
Finländsk och svensk familjär amyloidos

PETER MAURY

Den finländska familjära amyloidotiska polyneuropatin är en långsamt progredierande sjukdom som nedärvs autosomt dominant, debuterar i vuxen ålder och kännetecknas av kranial neuropati, korneal dystrofi och hudförändringar och senare i sjukdomsförloppet av njur- och hjärtmanifestationer. Sjukdomen orsakas av en punktmutation i gelsolingenen på kromosom 9 (G654A/T) som resulterar i en variant gelsolinmolekyl (Asp→Asn/Tyr 187). Till följd av aminosyrasubstitutionen sker en avvikande veckning av molekylen som ytexponerar ett nytt nedbrytningsställe vid 172–173. Via furin- och MT1-metalloproteasemedierad proteolys bildas det 71 aminosyror långa gelsolinfragment som är specifikt för sjukdomen och som snabbt polymeriseras i vävnaderna till svårösliga amyloidfibriller.

Den svenska familjära amyloidotiska polyneuropatin, som också beskrivits i Finland, är däremot relaterad till ett annat amyloidogent protein, transtyrelin (prealbumin), och karaktäriseras av en svår, progredierande perifer och autonom neuropati. Till följd av en Val→Met 30 substitution i transtyrelin sker en dissociation av den normalt tetramera molekylen till monomerer som polymeriseras till amyloid. Samma mutation orsakar också den portugisiska, japanska och sydamerikanska formen av hereditär transtyrelinamyloidos.

Inledning

Amyloidos betecknar en rad tillstånd som karaktäriseras av vävnadsinlagringar bestående av proteinfibriller med en typisk β -struktur. Fibrillerna uppvisar vissa enhetliga fysikaliska egenskaper, bl.a. affinitet för kongorött och en gulgrön dubbelbrytning i polariserat ljus efter kongofärgningen. Man har i dag identifierat 28 olika amyloidproteiner där en del har rönt stor uppmärksamhet, såsom amyloid- β vid Alzheimers sjukdom, amylin vid typ 2-diabetes och PrP-amyloid vid prionrelaterade sjukdomar (1).

Amyloidoserna klassificeras på basis av fibrillernas proteintyp och indelas i systemiska och lokala, akvirerade och ärftliga former. Den klassiska indelningen av de systemiska amyloidoserna är den i en primär, immunoglobulinrelaterad (AL) typ, i en sekundär, inflammationsrelaterad (AA) typ och i en hereditär prealbumin(transtyrelin)relaterad neuropatisk form. Den svenska familjära amyloidosen, "skellestesjukan", tillhör transtyrelinamyloidoserna, medan den i Finland förekommande familjära amyloidneuropatin,

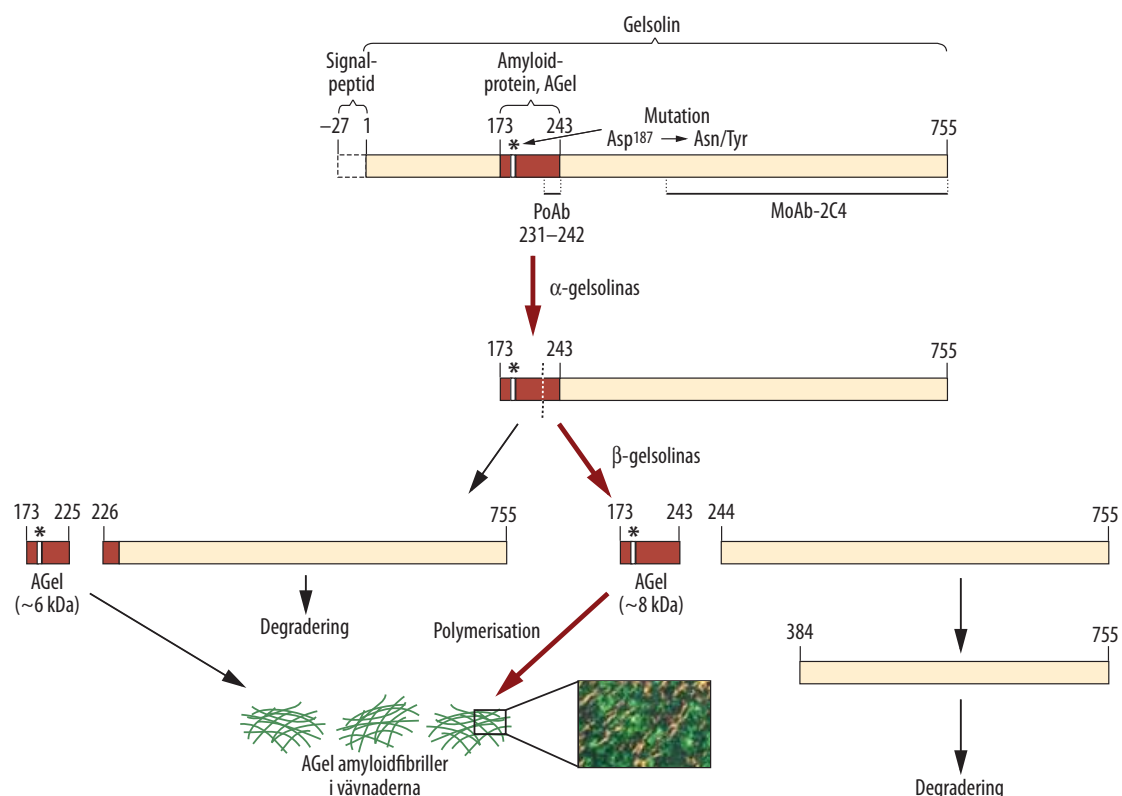
Meretojas sjukdom (2), är relaterad till ett annat protein, gelsolin (3).

Finländsk familjär amyloidos

Den finländska hereditära amyloidosen (Meretojas sjukdom, AGel-amyloidos) utgör en kliniskt och biokemiskt distinkt enhet (typ IV) bland de familjära amyloidotiska polyneuropatisyndromen. Sjukdomen tillhör det s.k. finländska sjukdomsarvet (4) och kännetecknas av kranial neuropati, korneal dystrofi,

FÖRFATTAREN

Peter Maury är professor i invärtes medicin vid Helsingfors universitet. Med en bakgrund i medicinsk biokemi har han i sin forskning koncentrerat sig på frågor om molekylära mekanismer vid amyloidos och cytokinernas roll i inflammationsprocessen.



Figur 1. Schematisk representation av fibrillogenesis vid AGel-amyloidos. Den initiala klyvningen av den mutanta gelsolinmolekylen (α -gelsolinassteget) leder till amyloidprekursorn 173–755 som undergår ytterligare nedbrytning (β -gelsolinassteget) för att ge upphov till det amyloidogena huvudfragmentet 173–243 och ett sidofragment 173–225 vilka snabbt polymeriserar till AGel-amyloidfibriller. Polarisationmikroskopi efter färgning med kongorött visar den gulgröna dubbelbrytning som kännetecknar amyloid. Med en antikropp riktad mot den amyloidogena delen av gelsolin (PoAb 231–242) kan AGel-depositionerna specifikt färgas vid immunhistokemi (31), medan den kommersiellt tillgängliga monoklonala antikroppen MoAb-2C4, riktad mot den C-terminala icke-amyloidogena delen av gelsolin, ger en ospecifik färgning. De röda pilarna visar den huvudsakliga amyloidbildande vägen. Figuren baserar sig på artiklarna (7) och (8).

hudförändringar och senare i sjukdomsförloppet av njur- och hjärtmanifestationer (2). Den nedärvs autosomt dominant. Över 300 fall hade registrerats i Finland redan i slutet av 1970-talet, medan endast enstaka fall har rapporterats från andra länder, bl.a. Holland, Danmark, Frankrike, USA och Japan. De finländska amyloidospatienterna antas alla härstamma från en person som levde på medeltiden i sydöstra Finland; en anrikning av patienterna förekommer fortfarande i Kymmenedalen och södra Tavastland.

I motsats till de familjära amyloidotiska polyneuropatierna typ I och II som är relaterade till amyloid fibril depositioner av transtyrelin (prealbumin) typ, visade sig fibrillerna vid

Meretojas amyloidos utgörs av ett unikt amyloidprotein relaterat till gelsolin, ett aktinmodulerande protein (3,5,6). En fullständig strukturanalys (7,8) avslöjade att fibrillernas huvudkomponent är ett 71 aminosyror långt fragment som härstammar från gelsolinets inre region (domän 2) och innehåller aminosyrasubstitutionen (Asp→Asn) vid position 15 motsvarande position 187 i prekursor-molekylen (Figur 1). Utgående från proteinstrukturen kunde gendefekten, punktmutationen (G654A) i gelsolingenen på kromosom 9 identifieras genom hybridiseringsteknik med allelspecifika oligonukleotider (9, 10).

Alla undersökta finländska patienter med AGel amyloidos har konstaterats ha samma

G654A mutation i gelsolingenen, likaså några obesläktade amerikanska och japanska AGel-familjer (11–14). Däremot har en dansk och en tjeckisk familj med AGel-amyloidosis visat sig ha en annan mutation (G→T) i samma position (654) som förutsäger en tyrosin 187-substitution i proteinsekvensen (15). Den kliniska bilden vid den danska AGel (G654T)-amyloidosen skiljer sig inte från den finländska AGel (G654A)-amyloidosen (16). Sjukdomen debuterar i allmänhet i 30–40-årsåldern och har ett relativt långsamt förlopp. Homozygotitet för G654A-mutationen, som finns beskriven hos ett syskonpar (17), associerar däremot med tidigt insättande njursvikt.

Molekylära mekanismer

Kännetecknande för alla amyloidproteiner är en konformationsförändring av den normala proteinstrukturen, vilket leder till fibrillbildning. De enskilda molekylerna, som är lagrade vinkelrätt mot fibrillriktningen, domineras av en β -struktur som ger avsevärd stabilitet och stor motståndskraft mot kroppens egna nedbrytande enzymssystem – något som karaktäriserar amyloidfibrillerna över lag.

Vid AGel-amyloidogenesen (Figur 1) sker en avvikande proteolys av prekursor-gelsolinmolekylen: substitutionen av asparaginsyra i position 187 till asparagin (oladdad) eller tyrosin (hydrofob) inducerar ett nytt nedbrytningsställe i molekylen vid 172–173 genom en förändring i proteinveckningen som ytexponerar denna region (7, 18–20). Den initiala furin-medierade nedbrytningen (α -gelsolinassteget) efterföljs av ytterligare fragmentering via MT1-metalloproteaskatalyserade reaktioner (β -gelsolinassteget, 21) vilket leder till uppkomsten av det amyloidogena 71 aminosyror långa gelsolinfragmentet (7, 8, 18) som snabbt polymeriseras till fibriller. Dessa deponeras extracellulärt med en för sjukdomen typisk vävnadsdistribution.

Det aberranta gelsolinfragmentet kan påvisas i cirkulationen hos patienter med AGel-amyloidosis och utnyttjas för diagnostiskt ändamål (8). Ett motsvarande fragment produceras också av odlade COS-1 celler som transfekterats med muterat gelsolin (22, 23). Den furinmedierade klyvningen av gelsolin är beroende av kalciumaffinitet i domän 2; de amyloidogena mutationerna minskar kalciumaffiniteten vilket möjliggör den enzymatiska nedbrytningen.

Gelsolin är ett aktinmodulerande protein som förekommer i både en cytoplasmisk och

en sekreterad form. Gelsolinet deltar i flera viktiga processer, bl.a. cellformning och -motilitet, signaltransduktion, apoptosinhibition och klarering av aktinfilament från cirkulationen. Det är oklart om gelsolinmutationerna Asn/Tyr 187 i den funktionellt viktiga domän 2 har kliniskt relevanta konsekvenser; in vitro kan man dock påvisa en klart nedsatt aktinmodifierande funktion av mutant cirkulerande gelsolin (24).

Svensk familjär amyloidosis

Den svenska familjära amyloidotiska polyneuropatin (typ I, skelleftesjukan, ATTR-amyloidosis) är en svår sjukdom som nedärvs autosomt dominant. Den debuterar i allmänhet i vuxen ålder med progressiv perifer neuropati för att senare i sjukdomsförloppet engagera också det autonoma nervsystemet med svåra gastrointestinala funktionsrubbingar, blåsrubbingar, impotens och ortostatisk hypotension som följd. Hjärt- och njurmanifestationer samt ögonproblem beroende på amyloidinlagringar i glaskroppen är inte ovanliga. De flesta patienter förekommer i trakten av Skellefteå och Piteå (25). Också i Finland har åtminstone en familj med ATTR-amyloidosis påträffats (26).

Sjukdomen beror på en punktmutation i transtyretinen som leder till substitutionen valin → metionin i position 30 i transtyretin (TTR, prealbumin). Till följd av substitutionen tenderar TTR, som normalt är en homotetramer, att dissociera till monomerer och inleda amyloidogenesen. Förutom den svenska amyloidosen orsakar samma mutation, TTR Val30Met, också den portugisiska, japanska och sydamerikanska formen av familjär amyloidotiska polyneuropati typ I. Svenska och portugisiska patienter har konstaterats ha olika haplotyper (27). Homozygotitet för TTR Met 30 har beskrivits; sjukdomsbilden motsvarar den hos heterozygota personer men inte i en svårare form (28).

TTR Val30Met är inte den enda mutation av transtyretin som orsakar amyloidosis. I själva verket har 98 amyloidosassocierade mutationer i TTR-molekylen rapporterats (29). Förutom neuropati, kan den kliniska bilden kännetecknas av bl.a. kardiomyopati. Sådana varianter har beskrivits i både Sverige och Danmark. Observeras bör att transtyretinrelaterad amyloidosis kan förekomma även i en icke-hereditär form, den s.k. senila systemiska amyloidosen (1).

Diagnostik

Som vid diagnostiseringen av amyloidos i allmänhet är det viktigt att fatta misstanken om AGel- eller ATTR-amyloidos. Kännedom om den kliniska bilden vid dessa syndrom och en noggrann släktanamnes leder snabbt in klinikern på rätt spår. Vid AGel-amyloidos kan en oftalmologisk undersökning vara avgörande. Påvisandet av amyloid i ett vävnadsprov utgör grunden för all amyloidosdiagnostik. Bukfettsbiopsi är en enkel, snabb och i vana händer tillförlitlig metod som även lämpar sig för diagnostisering av familjära systemiska amyloidoser (13, 14, 30). Immunohistokemiskt kan amyloiden typas. När det gäller AGel bör en antikropp riktad mot den amyloidogena delen av gelsolinmolekylen användas (31). Det finns DNA-test för mutationsspecifik diagnostik (9–12, 15).

Presymtomatisk testning

Av dem som ärvt mutationen Val30Met av den ena av sina föräldrar är det inte flera än 10 procent som insjuknar. Inget test kan för närvarande visa vilka av dessa anlagsbärare som kommer att få symtom. Ingen profylaktisk behandling och inga förebyggande åtgärder finns heller att tillgå. Därför används presymtomatisk testning sällan i praktiken.

Terapeutiska synpunkter

Trots amyloidfibrillernas svårlöslighet och relativa proteasresistens kan en resorption av amyloidsubstansen under vissa förhållanden vara möjlig. Detta kan ske om t.ex. amyloidprekursornivån sänks eller prekursor helt elimineras (32). En förbättring av organ/vävnadsfunktionen är då möjlig om amyloidinlagringarna inte har orsakat irreversibla skador. En tidig diagnos är i allmänhet en förutsättning för framgångsrik terapi.

TTR syntetiseras nästan uteslutande i levern, och produktionen av den muterade, amyloidogena TTR-varianten kan i stor utsträckning elimineras med levertransplantation. Vid tidig transplantation har relativt goda resultat erhållits (33), men i synnerhet hjärtmanifestationerna, om sådana förekommer, tenderar att progrediera.

Experimentellt kan man stabilisera TTR med småmolekylära organiska föreningar som binder sig till transthyretintetrameren (34, 35). En sådan molekyl är diflusal, ett modifierat

icke-steroidalt anti-inflammatoriskt läkemedel, som för tillfället genomgår en klinisk prövning i syfte att klarlägga dess effekt för att hindra progressionen av ATTR-amyloidos (29). Även genterapeutiska metoder har diskuterats i detta sammanhang, bl.a. antisensoligonukleotidmetodik för suppression av TTR-syntesen i levern (36) och ribozymteknik för hämning av TTR-uttrycket i hepatocyterna (37). Dessa tekniker är dock på ett helt experimentellt stadium.

Någon specifik behandling för AGel-amyloidos finns inte. Korneadystrofin kan behandlas med hornhinnetransplantation. Plastikkirurgiska ingrepp är ofta nödvändiga p.g.a. den kraniala neuropatin. Vid AGel-homozygotitet (Asn-187) kan njurtransplantation bli aktuellt (17).

Professor Peter Maury
Institutionen för klinisk medicin
Helsingfors universitet
Kaserngatan 11–13
00130 Helsingfors
peter.maury@hus.fi

Referenser

1. Westermark P. Aspects of human amyloid forms and their fibril polypeptides. *FEBS J* 2005;272:5942-49.
2. Meretoja J. Familial systemic paramyloidosis with lattice dystrophy of the cornea, progressive cranial neuropathy, skin changes and various internal symptoms. A previously unrecognized heritable syndrome. *Ann Clin Res* 1969;1:314-324.
3. Maury CPJ, Alli K, Baumann M. Finnish hereditary amyloidosis. Amino acid sequence homology between the amyloid fibril protein and human plasma gelsoline. *FEBS Lett* 1990;260:85-87.
4. Peltonen L, Jalanko A, Varilo T. Molecular genetics of the Finnish disease heritage. *Hum Mol Gen* 1999;8:1913-23.
5. Maury CPJ, Baumann M. Isolation and characterization and cardiac amyloid in familial amyloid polyneuropathy type IV (Finnish): relation of the amyloid protein to variant gelsolin. *Biochim Biophys Acta* 1990;1096:84-86.
6. Haltia M, Prelli F, Ghiso J, Kiuru S, Somer H, Palo J et al. Amyloid protein in familial amyloidosis (Finnish type) is homologous to gelsolin, an actin binding protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;167:927-932.
7. Maury CPJ. Gelsolin-related amyloidosis. Identification of the amyloid protein as a fragment of the actin-binding domain of variant gelsolin. *J Clin Invest* 1991;87:1195-99.
8. Maury CPJ, Sletten K, Totty N, Kangas H, Liljeström M. Identification of the circulating amyloid precursor and other gelsolin metabolites in patients with G654A mutation in the gelsolin gene (Finnish familial amyloidosis): Pathogenetic and diagnostic implications. *Lab Invest* 1997;77:299-304.
9. Maury CPJ, Kere J, Tolvanen R, de la Chapelle A. Finnish hereditary amyloidosis is caused by a single nucleotide substitution in the gelsolin gene. *FEBS Lett* 1990;276:75-77.

10. Levy E, Haltia M, Fernandez-Madrid I, Koivunen O, Ghiso J, Prelli F et al. Mutation in gelsolin gene in Finnish hereditary amyloidosis. *J Exp Med* 1990;172:1865-67.
11. de la Chapelle A, Kere J, Sack GH Jr, Tolvanen R, Maury CPJ. Familial amyloidosis, Finnish type: G54A mutation of the gelsolin gene in Finnish families and an unrelated American family. *Genomics* 1992;1:8998-901.
12. Paunio T, Kiuru S, Hongell V, Mustonen E, Syvänen AC, Bengström M et al. Solid-phase minisequencing test reveals Asp187-Asn (G654-A) mutation of gelsolin in all affected individuals with Finnish type of familial amyloidosis. *Genomics* 1992;13:237-239.
13. Makishita H, Ikeda S, Yazaki M, Yamane M, Yomomoto K, Maury CPJ et al. Postmortem pathological findings in a Japanese patient with familial amyloidosis, Finnish type (FAF). *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 1996;3:134-139.
14. Kiuru S. Gelsolin-related familial amyloidosis, Finnish type (FAF), and its variants worldwide. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 1998;5:55-66.
15. de la Chapelle A, Tolvanen R, Boysen G, Santavy J, Bleeker-Wagemakers L, Maury CPJ et al. Gelsolin-derived familial amyloidosis caused by asparagine or tyrosine substitution for aspartic acid at residue 187. *Nature Genet* 1992;2:157-160.
16. Maury CPJ, Liljeström M, Boysen G, Törnroth T, de la Chapelle A, Nurmiaho-Lassila EL et al. Danish type gelsolin related amyloidosis: 654G-T mutation is associated with a disease pathogenetically and clinically similar to that caused by the 654G-A mutation (familial amyloidosis of the Finnish type). *J Clin Path* 2000;53:95-99.
17. Maury CPJ, Kere J, Tolvanen R, de la Chapelle A. Homozygosity for the Asn 187 gelsolin mutation in Finnish-type familial amyloidosis is associated with severe renal disease. *Genomics* 1992;13:902-903.
18. Maury CPJ, Nurmiaho-Lassila EL, Rossi H. Amyloid fibril formation in gelsolin-derived amyloidosis. Definition of the amyloidogenic region and evidence of accelerated amyloid formation of mutant Asn-187 and Tyr-187 gelsolin peptides. *Lab Invest* 1994;70:558-564.
19. Isaacson RL, Weeds AG, Fersht AR. Equilibria and kinetics of folding of gelsolin domain 2 and mutants involved in familial amyloidosis-Finnish type. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1999;96:11247-252.
20. Chen CD, Huff ME, Matteason J, Page L, Phillips R, Kelly JW et al. Furin initiates gelsolin familial amyloidosis in the Golgi through a defect in Ca(2+) stabilization. *EMBO J* 2001;20:6277-87.
21. Page LJ, Suk JY, Huff ME, Lim HJ, Venable J, Yates III J et al. Metalloprotease cleavage triggers gelsolin amyloidogenesis. *EMBO J* 2005;24:4124-32.
22. Paunio T, Kangas H, Kalkkinen N, Jalanko A, Peltonen L. Towards understanding the pathogenetic mechanisms in gelsolin-related amyloidosis: in vitro expression reveals an abnormal gelsolin fragment. *Hum Mol Genet* 1996;5:1237-43.
23. Paunio T, Kangas H, Heinonen O, Buc-Caron MH, Robert JJ, Kaasinen S et al. Cells of the neuronal lineage play a major role in the generation of amyloid precursor fragments in gelsolin-related amyloidosis. *J Biol Chem* 1998;273:16319-324.
24. Weeds AG, Gooch J, McLaughlin P, Maury CPJ. Variant plasma gelsolin responsible for familial amyloidosis (Finnish type) has defective actin severing activity. *FEBS Lett* 1993;335:119-123.
25. Suhr OB, Svendsen IH, Andersson R, Danielsson A, Holmgren G, Ronlov PJ. Hereditary transthyretin amyloidosis from a Scandinavian perspective. *J Int Med* 2003;254:225-235.
26. Drugge U, Holmgren G, Udd B. The first case of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP Met30) in the Finnish population. *Hum Hered* 1992;42:184-188.
27. Zaros C, Genin E, Hellman U, Saporta MA, Languille L, Wadington-Cruz M et al. On the origin of the transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *Ann Hum Genet* 2008;72:478-484.
28. Yoshinaga T, Nakazato M, Ikeda S, Ohnishi A. Homozygosity for the transthyretin-Met 30 gene in three Japanese siblings with type I familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology* 1992;42:2045-47.
29. Benson MD, Kincaid JC. The molecular biology and clinical features of amyloid neuropathy. *Muscle&Nerve* 2007;36:411-423.
30. Westermark P, Davey E, Lindbom K, Enqvist S. Subcutaneous fat tissue for diagnosis and studies of systemic amyloidosis. *Acta Histochem* 2006;108:209-213.
31. Maury CPJ. Immunohistochemical localization of amyloid in Finnish hereditary amyloidosis with antibodies to gelsolin peptides. *Lab Invest* 1991;64:400-404.
32. Pettersson T, Konttinen YT, Maury CPJ. Treatment strategies for amyloid A amyloidosis. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9:2117-28.
33. Yamamoto S, Wilczek HE, Nowak G, Larsson M, Oksanen A, Iwata T et al. Liver transplantation for polyneuropathy (FAP): a single-center experience over 16 years. *Am Transpl* 2007;7:2597-2604.
34. Hammarström P, Wiseman RL, Powers ET, Kelly JW. Prevention of transthyretin amyloid disease by changing protein misfolding energetics. *Science* 2003;299:713-716.
35. Julius RL, Farha OK, Chiang J, Perry LJ, Hawthorne MF. Synthesis and evaluation of transthyretin amyloidosis inhibitors containing carborane pharmacophores. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2007;104:4808-4813.
36. Benson MD, Kluge-Beckerman B, Zeldenerust SR, Siesky AM, Bodenmiller DM, Showalter AD et al. Targeted suppression of an amyloidogenic transthyretin with antisense oligonucleotides. *Muscle&Nerve* 2006;33:609-618.
37. Tanaka K, Yamada T, Ohyagi Y, Asahara H, Horiuchi I, Kira JI. Suppression of transthyretin expression by ribozymes: a possible therapy for familial amyloidotic polyneuropathy. *J Neurol Sci* 2001;183:79-84.