

Kaveoler – invaginationer i cellmembranet med komplex funktion

Defekter i kaveolanlag kopplade till svåra medfödda sjukdomar



KARL SWÄRD, docent, rådsforskare, institutionen för experimentell medicinsk vetenskap, Lunds universitet
karl.sward@med.lu.se
BENGT UVELIUS, professor, över-

läkare, urologkliniken Linköping; institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköpings universitet
bengt.uvelius@lio.se

Kaveoler (caveolae; latin för små hålrum) är invaginationer i cellmembranet med en diameter på mellan 50 och 100 nm (Figur 1). Kunskapen om hur kaveoler uppkommer och förställes av deras biologiska betydelse har ökat dramatiskt under det senaste årtiondet. Den som först beskrev kaveoler var George Emile Palade [1]. Palade, som sedermera belönades med Nobelpriset för sina studier av bukspottkörteln, trodde att kaveoler aktivt transporterar albumin över endotelet. Mycket talar dock för att kaveoler inte är kritiska för bulktransport av plasmaproteiner, som Palade förespråkade [2]. Fynd i genetiskt modifierade musstammar har däremot avslöjat att kaveoler spelar en väsentlig roll i lungorna, fettväven, kärlväggen och den tvärstrimmiga muskulaturen. De är även väsentliga för glukos-, triglycerid- och kolesterolhomeostas [3, 4].

Kaveolernas uppbyggnad

I början av 1990-talet fann amerikanska forskare ett protein i kaveoler som fick namnet caveolin (på svenska kaveolin) [5]. År 1996 identifierades två närbesläktade proteiner: kaveolin-2 [6] och kaveolin-3 [7]. Samtidigt ändrades det först identifierade proteinets namn till caveolin-1 (kaveolin-1). Proteinerna i den här familjen har en hårnålsstruktur med en ögla som är inbäddad i cellmembranet (Figur 1). Kaveolin-1 och -2 finns i nästan alla celler men uttrycks i särskilt hög grad av fettceller, endotelceller, epitelceller i lunga och i glatta muskelceller (Figur 1). Kaveolin-3 uttrycks i princip endast i tvärstrimmig muskulatur. Kaveolinerna bildar spontant homo- och heterooligomerer och binder direkt till kolesterol.

Eftersom man genom att forcera uttrycket av antingen kaveolin-1 eller -3 kan få kaveoler att uppkomma i celler som normalt inte har dem gjordes antagandet att kaveoliner är nödvändiga och tillräckliga för att kaveoler ska bildas. År 2008 fann man att ytterligare ett protein, som nu kallas ka-

vin-1 (cavin-1), också behövs (Figur 1) [8]. Kavin-1 stabiliserar både kaveolin-1- och kaveolin-3-kaveoler. Kavin-1 har fått sällskap av ytterligare tre besläktade proteiner, och kavinerna är nu fyra till antalet [9]. Liksom för kaveolinerna skiljer sig vävnadsdistributionen för de olika kavinerna något åt.

Signaleringshypotesen

Biokemisk upprepning av kaveoler från celler har visat att flera signalproteiner, receptorer och jonkanaler är belägna i denna membrandomän. Ett exempel är endotelialt kväveoxidsyntas (eNOS). eNOS-association med kaveoler dikteras av posttranslationell acylering, men en direkt interaktion med kaveolin-1 har även föreslagits. Ytterligare exempel är jonkanalerna HCN4 och Nav1.5, som är väsentliga för sinusknutans excitabilitet och aktionspotentialens spridning genom retledningssystemet. Fyndet att flera signalproteiner, förutom eNOS, är associerade med kaveoler var en av grundstenarna för den sk signaleringshypotesen. Man tänkte sig tex att G-proteinkopplade receptorer och G-proteiner finns i löst sammansatta makromolekylära komplex i kaveoler. G-proteinaktivering vid receptoraktivering skulle därmed underlättas [4].

Möss som saknar kaveoler

Mot bakgrunden att kaveoler kanske utgör kritiska nav i cellsigneringen var det förvånande att finna att möss som saknar kaveolin-1 var både levande och fertila [10]. Mössen var emellertid magra, med försämrad insulinreceptorstabilitet och förhöjda triglycerid- och kolesterolnivåer i plasma. Vidare sågs flera urogenitala förändringar. Lungfibros identifierades liksom pulmonell arteriell hypertoni med högersidig hjärtförstoring [3, 4]. Den senare fenotypen har knutits till »urkoppling« av eNOS med ökad produktion av fria radikaler, resulterande i lungskada [11]. Möss som saknar kaveolin-3 visade sig ha en lindrigt myopatisk fenotyp men drabbades även av hypertrofisk kardiomyopati [12].

Direkta kaveolopatier

Mycket tätt inpå identifieringen av kaveolin-3 fann man patienter med en speciell form av muskeldystrofi beroende på mutationer i den korresponderande genen [13]. Fler än 30 mutationer i kaveolin-3 har i dag identifierats hos människor, och de ger upphov till fyra distinkta men delvis överlappande sjukdomstillstånd, med lindrig muskeldystrofi/myopati som den dominerande komponenten [14]. Även familjär kardiomyopati och plötslig spädbarnsdöd har föreslagits kunna bero på mutationer i kaveolin-3. En sammanställning av antalet

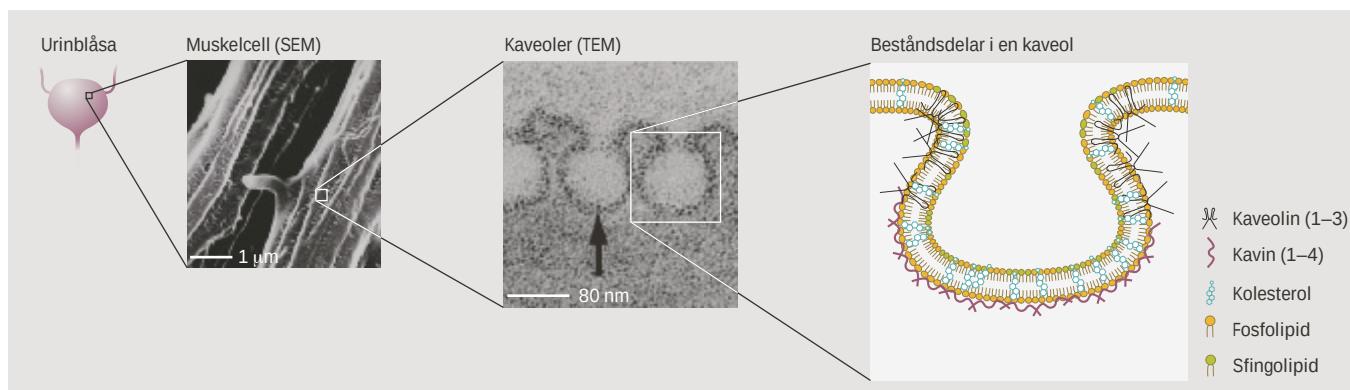
■ sammanfat tat

Kaveoler är 50–100 nm stora cellmembraninvaginationer vars biogenes är avhängig av proteiner i kaveolin- och kavinfamiljerna.

Kaveolernas struktur och funktion beror även på kolesterolhalten i cellmembranet. **Genetiska förändringar** i kaveolin- och kavingenerna har visats ge upphov till kongenitala syndrom, som karakteriseras av muskeldystrofi och lipodystrofi.

Syftet med denna översikt är

att, förutom informera om utvecklingen inom fältet, vädja om hjälp att identifiera personer med kavin-1-mutationer i den svenska eller skandinaviska populationen. **För att bättre förstå** kaveolernas komplexa fysiologiska roll och symtomatologin hos individer med sådana mutationer är det angeläget att finna hittills genetiskt odiaagnostiserade individer med någon form av kaveolopati.



Figur 1. Till höger om urinblåsan, som är schematiskt avbildad, syns en bild av glatta muskelceller tagen med svepelektromikroskop (SEM) efter digestion av basalmembranet (foto: Peter Baluk, University of California, San Fransisco, och reproducerad med hans tillstånd). Till höger om detta syns kaveoler avbildade med transmissionselektronmikroskopi (TEM). Längst till höger syns en schematisk bild av en kaveol.

distinkta mutationer i kaveolin-3 och de associerade kliniska fynden återfinns i Tabell I. Samma aminosyrasubstitution (tex T77K) kan ge proximal muskelsvaghet med kraftigt förhöjda plasmanivåer av kreatinkinas (CK), isolerad CK-förhöjning eller långt QT-syndrom (LQTS). Detta talar för att sjukdomsmanifestationen påverkas av andra faktorer, såsom livsstil, ålder och genetisk bakgrund. De här beskrivna symptomen ska därför snarast betraktas som ett kontinuum. I dagsläget rekommenderas god viktkontroll och sjukgymnastik samt uppmärksamhet vid anestesi på grund av risken för malign hypertermi. Periodiska återbesök för uppföljning av andnings-, hjärt- och muskelfunktion bör anpassas efter individen.

Individer med defekter i andra kaveolanlag identifierade

År 2008 rapporterades den första och hittills enda individen med defekter i båda kaveolin-1-anlagen, vilket leder till total avsaknad av ett funktionellt protein [16]. Patienten hittades i en grupp patienter med kongenital lipodystrofi men utan mutationer i kända orsakande gener. Förutom nästan total avsaknad av fettväv dokumenterades uttalad insulinresistens och dyslipidemi med förhöjda triglycerid- och kolesterolnivåer i plasma. Det kan inte uteslutas att det finns mycket vanligare genetiska förändringar i kaveolin-1-genen som predisponerar för t ex diabetes. Ett stöd för den hypotesen är att mutationer liknande den ovan tycks kunna ge en klinisk sjukdomsbild även när endast ett anlag är defekt [17].

Eftersom kavin-1 stabiliserar både kaveolin-1 och kaveolin-3 kunde man förutspå att individer med defekta kavinanlag skulle ha både muskelsjukdom och lipodystrofi. Mycket riktigt identifierades år 2009 fem japanska individer med exakt den sjukdomsbilden och en associerad defekt i båda kavin-1-allelerna [18]. Laboratorieprov visade lätt förhöjda triglycerid- och kolesterolnivåer och en kraftig ökning av kreatinkinas men inte påtagligt förhöjt fasteblodssocker.

En beskrivning av ytterligare elva patienter med två defekta kavin-1-anlag publicerades i mars i år [19]. Återigen rapporterades både lipodystrofi och muskelsjukdom (muskelhypertrofi och muskelsvaghet). Familjemedlemmar med endast en defekt allel uppvisade inga kliniska symptom. Hos de bäst karakteriserade homozygota individerna fann man uttalad insulinresistens, förhöjda triglyceridnivåer och en abnorm kolesterolprofil i plasma. Arytmi med LQTS rapporterades för fyra individer, och fem avled plötsligt i tonåren, sannolikt på grund av allvarliga kardiella rytmrubbningar. Av alla rappor-

terade patienter med två defekta kavin-1-anlag hade 65 procent hypertrofisk pylorusstenos, ofta i kombination med generella gastrointestinala symptom.

Kaveolernas roll vid andra sjukdomar

Förutom de ovan beskrivna direkta kaveolopatierna finns det flera andra sjukdomstillstånd där kaveolernas funktion sannolikt är indirekt påverkad. Ett exempel är Fabrys sjukdom, där brist på enzymet α -galaktosidas A resulterar i förlust av kolesterol och ackumulation av globotriaosylceramid i endotelcells-kaveolerna [20].

Niemann-Picks sjukdom betraktas traditionellt som en ly-

■ fakta 1

Kaveolin-1 är ett 20–24 kDa stort protein med hårnålsstruktur. Liksom övriga kaveoliner fäster det i cellmembranets inre blad. Det uttrycks i nästan alla vävnader, men koncentrationen är högst i lunga, endotel, fett och glatt muskel.

Kaveolin-2 uttrycks i samma celler som kaveolin-1 men oftast i lägre koncentration. Aminosyrasekvensen uppvisar stor likhet med den i kaveolin-1. Till skillnad från kaveolin-1 kan kaveolin-2 inte driva bildningen av kaveoler.

Kaveolin-3 är ett 20 kDa stort protein som uppvisar 85 procent likhet med kaveolin-1 på aminosyranivå, men det uttrycks nästan enbart i tvärstrimmig muskulatur. Det kan driva bildningen av kaveoler. Mutationer i kaveolin-3 ger upphov till vissa former av muskeldystrofi.

Kavin-1 är ett ca 55 kDa stort protein som ursprungligen benämndes PTRF. När man insåg att det tillhör en prote-

infamilj med fyra medlemmar (kavinerna) ändrades namnet år 2009. Proteinets har liksom övriga kaveriner huvudsakligen cytosolisk distribution. Proteinets har kritisk betydelse för såväl kaveolin-1- och -2- som kaveolin-3-drivna kaveoler. Det kan bilda komplex med kavin-2, -3, och -4.

Kavin-2 hade ursprungligen namnet SDPR men döptes om år 2009. Förutom till kavin-1 binder det till proteinkinas C. Det anses reglera membran-kurvaturen i kaveolerna.

Kavin-3 binder liksom kavin-2 till vissa isoformer av proteinkinas C. Det har föreslagits spela roll för avknoppning av kaveoler och bildning av intracellulära vesiklar, sk kaviclar (cavicles).

Kavin-4 är det senaste tillskottet till kavinfamiljen. Det uttrycks i främst hjärta och skelettmuskel, där det – förutom att bidra till bildningen av kaveoler – föreslagits spela roll för myogen differentiering.

TABELL I. Muskeldystrofier och kardiomyopatier orsakade av mutationer i genen som kodar för kaveolin-3. Tillstånden diagnostiseras genom immuninfärgning av en muskelbiopsi eller genetisk analys. Från Gazzero, et al [15]. CK = kreatinkinas.

Sjukdomstillstånd	Anglosaxiskt namn	Identifierade distinkta mutationer/deletioner i kaveolin-3	Kliniska tecken
Muskeldystrofi i extremitetsgördlarna	Limb girdle muscular dystrophy 1C (LGMD-1C)	15	Muskelsvaghet Proximal muskelatrofi Förhöjd CK-nivå
Idiopatisk förhöjning av CK i serum	Hyper-CK-emia (H-CK)	6	Förhöjda CK-nivåer utan muskeldystrofi eller myopati
Muskelsjukdom med fascikulationer	Rippling muscle disease (RMD)	11	Muskelstyvhet och hypertrofi Perkussionsinducerad snabb kontraktion, »mounding« och fascikulationer
Distal myopati	Distal myopathy (DM)	1	Muskelatrofi Distal muskelsvaghet Förhöjda CK-nivåer
Familjär hypertrofisk kardiomyopati	Familial hypertrophic cardiomyopathy	3	Hypertrofisk kardiomyopati utan skelettmuskel-engagemang
Långt QT-syndrom	Long QT syndrome (LQTS)	4	Mutationer upptäckta hos 4/905 patienter som remitterats för LQTS och som saknade muskelsymtom och kardiomyopati
Plötslig spädbarnsdöd	Sudden infant death syndrome (SIDS)	3	Mutationer upptäckta hos 3/133 barn som dött av SIDS

sosomal lagringssjukdom, och proteinet NPC1 har föreslagits fungera som ett kolesterolflippas i lysosommembranet. Avsaknad av denna funktion leder till att endocyterat kolesterol inte kan nå Golgiapparaten, där kaveolerna monteras. Därmed reduceras kolesterolnivån i membrankaveolerna [21]. Detta skulle kunna förklara kärlengagemanget vid Niemann-Picks sjukdom.

Kaveoler och ateroskleros

Givet kolesterols kritiska roll för uppkomst av kaveoler har det till och med föreslagits att dyslipidemi ger upphov till endotel-dysfunktion och därmed bidrar till atero- genes genom att påverka kaveolernas kolesterolhalt [22]. Denna hypotes anses vara kontroversiell av flera skäl, men om den är korrekt måste antalet sjukdomstillstånd som innefattar förändrad kaveolfunktion i patogenesen definitivt vidgas till att även innefatta folksjukdomen ateroskleros. Stöd för denna idé är observationen att möss som saknar kaveolin-1 och som samtidigt har dyslipidemi är skyddade från lipidinlagring i kärlväggen och att detta skydd försvinner om kaveolin-1 återuttrycks i endotelet [23].

Kaveolbaserad behandling tänkbar

För de direkta kaveolopatierna är det uppenbart att man genom att återställa uttrycket av kaveoliner eller kaviner i tidig ålder kanske hade kunnat förhindra sjukdomsprogressionen. Virusmedierad genöverföring har prövats på möss, med goda resultat vid muskeldystrofier som liknar dem som uppkommer vid mutationer i kaveolin-3 [24]. Frågan är dock vad man kan uppnå genom sådan behandling när den genetiska defekten identifieras i vuxen ålder.

Ytterligare en möjlighet som utvärderats med hjälp av försöksdjur är behandling med den sk interaktions- (scaffold- ing) domänpeptiden. Interaktionsdomänen är den del av kaveolinerna som anses vara väsentlig för interaktion med signalmediatorer i kaveolerna. Genom att koppla denna peptid till en cellpenetrerande aminosyrasekvens kan intracellulär distribution uppnås. Peptiden konkurrerar då med full-

längdskaveolin för bindning till signalmediatorer, och dessas intracellulära distribution påverkas. De mest lovande resultaten har man fått vid behandling av monokrotalininducerad lunghypertoni med högersidig hjärtförstoring. Både hypertoni och den högersidiga hjärtförstoringen kunde förhindras i gruppen av försöksdjur som fick peptidinjektioner [25].

Slutligen bör det också nämnas att flera kolesterolsänkande läkemedel, däribland statiner, föreslagits påverka kaveolernas funktion och antal. Evidens för att detta skulle vara en kliniskt väsentlig mekanism saknas dock ännu. Givet kaveolernas faciliterande roll vid atero- genes [23] är det lockande att selektivt försöka reducera kaveolinuttrycket för att förebygga åderförkalkning. För att undvika effekter i skelettmuskel och fettväv skulle detta dock kräva vektorer med uttalad tropism för kranskärlsendotelet.

Finns det individer som saknar kaveoler i Sverige?

Flera grundvetenskapliga landvinningar har gjorts under 2000-talet avseende kaveolernas struktur och funktion, och dessa organellers betydelse hos mus måste nu anses vara ganska väl kartlagd. Om kaveoler i alla avseenden spelar en liknande roll hos människa är däremot inte lika säkert, även om den mänskliga sjukdomsbilden överlag korresponderar väl med de fenotyper som beskrivits hos genetiskt modifierade möss. Undantag är t ex lungfenotypen, som är väl dokumenterad hos kaveolin-1-knockoutmössen men som inte framträder lika tydligt i sjukdomsbilden hos människor som saknar kaveoler.

De studier som hittills gjorts på människa är emellertid ännu mycket begränsade, och ett pulmonellt engagemang kan

»För framtida grundvetenskapliga ansträngningar på det här området hade det varit ytterst värdefullt om individer som saknar kaveoler hade identifierats i Sverige.«

inte uteslutas. För framtida grundvetenskapliga ansträngningar på det här området hade det varit ytterst värdefullt om individer som saknar kaveoler hade identifierats i Sverige. Av särskilt intresse är patienter som saknar kavin-1 eftersom denna grupp av individer saknar kaveoler i alla vävnader.

Konklusion

Sammanfattningsvis kan det konstateras att det är först under de senaste åren som vi har förstått att defekta kaveolin-

och kavinanlag ger upphov till svåra medfödda sjukdomar som karakteriseras av muskeldystrofi och lipodystrofi. Symtombilden är komplex med kardiellt, gastrointestinalt och sannolikt även urogenitalt engagemang jämte metabola störningar med insulinresistens som framträdande kännetecken. Symtombilden speglar kaveolernas kritiska roll i många vävnader och biologiska processer.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

- Palade GE. Fine structure of blood capillaries. *J Appl Physiol*. 1953; 24:1424.
- Rosengren BI, Rippe A, Rippe C, Venturoli D, Swärd K, Rippe B. Transvascular protein transport in mice lacking endothelial caveolae. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(3):H1371-7.
- Cohen AW, Hnasko R, Schubert W, Lisanti MP. Role of caveolae and caveolins in health and disease. *Physiol Rev*. 2004;84(4):1341-79.
- Rahman A, Swärd K. The role of caveolin-1 in cardiovascular regulation. *Acta Physiol (Oxf)*. 2009; 195(2):231-45.
- Rothberg KG, Heuser JE, Donzell WC, Ying YS, Glenney JR, Anderson RG. Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. *Cell*. 1992;68(4):673-82.
- Scherer PE, Okamoto T, Chun M, Nishimoto I, Lodish HF, Lisanti MP. Identification, sequence, and expression of caveolin-2 defines a caveolin gene family. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(1):131-5.
- Tang Z, Scherer PE, Okamoto T, Song K, Chu C, Kohtz DS, et al. Molecular cloning of caveolin-3, a novel member of the caveolin gene family expressed predominantly in muscle. *J Biol Chem*. 1996;271(4):2255-61.
- Hill MM, Bastiani M, Luetterforst R, Kirkham M, Kirkham A, Nixon SJ, et al. PTRF-Cavin, a conserved cytoplasmic protein required for caveola formation and function. *Cell*. 2008;132(1):113-24.
- Bastiani M, Liu L, Hill MM, Jedrychowski MP, Nixon SJ, Lo HP, et al. MURC/Cavin-4 and cavin family members form tissue-specific caveolar complexes. *J Cell Biol*. 2009;185(7):1259-73.
- Drab M, Verkade P, Elger M, Kasper M, Löhn M, Lauterbach B, et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science*. 2001;293(5539):2449-52.
- Zhao YY, Zhao YD, Mirza MK, Huang JH, Potula HH, Vogel SM, et al. Persistent eNOS activation secondary to caveolin-1 deficiency induces pulmonary hypertension in mice and humans through PKG nitration. *J Clin Invest*. 2009;119(7):2009-18.
- Hagiwara Y, Sasaoka T, Araishi K, Imamura M, Yorifuji H, Nonaka I, et al. Caveolin-3 deficiency causes muscle degeneration in mice. *Hum Mol Genet*. 2000;9(23):3047-54.
- Minetti C, Sotgia F, Bruno C, Scartezzini P, Broda P, Bado M, et al. Mutations in the caveolin-3 gene cause autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy. *Nat Genet*. 1998;18(4):365-8.
- Woodman SE, Sotgia F, Galbiati F, Minetti C, Lisanti MP. Caveolinopathies: mutations in caveolin-3 cause four distinct autosomal dominant muscle diseases. *Neurology*. 2004;62(4):538-43.
- Gazzerro E, Sotgia F, Bruno C, Lisanti MP, Minetti C. Caveolinopathies: from the biology of caveolin-3 to human diseases. *Eur J Hum Genet*. 2010;18(2):137-45.
- Kim CA, Delépine M, Boutet E, El Mourabit H, Le Lay S, Meier M, et al. Association of a homozygous nonsense caveolin-1 mutation with Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(4):1129-34.
- Shu L, Shayman JA. Caveolin-associated accumulation of globotriaosylceramide in the vascular endothelium of alpha-galactosidase A null mice. *J Biol Chem*. 2007;282(29):20960-7.
- Cao H, Alston L, Ruschman J, Hegele RA. Heterozygous CAV1 frameshift mutation (MIM 601047) in patients with atypical partial lipodystrophy and hypertriglyceridemia. *Lipids Health Dis*. 2008;7:3.
- Hayashi YK, Matsuda C, Ogawa M, Goto K, Tominaga K, Mitsuhashi S, et al. Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2623-33.
- Rajab A, Straub V, McCann LJ, Seelow D, Varon R, Barresi R, Schulze A, et al. Fatal cardiac arrhythmia and long-QT syndrome in a new form of congenital generalized lipodystrophy with muscle rippling (CGL4) due to PTRF-CAVIN mutations. *PLoS Genet*. 2010;6(3):e1000874.

Prenumerera på Läkartidningen!

Ring 08-790 33 41

Utmanande
saklig

Läkartidningen