

Genetiska aspekter av Rett syndrom

Laurent Villard, doktorand

Aix Marseille University, Inserm UMR-S 910, Faculté de Médecine de Marseille, France

DNA, gener och proteiner: nödvändiga koncept

Rett syndrom är en genetisk sjukdom. Genetiska sjukdomar orsakas av mutationer (förändringar) i DNA-molekylens sekvens som återfinns i kroppens alla celler. DNA-molekylen innehåller all information som behövs för att bygga upp en levande organism. Varje stycke information i DNA:t kallas gen. Generna i sig är uppdelade i mindre DNA-element som placerade i en viss följd. Dessa kallas "exoner".

Människans DNA består av ungefär 30 000 gener. Varje gen innehåller den information som behövs för att koppla samman enskilda aminosyror till ett protein, alltså en kedja av aminosyror. Dessa proteiner är själva byggstenarna för vår kropp, från muskler till hud och från leder till hjärna.

Människans DNA fördelas över 23 kromosompar. ($23 \times 2 = 46$ kromosomer). Både män och kvinnor har kromosomparen 1 till 22. Kromosomerna i ett kromosompar är det som avgör att det biologiska könet skiljer sig hos män och kvinnor: män har en X-kromosom och en Y-kromosom (XY), medan kvinnor har två X-kromosomer. Hos kvinnor stängs en av de två X-kromosomerna av genom en process som kallas X-inaktivering (se nedan).

DNA-mutationer utgör permanenta förändringar i DNA-molekylen som kan överföras från föräldrar till deras barn. När det sker en mutation i en DNA-sekvenskodning för ett protein kan det leda till flera olika konsekvenser: 1- när en aminosyra ersätts med en annan i proteinet kallas det "missensmutation"; 2- när en aminosyra ersätts med ett stycke information som avbryter proteinsyntesen kallas det "nonsensmutation"; 3- när DNA-segment av varierande längd tas upp eller tappas kallas det "insertion" respektive "deletion". I fall där deletioner eller insertioner uppstått genomgår genen en så kallad "läsramsmutation", vilket ofta leder till ett avbrott i proteinsyntesen; 4- när mutationer inte ger någon konsekvens, dessa kallas "polymorfismer" eller "normalvarianter".

Varför uppstår DNA-mutationer?

När en cell delar sig (under utvecklingsfasen eller i en vuxen människa) måste den duplicera sitt DNA. Denna process är synnerligen komplicerad och inte helt felfri. När ett fel uppstår leder det till att den nya DNA-molekylen blir en annan variant. Genetikforskare har räknat ut att alla nyfödda barn har slumpmässiga mutationer som inte finns hos någon av deras föräldrar (så kallade "de novo"- mutationer), dessutom bär barnet på en specifik uppsättning mutationer som de ärvt från sina föräldrar. Allteftersom nya generationer föds så leder denna process till en enorm mängd mutationer i DNA-molekylen och det finns hundratusentals kända mutationer i det mänskliga DNA:t [1]. De flesta av dem leder inte till några sjukdomar. Men ibland uppstår mutationer i ett DNA-segment där genens kodsekvens modifieras på ett sådant sätt att det motsvarande proteinet förlorar sin normala funktion (helt och hållet eller till viss del). Denna underkategori av mutationer kan leda till genetiska sjukdomar som Rett syndrom.

Genmutationer som ger upphov till Rett syndrom

Den gen som huvudsakligen ger upphov till Rett syndrom kallas MECP2. Förkortningen står för metyl CpG-bindande protein 2. MECP2-genen upptäcktes för första gången i möss år 1992 i Adrian Birds laboratorium i Skottland [2]. Den motsvarande mänskliga genen identifierades fyra år senare [3]. Detta arbete utfördes långt innan man upptäckte att mutationer i denna gen kunde

orsaka genetiska sjukdomar, vilket i sig var ett vetenskapligt genombrott som gjordes 1999 i Huda Zoghbi's laboratorium [4].

Hos människor är MECP2-genen lokaliserad till X-kromosomen. Den består av 4 exoner som kodar ett protein med 486 aminosyror. MECP2 – genen kallas för transkriptionell modulator vilket innebär att det proteinet som genen kodar för (MECP2- proteinet) reglerar hundratals genuttryck i vår arvs massa. Den verkar främst genom att påverka, oftast hämma uttrycket av andra gener. Dess funktion är i synnerhet viktig för att hjärnan ska fungera normalt [5].

CDKL5-genen (även kallad STK9) finns också på X-kromosomen. 2004 publicerades två studier samtidigt där författarna hade upptäckt mutationer i CDKL5-genen hos patienter som delade kliniska drag med personer med Rett syndrom [6,7]. Den kliniska bilden för barn som bär på mutationen i CDKL5-genen överlappar dock bara delvis med gruppen som har klassiskt Rett syndrom [8]. Flera forskare har ifrågasatt att patienter med CDKL5-mutationer räknas in i gruppen ”patienter med Rett syndrom”. De menar snarare att barnen lider av en annan sjukdom, ett annat syndrom [9].

2008 publicerades en text om inblandningen av genen FOXP1 i en variant av Rett syndrom. Texten handlade om barn som drabbats av den medfödda (kongenital) varianten av Rett syndrom. Mutationer i CDKL5 och FOXP1 är en ovanlig orsak till Rett syndrom och dessa patienters kliniska fenotyp skiljer sig från den hos patienter med klassisk Rett syndrom.

Uttryck som ”Rett syndrom-genen” eller ”min dotter har genen som orsakar Rett syndrom” är missvisande. Det finns ingen ”Rett syndrom-gen”. Däremot finns det olika mutationer som leder till Rett syndrom när de uppstår i specifika gener. De normala genkopiorna orsakar inga sjukdomar. Alla människor bär på generna MECP2, CDKL5 och FOXP1 och de kodar ett protein som fyller en eller flera funktioner.

Varför är patienter med Rett syndrom nästan alltid kvinnor?

DNA- mutationer uppstår slumpmässigt under celldelningen (se stycket ovan). Under en mans liv produceras miljarder spermieceller. Detta innebär miljarder DNA-kopior och miljarder möjligheter för en mutation som leder till att en sjukdom uppstår. Således är det mycket högre risk att mutationen som orsakar en genetisk sjukdom ska uppstå i spermieceller än i kvinnans ägg. Eftersom fäder för över sin Y-kromosom till sina söner (och inte sin X-kromosom) så kan en MECP2-mutation inte överföras till en son. Detta förklarar troligen varför merparten av de som drabbas av Rett Syndrom är kvinnor. Det finns manliga patienter med sjukdomsutlösande MECP2-mutationer. Deras sjukdom skiljer sig dock relativt markant från Rett syndrom och kan resultera i allt från grav encefalopati (hjärnskada) med dödlig utgång till lindriga förståndshandikapp. Dessa fall är extremt ovanliga jämfört med hur många kvinnor som drabbas av Rett syndrom.

X-inaktivering

Fenomenet X-inaktivering spelar en viktig roll för Rett syndrom. X-inaktivering sker hos alla kvinnor och innebär att en av de två X-kromosomerna stängs av och inte längre bidrar till proteinproduktionen som kodas av generna i den stängda kromosomen [11]. X-inaktiveringsprocessen sker tidigt i det kvinnliga embryots utveckling. Det sker slumpmässigt, och X-kromosom1 eller X-kromosom2 kan inaktiveras av vilken cell som helst. I genomsnitt kommer 50 % av en kvinnas celler uttrycka X1 och 50 % av cellerna kommer uttrycka X2. Detta betyder att en kvinna kommer vara en ”mosaik” av celler som uttrycker den ena eller andra X-kromosomen (men aldrig båda två samtidigt i en enskild cell). När en mutation som orsakar sjukdom förekommer i MECP2-genen vid Rett syndrom så är det en enskild X-kromosom som bär denna mutation (barnet beskrivs som ”heterozygot”). Om mutationen sitter i den uttryckta X-kromosomen så blir cellen ”sjuk”. Om mutationen istället sitter i den inaktiva X-kromosomen så blir cellen normal. Alltså är kvinnor med Rett syndrom en mosaik av drabbade och normala celler.

Bland friska kvinnor varierar andelen inaktiverade X-kromosomer från person till person, och från det förväntade förhållandet 50:50 till >90:10 i sju procent av alla kvinnor under 25 års ålder [12]. Andelen ”normala” celler jämfört med ”sjuka” celler i en kvinna med Rett syndrom har högst troligt en inverkan på hur svåra hennes kliniska symptom är. X-inaktiveringsprofilen förs inte vidare från mor till dotter.

Risk för upprepning - rekurrens

Den stora merparten av Rett syndrom-fall uppstår på grund av de novo-mutationer. Detta innebär att föräldrar till barn med Rett syndrom inte bär på den sjukdomsorsakande mutationen. I detta sammanhang är risken för upprepning låg och ligger på samma nivå som risken för befolkningen i allmänhet att ha en MECP2-mutation som orsakar sjukdom (0,43 till 0,71 per 10 000 kvinnor [13]).

Det finns två extremt ovanliga situationer där man kunnat observera en upprepning. Den första situationen är när mutationen finns i mer än 1 könscell (ägg eller spermie) från en förälder (detta kallas ”germinal mosaicism”). Den andra situationen är när modern bär på en sjukdomsorsakande MECP2-mutation och samtidigt har en helt snedfördelad X-inaktivering (se ovan) som stänger av den mutationsbärande X-kromosomen. Denna ”sjukdomsorsakande” kromosom kommer då att vara inaktiverad i den icke-drabbade modern, men kan föras vidare till barn som drabbas, inklusive män.

Dessa två situationer är extremt ovanliga och kan enkelt hanteras genom klinisk genetik när den sjukdomsorsakande mutationen upptäckts i det drabbade barnet. Genetisk rådgivning och prenataldiagnostik kan genomföras vid behov. Det bör också nämnas att risken för att ytterligare ett barn ska drabbas pga någon av dessa två situationer är mycket lägre än risken för missfall efter ett fostervattenprov.

Personlig rådgivning behövs eftersom alla situationer och förutsättningar är olika, en klinisk genetiker måste rådfrågas och involveras i diskussioner.

Genterapi

Vi förstår fortfarande inte helt MECP2-genens alla funktioner och således kan det bli svårt att ”bota” Rett syndrom genom att återställa genens ursprungliga funktion. En alternativ behandlingsstrategi skulle kunna vara att ersätta den sjukdomsorsakande muterade MECP2-genen med en normal version. Denna genterapimetod skulle leverera en normal kopia av genen till patientens celler. Eftersom Rett syndrom huvudsakligen är en hjärnsjukdom skulle huvudmålen vara hjärnceller. För att lyckas med detta använder forskare virus som kallas adenoassocierade virus (AAV) som modifierats för att fungera i en så kallad trojansk häststrategi. Viruserna görs ofarliga genom att deras virala DNA tas bort och ersätts med MECP2-kodsekvensen. Denna strategi håller nu på att testas i djurmodeller för Rett syndrom, med viss framgång [14–17]. Det kommer dock dröja länge innan samma metod kan användas på människor med Rett syndrom.

Källhänvisning

- [1] Lek, M., et al. (2016). Nature. 536:285-291.
- [2] Lewis, J. D. et al. (1992). Cell. 69, 905-914.
- [3] D'Esposito, M. et al. (1996). Mamm Genome. 7:533-535.
- [4] Amir, R. E. et al. (1999). Nat. Genet. 23:185-188.
- [5] Shah, R. R. & Bird, A. P. (2017). Genome Med. 9:17.
- [6] Tao, J. et al. (2004). Am. J. Hum. Genet. 75:1149-1154.
- [7] Weaving, L. S. et al. Am. J. Hum. Genet. 75:1079-1093.
- [8] Bahi-Buisson, N. et al. (2008). Brain. 131:2647-2661.
- [9] Fehr, S. et al. (2013). Eur J Hum Genet. 21:266-273.
- [10] Ariani, F. et al. (2008). Am J Hum Genet. 83:89-93.
- [11] Galupa, R. & Heard, E. (2015). Curr Opin Genet Dev. 31:57-66.
- [12] Sharp, A., Robinson, D. & Jacobs, P. (2000). Hum Genet. 107:343-349.

- [13] Bienvenu, T., et al. (2006). *Pediatr Neurol.* 34:372-375.
[14] Gadalla, K. K. et al. (2013). *Mol Ther.* 21:18-30.
[15] Garg, S. K. et al. (2013). *J Neurosci.* 33:13612-13620.
[16] Matagne, V. et al. (2017). *Neurobiol Dis.* 99:1-11.
[17] Sinnett, S. E. et al. (2017). *Mol Ther Methods Clin Dev.* 5:106-115.