitiva störningar.

Muterat huntingtin uttrycks i hela kroppen, och neurodegeneration och aggregering av det muterade proteinet huntingtin sker i basala ganglier och hjärnbark. Troligen beror symtomen delvis på nervcellsdysfunktion, snarare än celldöd.

I celler med muterat huntingtin påverkas vitala cellprocesser som kalciumomsättning, proteinmetabolism, gentranskription, mitokondriefunktion och transmitterfrisättning, vilket kan bero på toxiska effekter av huntingtin eller förlust av huntingtins normala funktioner.

Fynd från cellbiologisk grundforskning inger hopp om nya framtida behandlingsmetoder.

också i hjärnan vid flera andra långsamt progredierande neurologiska tillstånd, till exempel Parkinsons sjukdom och Alzheimers sjukdom. Vid prionsjukdomar som »galna ko-sjukan« och Creutzfeldt-Jakobs sjukdom återfinns proteinaggregat i hjärnan. Det spekuleras kring en defekt i den cellulära proteinmetabolismen som en gemensam bakomliggande orsak [3].

Normalt sker vikning av proteiner med hjälp av så kallade chaperoner (till exempel stressproteiner). Chaperoner kan också korrigera veckningen av proteiner som felvikts på grund av mutationer (till exempel CAG-expansion) eller cellstress (till exempel höga halter av fria radikaler) (Figur 2). Om denna mekanism är otillräcklig kan proteinet anta en felaktig tertiärstruktur och långsamt bilda aggregat. Åldrade eller primärt defekta proteiner bryts ner med hjälp av ubiquitin/proteosomsystemet. Detta system involverar en kaskad av enzymer där ubiquitin binds till målprotein för att sedan skickas till proteosomen, som är ett multienzymkomplex vilket bryter ner pro-

Tabell I. Polyglutaminsjukdomar: HS, Huntingtons sjukdom; SBMA, spinobulbär muskulär atrofi; SCA, spinocerebellär ataxi; DRPLA, dentato-rubro-pallidolysiansk atrofi.

Sjukdom	Gen-produkt	Normal CAG	Expanderad CAG	Proteinets lokalisation	Mest drabbade hjärnregioner
HS	Huntingtin	6–35	36–180	Cytoplasman	Striatum, hjärnbarken
SBMA	Androgen-receptor	9–36	36–62	Kärnan och cytoplasman	Framhorns- och hjärnstams-celler, dorsala rotganglier
SCA1	Ataxin-1	6–44	39–82	Kärnan	Cerebellära Purkinjes celler, nucleus dentatus, hjärnstam
SCA2	Ataxin-2	14–32	33–77	Cytoplasman	Cerebellära Purkinjes celler, hjärnstam, fronto-temporala lober i hjärnbarken
SCA3	Ataxin-3	12–40	55–86	Cytoplasman	Nucleus dentatus, basala ganglierna, hjärnstam, ryggmärgen
SCA6	P/Q Ca ²⁺ -kanal	4–18	21–33	Cell-membran	Cerebellära Purkinjes celler, nucleus dentatus, nedre olivkärnan
SCA7	Ataxin-7	4–35	37–306	Kärnan	Cerebellum, hjärnstam, retina, synbarken
SCA17	TATA-bindande protein	25–42	45–63	Kärnan	Cerebellära Purkinjes celler och kornceller
DRPLA	Atrofin-1	3–36	49–88	Kärnan	Cerebellum, hjärnbarken, basala ganglierna



Figur 1. Ett fotografi på en av sjön Maracaibos stränder i nordvästra Venezuela. Staden Maracaibo är den näst största i landet, och familjerna med Huntingtons sjukdom bor i de fattigaste områdena i utkanten av staden och längs sjön.

teinet. Proteiner kan också brytas ner genom autofagi. Autofagi innebär att cellen bryter ner sig själv inifrån genom att placera oönskade organeller eller molekyler i vesikler som sammansmälter med lysosomer. I hjärnor från Huntingtonpatienter har man sett ökad mängd autofagi i striatum [4], och vi har observerat en ökad förekomst av autofagi i nervceller från möss som uttrycker en del av Huntingtongenen och som utsatts för stress i form av dopaminexponering i kulturer [5].

Huntingtins normala funktion

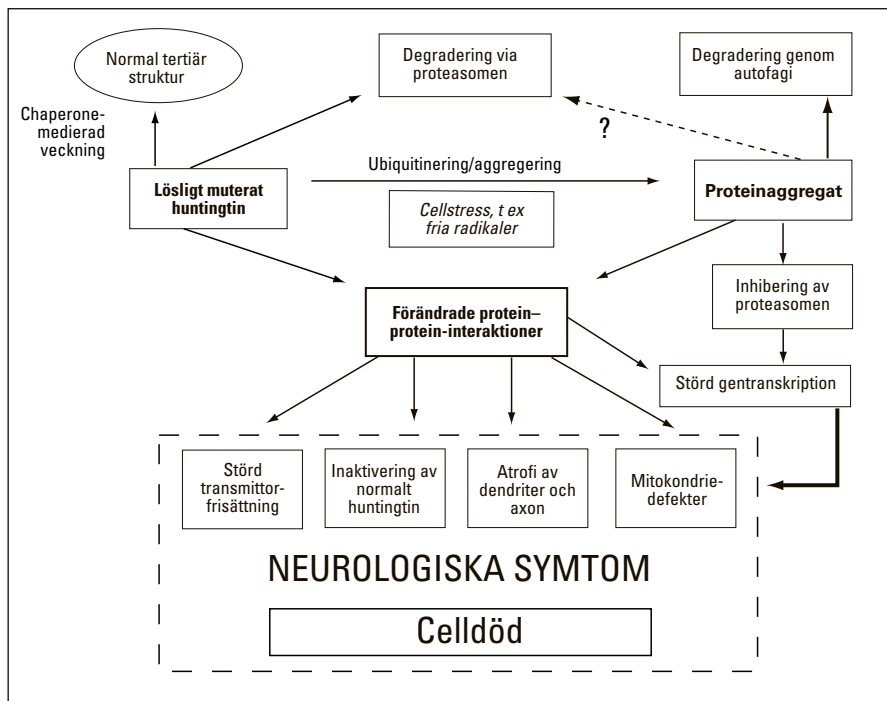
Huntingtongenen kodar för ett protein som heter huntingtin, och finns i celler i hela kroppen. Därför är det en gåta att bara

vissa nervceller påverkas och dör i Huntingtons sjukdom. Sedan 1993 har cell- och molekylärbiologisk forskning identifierat ett antal möjliga roller för huntingtin i nervceller. Det är visat att huntingtin associerar med cytoskelettet samt vesikler som är viktiga för neurotransmission. Dessutom har man identifierat ett antal andra proteiner (till exempel HIP1, HIP2, HAP, GAPDH samt en rad transkriptionsfaktorer) [6] som interagerar med huntingtin. När huntingtin är muterat förändras dess konfiguration och därmed dess interaktion med dessa proteiner på ett sätt som är beroende av polyglutaminlängden. Framtida postgenomisk forskning med hjälp av modern proteomik kommer förhoppningsvis att utröna deras betydelse samt spåra ytterligare interaktioner mellan huntingtin och nya proteiner.

Experimentella modeller av sjukdomen

Innan Huntingtongenen identifierades och transgena tekniker fanns tillgängliga använde man sig av nervtoxiner för att producera djurmodeller av Huntingtons sjukdom. Två klasser av nervtoxiner användes för att reproducera Huntingtonpatologin i striatum: 1. glutamatreceptoragonister; 2. mitokondrietoxin. Överstimulering av glutamatreceptorer kan leda till excessivt kalciuminflöde och nervcellsdöd (så kallad excitotoxicitet). Hämmning av elektrontransportkedjan och citronsyrcykeln i mitokondrien leder till minskad intracellulär energi och död av nervceller. Dessa modeller speglar till viss del det selektiva mönster av nervcellsdöd som förekommer vid Huntingtons sjukdom och några av de neurokemiska förändringar som karakteriserar sjukdomen.

Vad gäller studier av muterat huntingtin har det skett en explosionsartad utveckling under de senaste fem åren. I de olika modellerna har man överfört delar av eller hela Huntingtongenen med olika längder av CAG-repetitionen. Minst ett tiotal genetiskt modifierade musmodeller av Huntingtons



Figur 2. Ett schema över patologiska processer vid Huntingtons sjukdom. Mutationen i huntingtinet leder till förändrade proteininteraktioner som får stora konsekvenser på många av cellernas vitala funktioner. Detta leder till cellulär dysfunktion, kliniska symtom och celldöd.

sjukdom har skapats. Mer detaljerade mekanismer har med fördel studerats i cellodlingsmodeller av Huntingtons sjukdom. Man har till exempel använt sig av transfekterade cellinjer och cellkulturer från de transgena mössen.

Huntingtin – det galna proteinet

Muterat huntingtin har en benägenhet att bilda aggregat i 1–5 procent av de striatala nervcellerna och lokaliserar till cellkärnan. Det har visats att huntingtin kan klyvas av proteaser, som caspaser, och det spekuleras i att kluvet huntingtin är mer toxiskt. En artikel nyligen publicerad i *Nature Genetics* har visat att aggregaten av muterat huntingtin också attraherar kluvna fragment av huntingtin som transkriberats från den normala allelen [7]. Dessa fynd öppnar för möjligheten att sjukdomen beror på en förlorad funktion av normalt huntingtin.

Flera studier talar för att huntingtin hämmar apoptos [8], och knock out-möss som saknar huntingtin dör i uterus och uppvisar utbredd apoptos [9]. Det tvistas om huruvida inklusioner i sig är toxiska eller ett uttryck för att cellen försöker skydda sig mot effekterna av muterat huntingtin. Till stöd för hypotesen att inklusionerna är skadliga har det nyligen publicerats en artikel i *Science* som bland annat visar att huntingtininklusioner hämmar proteosomens funktion och därmed leder till celldöd [10].

När proteosomen hämmas påverkas också transkriptionsfaktorer, vilka kan kräva klyvning genom proteosomen för att aktiveras. Det finns andra skäl för att tro att muterat huntingtin kan påverka gentranskription. Transkriptionsfaktorer innehåller ofta ett polyglutaminavsnitt, och det har föreslagits att huntingtin kan interagera med det. I Huntingtons sjukdom är transkriptionen störd på flera sätt [11]. Till exempel har det visats att muterat huntingtin binder till transkriptionsfaktorn CBP (CREB-bindande protein) och hämmar dess funktion [12]. Om man överuttrycker CBP kan man hämma muterat huntingtins toxiska effekt i cellkulturer [13].

Sammantaget förefaller det som om muterat huntingtin orsakar utbredda störningar av cellers funktion långt innan de dör. Till exempel uppvisar celler med muterat huntingtin störningar i kalciumomsättning, mitokondriefunktion, transmitterfrisättning och tecken på atrofi. Man kan idag spekulera

kring huruvida symtomen till stor del beror på neuronal dysfunktion snarare än att vara en följd av celldöd. I transgena möss som uttrycker N-terminala delen av muterat huntingtin ser man motoriska och kognitiva störningar, trots att inga celler har dött. I denna musmodell har vi funnit att nervceller uppvisar en anmärkningsvärd resistens mot skadliga effekter av intrastriatala injektioner av nervtoxin som stimulerar glutamatreceptorn [14]. Mekanismen bakom denna resistens är ännu inte klarlagd, men störd nervtransmission och/eller defekt intracellulär kalciumjonmetabolism är tänkbara förklaringar.

Framtida behandlingsmöjligheter

Idag finns det inga tillfredsställande behandlingar för sjukdomen. I somras publicerades den längsta och mest omfattande kliniska studien av behandlingar som skulle kunna fördröja sjukdomsutvecklingen i Huntingtons sjukdom. Baserat på de tidigare omnämnda hypoteserna om att excitotoxicitet och mitokondriedefekter spelar en roll i patogenesen har man behandlat 340 patienter med antingen en glutamatreceptorantagonist, ett mitokondriellt koenzym eller en kombination av dessa. Inget av alternativen hade en signifikant effekt [15]. Denna studie är ett bra exempel på att multicenterstudier av denna storlek är möjliga att genomföra trots att sjukdomen är relativt ovanlig.

Kliniska prövningar av nervcellstransplantation pågår med ett litet antal patienter. Preliminära rapporter från Frankrike och USA visar att transplantat kan överleva i Huntingtonpatienter och eventuellt förlängsamma sjukdomens progress [16]. I transgena Huntingtonmöss har minocyklin (ett tetracyklinderivat som hämmar inflammation och apoptos) [17] och kreatin (ett energisubstrat) [18] uppvisat små positiva effekter. Eftersom dessa preparat är relativt lätt tillgängliga har patienter själva initierat egenbehandling, samtidigt som kliniska studier planeras på flera ställen.

Två nyligen publicerade studier i *Science* och *Nature* har visat resultat som inger hopp om nya behandlingsmöjligheter. Man har visat att i de nervcellstrådar som når striatum från cerebrala kortex i Huntingtonpatienter är mängden av nervtillväxsfaktor BDNF minskad [19]. Det vore därför mycket intressant att studera huruvida tillförsel av BDNF genom gen-

Annons

Annons

Annons

Annons

överföring eller BDNF-producerande celler kan påverka Huntingtonpatogenesisen. Man har också sett att muterat huntingtin inhiberar acetyleringen av histoner, vilket leder till minskad gentranskription och toxicitet av muterat huntingtin i bananflugor [20]. Genom att tillsätta SAHA, en hämmare av histondeacetylaser, kan man minska toxiciteten [20]. Kliniska studier med SAHA vore relativt lätta att initiera eftersom substansen redan är godkänd för cancerbehandling i USA. Den stora betydelsen av felveckning av proteiner i ett antal neurodegenerativa sjukdomar kan leda till nya behandlingar i framtiden som interfererar med denna process. Exempelvis har flera studier visat att stressproteiner (Figur 2) kan vara skyddande i flera olika transgena modeller av polyglutaminsjukdomar.

Sammanfattningsvis är forskningen kring Huntingtons sjukdom en utmärkt illustration av hur nya terapeutiska strategier snabbt kan skapas från banbrytande cellbiologisk grundforskning.

Referenser

- Vonsattel JP, DiFiglia M. Huntington disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998;57:369-84.
- Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993;72:971-83.
- Sherman MY, Goldberg AL. Cellular defenses against unfolded proteins: a cell biologist thinks about neurodegenerative diseases. *Neuron* 2001;29:15-32.
- Roizin L, Stellar S, Liu LC. Neuronal nuclear-cytoplasmic changes in Huntington's chorea: electron microscope investigations. *Adv Neurol* 1979;23:93-122.
- Petersén Å, Mani K, Brundin P. Recent advances on the pathogenesis of Huntington's disease. *Exp Neurol* 1999;157:1-18.
- Petersén Å, Larsen KE, Behr GG, Romero N, Przedborski S, Brundin P, et al. Expanded CAG repeats in exon 1 of the Huntington's disease gene stimulate dopamine-mediated striatal neuron autophagy and degeneration. *Hum Mol Genet* 2001;10:1243-54.
- Dyer RB, McMurray CT. Mutant protein in Huntington disease is resistant to proteolysis in affected brain. *Nat Genet*. In press.
- Cattaneo E, Rigamonti D, Goffredo D, Zuccato C, Squitieri F, Sipione S. Loss of normal huntingtin function: new developments in Huntington's disease research. *Trends Neurosci* 2001;24:182-8.
- Zeitlin S, Liu JP, Chapman DL, Papaioannou VE, Efstratiadis A. Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington's disease gene homologue. *Nat Genet* 1995;11:155-63.
- Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science* 2001;292:1552-5.
- Cha JH. Transcriptional dysregulation in Huntington's disease. *Trends Neurosci* 2000;9:387-92.
- Steffan JS, Kazantsev A, Spasic-Boskovic O, Greenwald M, Zhu YZ, Gohler H, et al. The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:6763-8.
- Nucifora FC Jr, Sasaki M, Peters MF, Huang H, Cooper JK, Yamada M. Interference by huntingtin and atrophin-1 with CBP mediated transcription leading to cellular toxicity. *Science* 2001;291:2423-8.
- Hansson O, Petersén Å, Leist M, Nicotera P, Castilho RF, Brundin P. Transgenic mice expressing a Huntington's disease mutation are resistant to quinolinic acid-induced striatal excitotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:8727-32.
- The Huntington Study Group. A randomized, placebo-controlled trial of coenzyme Q10 and remacemide in Huntington's disease. *Neurology* 2001;57:397-404.
- Bachoud-Levi AC, Remy P, Nguyen JP, Brugieres P, Lefaucheur JP, Bourdet C, et al. Motor and cognitive improvements in patients with Huntington's disease after neural transplantation. *Lancet* 2000;356:1975-9.
- Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S, et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2000;6:797-801.
- Ferrante RJ, Andreassen OA, Jenkins BG, Dedeoglu A, Kuemmerle S, Kubilus JK, et al. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci* 2000;20:4389-97.
- Zuccato C, Ciammola A, Rigamonti D, Leavitt BR, Goffredo D, Conti L. Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science* 2001;293:493-8.
- Steffan JS, Bodai L, Pallos J, Poelman M, McCampbell A, Apostol BL, et al. Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature* 2001;413:739-43.

SUMMARY

Huntington's disease – yet another mad protein?

Åsa Petersén, Oskar Hansson, Patrik Brundin

Läkartidningen 2001;98:5756-61

Huntington's disease is an autosomal dominant neurodegenerative disorder caused by an expanded CAG repeat. It is characterized by motor and cognitive disturbances, as well as cellular dysfunction and loss in the basal ganglia and the cerebral cortex. The mutant protein huntingtin aggregates in cells. The toxicity of mutant huntingtin, or the loss of its normal function, causes disruption of cellular functions such as protein and calcium metabolism, transmitter release, mitochondria and gene transcription. Recent findings in basic research open up new possibilities for novel therapies.

Correspondence: Patrik Brundin, Section for Neuronal Survival, Wallenberg Neuroscience Center, BMC A10, SE-221 84 Lund, Sweden (patrik.brundin@neuro.lu.se)