





Ny forsknings- modell för att kunna förstå Huntingtons sjukdom

Med en teknik för att omprogrammera hudceller till nervceller har forskare vid Lunds universitet visat sig kunna studera Huntingtons sjukdom på ett nydanande sätt. Metoden kan också leda till framgångsrika studier av andra åldersrelaterade hjärnsjukdomar.

Johan Jakobsson, professor i neurovetenskap vid Lunds universitet, berättar mer i denna artikel.

Huntingtons sjukdom är en ärftlig och dödlig neurodegenerativ sjukdom som orsakas av en mutation i Huntingtin-genen.¹ Patienter med Huntingtons sjukdom lider av okontrollerade rörelser och kognitiva och emotionala störningar. Huntingtons sjukdom orsakar lidande för den drabbade och anhöriga men trots att vi känt till mutationen som orsakar Huntingtons sjukdom i snart tre decennier så saknas i dagsläget effektiv behandling för patienter med denna sjukdom. Problemet är att vi inte förstår hur den muterade Huntingtin-genen leder till ett sjukdomsförlopp i hjärnan.

En svårförklarad aspekt av Huntingtons sjukdom är att de flesta genbärare lever ett fullgott liv upp i medelåldern, oftast helt utan symtom. Normalt bryter sjukdomen ut i 40–50 års åldern. Detta är svårt att förstå då cellerna i Huntington-patienterna har varit exponerade för den muterade Huntingtin-genen och dess proteinprodukt under hela livet. Det verkar med andra ord som att celler med muterat Huntingtin kan fungera normalt under flera decennier. En slutsats av detta är att ålder är en nyckelkomponent för sjukdomsbilden i Huntingtons sjukdom. Det betyder att det inte räcker att ha mutationen, utan patienten måste också uppnå en viss ålder för att sjukdomen ska bryta ut. I denna ålder har dock sjukdomen hunnit utvecklas till fullo och i princip alla genbärare blir sjuka.

Att studera hur ålder, sjukdom och gener samverkar är dessvärre väldigt komplicerat att göra i ett laboratorium. Djurförsök ger opålitliga resultat då de djur vi normalt använder för att studera hjärnan, exempelvis möss och råttor, bara blir 2–3 år gamla. Studier av donerad vävnad reflekterar naturligtvis ofta hög ålder, men har andra stora begränsningar vad gäller vilken typ av experiment som kan utföras. På senare tid har stamceller från patienter med Huntingtons sjukdom använts för att studera sjukdomen, men även dessa celler saknar den viktiga komponenten av hög ålder. Denna brist på experimentella system betyder att vi i dagsläget vet väldigt lite om de molekylära mekanismer som förändras inuti cellerna i den åldrande hjärnan och hur dessa bidrar till att neurodegenerativa sjukdomar utvecklas. Det är med andra ord tydligt att det finns ett behov av att utveckla nya metoder för att kunna studera åldrande hjärnceller från patienter med Huntingtons sjukdom och andra neurodegenerativa sjukdomar i laboratoriet. Utveckling av sådana metoder kommer att leda till en ökad förståelse för sjukdomsprocessen vilket troligtvis kommer att leda till nya och bättre behandlingsmetoder.

CELLER SOM BIBEHÅLLER SIN BIOLOGISKA ÅLDER

Min forskargrupp, tillsammans med Malin Parmars forskargrupp i Lund, har det senaste decenniet jobbat på att utveckla en sådan modell. Vår nya metod bygger på så kallad reprogrammeringsteknik där vi med hjälp av olika transkriptionsfaktorer kan styra celltyper åt olika håll.² I korthet tar vi hudbiopsier från patienter med Huntingtons sjukdom och odlar dessa hudceller i vårt laboratorium. Sedan omprogrammerar vi dessa celler till nervceller med hjälp av transkriptionsfaktorer och genöverföringsteknik. Dessa nervceller kan vi sedan studera i laboratoriet med ett antal olika tekniker.

En viktig komponent av detta nya modellsystem är nerv-



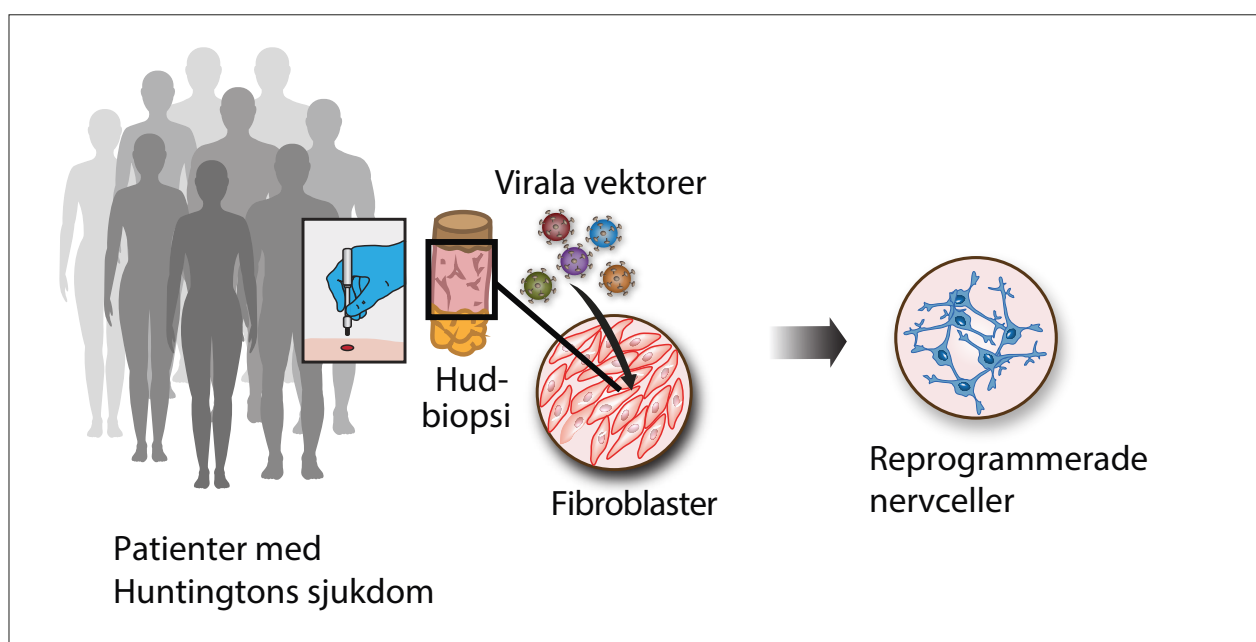
De reprogrammerade nervcellerna är med andra ord gamla och modellsystemet är därför relevant för att studera sjukdomar där ålder är en viktig komponent, såsom Huntingtons sjukdom.

cellernas biologiska ålder. Genom att studera DNA-metyleringsmönster så kan vi mäta den biologiska åldern av de omprogrammerade cellerna och våra resultat visar att de omprogrammerade nervcellerna bibehåller sin biologiska ålder.^{3,4} De reprogrammerade nervcellerna är med andra ord gamla och modellsystemet är därför relevant för att studera sjukdomar där ålder är en viktig komponent, såsom Huntingtons sjukdom. Förhoppningen är att vår modell ger svar och ledtrådar som är betydligt mer relevanta för sjukdomen än de ledtrådar man får från djurstudier och att detta i förlängningen ska leda till genombrott för någon form av behandling.

INTRESSANTA FYND I VÅRA OMPROGRAMMERADE CELLER

I vår nyligen publicerade studie⁴ så samlade vi hudbiopsier från 10 patienter med Huntingtons sjukdom och omprogrammerade hudcellerna till nervceller. Dessa nervceller jämförde vi sedan med omprogrammerade nervceller från friska personer. Resultaten var mycket intressanta och vi hittade flera förändringar i nervcellerna från patienter med Huntingtons sjukdom som kanske kan förklara en del av sjukdomsmekanismen. Bland annat fann vi att nervceller från patienter med Huntingtons sjukdom uppvisar problem med att bryta ner och återvinna en viss typ av proteiner. Denna process som kallas autofagi reglerar hur cellen tar hand om gamla, icke-fungerande proteiner.⁵

Då vi kan odla de omprogrammerade nervcellerna i stort antal i vårt laboratorium kan vi utföra ett antal olika experiment på nervceller från samma patienter. Vi fann då, genom att kombinera molekylär analys av Huntington-nervcellerna med avancerad mikroskopering, tydliga tecken på förändringar i autofagi-processen. Våra resultat visade att i nervceller från patienter med Huntingtons sjukdom startar autofagi-processen på ett normalt sätt. Det uppstår dock problem när de återvunna proteinerna ska transporteras bort. Här stannar mekanismen upp och det återvunna materialet fastnar i nervcellsutsikten. Denna typ av detaljerad, molekylär sjukdomsinsikt om autofagi-processen är ny för Huntingtons sjukdom. Man har tidigare vetat om att autofagi är förändrad i Huntingtons sjukdom, men man har inte förstått i detalj hur. Detta har hindrat utveckling av effektiva läkemedel som korregerar denna process. Våra resultat bidrar nu med helt ny, mer detaljerad kunskap som kan ha stor nytta för att utveckla nya behandlingar då vi nu vet exakt vad i processen som går fel.



Figur 1. Vår teknik bygger på att vi tar en hudbiopsi från en patient med Huntingtons sjukdom. Dessa hudceller odlas sedan i vårt laboratorium. Med hjälp av genöverföringsteknik så introducerar vi transkriptionsfaktorer i hudcellerna som därmed omprogrammeras till nervceller. På detta sätt så kan vi studera gamla nervceller från levande patienter i laboratoriet.

I studien testade vi även om detta modellsystem går att använda för att utvärdera behandlingsstrategier. De senaste åren har en mycket omskriven klinisk studie genomförts i patienter med Huntingtons sjukdom.⁶ I denna kliniska studie har man utvärderat effekten av att tysta ner Huntingtin-genen med hjälp av en genterapi-metod. Tanken är att om man tar bort Huntingtin så stannar sjukdomen av. De resultat av studien som hittills presenterats har dock inte varit enbart positiva och en kritik mot studien som förts fram är att både den muterade och den friska kopian av Huntingtin-genen stängs av. Detta kan vara problematiskt då icke-muterat Huntingtin troligtvis spelar en viktig roll i hjärnans celler. I vår studie använde vi oss av CRISPR-baserad genredigering för att replikera denna kliniska studie i våra reprogrammerade nervceller. Med hjälp av CRISPR så inaktiverade vi Huntingtin-genen, både den muterade och icke-muterade kopian, i de omprogrammerade nervcellerna från patienter med Huntingtons sjukdom och studerade effekten av detta. Våra resultat stödjer idén om att det är viktigt att bibehålla den friska kopian av Huntingtin-genen då det verkar som att denna spelar en viktig roll i regleringen av autofagi. Faktum är att våra resultat indikerar att inaktivering av både den muterade och icke-muterade kopian kan leda till kraftiga biverkningar som snarare bidrar till ett snabbare sjukdomsförlopp än motsatsen. Våra resultat stödjer att om man ska ta fram en terapi som syftar till att tysta ner Huntingtin-genen med genterapi så måste denna vara specifik till den muterade kopian.

ÖKAD KUNSKAP OM ÅLDERSRELATERADE SJUKDOMAR

Vi hoppas att vårt nya modellsystem är starten på ett antal nya metoder att studera kombinationen av ålder, gener och sjukdom i laboratoriet. En intressant aspekt av vår nya teknik är att den kan användas inte bara för Huntingtons sjukdom

utan även för andra mer vanliga åldersrelaterade neurodegenerativa sjukdomar, såsom Alzheimers sjukdom och Parkinsons sjukdom. Antalet patienter med dessa neurodegenerativa sjukdomar ökar konstant i det åldrande samhället och att utveckla nya behandlingar för dessa sjukdomar är därför av största vikt. Vi tror att vår metod eller ytterligare utvecklade varianter av tekniken har en god möjlighet att bidra till att öka förståelsen för dessa sjukdomar och på så sätt bidra till nya, mer effektiva framtida behandlingsstrategier.



JOHAN JAKOBSSON

Professor i neurovetenskap, Institutionen för experimentell medicinsk vetenskap, Lunds universitet
johan.jakobsson@med.lu.se

Referenser

1. MacDonald M. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell* 1993; 72:971-983.
2. Drouin-Ouellet J, et al. REST suppression mediates neural conversion of adult human fibroblasts via microRNA-dependent and -independent pathways. *EMBO Mol Med* 2017; 9:1117-1131.
3. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol* 2013; 14:R115.
4. Pircs K, et al. Distinct subcellular autophagy impairments in induced neurons from patients with Huntington's disease. *Brain* 2022; 145:3035-3057.
5. Klionsky DJ, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)(1). *Autophagy* 2021; 17:1-382.
6. Tabrizi SJ, et al. Targeting Huntingtin Expression in Patients with Huntington's Disease. *N Engl J Med* 2019; 380:2307-2316.