





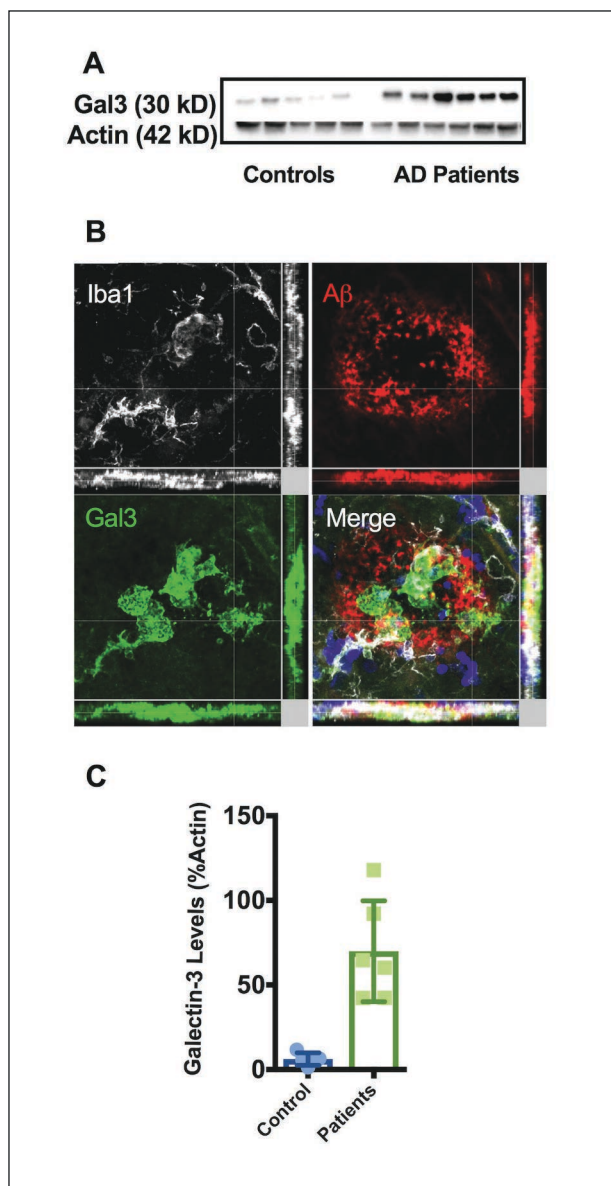
Det brinner i hjärnan!

Jakten på gnistan för att förhindra utvecklingen av Alzheimers sjukdom

”Hjärnans mikroglia-celler är en del av immunförsvaret som finns i hjärnan och reagerar därför kraftigt vid till exempel infektioner och kan ge upphov till inflammation i hjärnan, det vill säga neuroinflammation.”

Vid Alzheimers sjukdom ansamlas bland annat amyloida plack utanför nervcellerna. När vårt medfödda immunförsvaret upptäcker placket aktiveras hjärnans immunrespons. I denna mekanism verkar proteinet galectin-3 spela en stor roll. Kan inhibering av galectin-3 vara en ny behandling av Alzheimers sjukdom? Det är en fråga som **Tomas Deierborg**, docent vid Lunds universitet, hoppas finna svaret på.

För några årtionden sedan trodde man att hjärnan bestod av nervceller och att dessa satt ihop med hjälp av stödceller, så kallade gliaceller, som i princip var som ett ”lim” för att hålla ihop nervcellerna (glia härrör från grekiskan, jfr *eng* glue). Nu vet vi att dessa gliaceller har en viktig funktion för att hjärnan skall fungera och att dessa celler är delaktiga i utvecklingen av flera av hjärnans sjukdomar.¹ På mitt laboratorium, Experimentell Neuroinflammation, studerar vi framför allt de minsta av dessa gliaceller som heter mikroglia och som motsvarar makrofager i andra delar av kroppen. Hjärnans mikroglia-celler är en del av immunförsvaret som finns i hjärnan och reagerar därför kraftigt vid till exempel infektioner och kan ge upphov till inflammation i hjärnan, det vill säga neuroinflammation.



Figur 1. A) Mängden av galectin-3 i hjärnor från alzheimerpatienter är tio gånger högre än hos individer som inte haft någon demenssjukdom. Proteinmätning är gjort med western blot och alla individer har ungefär samma ålder. B) Plack av beta-amyloid i hjärnsnitt från alzheimerpatienter. Mikroglia (Iba1, vit) samlas i anslutning till plack (Aβ, röd) och de mikroglia celler som är i anslutning till placken uttrycker galectin-3 (Gal3, grön). Dessa mikroglia celler med galectin-3 finns uteslutande just där det finns plack.

Trots att de är hjärnans minsta celler, har det visat sig att just dessa celler tros vara avgörande för utvecklingen av Alzheimers sjukdom.² Hur kan vi då veta att dessa celler spelar en viktig roll för utveckling av Alzheimers sjukdom? Genom att studera arvsmassan hos patienter med Alzheimers sjukdom och jämföra med friska personer har forskare visat att förändringar av gener kopplade till just mikroglia celler ger ökad risk att drabbas av denna demenssjukdom.^{3,4}

Vid Alzheimers sjukdom, som är vår vanligaste demenssjukdom, bildas så kallade plack av beta-amyloid. Dessa plack/proteinaggregat av beta-amyloid liknar märkl

nog ämnen som bakterier kan bilda. Det är därför inte så konstigt att om dessa plack bildar strukturer som påminner om bakterier, så är det naturligt att mikroglia celler reagerar kraftigt då de upptäcker dessa plack och skapar inflammation i hjärnan som är skadlig. Med andra ord jobbar många forskare efter hypotesen om att inflammation i hjärnan kan bidra till att Alzheimers sjukdom utvecklas.

Hur gör vi då för att stoppa denna inflammation och mildra/bota Alzheimers sjukdom?

På labbet har vi tidigare sett att ett ämne som de här mikroglia cellerna bildar, galectin-3, kan påverka hjärnskada. Vi har tidigare visat att vid stroke bildas detta ämne specifikt av mikroglia celler i det skadade området och binder in till en receptor som är central vid inflammation (TLR4, vars upptäckt belönades med Nobelpriset 2011).⁵ Om vi tog bort galectin-3 blev hjärnskadan mindre och vi kunde se att galectin-3 bildades av de mikroglia celler som är kraftigt inflammatoriskt aktiva. Med andra ord de allra farligaste och mest destruktiva mikroglia cellerna bildade detta ämne.

KAN GALECTIN-3 SPELA EN ROLL VID ALZHEIMERS SJUKDOM?

Eftersom inflammation i hjärnan hos alzheimerpatienter tros pågå under många år, innan patienterna får sin diagnos, skulle galectin-3 kunna vara ett intressant utgångsläge för behandling.

För det är just betydelsen av tidig behandling som tros vara avgörande för att behandlingen fungerar och anledningen till att så många kliniska läkemedelsstudier inte fungerat för alzheimerpatienter.⁶

Kan det vara så att galectin-3 kan vara en gnista som startar inflammationen i hjärnan hos alzheimerpatienter? Just värme/eld är typiskt för inflammation så i detta fall skulle man kunna jämföra med en gnista som startar den brand i hjärnan som leder till att nervcellerna dör vid Alzheimers sjukdom.

För att se om galectin-3 kan vara en gnista, eller bov i inflammationsdramat vid Alzheimers sjukdom, började vi med att studera hjärnor från alzheimerpatienter (samarbete med neuropatolog Elisabeth Englund) och jämföra dem med friska hjärnor (från patienter som avlidit på grund av annan orsak som levte lika länge). Vi vet att ålder är en av de största riskfaktorerna för Alzheimers sjukdom så det är viktigt att jämföra vävnad från patienter som är lika gamla.

När vi studerade mängden galectin-3 i hjärnan gjorde vi en häpnadsväckande upptäckt. I tinningloben, som är den hjärnregion som framför allt är drabbad vid Alzheimers sjukdom, mätte vi att det var tio gånger så mycket av galectin-3 [Figur 1a]! Kan det vara så att de plack av beta-amyloid som är vanligt förekommande i alzheimerhjärnor satt igång denna inflammation? Detta skulle i sådana fall betyda att vi skulle kunna hitta mikroglia celler runt placken och att dessa mikroglia skulle visa sig innehålla galectin-3. Genom att färga hjärnsnitt med en metod som kallas immunohistokemi kan man se förekomsten av specifika protein, till exempel galectin-3.

Med spänning färgande vi hjärnsnitt för att kunna se både mikroglia celler, plack och det inflammatoriska ämnet galectin-3.

tin-3. Gissa om vi blev glada när vi tittade i mikroskopet och kunde se, att precis som vi hade trott, fanns det aktiverade mikroglia-celler runt placken i hjärnan. Och dessa innehöll massor av galectin-3 [Figur 1b]! Det verkade onekligen så att mikroglia-celler ansamlas runt placken och att de bildade galectin-3, vilket knappt förekom i några andra mikroglia-celler, förutom de som var i kontakt med placken.

Nu kommer vi till den stora utmaningen. Hur visar vi att galectin-3 kan spela en roll i utvecklingen av Alzheimers sjukdom?

Flera fenomen kan samexistera i både tid och rum utan att egentligen spela någon väsentlig roll för utveckling av sjukdomen, så vår nästa uppgift var att designa experiment för att studera om galectin-3 hade en roll i sjukdomsprocessen.

För detta ändamål använde vi oss av alzheimermöss, det vill säga möss som har genmodifierats för att bilda plack genom att de mänskliga gener som ger upphov till Alzheimers sjukdom satts in i musens arvsmassa. Genom att titta på hur nivåerna av galectin-3 förändrades med stigande ålder i dessa möss fann vi att mängden galectin-3 ökade ju äldre mössen blev. Dessutom fann vi att det var färre mikroglia-celler runt placken i de möss som saknade galectin-3. Med stigande ålder och ökad mängd plack blev nivåerna av galectin-3 högre. Även om detta inte säger något om funktionen av galectin-3 så visar det att mössens sjukdom påminner om utvecklingen av sjukdomen hos människa. När vi sedan studerade hjärnvävnad från dessa möss i mikroskop fann vi exakt samma mönster som i de mänskliga alzheimerhjärnorna:

Placken var omringade av mikroglia-celler som uttryckte galectin-3! Vi har nu en bra musmodell som vi kan använda för att studera funktionen av galectin-3 och dess roll för sjukdomsmekanismer kopplade till Alzheimers sjukdom. Nästa steg i vår forskning var att korsa/para dessa alzheimermöss med möss som saknade galectin-3. Om galectin-3 är boven i sjukdomsdramat vid Alzheimers sjukdom borde möss som inte har genen för det inflammatoriska proteinet galectin-3 uppvisa mindre sjukdomssymtom såsom mindre/färre plack, mindre inflammation och sämre minne. Spända och förvåningsfulla fick vi vänta in musaveln tills vi hade tillräckligt många alzheimermöss i rätt ålder och lika många alzheimermöss som saknade galectin-3.

Kunde det vara så att alzheimermössen som endast saknade galectin-3 kunde vara skyddade ...?

Jajamensan! Vi blev såklart positivt överraskade då vi slutligen kunde göra alla analyser av både hjärnvävnad och beteende hos mössen. Vi fann nämligen att alzheimermössen utan galectin-3 hade bättre minne när vi studerade dem i en vattenlabyrint där de skulle komma ihåg var en dold plattform var gömd. I detta test som görs i en rund bassäng fann vi att alzheimermössen utan galectin-3 lättare och snabbare kunde hitta tillbaka till en plattform som de tidigare hade lärt sig lokaliseringen av. Att som forskare få så tydlig data från beteendetest betyder så klart oerhört mycket. Till sist och sist så är det minnet som sviktar hos patienten och därför är detta så klart viktiga resultat. Men hur såg det då ut i hjärnan på dessa alzheimermöss som saknade galectin-3?

Jo, flera positiva saker var förändrade: Vi fann mindre och färre plack i hjärnan, cirka 1/3 jämfört med möss som fort-

farande hade galectin-3. Även nivåerna av de lösliga formerna av beta-amyloid i hjärnan var flera gånger lägre. Många hjärnforskare tror nämligen att de lösliga formerna av beta-amyloid (det vill säga de som inte finns i placken) är farligast och mest skadliga för hjärnan. Vi lyckades även få ut ryggmärgsvätska från mössen och såg där en ökad nivå av beta-amyloid i de alzheimermöss som saknade galectin-3. Ökad? Men kan det stämma att det är färre plack av beta-amyloid i hjärnan, men ökad mängd av lösligt beta-amyloid i ryggmärgsvätska?

Jo, så är det även hos alzheimerpatienter. Medan placken blir fler i hjärnan så minskar nivåerna i ryggmärgsvätska. Alltså, låga nivåer av beta-amyloid i ryggmärgsvätska tyder på mer plack i hjärnan. Och dessa resultat känns så klart robust för en experimentell forskare att se att mössen beter sig på samma sätt som hos människa.

“Det verkade onekligen så att mikroglia-celler ansamlas runt placken och att de bildade galectin-3, vilket knappt förekom i några andra mikroglia-celler, förutom de som var i kontakt med placken.”

VARJE FORSKARE DRÖMMER OM ATT GÖRA SKILLNAD

Och hur såg inflammationen ut i hjärnan på de alzheimermöss som saknade galectin-3? När vi mätte förekomst av inflammatoriska ämnen (till exempel cytokiner) var de lägre i de alzheimermöss som inte hade galectin-3. För att titta närmare på hur mikroglia-cellerna reagerade vid närvaro av beta-amyloid studerade vi dem separat i odlingsflaskor. Mycket riktigt kunde vi se att de började producera galectin-3 när vi utsatte dem för beta-amyloid. Och detta stämmer överens med den ökning av galectin-3 som vi sett i mus- och människohjärna vid Alzheimers sjukdom. Mikroglia börjar producera galectin-3 vid närvaro av beta-amyloid.

Varje forskare drömmer om att kunna göra skillnad och att hitta en medicin som kan hjälpa patienterna. Det finns inget läkemedel just nu som används för att blockera galectin-3. Däremot har vi samarbete med forskare på Lunds universitet som gör inhibitorer för galectin-3 (kemiprofessor Ulf Nilsson) och som studerar dessa inhibitorers effekt (biokemiprofessor Hakon Leffler). Undra om dessa inhibitorer/blockerare kan förändra inflammation hos mikroglia? Vi tillsatte beta-amyloid till odlingsflaskorna med mikroglia-celler och även tillsammans med inhibitor av galectin-3. Och resultaten vi fick var precis vad vi väntat oss. Galectin-3-inhibitorn gjorde så att inflammationen minskade hos mikroglia-cellerna. Ett ytterligare intressant fynd var att cellerna började bilda mer av ett ämne som kan bryta ner placken (enzymet IDE-1) efter behandling med galectin-3-

"Med vår forskning vill vi släcka den inflammation som pågår i hjärnan och skydda de känsliga nervcellerna."



inhibitor. Och visst vore det fantastiskt om man med ett läkemedel både kunde göra mikroglia cellerna snällare mot nervcellerna (mindre inflammation) och samtidigt få dem att bryta ner placken! Spännande! Så spännande att vi även tittade på hjärnvävnaden från de alzheimermöss som saknade galectin-3. Och mycket riktigt. Även i dessa möss fann vi högre mängd av det enzym som kan bryta ner placken!

Som forskare vill man gärna förstå bakomliggande mekanismer. Och i vårt fall är det att förstå hur galectin-3 kan ha denna effekt. För att kunna göra lite mer kvalificerade gissningar studerade vi hur inflammatoriska gener kan gå upp eller ner och hur denna genreglering kan vara förändrad i hjärnan hos möss utan galectin-3. Här fann vi förändringar av flera inflammatoriska gener, och även gener som kopplade till "dålig/destruktiv" mikroglia. Vi kunde även se att vissa gener var kopplade till en viss receptor som är känd för att vara involverad i Alzheimers sjukdom, den så kallade TREM2-receptorn, som sitter på cellytan och styr cellens beteende. Utan att gå in på för mycket forskningsdetaljer följde vi även upp detta spår; om galectin-3 kunde binda in till TREM2-receptorn. Och visst blev vi slagna av tydligheten från våra laboratorieresultat när vi fann att en viss del av galectin-3-molekylen (den del som tros stå för den inflammatoriska effekten) kunde binda in starkt till TREM2-receptorn. Och kanske kan det vara en del av den effekt som galectin-3 har i Alzheimers sjukdom.

VILKA SLUTSATSER KAN MAN DRA?

Sammanfattningsvis kan vi dra slutsatsen att galectin-3 som bildas av hjärnans mikroglia celler har en negativ effekt på de sjukdomsprocesser som vi vet är kopplade till Alzheimers sjukdom. Vi har studerat möss med avsaknad av galectin-3 och även studerat hämmare som eventuellt skulle kunna användas som framtida läkemedel och sett positiva effekter. Finns det något ytterligare sätt för oss att studera om galectin-3 kan ha en effekt på Alzheimers sjukdom hos människa?

Genom framgångsrikt samarbete med forskare i Sevilla i Spanien (Jose Luis Venero, Javier Vitorica), som har varit en viktig del i hela denna studie, visade det sig att en samarbetspartner var gift med en genetiker som studerade genvariation och koppling till olika sjukdomar. Kanske det kan finnas vanliga förändringar (SNP, små variationer i gener kopplade till förändring av ett baspar) kopplade till galectin-3-genen? En enkel sökning i databaser för personer med Alzheimers sjukdom och friska individer, där arvsmassan analyserats visade att dessa små genetiska förändringar i anslutning till genen för galectin-3 ökar risken att drabbas av Alzheimers sjukdom!

Cirkeln är sluten, allt från människa, mus och mikroglia celler tyder på att galectin-3 är kopplat till Alzheimers sjukdom.

Och vad är då nästa steg i vår forskning? Drömmen för en forskare som studerar sjukdomar är såklart att hitta nya

behandlingsmöjligheter. Kanske hämmare/blockerare av galectin-3 kan fungera som behandling av Alzheimers sjukdom? Vi hoppas att vi skall kunna gå vidare med våra studier. Både att kartlägga de underliggande mekanismerna och även testa hämmare/blockerare av galectin-3 som så småningom kanske kan komma alzheimerpatienter till godo.

Mer forskning behövs för att kunna hjälpa alla de människor som förlorar sitt jag på grund av att minnet sviker dem. En funktion av vår hjärna som påverkas tidigt i Alzheimers sjukdom. Med vår forskning vill vi släcka den inflammation som pågår i hjärnan och skydda de känsliga nervcellerna. Vi vill ge de drabbade ett bättre avslut och de anhöriga en möjlighet att minnas den person som fanns innan demenssjukdomen slog till.

Studien i sin helhet är publicerad i *Acta Neuropathologica* 2019 Aug;138(2):251-273. PMID: 31006066



TOMAS DEIERBORG
Docent och forskare i neuroinflammation,
Lunds universitet
tomas.deierborg@med.lu.se

REFERENSER

1. Heneka MT, Kummer MP, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nat Rev Immunol* 2014; 14(7):463-77. doi: 10.1038/nri3705.
2. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2015; 14(4):388-405.
3. Nott A, Holtman IR, Coufal NG, Schlachetzki JCM, Yu M, Hu R, et al. Brain cell type-specific enhancer-promoter interactome maps and disease risk association. *Science* 2019 Nov 14. pii: eaay0793. doi: 10.1126/science.aay0793. [Epub ahead of print].
4. Meyer-Luehmann M, Prinz M. Myeloid cells in Alzheimer's disease: culprits, victims or innocent bystanders? *Trends Neurosci* 2015; 38(10):659-668.
5. Burguillos MA, Svensson M, Schulte T, et al. Microglia-Secreted Galectin-3 Acts as a Toll-like Receptor 4 Ligand and Contributes to Microglial Activation. *Cell Rep* 2015; 10(9):1626-1638.
6. Golde TE, DeKosky ST, Galasko D. Alzheimer's disease: The right drug, the right time. *Science* 2018; 362(6420):1250-1251.

Instruktionsfilmer inom NEUROLOGI

– för dig och dina patienter

Även som APP

Ett enda klick för rätt och säker läkemedelsanvändning

Beställ kostnadsfria påminnelsekort: info@medicininstruktioner.se

