

PEKKA NIEMINEN, biokemist, fil mag, Odontologiska institutionen, Biomedicum, Helsingfors universitet, Helsingfors, Finland

SIRPA ARTE, specialisttandläkare, odont dr, Odontologiska institutionen, Biomedicum, Helsingfors universitet, Kliniken för mun- och käksjukdomar, Kirurgiska sjukhuset, Helsingfors universitetscentralsjukhus, Helsingfors, Finland

Genetiken bakom medfödd avsaknad av tänder

☉ Under det senaste decenniet har vår kunskap om de mekanismer och den genetik som ligger bakom tandutvecklingen ökat enormt.

Genom molekylärgenetiska och djurexperimentella utvecklingsstudier på möss har mekanismerna bakom såväl den tidiga tandutvecklingen som differentieringen av de celler som producerar hårdvävnaden kring tänderna blivit mycket klarare.

Det har visat sig att tänderna under sin utveckling i stor utsträckning använder sig av liknande interaktioner och molekylära mekanismer som andra organ.

Den ärftliga bakgrunden till avsaknad av tänder hos människan har visat sig vara synnerligen heterogen. En av framtidens utmaningar blir därför att identifiera orsakerna till de lindrigare former av hypodonti som är vanliga inom befolkningen.

Man har konstaterat att medfödd avsaknad av tänder i vissa fall kan vara en indikator för en ökad cancerrisk vilket ytterligare framhäver vikten av att utreda orsakerna till olika former av tanddefekter.

REFERENTGRANSKAD. ACCEPTERAD FÖR PUBLICERING 10 OKTOBER 2005

Den moderna biologin har hyst ett brett intresse för tänderna. Såväl paleontologer, antropologer som utvecklingsbiologer och genetiker har fascinerats av de karakteristiska tandstrukturer som kännetecknar varje enskild art. Inom forskningen kring tandutvecklingen förekommer många olika sätt att närma sig ämnet. Man har bland annat utrett ursprunget till de vävnader som deltar i tandutvecklingen samt inverkan av interaktioner mellan olika vävnader. Molekylära och genetiska studier har redan identifierat ett stort antal gener som påverkar tandutvecklingen (Gene expression in tooth, <http://bite-it.helsinki.fi>). Men trots detta återstår ännu många utmaningar när det gäller de mekanismer som påverkar tändernas placering, form och regeneration.

De viktigaste verktygen vid utredning av den genetiska bakgrunden till tandutvecklingen är dels experimentella studier på djur (särskilt mus), dels identifiering av de genetiska avvikelser som leder till en rubbning av tandutvecklingen. Den molekylärgenetiska forskningen har klarlagt genetiska avvikelser som orsakar strukturella fel i dentinet och tandemaljen samt andra avvikelser som påverkar tändernas antal, storlek och form. I denna artikel diskuteras främst de ärftliga omständigheter som leder till medfödd avsaknad av tänder.

Medfödd avsaknad av tänder

Den vanligaste utvecklingsstörningen hos människan är medfödd avsaknad av en eller flera tänder. Mer än en femtedel av befolkningen saknar några tredjemolarer och cirka 6–8 procent saknar en eller flera permanenta tänder (hypodonti) [1–3]. Ju större antal tänder som saknas, desto mer sällsynt är förekomsten: Cirka 1 procent av befolkningen saknar tre tänder eller fler, medan endast cirka 1–2 promille saknar sex tänder eller fler (oligodonti) [1, 2, 4]. Oftast förekommer hypodontier som enskilda förekomster hos i övrigt friska personer. Tandavsaknad av olika grad förekommer dock i tiotals olika syndrom som även involverar andra delar av kroppen. Mycket omfattande oligodontier förekommer nästan uteslutande i samband med sällsynta syndrom.

Vid såväl hypodonti som oligodonti saknas näst efter visdomständerna andrapremolarer eller övre laterala framtänder. Allra ovanligast är avsaknad av de övre mittframtänderna, nedre hörntänderna och förstamolarerna [1–4]. Medfödd avsaknad av mjölk-tänder är också sällsynt [3]. Avsaknad av tänder är med andra ord vanligast för tänder som bryter fram sist, vilket låter oss förstå att det finns vissa kvantitativa faktorer som inverkar på avsaknaden av tänder. Dessa kan gälla antalet celler som deltar i tandutvecklingen eller signalöverföringen mellan dessa celler.

Hypodontierna associeras med många andra störningar i tandutvecklingen. Störningarna kan

förekomma både hos patienten själv och inom patientens släkt. Många studier har visat att särskilt oligodonti är associerat med att tänderna är små till växten och att deras form är förenklad [4, 5]. En egenskap som associeras kraftigt med hypodonti är konformade laterala övre framtänder. Den avvikelserna förekommer bland 1–2 procent i populationen [6, 7]. Tjurtand (taurodonti) och korta tandrötter är betydligt vanligare bland hypodontipatienter än hos genomsnittsbefolkningen [3, 7]. Jämfört med genomsnittspopulationen har hypodontipatienter och deras släktingar oftare vridna tänder och felplacerade hörntänder [8, 9].

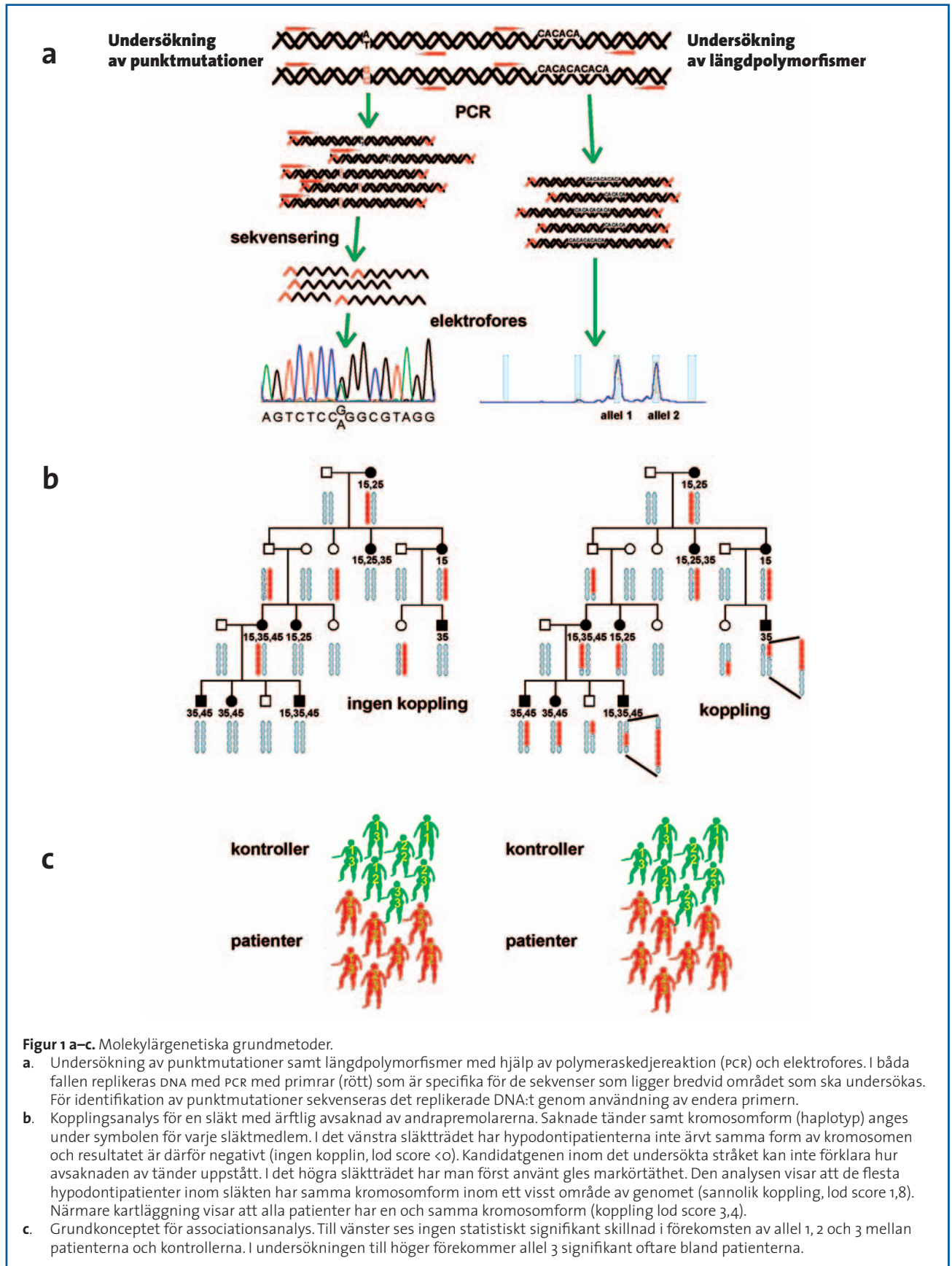
Etiologi

Tandutvecklingen inleds tidigt under fosterutvecklingen och pågår upp i tidig vuxenålder. Det är alltså möjligt för olika yttre omständigheter att påverka tandutvecklingen under fosterutvecklingen och barndomen. Cancerbehandlingar i barndomen (strålbehandling och kemoterapi) kan till exempel ge upphov till avsaknad av tänder eller små tänder [10, 11]. Personer som exponerades för dioxin vid olyckan i Seveso* har oftare hypodonti än genomsnittet [12]. Djurexperiment har även visat att dioxin kan orsaka hypodonti [13]. Trots att doserna såväl i de djurexperimentella studierna som vid olyckan i Seveso var höga är det tänkbart att dioxiner och andra miljögifter även kan ha effekt på populationsnivå om effekten kombineras med andra yttre omständigheter samt genetiska faktorer.

Enligt rådande uppfattning beror medfödd avsaknad av tänder i huvudsak på ärftliga faktorer. Vid sidan om ovanliga fallbeskrivningar har man med systematiska familjeundersökningar visat att avsaknad av tänder är betydligt vanligare bland släktingar till hypodontipatienter än i normalpopulationen [1, 14, 15]. Det är vanligare att båda tvillingarna i ett tvillingpar saknar tänder om de är identiska tvillingar jämfört med om tvillingarna inte är identiska [16–18]. Enligt uppskattningar som baserar sig på tvillingstudier förklarar ärftliga faktorer cirka 75–90 procent av storleksvariationen och avsaknaden av tänder [19]. Utifrån familjeundersökningar anser en del forskare

Fakta: Olyckan i Seveso

År 1976 fick ett utsläpp av dioxin i staden Seveso i Italien mycket allvarliga följder. Dioxin, som är giftigt och cancerframkallande, spred sig omedelbart över en yta på ungefär 25 kvadratkilometer. Ingen människa dog som en direkt följd av olyckan men mer än 600 evakuerades från sina hem och ungefär 2 000 drabbades av dioxinförgiftning. Området var sedan obeboeligt för många år framåt.



att hypodontier i huvudsak ärvs dominant men med låg genomslagskraft [1, 4, 20]. Andra forskare förespråkar att etiologin är polygen eller multifaktoriell [14, 15, 21]. Ett recessivt nedärvningsmönster och en association till x-kromosomen har också beskrivits [4, 22]. Man har även beskrivit en modell som bygger på en multifaktoriell etiologi där avsaknad av tänder, storleksvariation och hyperdonti placeras ut på en så kallad kvasikontinuerlig axel [15].

Metoder för att identifiera genetiska avvikelser

Beroende på scenariot kan man använda olika strategier när man ställs inför frågan om vilka genetiska defekter som ligger bakom hypodonti (Figur 1). Forskningen kan fokusera direkt på de så kallade kandidatgenerna, men man kan också söka i hela genomet. Man kan använda sig av genetisk analys eller utreda ordningen för basparen i kandidatgenen (sekvensering eller sekvensbestämning).

En gen anses vara en kandidatgen om man känner till att den är associerad med hypodonti eller om den är intressant från djurmodeller (till exempel "knockout-möss" som saknar tänder). Numera känner man till ett antal olika mutationer hos möss där tandutvecklingen är störd i olika grad (Gene expression in tooth, <http://bite-it.helsinki.fi>). När man undersöker kandidatgener med genetisk analys är målet att utreda om den fenotyp* som orsakas av den genetiska avvikelser finns i själva kandidatgenen eller i dess omgivning. På populationsnivå kan man använda sig av så kallad associationsanalys. Den går ut på att utreda om en viss allel* av en gen, dess haplotyp* eller den genotyp* som de tillsammans utgör förekommer oftare hos patienterna än hos en frisk kontrollgrupp. Vid undersökning av hypodontier i släkter är kopplingsanalys en effektiv metod för att utreda vilka kandidatgener som inverkar. De sjuka släktingarna skulle ju ha ärvt samma kromosomform av det genområde som innehåller kandidatgenen. Oftast har man dock endast tillgång till ett begränsat material, kanske endast ett prov av en enskild patient. Då måste man nöja sig med att undersöka basparssekvenserna. Av praktiska skäl riktar denna sekvensering oftast in endast på exonerna, de segment av DNA som innehåller de proteinkodande områdena. Den genetiska avvikelser som leder till en viss fenotyp kan också finnas utanför dessa områden och påverka genom att störa gentranskriptionen. De områden som påverkar transkriptionen kan dock vara belägna mycket långt från det område som kodar för proteinet.

Om man har tillgång till ett större familjematerial (det vill säga prover från fler än tio sjuka patienter inom samma släkt) kan man leta upp den genetiska avvikelser med en kopplingsanalys av hela genomet. Forskarna söker då efter områden inom genomet som innehåller en haplotyp som nedärvs tillsam-

mans med den aktuella fenotypen. Ett bra sådant exempel är identifieringen av den mutation i *AXIN2* som orsakar oligodonti i en finländsk släkt [23]. I den studien använde forskarna först kopplingsanalys för att utesluta de mest sannolika kandidatgenerna. Sedan kartlades genomet i samarbete med Finlands genomcenter och på basis av dessa undersökningar identifierades och avgränsades ett visst område på kromosom 17. Sekvensering av basordningen hos genen *AXIN2* (som ligger vid det avgränsade området) identifierade en förändring i ett baspar som återfanns hos alla sjuka medlemmar inom släkten.

Vid genomgång av hela genomet kan man också använda associationsanalys. Målet är att identifiera områden inom genomet där vissa alleler eller haplotyper förekommer oftare hos sjuka än hos friska personer som inte behöver vara besläktade. Om man även har tillgång till släktingar kan man kontrollera om de sjuka individerna har ärvt vissa former oftare än de friska medlemmarna i släkten. Metoden har använts för många olika multifaktoriella sjukdomar men vid hypodonti endast för studier av inverkan av kandidatgener. Associationsanalys av hela genomet har blivit möjlig i och med modern DNA-mikromatristeknik.

Genavvikelser som leder till avsaknad av tänder

Hypodonti förekommer vid många syndrom vars genetiska avvikelser är kända, exempelvis ett flertal ektodermala dysplasier, van der Woudes syndrom (som ger mun- och gomspalt) samt Riegers syndrom [3]. De olika hypodontierna kan vara typiska för vissa syndrom men kan också vara lika som de hypodontier som förekommer isolerade, utan association till ett syndrom. Anhidrotiska ektodermala dysplasier kännetecknas av en omfattande avsaknad av tänder, både

*Allel

En alternativ form av gen eller DNA-sekvens (del av en kromosom). Olika alleler kan ge variationer i nedärvda karaktäristika.

*Fenotyp

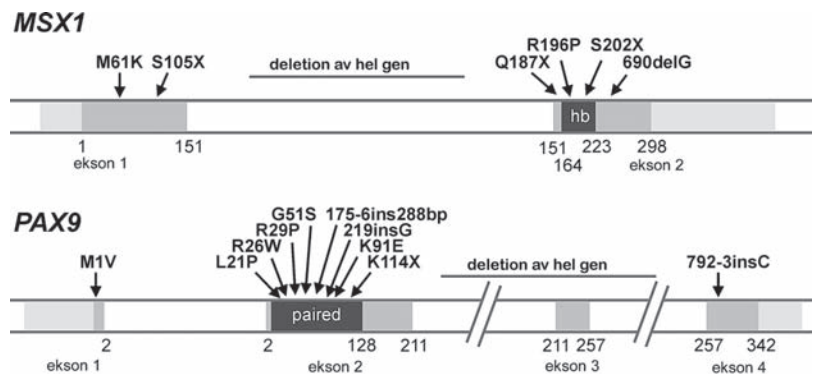
Organismens märkbara egenskaper som uppkommit genom en samverkan mellan arvsanlag och miljö, det vill säga den sammanlagda effekten av de ärftliga och de förvärvade egenskaperna.

*Genotyp

Individens ärftliga egenskaper till kropp och själ, det vill säga egenskaper som förmedlas från föräldrar genom DNA.

*Haplotyp

Kombination av två eller fler alleler som individen har ärvt från en förälder.



Figur 2. Strukturen för generna *MSX1* och *PAX9* samt mutationer. Områden i ljusgrått är exoner, grått kodar för proteiner medan mörka områden anger homeobox och paired domain-området. Siffrorna under figurerna anger de aminosyror som ska ingå i det protein som kodas. Ovanför figurerna anges mutationerna antingen i form av ändrade aminosyror, i form av övergång av en aminosyra till stoppkodon (x) eller i form av deletion eller insertion som leder till förändrad aminosyrakod.

***Heterozygot**

Man är heterozygot om man har två olika alleler av en gen eller DNA-sekvens. Om man är heterozygot för en viss ärftlig egenskap (till exempel sjukdom) finns anlaget endast i den ena av två liknämnda kromosomer.

***Mesekym**

Embryonal bindväv från vilken cellerna utvandrar för att sedan bilda kärl, blod, lymfoida organ samt kroppens stödjevävnad, bindväv, brosk, ben och muskler.

***Neurallisten**

En anatomisk bildning hos fostret på vardera sidan om neuralröret, det tidiga anlaget till det centrala nervsystemet. Tandvävnaden, utom emaljen, härstammar från celler som utvandrat från neurallisten.

mjölktänder och permanenta tänder, men leder också till en förenkling av tändernas form. Det faktum att fenotyperna kan vara likadana beror på att de genetiska avvikelserna finns i gener som ansvarar för signalöverföringen mellan celler längs samma signalrutt. Vid Riegers syndrom saknas oftast framtänderna i överkäken samt mjölktänder medan det vid van der Woudes syndrom eller diastrofisk dysplasi oftast är andrapremolarerna och de övre framtänderna som saknas.

År 1996 beskrev man för första gången en genetisk avvikelse som endast påverkade tänderna. Avvikelsen fanns i *MSX1*-genen [24]. Denna genetiska avvikelse (som leder till en förändring i en enda aminosyra) orsakar en dominant ärftlig oligodonti som kännetecknas av avsaknad av samtliga andrapremolarer, visdomständerna samt i varierande grad även andra tänder. År 2000 upptäcktes ett övertaligt baspar (insertion) i genen *PAX9* i en familj där omfattande avsaknad av särskilt de permanenta molarerna nedärvdes dominant [25]. Senare har man i båda dessa gener beskrivit många genetiska avvikelser [26–28] som leder till dominant nedärvda oligodontier. De liknar i huvuddrag de fenotyper som uppstått till följd av de mutationer som först identifierades (Figur 2, Tabell I). I samtliga fall verkar det som om den genetiska avvikelserna hindrar uttrycket av den andra genkopian. Det bildas då en fenotyp på grund av att den syntetiserade proteinmängden halveras (haploinsufficiens).

MSX1 och *PAX9* är transkriptionsfaktorer som anses reglera avläsningen av målgenerna genom att binda till bindningsställen i DNA. *MSX1* hör till gruppen homeoboxgener där en så kallad homeobox (en proteinsekvens som konserverats under evolutionens lopp) ansvarar för bindningen till DNA. Det är tänkbart att homeoboxsekvensen också förmedlar bindningen mellan olika proteiner. När det gäller *PAX9* är det en så kallade paired domän som binder

till DNA. Denna domän är också en proteinsekvens som konserverats under evolutionen. Med några få undantag riktar sig mutationseffekterna på olika sätt mot homeoboxsekvensen eller paired domän (Figur 2). Dessa gener uttrycks i det tandbildande mesenkymet*. Man tror att de är viktiga när mesenkymet ska ta över förmågan att styra tandutvecklingen. I knockout-möss leder utslagningen av *MSX1* eller *PAX9* till avsaknad av alla tänder, gömspalt samt andra utvecklingsstörningar. Tandutvecklingen stannar av på knoppstadiet och samtidigt hindras förtätningen av de mesenkymala cellerna (som härstammar från neurallisten*) i närheten av tandens epitelanlag. De mesenkymala cellerna kan inte heller ta emot eller behandla vissa signaler från epitelvävnaden.

Om endast den ena kopian av *MSX1* eller *PAX9* slås ut hos möss uppstår inga utvecklingsstörningar. Därför kan sådana experiment inte hjälpa oss att förklara patogenesisen vid heterozygota* tillstånd hos människa. Detsamma gäller för de genetiska avvikelserna i generna *PITX2* och *TP63* som ger upphov till Riegers syndrom respektive *EEC*-syndromet (hos möss uppstår utvecklingsstörning hos tänder endast om generna för syntesen av dessa transkriptionsfaktorer slås ut helt). Man kan dock anta att det hos heterozygota människor uppstår vissa kvantitativa brister eftersom endast den ena genkopian producerar det protein som behövs och att detta leder till de olika fenotyperna. Det är troligt att bristerna uppstår på grund av att det under tandutvecklingen inte finns tillräckligt många celler eller att de celler som finns delar sig sämre än normalt. I många fall är anledningen troligtvis en försämrad signalöverföring mellan cellerna.

Ett gemensamt drag för samtliga mutationer i *MSX1* är avsaknaden av andrapremolarer och tredjemolarer ofta i kombination med avsaknad av några av framtänderna (Tabell I, Figur 3a). Man kan tolka det så att mutationerna i *MSX1* påverkar samtliga tand-

Tabell I. Mutationer i *MSX1*, *PAX9* och *AXIN2*: avsaknad av tänder.

			Tänder som saknas (%)								
	mutationer	patienter		1	2	3	4	5	6	7	8
<i>MSX1</i>	11*)	40	Övre	0	30	5	76	96	30	15	86
			Nedre	20	21	8	15	90	51	20	89
<i>PAX9</i>	11	50	Övre	2	24	10	19	67	80	89	98
			Nedre	50	4	0	4	37	34	86	96
<i>PAX9</i> , endast missense	5	21	Övre	0	33	24	21	52	64	76	95
			Nedre	64	5	0	0	45	17	76	90
<i>AXIN2</i>	2	12	Övre	0	71	25	58	75	50	71	100
			Nedre	79	67	29	33	92	54	71	100

*) sex släkter och fem andra patienter med omfattande deletion i *MSX1*

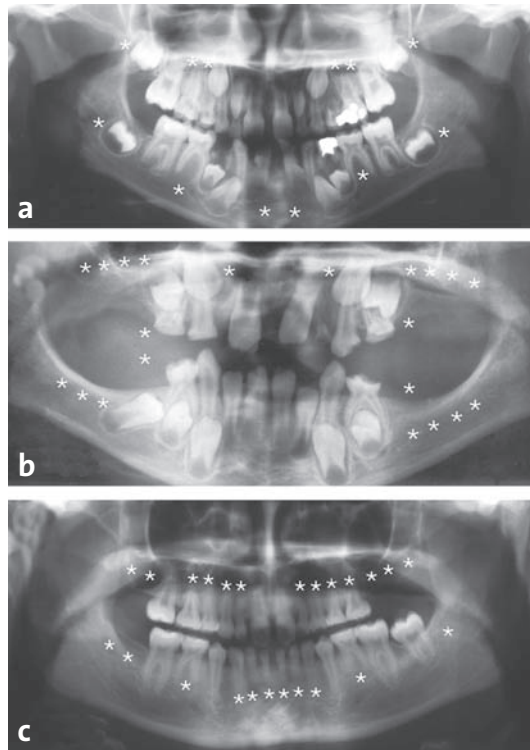
grupper och åstadkommer störningar i utvecklingen av de tänder som bildas sist. Frontalområdets tänder kan dock vara mindre känsliga för *MSX1*:s reducerade mängd. Därmed blir avsaknaden av framtänder endast sporadisk.

Mutationerna i *PAX9* är annorlunda eftersom det främst är molarerna som utsätts för defekter (Tabell I, Figur 3b). Eftersom *PAX9* är en förutsättning för att *MSX1*-uttrycket upprätthålls i tandmesenkymet hos möss [29] är det tänkbart att en del av de hypodontier som orsakas av mutationer i *PAX9* beror på brist på *MSX1*. Mutationer i *PAX9* som ger ett utbyte av en enda aminosyra tycks ofta leda till en liknande fenotyp som vid mutationer i *MSX1*. Vid mer omfattande mutationer (kromosomrubbingar i hela genen samt mutationer som bryter av den så kallade läsramen för proteiner) är avsaknaden av andrapremolarerna och förstamolarerna så gott som alltid associerad med avsaknad av mer posterioert belägna tänder [27].

En tredje identifierad gen som i muterad form leder till isolerad avsaknad av tänder kallas *AXIN2* och är en intracellulär reglerare av Wnt-signalsystemet. En mutation i *AXIN2* upptäcktes i en finländsk släkt där elva av släktens medlemmar har en omfattande oligodonti [23] (Figur 3c, 4a). Hos två av släktmedlemmarna hade endast tre permanenta tänder utvecklats; de mittersta framtänderna i övre käken och antingen en av den undre kakens första premolarer eller en av de laterala framtänderna. I det lindrigaste fallet saknade patienten fyra permanenta tänder utöver visdomständerna. Endast en person i släkten saknade mjölkänder. Undersökningar av andra DNA-prover visade att det fanns en annan mutation i *AXIN2*-genen hos en patient som också hade omfattande hypodonti av de permanenta tänderna (Figur 4a). Upptäckten av de genetiska avvikelserna i *AXIN2* blev särskilt intressant eftersom det framgick att de flesta patienterna med oligodonti hade tjocktarmscancer eller ett förstadium till tjocktarmscancer.

De genetiska avvikelserna i generna *MSX1*, *PAX9* och *AXIN2* utgör endast en liten del av de oligodontifall som studerats. De flesta patienter har inte mutationer i dessa gener. Eftersom mutationsstudierna i huvudsak har gjorts för de områden på gener som kodar för proteinsyntesen är det tänkbart att vi i framtiden kommer att hitta mutationer i områden som reglerar funktionen hos dessa gener. Det är uppenbart att vi måste leta efter genetiska avvikelser som leder till oligodonti även på andra gener. Den genetiska bakgrunden till oligodonti har visat sig vara synnerligen heterogen – den innehåller både genetisk och allelisk heterogenitet.

Inom släkter med oligodonti varierar fenotypen från patient till patient trots att den genetiska avvikelserna är densamma. I några rapporter har man också beskrivit att de tänder som utvecklas är något mindre än genomsnittet. Variationen i fenotyp är



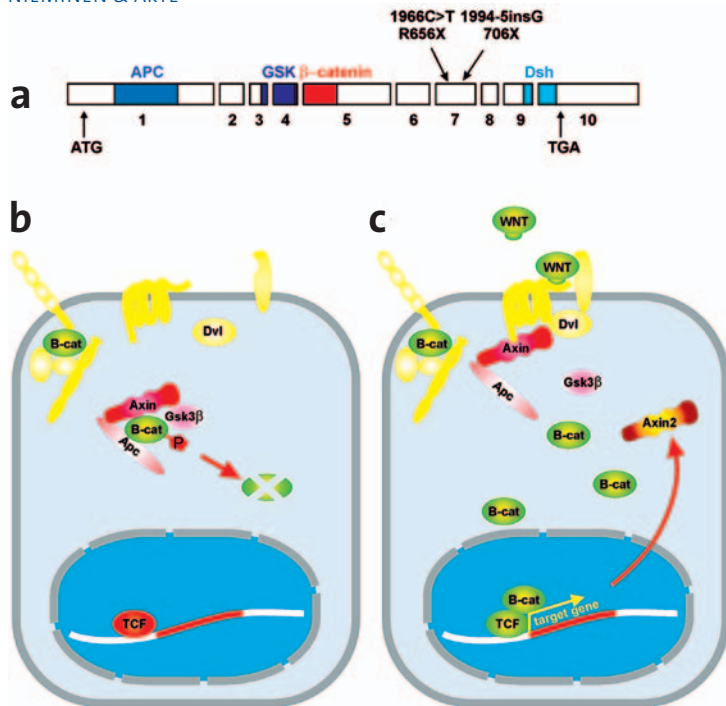
Figur 3 a–c. Oligodontier relaterade till *MSX1*, *PAX9* och *AXIN2*. Tänder som saknas anges med stjärna.
a) Tandavsaknad på grund av mutation i *MSX1* hos 15-årig flicka.
b) Tandavsaknad på grund av mutation i *PAX9* hos 10-årig pojke. Pojken saknade även andrapremolarerna i mjölkstadsstadiet.
c) Tandavsaknad på grund av mutation i *AXIN2* hos en 20-årig kvinna. Mjölkänderna hade utvecklats normalt.

typisk även för många andra monogena utvecklingsstörningar (bland annat kraniosynostossyndrom) och kan antingen bero på andra genetiska omständigheter, epigenetiska orsaker eller yttre faktorer.

Ett gemensamt drag för samtliga identifierade genetiska avvikelser som leder till avsaknad av tänder är att de riktar sig mot utvecklingsreglerande gener, ofta mot transkriptionsfaktorer men också mot gener som deltar i signalöverföringen mellan celler. Genetiska avvikelser som orsakar strukturella avvikelser i proteiner i dentinet eller emaljen leder i allmänhet inte till medfödd avsaknad av tänder.

Wnt-signalkaskadens betydelse för utveckling och karcinogenes

Signalöverföringen längs Wnt-kaskaden baserar sig i huvudsak på reglering av det intracellulära β -kateninproteinet och lokalisation [30]. β -katenin deltar i överföringen av celladhesion till cellskelettet samt reglerar gentranskription i cellkärnan (Figur



Figur 4 a-c. Wnt-signalöverföring, uppbyggnad av AXIN2 och mutationer. **a)** Strukturerna för AXIN2-genen och proteinet samt identifierade mutationer. Exonerna ses som rutor, medan områdena där AXIN2-proteinet binder till andra intracellulära proteiner anges med färg. Mutation 1966C>T gör att argininkodonet blir ett stoppkodon som leder till en dominant nedärvd omfattande oligodonti samt ökad risk för tjocktarmscancer. Insertion av en G-bas efter baspar 1994 stör aminosyrakoden och leder till att stoppkodonet kommer för tidigt. **b)** Om cellerna inte tar emot signaler från Wnt, binder ett proteinkomplex till β-katenin i cytoplasman och β-kateninet bryts ner. AXIN (AXIN1) och AXIN2 är en central del av detta komplex. **c)** Då cellen tar emot en Wnt-signal hindras funktionen hos det proteinkomplex som binder β-katenin. β-kateninet frigörs och kan övergå till cellkärnan där det deltar i regleringen av genuttrycket. AXIN2 är en målgen för β-katenin. Man antar att uttrycket av genen fungerar som negativ feedback i Wnt-signalsystemet.

4b, c). β-katenins förmåga att övergå till cellkärnan begränsas av att proteinet binder till ett proteinkomplex i cytoplasman. Detta leder till fosforylering av β-kateninet och följs av nedbrytning. De viktigaste komponenterna i detta proteinkomplex är AXIN1 och AXIN2, APC (adenomatosis polyposis coli) samt fosforyleringsenzymet GSK β (glykogensyntaskinas-3 β). När den extracellulära signalbärande Wnt-molekylen binder till sin receptor på cellmembranet hindras den funktion hos proteinkomplexet som bryter ner β-katenin. Det leder i sin tur till en ökad halt av β-katenin i cellen och cellkärnan. I cellkärnan bildar β-katenin en aktiv transkriptionsfaktor som främjar transkription av generna.

Det överraskande sambandet mellan avsaknaden av tänder och ökad risk för cancer blir möjligt eftersom de mekanismer som reglerar celltillväxt och cellinteraktioner används både under organismens utveckling och vid vävnadsåterbildning senare i li-

vet. Signalöverföringen längs Wnt-kaskaden är avgörande i båda fallen. Mutationerna som uppstår vid regleringen av β-kateninhalten är kända cancerframkallande mutationer. Ärftliga mutationer i tumörsuppressorgen APC ger upphov till polypös tjocktarmscancer (familial adenomatös polypos, FAP) men även i de flesta icke ärftliga tjocktarmstumörer hittar man avvikelser i APC. I ett stort antal andra cancertumörer har man funnit mutationer i APC, β-katenin och andra gener inom Wnt-signal-kaskaden och man antar att en okontrollerad dos av β-katenin är en avgörande faktor för karcinogenesen [30]. Mutationer inom AXIN2 har också påträffats i cancertumörer. Denna gen anses därför vara en tumörsuppressorgen.

Signalöverföringen med Wnt är en nödvändig förutsättning för tandutvecklingen. Hos möss som saknar genen *Lef1* (en transkriptionsfaktor som tillhör TCF-genfamiljen) eller där Wnt-signalöverföringarna avbryts extracellulärt med hjälp av antagonisten DKK1 stannar tandutvecklingen upp i knoppstadiet eller tidigare [31, 32]. Mutationerna i AXIN2 leder till en allt för intensiv Wnt-signaltrafik. Det visar att även en allt för kraftig signalering kan skada utvecklingen. Uttrycket av AXIN2 regleras med hjälp av signaler från Wnt och genen kan inta en särskild roll som hämmare av de signaler som cellerna tar emot från Wnt (det vill säga genen ger negativ feedback) (Figur 4c). Eftersom avsaknaden av AXIN2 i huvudsak tycks rikta sig mot de permanenta tänderna är det tänkbart att en allt för kraftig eller långvarig signal i ett visst skede under tandutvecklingen skadar den initiala utvecklingen av de permanenta tänderna. Man kan till exempel tänka sig att signaltrafiken måste begränsas så att en tillräckligt stor mängd celler som är viktiga för den ursprungliga utvecklingen av de permanenta tänderna garanteras. Wnt-signaleringen är väsentlig för funktionen hos de stamceller som deltar i regenerationen av hår och tarmludd. Det är också möjligt att tandregeneration kan basera sig på stamceller [33].

Om AXIN2-genen slås ut hos möss ger detta en mycket liten effekt på fenotypen [34]. Hos knockout-möss sluts sutura frontalis för tidigt. Det beror på att de celler som härstammar från neurallisten och som bildar benvävnad har en snabbare proliferation och större differentieringskapacitet att bli osteoblaster. Samma egenskap skulle kunna finnas hos de alveolbenbildande cellerna hos människa. Avsaknad av permanenta tänder skulle i så fall kunna bero på en störning i interaktionen mellan tändernas och benvävnadens utveckling.

Den ärftliga formen av tjocktarmscancer som beror på mutationer i APC-genen associeras ofta med käkbensosteom och en femtedel av patienterna har dessutom ett överskott av tänder [35]. Vi har ingen kunskap om hur överskott av tänder uppstår. Muta-

tioner i generna APC och AXIN2 ger motsatta fenotyper vilket bör bero på det faktum att mutationerna utövar sin effekt vid olika tidpunkter och på olika processer. När det gäller regleringen av β -kateninhalten är variationen i mängden AXIN av större betydelse än variationen i mängden APC [36]. Man antar att uppkomsten av tjocktarmscancer förutsätter att det finns en skada även på den andra kopian av APC-genen. Det är alltså möjligt att uppkomsten av övriga symtom som ses vid FAP (osteom och supranumerära tänder) förutsätter att det uppstår ytterligare mutationer efter det tidiga utvecklingskedet.

Avsaknaden av tänder och cancer

Hur långt kan man generalisera sambandet mellan risken för cancer och avsaknaden av tänder? Kan hypodonti anses utgöra en cancerrisk? Enligt rådande kunskap kan avsaknaden av tänder bero på många olika externa faktorer och ärftliga omständigheter. Det är alltså osannolikt att de flesta hypodontipatienter skulle ha en ökad risk för cancer. Eventuell misstanke om en ökad cancerrisk kan i huvudsak väckas vid omfattande hypodontier.

Å andra sidan känner vi för närvarande till endast en liten del av orsakerna till avsaknaden av tänder. Bland de oligodontipatienter som vi har undersökt, har vi kunnat identifiera en genetisk avvikelse hos färre än 10 procent. Det är därför mycket troligt att man upptäcker nya gener som orsakar avsaknad av tänder och som bidrar till regleringen av Wnt-signalsystemet eller har patogenetiska mekanismer som påminner om dem som gäller för AXIN2. Det finns också anledning att observera att en signifikant del av ärftligheten av vissa cancersjukdomar kan basera sig på alleler med låg genomtränglighet. Många av de gener som inverkar på tändernas utveckling (bland annat MSX1 och MSX2) är målgener för Wnt-signaltransduktionssystemet i cancerceller. Man har också fäst allt större uppmärksamhet mot homeoboxgenerna och deras betydelse för uppkomsten av cancer [37].

Utmaning:

Att utreda den genetiska bakgrunden till hypodonti

Hittills har de genetiska avvikelserna endast utretts för vissa syndrom och oligodontier som är dominant nedärvda. De genetiska orsakerna till de lindriga hypodontier som är vanliga hos befolkningen är än så länge okända. Under det arbete som riktar in sig på identifiering av de gener som leder till hypodonti har man i huvudsak lyckats utesluta inverkan av vissa kända gener och identifiera en del svaga associationer [38–40]. Arbetet försvåras uppenbarligen å ena sidan av att hypodonti orsakas av ett mycket stort antal faktorer och å andra sidan av att variationen i fenotyp i en given genetisk avvikelse är mycket stor.

Patogenesen för de mutationer som leder till oli-

godonti stöder tanken att samma gener skulle kunna ligga bakom de lindrigare formerna av hypodonti. Mutationerna som leder till oligodonti eller tandavsaknadssyndrom är ”starka” och släcker den andra genkopians funktion så gott som helt. Grunden till hypodontier skulle kunna ligga i sekvensförändringar i samma gener som leder till en lindrigare reducering av genproduktens mängd eller funktion. Dessa ”svaga” mutationer eller alleler skulle till och med kunna vara ganska vanligt förekommande i populationen. Förekomsten av tiotals olika svaga och starka alleler skulle kunna förklara många fall av dominant nedärvd hypodonti, den minskade förmågan till genomtränglighet, de fenotypiska variationerna [1, 7] samt de fall av hypodonti eller oligodonti som tycks vara sporadiskt förekommande eller recessivt nedärvda. De skulle också kunna förklara fall där släktingar till oligodontipatienter endast har lindriga fenotypiska förändringar [4, 22].

Vilka krav ställer den heterogena etiologin på att kunna identifiera genetiska avvikelser som orsakar lindriga hypodontier eller icke-dominant oligodonti? Om man i sina studier vill kunna använda sig av genetiska metoder (metoder som baserar sig på koppling eller association) krävs tillräckligt stora undersökningspopulationer för att få statistiskt relevanta resultat. Ställer man stränga krav på fenotypen kan detta underlätta forskningen till viss del men det blir i stället svårare att få tillgång till en tillräckligt stor undersökningspopulation. Ett bra och direkt sätt är att söka upp släkter med någorlunda enhetlig fenotyp (exempelvis där samma tänder saknas) och där man kan skönja ett dominant nedärvningsmönster med hög genomtränglighet (Figur 1b). Om antalet DNA-prov från olika patienter är fler än tio kan man vänta sig att studien ger signifikant resultat. Å andra sidan måste man komma ihåg att ju större släkt det gäller desto mer sannolikt blir det att det ligger flera olika genetiska avvikelser bakom tandfenotypen. För att kunna uppnå signifikanta resultat med associationsmetoden ska materialen helst bestå av flera hundra patienter och kontrollpersoner. Alternativet är att kunna komma fram till samma resultat i flera mindre studier. Nackdelen med heterogeniteten kan minskas om man undersöker populationer som man anser vara genetiskt mer homogena än genomsnittet.

Slutord

Bra patientarbete innebär att man utreder den genetiska bakgrunden särskilt hos personer som har omfattande former av tandavsaknad. En sådan utredning ger information om avsaknadens etiologi och eventuellt ärftliga natur. Forskningen om den genetiska bakgrunden till avsaknad av tänder har i stor grad skett genom grundforskning som gett upplysningar om tändernas och käkarnas biologi. Detta arbete utgör en grund för utvecklingen av patientarbetet, det vill

säga bättre diagnostik och vård. Bättre förståelse för den molekyलगenetiska bakgrunden till variationen i tänderna skulle i framtiden kunna spela en betydande roll för forskningen om människans och andra däggdjurs evolution. Den kommer att bidra med ny information om de allmänna mekanismer som styr individens utveckling. Å andra sidan utgör identifieringen av de genetiska avvikelserna i AXIN2-genen ett exempel på hur grundforskning oväntat kan leda till observationer av stor klinisk betydelse.

Hittills har man i huvudsak identifierat genetiska avvikelser vid omfattande ärftlig avsaknad av tänder. Resultaten visar att avvikelser i ett tiotal olika gener som deltar i den molekyllära regleringen av tandutvecklingen kan leda till avsaknad av tänder. Olika fenotyper kan vara typiska för varje felaktig gen eller feltyp. Å andra sidan visar den fenotypiska variationen att uppkomsten av hypodonti hos en enskild patient alltid påverkas av hans eller hennes övriga genetiska bakgrund samt av epigenetiska och yttre omständigheter.

Fyndet att en och samma genetiska avvikelse kan orsaka både tandavsaknad och en ökad risk för vissa former av cancer leder omedelbart till frågan om det kanske finns någon mer generell association mellan tandavsaknad och risken för cancer. Grunden till denna association skulle kunna ligga i att samma mekanismer är verksamma vid utvecklingen som vid vävnadsregenerationen. Upptäckten sporrar oss att utreda associationen mellan risken för cancer och hypodontier/oligodontier på populationsnivå samt att försöka minska den kunskapslucka vi för närvarande har om hittills okända gener som leder till avsaknad av tänder. Identifiering av faktorer som ger upphov till lindriga hypodontier är en särskilt stor utmaning.

English summary

Genetics of tooth agenesis

Pekka Nieminen and Sirpa Arte

Tandläkartidningen 2006; 98 (1): 40–9

During the last decennium, understanding of the developmental and genetic mechanisms of tooth formation has greatly increased. Applying molecular genetics to human dental malformations and using mouse teeth as a model in experimental studies, it has become obvious that mechanisms of tooth development closely parallel those of other organs. Unraveling of the genetic basis of tooth agenesis, the most common malformation in man, contributes to the understanding of developmental and evolutionary mechanisms shared by teeth and other organs, and it may have important implications for clinical dentistry. Genetic and molecular analysis of isolated and syndromic tooth agenesis has revealed several mutated genes, implying that the genetic background

for tooth agenesis is extremely heterogeneous. Mutations in three genes, MSX1, PAX9 and AXIN2, usually only affect dentition, causing severe type of tooth agenesis (oligodontia). However, the patterns of missing teeth associated with these mutations are different for each gene. Interestingly, mutations in AXIN2 also predispose to colorectal cancer, underlying the similarity of genetic mechanisms of tooth development and regulation of tissue homeostasis, and suggesting that tooth agenesis in some cases may be an indication for increased susceptibility to cancer. While mutations that so far have been identified cause dominant oligodontia or syndromic tooth agenesis, it is plausible that sequence variants in the same genes may contribute to the other, more common types of tooth agenesis.

Referenser

- Grahnen H. Hypodontia in the permanent dentition. *Odont Revy* 1956; 7 (Suppl 3): 1–100.
- Haavikko K. Hypodontia of permanent teeth. *Proc Finn Dent Soc* 1971; 67: 219–5.
- Arte S. Phenotypic and genotypic features of familial hypodontia. Institute of Dentistry, University of Helsinki 2001.
- Schalk-van der Weide Y. Oligodontia. A clinical, radiographic and genetic evaluation. Rijksuniversiteit Utrecht, 1992.
- Garn SM, Lewis AB. The gradient and the pattern of crown-size reduction in simple hypodontia. *Angle Orthod* 1970; 40 (1): 51–8.
- Alvesalo L, Portin P. The inheritance pattern of missing, peg-shaped and strongly mesio-distally reduced upper lateral incisors. *Acta Odontol Scand* 1969; 27: 563–73.
- Arte S, Nieminen P, Apajalahti S, Haavikko K, Thesleff I, Pirinen S. Characteristics of incisor-premolar hypodontia in families. *J Dent Res* 2001; 80 (5): 1445–50.
- Bjerklin K, Kurol J, Valentin J. Ectopic eruption of maxillary first permanent molars and association with other tooth and developmental disturbances. *Eur J Orthod* 1992; 14 (5): 369–75.
- Baccetti T. A controlled study of associated dental anomalies. *Angle Orthod* 1998; 68 (3): 267–74.
- Näsman M, Forsberg CM, Dahllöf G. Long-term dental development in children after treatment for malignant disease. *Eur J Orthod* 1997; 19 (2): 151–9.
- Höltkä P, Alaluusua S, Saarinen-Pihkala UM, Peltola J, Hovi L. Agenesis and microdontia of permanent teeth as late adverse effects after stem cell transplantation in young children. *Cancer* 2005; 103 (1): 181–90.
- Alaluusua S, Calderara P, Gerthoux PM, Lukinmaa PL, Kovero O, Needham L, Patterson DGJ, Tuomisto J, Mocarelli P. Developmental dental aberrations after the dioxin accident in Seveso. *Environ Health Perspect* 2004; 112 (13): 1313–8.
- Yasuda I, Yasuda M, Sumida H, Tsusaki H, Arima A, Ihara T, Kubota S, Asaoka K, Tsuga K, Akagawa Y. In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) affects tooth development in rhesus monkeys. *Reprod Toxicol* 2005; 20 (1): 21–30.
- Chosack A, Eidelman E, Cohen T. Hypodontia: A polygenic trait – a family study among Israeli jews. *J Dent Res* 1975; 54 (1): 16–9.

15. Brook AH. A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. *Arch Oral Biol* 1984; 29: 373–8.
16. Markovic M. Hypodontia in twins. *Swed Dent J Suppl* 1982; 15: 153–62.
17. Townsend G, Rogers J, Richards L, Brown T. Agenesis of permanent maxillary lateral incisors in South Australian twins. *Aust Dent J* 1995; 40 (3): 186–92.
18. Kotsomitis N, Dunne MP, Freer TJ. A genetic aetiology for some common dental anomalies: a pilot twin study. *Aust Orthod J* 1996; 14 (3): 172–8.
19. Dempsey PJ, Townsend GC. Genetic and environmental contributions to variation in human tooth size. *Heredity* 2001; 86 (Pt 6): 685–93.
20. Burzynski N, Escobar V. Classification and genetics of numeric anomalies of dentition. *Birth Defects* 1983; 13: 95–106.
21. Suarez BK, Spence A. The genetics of hypodontia. *J Dent Res* 1974; 53 (4): 781–5.
22. Pirinen S, Kentala A, Nieminen P, Varilo T, Thesleff I, Arte S. Recessively inherited lower incisor hypodontia. *J Med Genet* 2001; 38 (8): 551–6.
23. Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I, Pirinen S, Nieminen P. Mutations in AXIN2 Cause Familial Tooth Agenesis and Predispose to Colorectal Cancer. *Am J Hum Genet* 2004; 74 (5): 1043–50.
24. Vastardis H, Karimlux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet* 1996; 13 (4): 417–21.
25. Stockton DW, Das P, Goldenberg M, D'Souza RN, Patel PI. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia. *Nat Genet* 2000; 24 (1): 18–9.
26. Nieminen P, Kotilainen J, Aalto Y, Knuutila S, Pirinen S, Thesleff I. MSX1 Gene is Deleted in Wolf-Hirschhorn Syndrome Patients with Oligodontia. *J Dent Res* 2003; 82 (12): 1013–7.
27. Lammi L, Halonen K, Pirinen S, Thesleff I, Arte S, Nieminen P. A missense mutation in PAX9 in a family with distinct phenotype of oligodontia. *Eur J Hum Genet* 2003; 11 (11): 866–71.
28. Jumlongras D, Lin JY, Chapra A, Seidman CE, Seidman JG, Maas RL, Olsen BR. A novel missense mutation in the paired domain of PAX9 causes non-syndromic oligodontia. *Hum Genet* 2004; 114 (3): 242–9.
29. Peters H, Neubuser A, Kratochwil K, Balling R. Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities. *Genes Dev* 1998; 12 (17): 2735–47.
30. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005; 434 (7035): 843–50.
31. van Genderen C, Okamura RM, Farinas I, Quo RG, Parslow TG, Bruhn L, Grosschedl R. Development of several organs that require inductive epithelial-mesenchymal interactions is impaired in LEF-1-deficient mice. *Genes Dev* 1994; 8 (22): 2691–703.
32. Andl T, Reddy ST, Gaddapara T, Millar SE. WNT signals are required for the initiation of hair follicle development. *Dev Cell* 2002; 2 (5): 643–53.
33. Huysseune A, Thesleff I. Continuous tooth replacement: the possible involvement of epithelial stem cells. *Bioessays* 2004; 26 (6): 665–71.
34. Yu HM, Jerchow B, Sheu TJ, Liu B, Costantini F, Puzas JE, Birchmeier W, Hsu W. The role of Axin2 in calvarial morphogenesis and craniosynostosis. *Development* 2005; 132 (8): 1995–2005.
35. Wolf J, Jarvinen HJ, Hietanen J. Gardner's dento-maxillary stigmas in patients with familial adenomatous polyposis coli. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1986; 24 (6): 410–6.
36. Lee E, Salic A, Kruger R, Heinrich R, Kirschner MW. The Roles of APC and Axin Derived from Experimental and Theoretical Analysis of the Wnt Pathway. *PLoS Biology* 2003; 1 (1): E10.
37. Abate-Shen C. Deregulated homeobox gene expression in cancer: cause or consequence? *Nat Rev Cancer* 2002; 2 (10): 777–85.
38. Nieminen P, Arte S, Pirinen S, Peltonen L, Thesleff I. Gene defect in hypodontia - exclusion of MSX1 and MSX2 as candidate genes. *Hum Genet* 1995; 96 (3): 305–8.
39. Arte S, Nieminen P, Pirinen S, Thesleff I, Peltonen L. Gene defect in hypodontia: exclusion of EGF, EGFR, and FGF-3 as candidate genes. *J Dent Res* 1996; 75 (6): 1346–52.
40. Vieira AR, Meira R, Modesto A, Murray JC. MSX1, PAX9, and TGFA contribute to tooth agenesis in humans. *J Dent Res* 2004; 83 (9): 723–7.

Address:

Pekka Nieminen,
Odontologiska
institutionen,
Biomedicum, PB 63
00014 Helsingfors
universitet, Helsingfors,
Finland
E-post: Pekka.
Nieminen@helsinki.fi

Sirpa Arte,
Odontologiska
institutionen,
Biomedicum, PB 63
00014, Helsingfors
universitet, Helsingfors,
Finland
E-post: Sirpa.
Arte@helsinki.fi