läs mer Fullständig referenslista
http://ltarkiv.lakartidningen.se

På prionfronten mycket nytt

ERLING NORRBY, professor, Centrum för vetenskapshistoria, Kungliga vetenskapsakademien, Stockholm
erling@kva.se

Forskningen kring de säregna atypiska smittämnen, som Stanley Prusiner år 1982 benämnde prioner (från »proteinaceous and infectious«; vokalerna har kastats om för att göra ordet mer lättuttalat) har uppmärksammats med två Nobelpris. Det ena gavs 1976 till Carleton Gajdusek (delat pris) och det andra 1987 till Stanley Prusiner ensam. I samband med att Prusiner fick priset skrev Krister Kristensson och Bengt Winblad en artikel om upptäckten i Läkartidningen [1], och ett år senare skrev Monica Grandien och Britta Wahren om överföring av galna ko-sjukan till människor [2]. Sedan dess har ämnet prioner inte diskuterats i Läkartidningen. Mycket har dock hänt, som motiverar att detta unika och viktiga forskningsfält återbesöks.

Scrapie och Creutzfeldt–Jakobs sjukdom

Sjukdomen scrapie hos får är känd sedan 1700-talet. Av en händelse fann man att denna sjukdom var smittsam. Ett experimentvaccin mot en annan sjukdom hos dessa djur, loupingill, visade sig överföra scrapiesmitta. Den isländska veterinärpatologen Björn Sigurdsson införde begreppet långsam virusinfektion för sjukdomarna scrapie och visna hos får [3]. Visna har senare visat sig bero på en retrovirusinfektion, men det dröjde länge innan naturen hos smittämnet som orsakar scrapie klarlades.

Creutzfeldt–Jakobs sjukdom (CJD) identifierades av två tyska neuropatologer på 1920-talet. Den karakteriseras av en progressiv hjärnförstöring, s k spongiform encefalopati. Runt hela vår jord förekommer den i en frekvens av cirka ett fall per miljon invånare och år. Det gäller även för vårt land. Vissa geografiska skillnader har dock påträffats. I Schweiz är frekvensen cirka tre gånger högre, och hos sefardiska judar är sjukdomsförekomsten 30 gånger högre än hos askenasiska judar. Att genetiska förhållanden kan spela en roll för sjukdomsförekomsten blev klart redan på 1930-talet då man identifierade vissa familjer med en ökad sjukdomsfrekvens. Ungefär 85 procent av alla fall av CJD är sporadiska, medan i storleksordningen 10 procent är genetiska. Ursprungligen innefattade resterande fall prionorsakade sjukdomar som spreds genom sjukvårdsåtgärder eller på annat sätt.

Kuru gav sambandet

Studierna av de två sjukdomarna scrapie och CJD kom att konvergera på ett oväntat sätt under 1960-talet. Grunden för detta var remarkabla studier av Carleton Gajdusek och medarbetare på Nya Guinea. De försökte klarlägga etiologin hos sjukdomen kuru (ett lokalt ord för darra) som uppträdde endemiskt hos forefolket, ett isolerat ursprungsfolk på den stora ön. Frågeställningen var om orsaken var toxisk, genetisk eller infektiös. Obduktioner av personer som avlidit i sjukdomen gav möjlighet att karakterisera de histopatologiska förändringarna i hjärnan. När veterinärpatologen William Hadlow fick se dem påpekade han [4] att de liknade hjärnförändringarna hos får med scrapie.

Efter flera försök lyckades Gajdusek och medarbetare överföra sjukdomen till schimpanser genom intracerebral inokulation [5]. I och med att smittsamhet påvisats kunde man få en förklaring till kuruepidemin. Överföring av smitta skedde i samband med den rituella kannibalism som forefolket praktiserade. Kvinnor och barn smittades i första hand, då det var de som mest kom i kontakt med den avlidna släktingens hjärna där den högsta koncentrationen av prioner fanns. Den rituella kannibalismen upphörde år 1958–1960, och ingen person som fötts härefter har utvecklat kuru.

I mitten av 1960-talet visades att förändringarna i hjärnan hos patienter med kuru respektive CJD var mycket snarlika. Efter det att kurus smittsamhet påvisats låg det därför nära till hands att testa om även hjärnmaterial från patienter med CJD kunde infektera schimpanser. Det visade sig vara fallet [6]. Det är tveksamt om dessa typer av undersökningar skulle kunna genomföras i dag med tanke på den förändrade attityden till våra närmaste släktingar i djurvärlden [7].

Smittämnenas natur: ett protein

Naturen hos de smittämnen som orsakade såväl scrapie som CJD förblev länge en gåta. Under slutet av 1960-talet framkom att scrapiesmittämnet var anmärkningsvärt motståndskraftigt mot såväl UV-bestrålning som joniserande strålning. Frågan restes därför om det förökade sig utan användning av nukleinsyror [8, 9]. Det stora genombrottet i förståelsen av prionsmittämnens natur kom först i slutet av 1970-talet och början av 1980-talet. Prusiner var den stora pionjären, men det var många forskare som ifrågasatte hans tolkning av de häpnadsväckande resultat han fick fram i sin forskning [10-12].

Prusiner utvecklade först en metod att snabbare kunna analysera smittämnets förökning. Han använde ett hamstersystem och utnyttjade inkubationstiden som ett kvantitativt mått. Efter invecklade reningsförsök kombinerade med behandling med olika enzymer kom Prusiner fram till att smittsamheten var associerad med ett protein med molekylvikten 27–30 kD [13]. Han kallade proteinet »prion-related protein« (PrP). Proteinet var tillräckligt rent och homogent för att man, med viss möda, skulle kunna bestämma de aminosyror som fanns i dess aminoterminala ände. Härigenom blev det

sammanfattat

Prioner är potentiellt men inte obligat infektiösa proteiner.
Prioner kan ge sjukdom genom fortskridande felaktig proteinveckning. Denna form av sjukdomsmekanism kan ha en mycket vidare betydelse än vad som för närvarande är känt.
Prioner är specifika för olika arter. I speciella fall kan smitta ske över artgränser. Nötkreatur med galna ko-sjukan orsakade en epidemi av variant-Creutzfeldt–Jakobs sjukdom (vCJD) hos människa, främst i Storbritannien. Åtgärder insatta för att ge ett säkrare nötkött har gjort att epidemin nu avklingat.
Prioner har i fyra fall överförts från patienter med vCJD med blodtransfusion. För att minimera riskerna att smittöverföring ska kunna ske vid användning av blod och blodprodukter har nya prepareringsmetoder införts.

möjligt att genom molekylär kloning identifiera den gen som är ansvarig för bildning av proteinet [14].

Normal gen bakom infektion med prioner

Upptäckten att det fanns en normal cellulär gen som styrde bildningen av (det dominerande) proteinet i smittämnet ändrade som genom ett trollslag vår förståelse av infektionsprocessen. Helt plötsligt kunde man förklara att infektioner med prioner inte är associerade med någon inflammation och att inte något immunsvar kan påvisas. Vår kropp reagerar normalt inte på våra egna proteiner. Men påvisandet av den kritiska cellulära genen öppnade också möjligheter till helt nya typer av undersökningar.

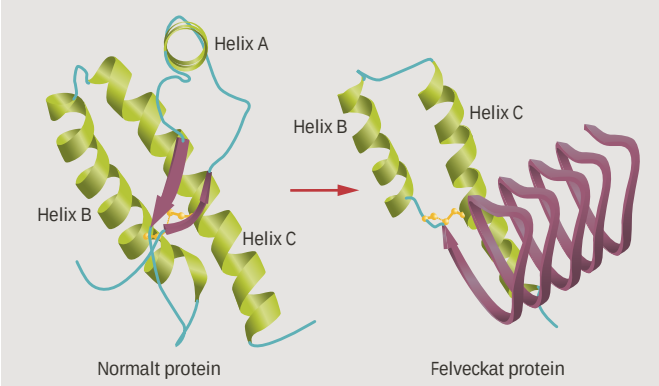
Genom användning av sk knock out-teknik kunde man framställa möss som saknade PrP-genen [15]. När dessa försök startades visste man redan att PrP-proteinet uppträdde i hjärnan tidigt under den embryonala utvecklingen. Det förmodades därför ha en central funktion. Till sin stora förvåning kunde forskarna dock konstatera att djuren levde väl utan sitt PrP-protein och att de hade normal livslängd. Härigenom öppnades möjligheten att utföra ett mycket kritiskt experiment. Man inokulerade djuren i hjärnan med en hög dos prioner. De förblev helt opåverkade, och några prioner kunde inte påvisas i deras hjärna [16, 17]. Utan eget PrP-protein kunde djuren inte infekteras! Dessutom visade det sig att de inte längre var naturligt toleranta mot det normalt kroppsegna PrP-proteinet. De kunde därför bilda antikroppar mot det. Man fick således för första gången möjlighet att effektivt producera antikroppar mot olika former av PrP-proteiner.

Mössen som saknade PrP-genen visade sig vara användbara för ytterligare viktiga experiment. Man kunde nämligen, med utnyttjande av transgenteknik, använda dem för att återinsätta PrP-genen från olika andra djurarter. Det öppnade möjligheter för viktiga experiment. PrP-proteinet från olika djur har en specifik, varierande sekvens av aminosyror. Det gör att ett visst prionsmittämne fungerar bäst eller uteslutande inom den egna arten. Allmänt finns en artbarriär som förhindrar smitta mellan djur av olika slag. Genom att t ex sätta in PrP-genen från nötkreatur i möss kunde man emellertid åstadkomma att dessa blev känsliga för infektion med prioner från kor. Detta är, som klargörs nedan, praktiskt betydelsefullt.

Prionproteiner kan veckas på olika sätt

Redan tidigt upptäckte man att det finns olika »stammar« av scrapie. I en del fall uppträder sjukdom efter en kort inkubationstid och i andra efter en lång. Det finns också olika stamberoende mönster för histopatologiska förändringar i hjärnan: plack med proteinaggregat av olika omfattning och på olika ställen i hjärnan, olika grader av spongiforma förändringar och med varierande utbredning etc. Det har varit en utmaning att förklara hur ett proteinsmittämne genom inverkan på sitt homologa, normala protein kan åstadkomma alla dessa specifika reaktionsmönster. För att kartlägga det har man analyserat effekten av olika spontana och riktade mutationer hos PrP-proteinet på infektionsprocessen samt funktionen hos olika blandmolekyler av prioner med olika egenskaper och även olika värddjursursprung. Man har då kunnat

»Genom att t ex sätta in PrP-genen från nötkreatur i möss kunde man emellertid åstadkomma att dessa blev känsliga för infektion med prioner från kor.«



Figur 1. Den molekylära strukturen hos det normala cellulära PrP-C-proteinet och den dramatiskt annorlunda veckningen av det »sjuka« PrP-TSE-proteinet. Notera den kraftiga dominansen av betaplisserade strukturer hos PrP-TSE på bekostnad av de helikala alfastrukturerna, som dominerar hos PrP-C. Det förra proteinet kan påverka det senare att anta den felaktiga veckningsformen. Anhopningar av patologiskt veckade proteiner kan ge upphov till bildning av amyloid och uppträdande av sjukdom, företrädesvis i hjärnan. Modifierad efter Svae et al [47].

slå fast att det finns olika stabila varianter av dessa proteinsmittämnen.

PrP-proteinet kan förekomma i två principiellt olika former. Den ena är den normala friska formen, vanligen benämnt PrP-C (control), och den andra en form som ses hos sjuka djur eller människor, kallat PrP-Sc (scrapie) eller PrP-TSE (transmissibel spongiform encefalopati, ett begrepp jag kommer att använda). Den senare formen är smittsam, och vid samtidig närvaro av PrP-TSE och PrP-C kan det ske en kraftig omlagring av det senare proteinets veckning. Det antar samma form som det »sjuka« proteinet PrP-TSE.

Det normala proteinet innehåller tre alfahelixstrukturer och några sammanbindande aminosyrasekvenser, men det sjukdomsframkallande proteinet, som har samma aminosyrasekvens, har veckats till en helt annorlunda struktur [18, 19]. Det innehåller nu vid sidan om två mindre alfahelixdelar även nytillkomna fyra betaplisserade (beta-sheets) delar (Figur 1). Det är de senare strukturerna som gör att det kan klumpa ihop med likartade proteiner till aggregat kallade amyloid. Uppkomsten av sådana aggregat kan orsaka cellskador och sjukdom. Det finns dock en stor variation i förmågan hos olika former av amyloid att vara smittsam och att ge sjukdom. En faktor som kan vara av betydelse är förmågan hos ett potentiellt amyloidbildande protein att förankra sig till cellmembran [20].

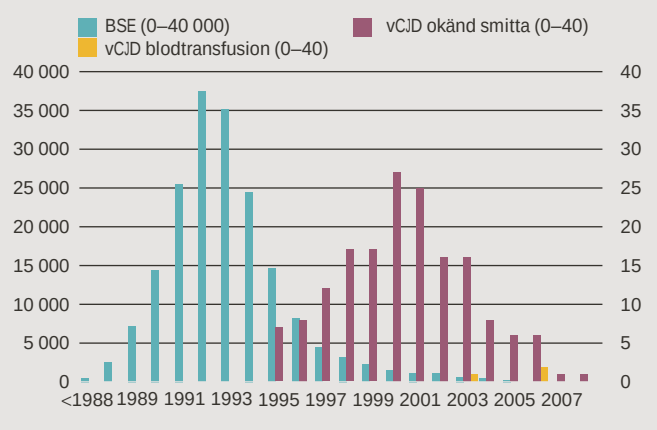
Många försök har gjorts att omvandla PrP-C till PrP-TSE i laboratoriet, men först nyligen har vissa framgångar nåtts [21, 22]. Genom att blanda en minimal mängd av PrP-TSE med PrP-C från en normal mushjärna har påvisats en kraftig förhöjning av den infektiösa förmågan. Motsvarande effekt har man ännu inte kunnat åstadkomma med rena proteinreagenser. Det talar för en möjlig betydelse av ytterligare ämnen. Man anser dock att de resultat som hittills nåtts definitivt utesluter någon betydelse av konventionella informationsmolekyler bestående av nukleinsyra [23].

Galna ko-sjukan drabbade England

Galna ko-sjukan, mer sakligt benämnt bovin spongiform encefalopati, BSE, drabbade England 1985/1986. Epizootin blev omfattande och spreds till andra länder, främst i Europa och

där företrädesvis Frankrike. Den nådde sin topp 1992, och hittills har totalt mer än 180 000 infekterade djur identifierats (Figur 2). Källan till epizootin visade vara en ny typ av foder som inte bara innehöll de för kor naturliga vegetabiliska näringsämnena utan också animala produkter, som kött- och benmjöl. De senare var ursprunget till föroreningen med sjukdomsframkallande prioner, som antingen kom från får med scrapie eller från nötkreatur med sporadisk BSE. Då detta varseblivits förbjöds denna typ av foder år 1988. Den åtgärden har gjort att epizootin efter 1992 gradvis har klingat av.

Ursprungligen identifierades infekterade djur genom kliniska undersökningar, men snabbt togs test fram för att påvisa PrP-TSE specifikt för BSE. Man övergick därför tidigt till att registrera dokumenterat smittade djur oberoende av om de utvecklat symtom eller inte. År 2001 startade Europeiska unionen ett omfattande testprogram, som hittills innefattat 71 miljoner djur [24]. Man ser nu de sista spåren av epizootin. År 2007 rapporterades bara 174 fall av infekterade djur. Mellan 2003 och 2007 har varje år antalet fall i stort halverats.



Figur 2. Nötkreatur i Storbritannien infekterade med smittämnet som ger BSE och den efterföljande epidemin av vCJD i såväl detta land som andra länder, främst Frankrike. Iatrogena fall av vCJD redovisas separat. År 1988 infördes förbud att använda utfodringsmedel innehållande animaliska ingredienser för nötkreatur, och 1989 förbjöds att vid slakt av kor ta med hjärna och ryggmärg i födoämnen för människa. År 1996 påbörjades utslaktning av kor över 30 månaders ålder, och år 2001 startade Europeiska unionen ett omfattande testprogram för att påvisa infekterade djur.

Artbarriär passerades – variant av CJD uppträdde

Med den kunskap man vid början av 1990-talet hade om barriärer för spridning av prioner mellan arter bedömde man det föga sannolikt att BSE skulle kunna överföras till människa. Det fanns t ex inga belägg för överföring till människa av PrP-TSE från får med scrapie. För säkerhets skull hade man emellertid redan år 1989 infört förändrade metoder för slakt av nötkreatur. Hjärna och ryggmärg förbjöds ingå i mat för människor. Det skulle emellertid visa sig att prioner som orsakar BSE kunde passera en artbarriär.

År 1994 uppträdde en ny form av den tidigare kända Creutzfeldt–Jakobs sjukdom, vCJD (v för variant), hos människa som kunde härledas till smitta från ko [25]. vCJD skiljer sig på flera punkter från tidigare kända former av sjukdomen. Patienterna är i genomsnitt yngre, medelålder 26 år, och de histopatologiska förändringarna i hjärnan har en annorlunda karaktär. Man har nu identifierat fyra olika grupper av Creutzfeldt–Jakobs sjukdom, och vCJD är ensam representant i den senast etablerade fjärde gruppen [2].

Epidemin av vCJD har fortsatt in i våra dagar men verkar nu, liksom BSE-epizootin, närma sig sitt slut (Figur 2). Totalt har 214 människor (september 2009) infekterats, de flesta i Storbritannien, 167 personer, och Frankrike, 25 personer [26]. Omfattningen av vCJD-epidemin hos människa kan jämföras med den epidemi som orsakats av användning av tillväxthormon preparerat genom extraktion av kadaverhypofyser [27]. Denna iatrogena spridning har hittills orsakat 206 fall av CJD, företrädesvis hos unga personer, och mer än hälften av dessa har uppträtt i Frankrike.

Plats 129 i proteinet av avgörande betydelse

Mutationer i PrP-proteinet har, som nämnts, stor betydelse för utvecklingen av CJD, något som, inte oväntat, är speciellt markant vid familjära former av sjukdomen. För uppkomst av vCJD har det visat sig att en förändring på ett speciellt ställe i proteinet har helt avgörande betydelse. Det gäller plats 129, där det i PrP kan finnas endera av aminosyrorna valin och metionin. För uppkomst av vCJD är det kritiskt att båda allelerna på motsvarande DNA-position kodar för metionin. Andra former av sjukdomen, som den hereditära eller iatrogena, kan förekomma även i närvaro av valin i en eller båda allelerna. Dessa förhållanden har kunnat verifieras i studier med transgena möss. Hos sådana djur som har metionin i båda allelerna förökas PrP-TSE från vCJD effektivt, och mössen visar hjärnförändringar som liknar dem som uppträder hos människa [28]. Möss som i stället hade valin i båda allelerna visade en avsevärd motståndskraft mot infektion (bara cirka hälften av djuren infekterades), och deras hjärnförändringar hade avvikande särdrag. Om material från infekterade djur ympades vidare på nya djur skedde inte, som normalt är fallet, en anpassning av smittämnet till effektiv förökning utan i stället uppträdde nya mönster i hjärnförändringarna som kunde påvisas hos de djur som infekterades.

»Det skulle emellertid visa sig att prioner som orsakar BSE kunde passera en artbarriär.»

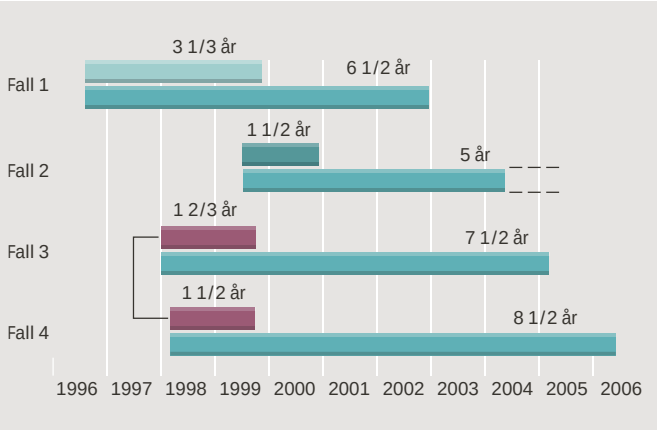
Spridning via blodtransfusion överraskade

I tidiga studier av scrapieinfektion hos möss som ympats parenteralt kunde PrP påvisas utanför hjärnan. Smittämnet hade en preferens att associera sig med celler i det lymforetikulära systemet. Mängden PrP utanför hjärnan var liten, och det var svårt att kinetiskt följa smittämnets förökning och spridningen. Dock kunde man visa närvaron av PrP-TSE i blod och lymfocyter [29]. Relativt nyligen har man visat att scrapie effektivt kan överföras genom blodtransfusion mellan får [30]. Från tidiga och uppföljande studier av kuruepidemin vet man dels att smittspridning inte sker från mor till barn i samband med en förlossning, dels att sjukdomens inkubationstid kan sträcka sig över många decennier. Fall av kuru uppträder ännu i dag trots att det sista smittillfället sannolikt var 1958 [se 31].

Sporadisk CJD-PrP-TSE har aldrig visats kunna överföras via blodtransfusion. Det kom därför som en obehaglig överraskning då man i Storbritannien i början av 2000-talet kunde påvisa tre fall av vCJD och ett fall av överföring av vCJD-specifikt PrP-TSE genom transfusion med blod innehållande leukocyter. De olika fallen kan sammanfattande beskrivas på följande sätt (Figur 3). Det första fallet var en 69-årig man, som insjuknade sju år efter att ha fått blod från en 24-årig donator, som själv började visa symtom på vCJD tre år efter att han donerat blodet [32]. Denna upptäckt gjorde att man undersökte eventuell förekomst av andra fall av personer som

smittats av blod från olika donatorer som senare hade utvecklat vCJD. 17 personer som mottagit blod från dessa kunde identifieras.

Fall nummer två som påvisades var en 77-årig patient som fanns med i denna kohort [33]. Denna person dog av ett brustet aortaaneurysm fem år efter att ha fått en blodtransfusion år 1999 från en yngre donator, som 18 månader senare utvecklade vCJD. Den avlidne hade inga neurologiska symtom, men med olika metoder kunde man visa PrP-TSE i mjälten och i en lymfkörtel men inte i hjärnan. Denna patient skilde sig från andra genom att han inte hade två metioninalleler i position 129 i sitt PrP-protein utan i stället en metionin och en valin. Man kan bara spekulera över om denna patient skulle ha kunnat utveckla hjärnförändringar och om dessa skulle ha varit karakteristiska för vCJD. Det tredje och fjärde fallet av smittöverföring hade sitt ursprung i samma donator, en ung man som utvecklade vCJD 20 respektive 18 månader efter transfusionstillfället. Det tog 7, 5 respektive 8,5 år innan mottagarna av transfusionerna utvecklade sjukdom [se 34].



Figur 3. Fyra fall av överföring av prioner som kan ge vCJD genom blodtransfusion i Storbritannien. Smittan kom från unga individer, som senare utvecklade sjukdomen. Bilden anger tidpunkten för den förmodade smittöverföringen och tidsintervallen till dess donatorn (övre liggande markeringen) och mottagaren (undre liggande markeringen) utvecklade sjukdomen eller påvisades vara smittad. Det senare gäller fall 2. Denna patient dog i en icke-relaterad sjukdom, och närvaro av PrP-TSE påvisades i mjälte och en lymfkörtel. Modifierad efter Svae et al [47].

Lärdomar av de fyra fallen

Det finns mycket att lära av dessa fall. Uppenbart kan en individ vara smittsam flera år innan någon sjukdom utvecklar sig, och smittsamheten kan hålla i sig under längre tid. Vidare har patienter som smittats genom blod förkortad inkubationstid: 7–8 år jämfört med 10–15 år hos oralt infekterade patienter. Slutligen bör diskuteras innebörden av att den patient som påvisades vara infekterad, men inte hade några symtom på vCJD, hade olika aminosyror på plats 129 i PrP-proteinet, en metionin och en valin. En del forskare har tolkat det som att

det finns en risk att epidemin av vCJD, som nu verkar närma sig sitt absoluta slut, skulle kunna följas av en ny våg av sjukdomsfall hos individer med en annan genuppsättning än för metionin/metionin på plats 129 i proteinet. Flertalet forskare håller dock detta för mycket osannolikt, med hänvisning till de ovan redovisade försöken med transgena möss. Vidare har studier av forefolket visat att expositionen för kuru har inneburit ett selektionstryck som gjort att en dubbel uppsättning av metionin på plats 129 förekommer i kraftigt minskad frekvens hos detta folk i dag [35].

Det sker en kontinuerlig uppföljning av personer som kan ha exponerats för vCJD-PrP genom tidigare blodtransfusioner eller blodkomponenter [36]. Den senaste studien från England innefattar 22 donatorer som senare har utvecklat vCJD och 64 mottagare. Av mottagarna hade 38 avlidit av andra sjukdomar år 2007, men sex hann leva i fem år efter möjlig exponering. Av de 26 personer som levde vid rapporteringstillfället hade 14 levt mer än fem år efter blodtransfusionen. Inga fall av vCJD kunde visas hos mottagarna. Härutöver finns det 25 personer i Frankrike, som man vet har fått blod från tre olika donatorer som senare fått vCJD. Bland dessa har inte något fall av smittöverföring rapporterats. I preliminära studier med små material har man inte funnit några belägg för att vCJD kan spridas vertikalt från mamma till barn.

Skärpt säkerhet vid blodtransfusion

Redan flera år före 2003, då det första fallet av transfusionsöverförd vCJD rapporterades, hade man vidtagit ett flertal åtgärder i England och Frankrike för att minska riskerna för eventuell spridning av smittämnet [37]. Den första ambitionen var att få fram ett test som kunde påvisa närvaron av PrP-TSE specifikt för vCJD i blodet. Många forskargrupper har lagt ner möda på att utveckla en säker och effektiv metod, men tyvärr har deras ansträngningar ännu inte krönts med framgång.

Under tiden har andra insatser gjorts för att öka säkerheten. Man införde tidigt skärpt selektion av blodgivare för att utesluta att man fick med någon donator som skulle kunna tänkas vara bärare av denna form av PrP-TSE. Noggranna intervjuer infördes, och personer med CJD i släkten och personer som själva fått blodtransfusioner uteslöts som donatorer. Till svenska potentiella donatorer ställs härutöver också frågan om de varit i Storbritannien under längre tid i slutet av 1980-talet och början av 1990-talet. I detta sammanhang bör konstateras att vi inte har haft något fall av vCJD i Sverige.

Vidare insatser för att öka säkerheten har gällt behandlingen av blodet. Då man sedan en längre tid tillbaka kände till att de högsta koncentrationerna PrP finns i leukocytfraktionen bestämdes att allt blod som ska användas för transfusion först ska renas från de vita blodkropparna med ett filtreringsförfarande. Sedan 1998 har detta införts i vårt land, och för närvarande är ca 85 procent av allt blod som används för transfusion behandlat på detta sätt. Borttagande av de vita blodkropparna minskar kraftigt närvaron av prionsmittämne men är ingen garanti för dess frånvaro [38]. I modellförsök med scrapieinfekterade hamstrar fann man att cirka hälften av materialets infektiösa förmåga eliminerades. Sedan de nya reglerna för insamlande och bearbetning av blod för transfusion infördes år 1999 i England har inga nya fall av vCJD observerats hos mottagare av transfusionsblod.

Risk för smittöverföring av sporadisk CJD-PrP och vCJD-PrP

Förekomsten av överföring av vCJD-PrP med blod har väckt en förnyad diskussion om en motsvarande smittöverföring skulle kunna ske från fall av sporadisk CJD. Redan på 1960-talet, då smittämnet vid sjukdomen identifierats, noterades att patienter med sjukdomen hade varit blodgivare. Det fanns till och med fall där blod hade donerats efter att sjukdomen hade brutit ut. Först på 1980-talet började man i USA mer systematiskt granska fall av givare som utvecklat sjukdomen och dess eventuella förekomst hos mottagare. Inga exempel på överföring kunde konstateras [39]. Senare har än mer utvidgade studier gjorts i detta land [40]. Totalt har man identifierat 436 individer som fått blod från individer som senare utvecklat sporadisk CJD, och 144 av dem följdes över längre tid än fem år. Ingen av mottagarna utvecklade sjukdom. I Europa pågår för närvarande studier motsvarande dem i USA. Hittillsvarande resultat bekräftar de amerikanska undersökningarna, då inget exempel på överföring av smittämne från sporadisk CJD kunnat dokumenteras [41].

»De fyra fallen där PrP-TSE visades ha överförts med blodtransfusion lärde oss en ny läxa.«

I frånvaro av tillförlitliga test för påvisande av PrP-TSE i blod har omfattande undersökningar gjorts i Storbritannien av tonsill- och blindtarmsmaterial samlat för andra ändamål. Man har velat skaffa sig en bild av förekomsten av vCJD-PrP-TSE i befolkningen i stort för att bedöma risken för uppträdande av en sjukvårdsassocierad epidemi sekundär till den som nu i stort sett försvunnit. I första hand har 1961–1985 års födelsekohorter undersökts, då 138 av de hitintills totalt 167 fallen av vCJD i England förekommit i dessa åldersgrupper. I en första studie analyserades 11 247 blindtarmsprov och 1 427 tonsillprov med immunhistokemi och immunoblotting [42].

Tre prov från blindtarmar tolkades som positiva. Upprepade test kunde emellertid inte bekräfta de ursprungliga resultaten. I en andra studie undersöktes 2 000 tonsillprov [43]. I denna undersökning fann man inga positiva material. I en alldeles färsk studie [44] har ett utvidgat material av tonsillprov analyserats. 63 007 prov har undersökts, av vilka 12 753 kom från den födelsekohort (1961–1985) i vilken de flesta fall av vCJD har förekommit och 19 908 från den födelsekohort (1986–1995) som kan ha exponerats för vCJD-PrP genom infekterat kött eller köttprodukter. Inga säkra positiva prov kunde påvisas med de test som användes.

Slutsatsen av dessa omfattande studier är att förekomst i lymfvävnad av PrP-TSE karakteristisk för vCJD är mycket sällsynt. Frekvensen kan variera från 0 inom ett 95 procents konfidensintervall på 0–289 per miljon i den färskaste studien att jämföra med 292 per miljon med ett motsvarande konfidensintervall på 60–853 miljoner i tidigare undersökningar.

Proteinprodukter framställda ur blod och prionsmitta

Den dokumenterade förekomsten av överföring av vCJD genom blodtransfusion har aktualiserat en noggrann granskning av risker för överföring av prionproteiner vid användning av olika proteinprodukter preparerade från plasma. Sedan man i mitten av 1980-talet konstaterade den tragiska överföringen till blödarsjuka av humant immunbristvirus (HIV) med proteiner renade från plasma har mycket hänt. Ett flertal metoder, som behandling med ytspänningsnedsättande medel och ultrafiltration, har införts som komplement till de tidigare utvecklade reningsmetoderna. Härigenom har risken för överföring av virus i stor utsträckning eliminerats. Erfarenheterna vid användning av olika preparat, som immunglobulin för intravenöst bruk, faktor VIII- och faktor IX-preparat, talar sitt entydiga språk [45].

Men hur är det med prioner, som är notoriskt kända för att vara mycket resistenta mot fysikalisk-kemisk behandling? Då man varseblivit överföring av PrP-TSE specifikt för vCJD till människa skärptes kriterierna på blod som används till preparering av blodprodukter. Blod från Storbritannien och Frankrike fick inte användas. Härutöver utreddes effekten av redan etablerade och även nyintroducerade metoder för rening av den önskade proteinprodukten. För att göra det har infektiöst scrapiematerial i hög dos blandats in i plasmamaterialet, som ett försök att efterlikna en spontan förorening med PrP. Efter rening med tidigare etablerade metoder och vissa kompletterande tekniker har mängden kvarvarande infektiöst prionprotein efter olika reningssteg mätts. Redan den sedan länge använda fraktioneringen med kall etanol ger en kraftigt minskad prionhalt hos slutprodukten. Andra ytterligare reningssteg, t ex kromatografi och filtrering, bidrar även de till att minska halten. Tillsammans ger i modellförsök de metoder som i dag används för rening en 1 000–10 000-faldig reduktion av förekomst av prionprotein i den slutliga produkten [46, 47]. Nyutvecklade metoder för riktad eliminering av BSE-specifikt PrP-TSE prövas nu för preparering av blodkomponenter [48] och för industriellt framställd plasma för transfusion [49, 50].

Risken för smitta försumbar men ...

Man kan utgå ifrån att det blod som i dag används som råmaterial för preparering av proteinprodukter innehåller en ringa mängd eller inget PrP-TSE. Då härutöver de metoder som används för modern rening och behandling av de olika ersättningspreparaten kraftigt sänker halten av eventuellt närvarande PrP-TSE måste det konstateras att de kvarvarande riskerna för smitta är närmast försumbar. En mycket stor genomgång av mer än 20 000 hemofilipatienter som behandlats de senaste tio åren med faktorkoncentrat har inte avslöjat något fall av CJD [45]. Däremot har nyligen beskrivits ett ännu inte publicerat fall av möjlig överföring av vCJD med faktor VIII-preparat [51]. Det gäller en engelsk blödarsjuk man, som avled av icke-vCJD-relaterade orsaker. Han konstaterades ha prioner i ett av ett flertal snitt vid den efterföljande histopatologiska undersökningen av mjälten. Personen i fråga hade varit utsatt för ett flertal riskfaktorer. Han hade fått blodtransfusioner, undergått kirurgisk behandling och hade regelbundet ätit kött från Storbritannien. Under 1990-talet hade han dessutom under flera år behandlats med en typ av faktorkoncentrat baserat på brittisk plasma med begränsad patogensäkerhet. I två tillverkningssatser ingick blodplasma från en givare som senare utvecklade vCJD, och den reningsmetod som vid tillfället användes har senare visat sig inte eliminera prioner. Sedan flera år används inte längre denna metod.

TABELL I. Prioner och potentiella prionoida proteiner. Modifierad efter Will et al [25].

Sjukdom	Protein	Smittsamhet	Infektiös livscykel
Prionsjukdomar	PrP-TSE	Ja	Ja
Alzheimers sjukdom	Beta-amyloid	Ja	Ej påvisad
Tauopatier	Tau	Ja	Ej påvisad
Parkinsons sjukdom	Alfa-synuklein	Värd till transplantat	Ej påvisad
AA-amyloidoser	Amyloid A	Ja	Eventuellt
Huntingtons sjukdom	Polyglutamin	Ja	Ej påvisad

Studier av prionsmitta har bjudit på överraskningar

Forskningen kring prioner har gett oss flera läxor. Först ansåg man att möjligheten för överföring av PrP från fall av galna ko-sjukan till människa var mycket osannolik på grund av existensen av en artbarriär. Likafullt blev det en epidemi, som lyckligtvis slutade vid strax över 200 fall. Härefter bedömde man att vidare iatrogen spridning av vCJD troligen inte kunde ske, men återigen fick man fel. De fyra fallen där PrP-TSE visades ha överförts med blodtransfusion lärde oss en ny läxa. Till detta kommer det alldeles färska fallet av möjlig smittöverföring till en blödarsjuk patient med en tidigare typ av faktor VIII-preparat. Med ständigt tillkommande kunskap får vi möjligheter att fortlöpande förbättra säkerheten hos de blodprodukter vi använder.

Proteiner som informationsmolekyler

I molekylärbiologins barndom definierades livets fundamentala informationsflöde ske från DNA till RNA och vidare till proteiner, där de två första molekylerna var informationsbärare och proteinet den verkställande molekylen. Det visade sig snart att information kan gå »baklänges« från RNA till DNA, men däremot inte från protein till nukleinsyrorna. Vidare visade det sig att proteiner inte har ensamrätt till att vara verkställande molekyler. Även RNA kan vara det, och det är därför man tror att livet på vår jord startade med RNA.

Emellertid har man alltmer blivit varse att även proteiner kan tala med varandra, och att även de således kan fungera

Söker du läkare?
Annonsera i Läkartidningen
Vi har 71 procent räckvidd i läkarkåren
Orvesto Näringsliv 2009
Utmanande saklig
Läkartidningen

som informationsmolekyler. Många proteiner har inte en fast tredimensionell struktur i sitt naturliga tillstånd. De får en fast orientering i rummet först när de kommer i kontakt med någon specifik del av ett annat protein eller en annan kemisk struktur. Proteinveckning är ett bara delvis förklarat fenomen. Till dels sker den spontant, men i många fall behövs det hjälpproteiner, s k chaperoner, för att åstadkomma korrekt veckning. Vad de ovan beskrivna variationerna i uppträdandet av PrP-proteinet visar är att en och samma kedja av aminosyror kan veckas på flera helt olika sätt beroende på miljön och under inverkan av ett homologt protein med en annorlunda veckning. I detta fall ger ett felaktigt veckat protein bildning av mer protein av motsvarande slag genom någon form av snöbollseffekt. Ytterligare proteiner och eventuellt andra ämnen har sannolikt en roll i denna process, och Prusiner har i sina tidigare studier hänvisat till protein X [52].

Felveckade proteiner – ett större forskningsfält

Sjukdomar hos människa som beror på proteinaggregering har visat sig vara ett mycket större fält än det som innefattar olika typer av PrP-TSE [53] (Tabell I). Speciellt intressant i sammanhanget är studier av Alzheimers sjukdom. I speciella försök med transgena möss har det visats att injektion av amyloidmaterial kan inducera hjärnförändringar som är beroende av både ympmaterialet och värddjuret [54]. En svensk grupp har visat att överföring av det kritiska proteinet vid sekundär amyloidos, amyloidprotein A, till möss kan ge hjärnförändringar [55]. Vidare har forskare som studerat Parkinsons sjukdom visat att förekomst av patologisk proteinveckning kan överföras från värdens celler till transplanterade celler [se 56]. Det spekuleras nu om att även sjukdomar utanför hjärnan skulle kunna ha sitt ursprung i felaktigt veckade och aggregerade proteiner. I modellstudier med segment av prioner och prionogena proteiner vidgar man nu insikten i hur proteiner kan bestämma ärftlighet [57]. Det torde finnas skäl att återkomma till denna forskning i Läkartidningen [se 58] .

Ett annat stort och aktuellt forskningsfält, som också bara ska nämnas här, gäller PrP:s fysiologiska roll. Det förhållandet att möss kan klara sig utan detta protein innebär inte att det saknar funktion. Trots omfattande undersökningar har man inte entydigt kunnat påvisa dess huvudsakliga uppgift [se 59-61]. Många olika tänkbara funktioner har föreslagits för detta vanligen membranbundna protein. Bland dessa kan nämnas modulering av olika signalvägar av betydelse för cellers överlevnad, skydd mot oxiderande stress och bindning av koppar. I en färsk publikation rapporteras att det membranbundna PrP fungerar som den huvudsakliga cellulära receptorn för den oligomera betaamyloiden, det felaktigt veckade protein som ligger bakom Alzheimers sjukdom [62]. Det ska bli intressant att se uppföljningen av denna oväntade observation, som antyder en möjlig koppling mellan två sjukdomar som beror på proteinaggregering.

Susan Lindquist och Nobelpristagaren Eric Kandel har spekulerat över en eventuell betydelse av PrP för minnesfunktioner, även det en hypotes som behöver granskas vidare. Lindquist är en pionjär inom studier av prionproteiners fundamentala roll för icke-mendelsk ärftlighet [se 63]. I omfattande studier av jästceller har nyligen kartlagts olika prionproteiners betydelse för dessas överlevnad [64]. Utgångspunkten för hennes studier är att biologisk information kan replikeras och förmedlas inte bara av nukleinsyror utan också av proteiner genom förmågan hos vissa av dessa att utlösa självspridande unika veckningsmönster.

Viktigt att följa utvecklingen inom prionforskningen

Som framgått är det viktigt att vi noggrant följer utvecklingen av forskningen kring prioner och liknande proteiner av flera olika skäl. Dessa proteiners förmåga att genom sin aggregation bilda amyloid kan vara källan till ett mycket större antal sjukdomar än vi i dag känner till. Det ska noteras att om inte vissa unika av former av dessa sjukdomar, som kuru och sporadisk CJD, hade råkat ha smittsam förmåga skulle det kanske ha dröjt betydligt längre innan vi hade kommit denna grupp av sjukdomar på spåren. Slutligen ska understrykas att fortsatta studier av prionogena proteiner också kan få en fundamental biologisk betydelse då de kan ge nya insikter i proteiners förmåga att fungera som informationsmolekyler parallellt med nukleinsyrorna. Nobelprisen till Carleton Gajdusek 1976 och Stanley Prusiner 1997 visar en visionär förmåga hos de Nobelkommittéer som framlade förslagen.

På prionfronten mycket nytt.

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Kommentera denna artikel på Lakartidningen.se

REFERENSER

1. Kristensson K, Winblad B. Han fick Nobelpris för upptäckten av prioner. Läkartidningen. 1997;94: 3699-704.
2. Grandien M, Wahren B. Fakta talar för att galna ko-sjukan kan överföras till människor. Läkartidningen. 1998;95:5499-505.
5. Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr, Alpers M. Experimental transmission of a kuru-like syndrome to chimpanzees. Nature. 1966;209:794-6.
6. Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC, Asher DM, Alpers MP, Beck E, Daniel PM, et al. Creutzfeldt–Jakob disease (spongiform encephalopathy): transmission to the chimpanzee. Science. 1968;161:388-9.
13. Prusiner SB, Groth DF, Bolton DC, Kent SB, Hood LE. Purification and structural studies of a major scrapie prion protein. Cell. 1984; 38:127-34.
14. Oesch B, Westaway D, Wälchli M, McKinley MP, Kent SHB, Aebersold R, et al. A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. Cell. 1986;46:417-28.
16. Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, Aguet M, et al. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. Cell. 1993;73:1339-47.
17. Prusiner SB, Groth D, Serban A, Koehler R, Foster D, Torchia M, et al. Ablation of the prion protein (PrP) gene in mice prevents scrapie and facilitates production of anti-PrP antibodies. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993;90:10608-12.
23. Caughey B, Baron GS, Chesebro B, Jeffrey M. Getting a grip on prions: oligomers, amyloids and pathological membrane interactions. Annu Rev Biochem. 2009;78:177-204.
24. European Commission. Report on the monitoring and testing of ruminants for the presence of transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) in the EU 2007. Office for official publications of the European communities 2009. http://www.ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse
25. Will RG, Ironside, J W, Zeidler, M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, et al. A new variant of Creutzfeldt–Jakob disease in the UK. Lancet. 1996;347:921-5.
26. The National Creutzfeldt–Jakob Disease Surveillance Unit (NCJDSU), University of Edinburgh, UK. http://www.cjd.ed.ac.uk
32. Llewelyn CA, Hewitt RE, Knight RSG, Amar K, Cousens S, Mackenzie J, Will RG. Possible transmission of variant Creutzfeldt–Jakob disease by blood transfusion. Lancet. 2004;363:417-21.
34. Brown P. Creutzfeldt–Jakob disease: reflections on the risk from blood product therapy. Haemophilia. 2007;13:33-40.
37. Lefrère JJ, Hewitt P. From mad cows to sensible blood transfusion: the risk of prion transmission by labile blood components in the United Kingdom and in France. Transfusion. 2009;49(4): 797-812.
47. Svae TE, Neisser-Svae A, Bailey A, Reichl H, Biesert L, Schmidt T, et al. Prion safety of transfusion plasma and plasma-derivatives typically used for prophylactic treatment. Transfus Apher Sci. 2008;39:59-67.
51. Health Protection Agency. Variant CJD and plasma products. July 2009. http://www.hpa.nhs.uk
53. Aguzzi A. Beyond the prion principle. Nature. 2009;459:924-5.
58. Aguzzi A, Calella AM. Prions: protein aggregation and infectious disease. Physiol Rev. 2009;89: 1105-52.
61. Linden R, Martins VR, Prado MA, Cammarota M, Izquierdo I, Brentani RR. Physiology of the prion protein. Physiol Rev. 2008;88: 673-728.