

Skelettet vid hälsa och sjukdom

SAMMANFATTAT Hur ombyggnaden av benvävnaden i käkar och skelett fungerar och hur processen påverkas vid sjukdomstillstånd som parodontit, benskörhet, tumörer med mera är föremål för omfattande forskning i Umeå.

Godkänt för publicering 16 januari 2008

Ombyggnad av benvävnaden i käkar och skelettet i övrigt, så kallad remodelering, är en aktiv och dynamisk process som innefattar väl kontrollerade och integrerade aktiviteter av benbildande osteoblaster och bennedbrytande osteoklaster. Gammalt ben avlägsnas av osteoklasterna genom benresorption och ersätts med nytt ben av benbildande osteoblaster.

Remodelleringen är nödvändig för att bevara ett starkt skelett och är en viktig mekanism för att kontrollera nivåerna av kalcium och fosfat i blodet, men också en integrerad del vid till exempel tandframbrott och tandreglering.

Patologisk remodelering är en del av patogenesen vid parodontit, periimplantit i käkar, reumatisk artrit och osteoartrit i leder, lossnande ledproteser, intraosseösa cystor och tumörer i käkarna, liksom vid skelettmetastaser av maligna tumörer. Vid dessa tillstånd leder den patologiska remodeleringen oftast till förlust av benmassa, osteolys. Ibland blir dock resultatet det omvända, osteoskleros, det vill säga en ökad mängd benmassa lokalt.

Den vanligaste sjukdomen med patologisk remodelering är osteoporos. Osteoporos är vanligast hos postmenopausala kvinnor, men förekommer även hos män samt som sekundär osteoporos vid sjukdomar eller som följd av mediciner. En sällsynt och allvarlig sjukdom är osteopetros. Osteopetros leder till att patienten får en abnorm mängd ökad benmassa, så kallat marmorben.

Vid fysiologisk remodelering och vid sjukliga tillstånd i skelettet regleras osteoblasterna och os-

teoklasterna av en mängd olika signalsubstanser som cirkulerande hormoner och lokalt bildade inflammationsmediatorer samt tumörsubstanter (figur 1).

Spännande forskning har visat att centrala och perifera nervsystemet har betydelse för skelettets remodelering. De senaste fynden visar att fettceller bildar ett hormon som påverkar benbildningen via hypotalamus. De benbildande osteoblasterna kan även fungera som en hormonbildande körtelcell med effekter på insulinproducerande β -celler i bukspottkörteln och på fettceller i buken (figur 1).

EXPERIMENTELLA SYSTEM

I tidigare och pågående forskning har vi fokuserat på cellbiologiska och molekylära studier av hur olika signalsubstanser kan påverka benets celler och hur osteoklasterna bär sig åt för att resorbera ben. Denna forskning har framför allt baserats på experimentella system med benceller i organeller cellkulturer där cellerna isoleras från normala eller genetiskt modifierade möss. Vi har utvecklat system där vi med biokemiska och morfologiska tekniker kan studera benresorption i intakt benvävnad *in vitro*.

I andra system isolerar vi stamceller från benmärg och mjälte (hematopoetiska myeloida stamceller) för att sedan kunna studera hur dessa celler differentieras från enkärniga prekursorceller till flerkärniga benresorberande osteoklasterna. Vi isolerar de färdiga osteoklasterna och använder dem för att studera hur den resorberande aktiviteten kan regleras.

Vi kan nu studera hur olika hormoner och signalsubstanser påverkar bildning och aktivitet av osteoklasterna men även hur receptorerna för dessa substanser regleras och vilka intracellulära signalsystem som är betydelsefulla i processen samt, inte minst, vilka gener dessa signalsystem reglerar under olika faser av cellernas aktivering och aktivitet.

Dessa studier har gjorts med celler från möss, men vi förbereder tekniker där vi kan göra motsvarande studier med celler från människa. Vi

Ulf H Lerner
Pernilla Lundberg
Anna Brechter
Py Palmqvist
Emma Persson
E-post: ulf.lerner@odont.umu.se

isolerar också osteoblaster från periost och benmärg för att kunna studera hur de bildar ben *in vitro* och framför allt hur de parakrint reglerar bildning och aktivitet av osteoklast. I andra system använder vi oss av fibroblaster som vi isolerat från human gingiva, periodontala ligamentceller från human rothinna eller humana pulpaceller. Exempel på olika tekniker ges i faktaruta 1.

BASBIOLOGISK FORSKNING

Hormoner

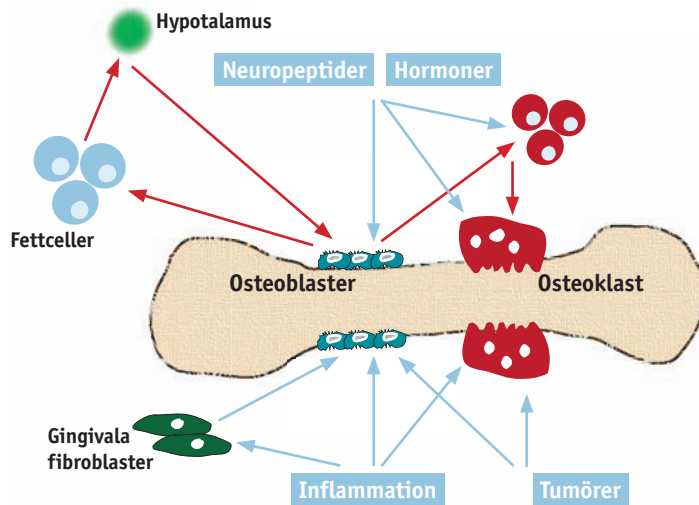
Calcitonin är ett sköldkörtelhormon som påverkar, hämmar, kalciumhalten i blodet beroende på akut hämning av osteoklasters benresorberande effekt. Vi har visat att hormonet även hämmar bildning av osteoklast och vår jämförelse med effekter av andra peptider i den så kallade calcitoninsuperfamiljen visar att två andra nyupptäckta peptider i denna familj, *intermedin* och *calcitonin receptor-stimulating peptide*, också hämmar mogna osteoklast och osteoklastbildning. Endast en av familjemedlemmarna, *adrenomedullin*, har ingen sådan effekt.

Vi kartlägger förekomst och reglering av receptorer och receptorassocierade modifierande proteiner (receptor-associated modifying proteins) som är involverade i signalering av de olika peptiderna i denna familj samt försöker förstå hur signalering kan leda till minskad osteoklastbildning.

Ett mycket intressant fynd är att cykliskt AMP-inducerad signalering i mogna osteoklast verkar vara beroende av både proteinkinasa A och Epac, medan signalering i prekursorcellerna endast är beroende av proteinkinasa A. Molekylärbioologen Susanne Granholm kommer att disputera på dessa studier våren 2008.

I ett mångårigt samarbete med fysiologen Herschel Conaway (Arkansas University Medical School, Little Rock) studerar vi hur olika steroidhormoner kan påverka osteoklastbildning och benresorption. Dessa studier fokuseras för närvarande på effekter av *glukokortikoider* (kortison) och *retinoider* (A-vitamin). Båda dessa steroider kan påverka osteoklastbildning och vi försöker nu förstå hur detta går till molekylärt.

När det gäller retinoiderna studerar vi vilken av de olika retinoidreceptorerna som är betydelsefull. Med så kallad siRNA-teknik kan vi specifikt slå ut den ena efter den andra receptorn. Vi försöker förstå hur signalering via dessa receptorer kan hämma signalering via RANK, den viktigaste receptorn som reglerar att de hematopoetiska stamcellerna differentieras till osteoklast (figur 2). Tillsammans med Jan Tuckerman (Leibniz Institute of Age Research i Jena, Tyskland) studerar vi hur mutationer i den region av glukokortikoidreceptorn som är involverad i dimerisering (sammanslagning) av receptorn påverkar effekterna



Figur 1. Processen där skelettet kontinuerligt byggs om genom att osteoklast bryter ner gammalt ben som ersätts av nytt ben bildat av osteoblaster kontrolleras av belastning och hormoner. Även hypothalamus i centrala nervsystemet och lokala neuropeptider är involverade. Under sjukliga förhållanden förändras ombyggnaden av signalsubstanser från till exempel inflammations- eller tumörceller. Detta kan leda till förlust eller nybildning av ben. Vid marginal parodontit tror vi att signalsubstanser från gingivala fibroblaster kan ha en roll vid den lokala remodelleringen.

på osteoklast. I samarbete med Jan Tuckerman studerar vi vilken betydelse glukokortikoidreceptorn i osteoblaster har för kortisons effekter på benresorption. För detta används möss där receptorn i osteoblaster specifikt slagits ut. Dessa projekt är av stort kliniskt intresse; kortison kan orsaka snabbt förlöpande sekundär osteoporos och det finns studier som visar på samband mellan A-vitamin och osteoporos.

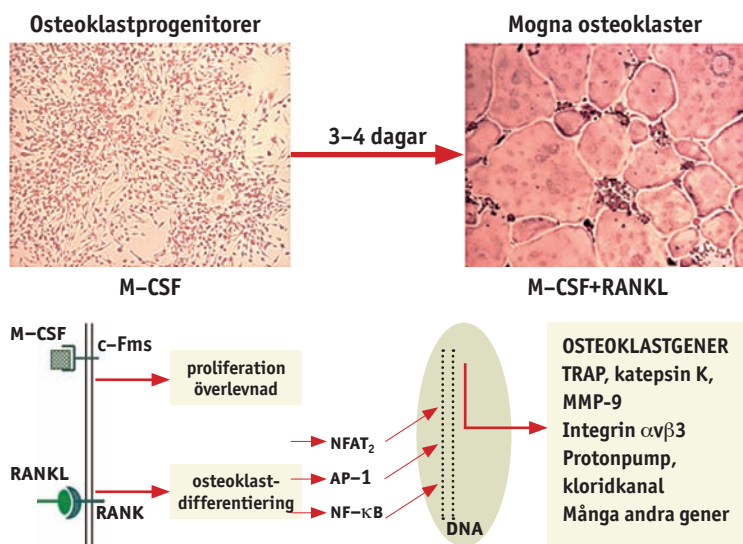
FAKTA 1. EXPERIMENTELLA TEKNIKER SOM ANVÄNDS I UMEÅ

Cell- och organkulturer

- Benresorption i organodlade skalltak från nyfödda möss.
- Differentiering av osteoklast från hematopoetiska stamceller i benmärg och mjälte.
- Benresorberande aktivitet i mogna osteoklast isolerade från odlade stamceller.
- Benbildning och osteoklaststimulerande aktivitet i osteoblaster från periost i skalltak från möss eller i stromaceller från benmärg.
- Cytokin och prostaglandinbildning i humana gingivala fibroblaster.
- Odling av prostatacancer celler.

Biokemiska och molekylärbiologiska tekniker

- Semikvantitativ och kvantitativ realtidsPCR för genuttrycksanalys.
- Western blots, ELISA och FACS för proteinanalys.
- Immuncytokemi, Western blots, EMSA och Chip-assay för genaktivitetsanalys.
- Transfektion av siRNA *in vitro* och celler isolerade från genmodifierade möss för studier av specifika proteiners betydelse.
- Kloning av gener och transfektion med hjälp av vektorer för överuttryck av gener.
- RFLP och PCR för analys av SNP.



Figur 2. Myeloida stamceller kan under inverkan av cytokinen M-CSF stimuleras att växa till. Om dessa celler stimuleras med cytokinen RANKL drivs det genetiska programmet på så sätt att cellerna efter några dagar kan slå sig samman till enorma, flerkärniga osteoklaster. Stimulering av receptorn för M-CSF, c-Fms, leder till att cellerna växer till och att de överlever bättre medan stimulering av RANK, receptorn för RANKL, driver differentieringen till osteoklaster. Processen startas inne i cellen av transkriptionsfaktorer (NFAT2, AP-1 och NF-κB) som vandrar in i kärnan och aktiverar olika gener som behövs för att cellerna ska utvecklas till bennedbrytande osteoklaster.

Inflammationsmediatorer

Inflammatoriskt framkallad benremodellering förmedlas av signalsubstanser i de inflammatoriska processerna. Vi fokuserar våra studier på hur cytokiner i interleukin-6-familjen kan påverka benresorption och osteoklastbildning, samt på hur IL-4, IL-13 och interferoner kan påverka dessa effekter. Vi har bland annat funnit att *oncostatin M* (OSM) är särskilt aktiv och försöker nu förstå hur OSM-receptorn kan signalera annorlunda än receptorerna för IL-6, IL-11 och *leukemia inhibitory factor* (LIF) samt vilken betydelse detta har för resorptionsprocessen. IL-4 och IL-13 är potenta hämmare av benresorption framkallad inte bara av IL-6 familjens peptider, utan också av andra cytokiner och hormoner och vi har visat att detta är beroende av transkriptionsfaktorn STAT-6. Vi försöker nu förstå hur denna signalering hämmar osteoklastbildning.

I ett mångårigt intresse för inflammation via klassiska signalvägar studerar vi hur *bradykinin* och relaterade kininer som bildats via kallikrein-medierad utklyvning av dessa peptider från *kininogen*, kan påverka benresorption.

Osteoblaster och humana gingivala fibroblaster har två specifika receptorer för kininer: B1 och B2. Vi har kunnat visa att signalering via

kininernas B1- och B2-receptorer synergistiskt förstärker IL-1 och TNF α -inducerat uttryck av cyclooxygenas-2 och att detta leder till en synnerligen kraftig bildning av prostaglandiner samt till bildning av RANKL i osteoblaster. RANKL är den cytokin som aktiverar RANK i myeloida stamceller och dessa cellers specifika differentiering till osteoklaster.

I ett samarbete med Pedro Souza och Claudio Costa Neto (Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasilien) studerar vi hur olika så kallade Toll-liknande receptorer (TLRS) i gingivala fibroblaster reglerar uttrycken för kininreceptorer. Inom dessa projekt har tandläkarna Py Palmqvist och Anna Brechter disputerat under 2007 och tidigare har en avhandling lagts fram av Östen Ljunggren, för närvarande professor i endokrinologi, Akademiska sjukhuset i Uppsala.

I samarbete med professor Larry Raisz och medarbetare (Musculoskeletal Institute, University of Connecticut Health Center, Farmington, USA) har vi studerat hur prostaglandiner kan påverka differentiering av en osteoklastprekursor-cellslinje till mogna osteoklaster och vilka receptorer som är involverade.

Cysteinproteaser

Det är ännu inte helt kartlagt vilka proteolytiska enzymer osteoklasterna utnyttjar för att degradera de olika benmatrixproteinerna. Katepsin K är ett cysteinproteas som uttrycks i stor mängd i osteoklasterna. Syntetiska hämmare, inhibitorer, av enzymet har tagits fram och testas för närvarande i kliniska studier på patienter med osteoporos.

Cystatiner är en stor familj av proteiner som fungerar som hämmare av cysteinproteaser. I samarbete med professorerna Anders Grubb och Magnus Abrahamson (klinisk kemi, Lunds universitet) samt professor Zbigniew Grzonka och Franciszek Kasprzykowski (Institute of Chemistry, University of Gdansk) har vi visat att cystatin C kan hämma osteoklasters bennedbrytande förmåga och att detta inte enbart beror på hämning av katepsin K.

Genom så kallad site-directed mutagenesis (som utförs *in vitro* och innebär att man, som regel på en klonad kopia av genen, tar bort eller byter ut enskilda baspar i en gen, varefter den åter sätts in i en cell) har vi kartlagt den region av cystatin C som är aktiv och med hjälp av informationen syntetiserat små peptidylderivat som är aktiva.

Vi har visat att cystatin C och peptidylderivaten också hämmar differentiering av myeloida stamceller till osteoklaster. Det är första gången någon funnit att denna differentieringsprocess kräver enzymatisk aktivitet. Som en farmakologisk del i projektet testas vi ett stort antal peptidylderivat

för att hitta en specifik och stabil hämmare.

I samarbete med Paul Saftig (Biochemical Institute, Christian-Albrechts-University, Kiel) har vi visat att den hämmande effekten kvarstår även i celler från möss där katepsin κ slagits ut med så kallad genetisk knockout. Vi försöker nu förstå hur cystatin c hämmar differentieringen av osteoklastprekursorer, vilket enzym som är involverat, vilket protein som är målet för detta enzym samt detta proteins betydelse i differentieringsprocessen.

Tandläkare Lena Johansson har lagt fram en licentiatavhandling inom projektet och biomedicinaren Fredrik Strålberg är för närvarande doktorand.

Neuropeptider

Immunhistokemiska fynd har visat att skelettet innehåller ett mycket större antal nervfibrer än man tidigare anat och att dessa nervfibrer uttrycker vissa neuropeptider. Vi har studerat om benceller kan uttrycka receptorer för neuropeptider och vilken effekt dessa kan ha för bencellernas aktivitet.

Vi har visat att osteoblaster och osteoklast har receptorer för *vasoaktivt intestinalt protein* (VIP), *calcitonin gene-related peptide* (CGRP) och *neuropeptid γ* (NPY) och till viss del karaktäriserat vilka subreceptorer bencellerna uttrycker samt hur dessa regleras under osteoblasters och osteoklasters differentiering.

Aktivering av de VIP-receptorer som finns i periosteala osteoblaster (VPAC 2) stimulerar alkaliskt fosfatas och skyndar på mineralisering av benör i cellodlingar. De reglerar också upp den osteoklaststimulerande cytokinen RANKL samt proinflammatoriska cytokinen IL-6. VPAC 2-medierad reglering av IL-6-promotorn involverar transkriptionsfaktorerna CREB, C/EBP och AP-1, men inte NF- κ B.

Aktivering av VPAC 1-receptorer i mogna osteoklast leder till en snabb men övergående hämning av cellernas aktivitet i likhet med vad som händer när calcitoninreceptorn aktiveras.

Aktivering av VIP-receptorer i stamceller förhindrar cellernas aktivering till mogna osteoklast. I samarbete med Hitoshi Mukohyama (Department of Maxillofacial Prosthetics, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo) studerar vi vilka VIP-receptorer som uttrycks i osteoklastprekursorer, hur dessa regleras under differentiering och med vilken molekylär mekanism aktivering av dessa receptorer förhindrar osteoklastbildning.

Aktivering av receptorer för CGRP i mogna osteoklast leder till en akut hämning av osteoklasternas aktivitet. Det sker med en mekanism som försvinner efter några timmar. Receptorer för

CGRP finns även i de hematopoetiska stamceller som ger upphov till osteoklast. Aktivering av dessa receptorer leder till hämning av osteoklast-differentiering (en mekanism som vi för närvarande inte har lyckats kartlägga molekylärt).

I samarbete med Herbert Herzog och Paul Baldock har vi som en del i Pernilla Lundbergs postdocvistelse vid Garvan Institute of Medical Research i Sydney visat att om NPYS γ 2-receptorer i hypotalamus utplånas leder det till ökad benmassa. Det sker genom en mekanism som är associerad med ökad mängd mesenkymala progenitorceller i benmärg och en ökad mängd γ 1-receptorer i dessa celler.

Generell knockout av γ 1-receptorer i alla celler, men inte specifik utplåning i hypotalamus, ger upphov till ökad benmassa. γ 1-receptorer uttrycks till skillnad mot γ 2-receptorer i osteoblaster och den hämmande effekten av NPY på stromala mesenkymala celler i benmärg försvinner när det saknas γ 1-receptorer.

Samarbetet mellan Pernilla Lundberg och gruppen i Sydney drivs vidare inom NPY-projektet. Inom projektet har ortoped Anders Bjurholm, för närvarande docent vid Akademiska sjukhuset i Stockholm, tandläkare Pernilla Lundberg och molekylärbiolog Emma Persson disputerat.

CD47/SIRP α

För att osteoklast ska differentieras krävs aktivering av receptorerna RANK och c-Fms samt aktivering av immunglobulinliknande receptorer kopplade till signalproteinerna DAP12 och FcR γ . CD47 är ett cellmembranprotein i immunglobulinsuperfamiljen som kan associera med SIRP α , en annan medlem i familjen.

I projekt som drivs av Pernilla Lundberg tillsammans med Per-Arne Oldenborg (avdelningen för integrativ medicinsk biologi vid Umeå universitet) har vi visat att om dessa proteiner inaktiveras med neutraliserande antikroppar hämmas bildning *in vitro* av osteoklast från hematopoetiska stamceller samt att antalet osteoklast som kan genereras från benmärg tagen från möss med genetisk utslagning av CD47 är klart färre jämfört med antalet celler från normala kontrollmöss.

I pågående studier karaktäriseras den skeletta fenotypen hos CD47 knockoutmöss, dessutom kartläggs den molekylära mekanism med vilken CD47/SIRP α interagerar i osteoklastogenes. I detta projekt deltar tandläkare Cecilia Koskinen som doktorand.

TRANSLATIONELL FORSKNING

Inflammation

Med hjälp av de *in vitro*-tekniker som beskrivits har vi och andra kunnat kartlägga ett antal inflammationsmediatorer som kan stimulera eller hämma osteoklastdifferentiering och benresorption. För att undersöka vilka molekyler som kan vara

betydelsefulla kliniskt bedriver vi flera parallella projekt. I ett studerar vi förekomsten av benmetabolta aktiva substanser i inflammatorisk vätska, exsudat, från patienter med parodontit, lossnande ledproteser, osteoartrit eller reumatoid artrit. I andra projekt, som vi nu har fått etiska tillstånd till att bedriva, studerar vi geners betydelse för parodontit, genuttryck i inflammerad gingiva och proteinuttryck i gingiva och fickexsudat.

I samarbete med bland annat Anders Holmlund, parodontologiavdelningen i Gävle, har vi visat att gingivalvätska från patienter med parodontit innehåller substanser som stimulerar benresorption i organodlade skalltak från möss. I gingivalvätska från friska patienter kan ingen sådan aktivitet påvisas. Aktiviteten är oerhört koncentrerad i det inflammatoriska exsudatet. Vi kan späda ut de få mikroliter som kan samlas in upp till 20 000 gånger och ändå påvisa aktiviteten.

I vätska från fickor som behandlats kirurgiskt kunde benresorptionsaktivitet fortfarande påvisas i många fickor 12 månader efter behandling. Cytokinerna IL-1 α och IL-1 β var kraftigt förhöjda i de inflammatoriska exsudaten. De minskade också betydligt mer i exsudaten än den benresorberade aktiviteten efter behandling. Korrelationsanalyser visade att den resorptionsstimulerande aktiviteten inte kunde förklaras av förekomsten av IL-1 α eller IL-1 β . Med hjälp av antikroppar som specifikt neutraliserat antingen den ena eller andra cytokinen och med hjälp av en antagonist till IL-1-receptorn har vi i pågående försök kunnat bekräfta resultatet.

Vi studerar för närvarande med vilken molekylär mekanism den inflammatoriska vätskan stimulerar resorption och med hjälp av antikroppar mot andra cytokiner som är kända för att stimulera benresorption försöker vi kartlägga vilken eller vilka molekyler i exsudatet som är benresorptionsstimulerande. I detta projekt är Anders Holmlund doktorand och han ska försvara sin avhandling i maj 2008.

I samarbete med ortopedier vid Malmö allmänna sjukhus, Karolinska institutet samt Mark Perry vid Departments of Anatomy and Clinical Sciences North Bristol, University of Bristol har vi påvisat benresorptionsstimulerande aktivitet i ledvätska från patienter med lossnande ledproteser. Ingen sådan aktivitet finns i ledvätska från friska individer men förvånande nog också i exsudat från patienter med osteoartrit. Den resorptionsstimulerande aktiviteten från båda typerna av exsudat beror på stimulering av den osteoklastdifferentierande cytokinen RANKL i osteoblaster. Aktiviteten kunde hämmas med hjälp av den RANKL-neutraliserande decoy-receptorn OPG. Effekten berodde inte på förekomst av de resorptionsstimulerande cytokinerna IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 eller IL-17 men inte heller på förekomst av PGE₂ eller RANKL i exsudatet.

Ledvätska från patienter med osteoartrit var mer benägen att stimulera uttryck av gener för benbildning jämfört med exsudat från lossnande ledproteser. Fyndet är förenligt med att osteartros ofta ger upphov till osteosklerotiska lesioner nära en led.

Vi planerar att studera betydelsen av de substanser och mekanismer som är betydelsefulla i *in vitro*-systemen genom att undersöka vilken roll de har i ett experimentellt parodontitsystem *in vivo*. Vi har etiskt tillstånd att starta försök med bakteriellt orsakad parodontit hos möss för att studera de patogenetiska mekanismer som ligger bakom att gingival inflammation kan framkalla lokal osteoklastbildning och alveolär benförlust. Med hjälp av möss som saknar genen för de misstänkta aktiva mekanismerna kan vi se vilken betydelse olika substanser har i ett intakt djur.

Den vanligaste uppfattningen är att det är inflammatoriska celler som producerar de inflammationsmediatorer som påverkar remodelering av intilliggande ben. Vi testar hypotesen att gingivala fibroblaster kan bilda osteotropa cytokiner och att detta kan regleras av proinflammatoriska och antiinflammatoriska cytokiner (figur 1).

Vi har visat att gingivala fibroblaster från human frisk gingiva kan bilda flera cytokiner i IL-6 familjen (som IL-6, IL-11 och LIF men inte OSM), att detta stimuleras av IL-1 och TNF- α men hämmas av IL-4 och IL-13. Fibroblasterna uttrycker stora mängder M-CSF och OPG men inget RANKL. Gingivala fibroblaster kan också stimuleras att bilda stora mängder benresorptionsstimulerande PGE₂.

I samarbete med Pedro Souza och Claudio Costa Neto i Brasilien kartlägger vi förekomsten och reglering av olika Toll-liknande receptorer i gingivala fibroblaster och hur aktivering av vissa av dessa reglerar uttrycket för osteotropa cytokiner. Vi har isolerat gingivala fibroblaster från patienter med parodontit och kommer att jämföra bildning av osteotropa cytokiner och förekomst av Toll-liknande receptorer i fibroblaster från frisk och sjuk gingiva. Ortoped Acke Ohlin, för närvarande docent vid Lunds universitet, Martin Andersson, för närvarande AT-läkare Enköping, tandläkare Py Palmqvist och grekiske tandläkaren Georgios Belibasakis har disputerat inom projektet.

Tumörer

Maligna tumörer som metastaserar till skelettet leder lokalt till en förändrad ombyggnad av benvävnaden som innebär att både benresorption och bennybildning stimuleras, i likhet med inflammatoriska processer i närheten av benet.

På cellulärt plan leder detta, precis som vid inflammatoriska tillstånd, oftast till större stimulans av resorption än nybildning. Kliniskt leder det till osteolys.

I vissa situationer blir balansen omvänd, kliniskt ser man då ökad mängd ben, osteoskleros, något som man ibland också kan se vid inflammation, till exempel sklerotisk apikal parodontit.

Prostatacancer är en tumörtyp som är mycket vanlig hos män. Årligen får cirka 10 000 män i Sverige prostatacancer och 2 500 män avlider. Tumörceller finns nästan hos varje äldre man, men många gånger är tumören asymptomatisk. Hos endast ett fåtal blir tumören kliniskt signifikant, metastaserande och dödlig. När metastaser kan påvisas i skelettet är prognosen oftast mycket dålig. Även om tumörprogression ofta svarar på kastration i inledningsskedet förändras tumörcellerna med tiden och börjar växa.

I ett multidisciplinärt projekt (»Umeå Prostate Cancer Offensive«) har forskare inom patologi, cytologi, onkologi, urologi, strålningsvetenskaper, ortopedi, molekylärbiologi, immunologi, farmakologi och oral cellbiologi gått samman för att med olika angreppspunkter studera vad som händer i prostatacancer celler när dessa börjar växa progressivt och hur de påverkar den omgivande vävnaden.

I den del vi ansvarar för studerar vi hur cancer celler interagerar med bildning och funktion av osteoklast och osteoblast. Ben och cancer celler samodlas *in vitro*, sedan analyseras genuttrycket i benceller och cancer celler med utgångspunkt från att det är en ömsesidig interaktion mellan tumören och benet som är basen för att metastaserna etableras och växer till i skelettet (så kallat »seed and soil concept«). Vi har kunnat påvisa effekter på ett antal gener i benet som är involverade i differentiering och aktivitet av både osteoblast och osteoklast. Generna visar skillnader i uttrycksmönster beroende på om tumörcellerna kommer från en kliniskt sklerotisk eller lytisk metastas. I denna del av projektet medverkar Jonas Nilsson och Åse Tieva som postdocs och projektet är ett samarbete med professorerna Anders Widmark, onkologi och Anders Bergh, patologi.

Osteopetros

Osteopetros är en monogenetisk skelettsjukdom (endast en specifik gen är inblandad) som beror på att benet inte kan resorberas. Eftersom benbildningen pågår utan nedbrytning blir hela skelettet till slut utfyllt med benvävnad.

Det finns flera olika kliniska former hos människor, där en del leder till döden medan andra är mindre elakartade. I norra Sverige, framför allt i

Västerbotten, finns en form av sjukdomen där patienter överlever till vuxen ålder. Osteopetros kan uppkomma på grund av att det inte kan bildas osteoklast, antingen genom en defekt i hematopoetiska stamceller eller i de signaler i de celler som initierar osteoklastdifferentiering. I andra fall bildas det osteoklast men dessa saknar någon av de proteiner som är involverade i resorptionsmekanismen. I samarbete med Eva-Lena Stattin, klinisk genetik och Christina Stecksén-Blicks, pedodonti försöker vi genetiskt, cellulärt och molekylärt karakterisera patientgruppen i norra Sverige. DNA har samlats in och analys pågår.

KLINISK FORSKNING

Parodontit

Även om parodontit har visats vara relaterat till genetik föreställer sig knappast någon att det finns en specifik gen som är orsak till sjukdomen, snarare tror man att ett antal gener har betydelse för sjukdomens patogenes.

För många sjukdomar, inklusive inflammatoriska sjukdomar, har man på senare år kunnat visa att små variationer i den genetiska koden för vissa proteiner kan associeras till sjukdom, behandlingssvar och prognos. Dessa variationer består av att en enskild bas är anorlunda, antingen i genens kodande del eller i promotorn (startmotorn till vilka olika transkriptionsfaktorer binds) för genen och kan leda till att proteinet bildas i större eller mindre mängd eller till att proteinet får en annan aminosyra och därmed förändrad funktion. Sådana förändringar kallas »single nucleotide polymorphisms« (SNPs).

Vi har i samarbete med osteoporosforskare i Umeå och Malmö visat att SNPs i generna för IL-6, TNF- α , osteocalcin och calcium sensing-receptor kan relateras till mängden ben och, eller frakturer i skelettet. Det har under senare år publicerats ganska många studier över samband mellan förekomsten av SNPs i olika gener och parodontit.

Studier av SNPs görs i regel på mycket stora material men de som gjorts vid parodontit är baserade på ett relativt litet antal patienter. I ett nyss påbörjat projekt där vi samarbetar med ett antal specialistkliniker för parodontologi i Sverige samlar vi in blod för DNA-analys från friska patienter, patienter med gingivit och patienter med parodontit med avsikt att kunna skapa en mycket stor biobank för senare storskalig analys av samband mellan SNPs och parodontit.

I ett projekt som inleds i år samlar vi gingiva från friska patienter, patienter med gingivit och patienter med kronisk respektive aggressiv parodontit. Vi vill studera uttrycket av en stor mängd gener med hjälp av chipteknik och kvantitativ realtidsPCR. I dessa prover och i prover från gingi-

valväska kommer vi i samarbete med professor Dick Heinegård (institutionen för experimentell medicinsk vetenskap i Lund) med proteomics-tekniker kunna studera uttrycket på proteinnivå samt förekomsten av patogenetiskt intressanta så kallade neoepitoper.

Osteoporos

Patienter med osteoporos har generellt minskad benmassa, framför allt i trabekulärt ben, vilket medför en ökad risk för frakturer i underarm, höft och kotor. Om dessa patienter även har mindre mängd benmassa i käkarna har inte säkert kunnat klarläggas på grund av bristande mätmetodik. Man har inte heller kunnat fastställa om patienter med osteoporos har en ökad benägenhet för progressiv parodontit. Det finns studier som tyder på att så är fallet men det finns även motstridiga publikationer. Brist på östrogen leder i de flesta celler till en ökad produktion av olika cytokiner, inklusive sådana som stimulerar bennedbrytning. Det finns därför anledning att misstänka att det även skulle kunna gälla vid osteoporos.

Tillsammans med professorerna Claes Ohlsson och Dan Mellström samt docent Tor Österberg vid Osteoporoscentrum, Sahlgrenska uni-

versitetssjukhuset, studerar vi om osteoporos leder till ökad grad av parodontit. Dessa studier bedrivs dels i en stor kohort patienter med postmenopausal osteoporos och dels med en stor kohort patienter med manlig osteoporos (Mros) där det finns tillgång till en oerhört stor mängd kliniska, biokemiska och genetiska data.

Retinoider

Benceller uttrycker funktionella steroidhormonreceptorer för retinoider (vitamin A) och vi kartlägger reglering och funktion av dessa och jämför med reglering och funktion av vitamin D-receptorer.

Projektet ingår i det större »Clinical, functional and genetic studies of osteoporosis related fractures in northern Sweden – the UFO study« där vi samarbetar med Ulrika Pettersson, klinisk farmakologi och professor Olle Svensson, ortopedi. I detta projekt studeras bland annat betydelsen av vitamin A och D för uppkomsten av osteoporotiska frakturer samt om nivåerna av A- och D-vitamin samt kortisol i serum kan förutsäga sådana frakturer. I projektet ingår också analys av om SNPs för vitamin A-receptorerna, vitamin D-receptorn och glukokortikoidreceptorn kan associeras till frakturer på grund av benskörhet.

TACK Våra projekt har stötts av anslag från Vetenskapsrådet, Reumatikerförbundet, Konung Gustav V:s jubileumsfond, Knut och Alice Wallenbergs stiftelse, SalusAnsvar, AstraZeneca, Stiftelsen för strategisk forskning, Medicinska fakultetens i Umeå insamlingsstiftelse, Västerbottens läns landstings spjutspetsmedel, Svenska Tandläkare-Sällskapet, Svenska stiftelsen för medicinsk forskning, TUA-medel och Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasilien.

REFERENSER

För en fördjupning av vissa delar av projekten hänvisas till http://www.odont.umu.se/forskning/lerner0_proj_eng.html och till följande översiktsartiklar:

1. Lerner UH: New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamily with importance for physiological and pathological bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15: 64–81.
2. Lerner UH: Skelettet i käkar och annorstädes – en benhård vävnad fylld av liv och rörelse både vid hälsa och sjukdom. I. Benets fysiologiska uppbyggnad och omsättning. *Tandläkartidningen* 2004; 96: 42–57.

3. Lerner UH: Skelettet i käkar och annorstädes – en benhård vävnad fylld av liv och rörelse både vid hälsa och sjukdom. II. Bencellernas reaktion på inflammatoriska processer. *Tandläkartidningen* 2005; 97: 56–71.
4. Lerner UH: Nervsystemet och skelettal remodellering. Serotoninhämmare påverkar benmassan? *Läkartidningen* 2005; 102: 2746–9.
5. Lerner UH: Deletions of the genes encoding calcitonin \square -CGRP, amylin and calcitonin receptor have given new and unexpected insights into the function of calcitonin receptors and calcitonin receptor-like receptors in bone. *J Musculoskel Neuron Interact* 2006; 6: 87–95.

6. Lerner UH: Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res* 2006; 85: 584–95.
7. Lerner UH: Inflammation induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res* 2006; 85: 596–07.
8. Lerner UH, Ljunggren Ö: Benvävnadens omsättning. Mekanismer som förklarar uppkomsten av benskörhet och som möjliggör farmakologisk behandling. *Läkartidningen* 2006; 103: 2972–5.
9. Lerner UH: Skelettet i käkar och annorstädes – en benhård vävnad fylld av liv och

rörelse både vid hälsa och sjukdom. III. Obalanserad benremodellering orsakar osteoporosjukdom. *Tandläkartidningen* 2006; 98: 50–61.

10. Lerner UH, Persson E, Lundberg P, Kinins and Neuro-Osteogenic Factors. *Principles of Bone Biology*, 3rd Edition, in press.
11. Lerner UH, Persson E: Osteotropic effects by the neuropeptides calcitonin gene-related peptide, Substance P and vasoactive intestinal peptide. *J Musculoskel Neuron Interact*. In press.

Tänk på Cancerfonden

- om du vill ge ett bidrag till kampen mot cancer
- om du vill stödja cancerforskningen i ditt testamente
- om du vill hedra minnet av någon som gått bort
- om du vill ha chans att vinna fina priser i vårt lotteri

Gå in på cancerfonden.se och läs mer om hur du kan hjälpa till i kampen mot cancer!

cancerfonden.se
tel 020-78 11 79 pg 90 1986-0



Cancerfonden