

Forskere efterligner naturen

Med avancerede teknikker har forskerne lært så meget om, hvordan kroppen selv reparerer ødelagt muskelvæv, at de gør naturen kunsten efter på mus med muskelsvind

Af Rasmus Dahl

Foto: Grafik & Klinisk Foto, Odense Universitetshospital

Hvordan reparerer en rask krop beskadiget muskelvæv? Hvordan kan vi mennesker gøre kroppen kunsten efter? Kan vi bruge denne kunst til at give en muskelsvindmuskel mindre svind?

Grundlæggende er det disse tre spørgsmål, forskerne i Muskelgruppen ved Patologisk Institut på Odense Universitetshospital forsøger at besvare. Muskelgruppen, der tidligere hed Det Neuromuskulære Laboratorium, ledes af professor, dr. med. Henrik Daa Schrøder, som har sammensat en forskergruppe, der samarbejder om at finde de gode svar på spørgsmålene. Det kræver et stort og omfattende arbejde, for lige så enkelt det er at stille spørgsmålene, lige så kompliceret er det at finde svarene.

Muskelsvindfonden støtter Henrik Daa Schrøders professorat, der er 5-årigt, med 300.000 kr. og i den anledning besøgte Muskelkraft Muskelgruppen i april og fik et spændende kig ind i forskningens verden.

Biokemiske håndtag

Muskelgruppens landvindinger bunder i en stadig dybere forståelse af, hvordan den raske krop reparerer sig selv, når muskelceller går til grunde eller ødelægges, uanset om det skyldes almindelig belastning, en udefra kommende skade eller en sygdom som f.eks. muskelsvind. Man ved endnu ikke, hvordan det sker, men når en skade på muskelvævet er opstået, vandrer muskelstamceller hen til stedet sammen med hvide blodlegemer. De hvide blodlegemer fjerner affaldsstofferne efter skaden, og stamcellerne begynder at dele sig og udvikle sig til nye muskelceller til erstatning for de ødelagte. Når skaden er repareret, standser delingen af stamcellerne.

I processens forløb optræder en række forskellige proteinstoffer, som bliver dannet af stamcellerne styret af den genetiske kode, der ligger gemt i stamcellernes cellekerner, altså i stamcellernes DNA. Muskelgruppens forskere behersker i dag teknikker til at finde ud af, hvilken del af den genetiske kode, der er aktiv, det kaldes genudtrykket, og dermed kan de se, hvilke proteiner cellen vil producere. Metoden hedder PCR (Polymerase Chain Reaction), og med den kan man følge helings- eller regenerationsprocessen ned i dens mindste biokemiske detaljer.

Der er stadig mange uafklarede elementer i helingsprocessen, men forskerne ved allerede nu, at man kan betragte proteinerne som biokemiske reguleringsmekanismer for stamcellernes egenskaber og dermed for processen med at reparere skadet væv. I en række tilfælde kan Muskelgruppens forskere så at sige skrue på reguleringshåndtagene og dermed ændre regenerationsprocessen, som de ønsker det. Eller de kan identificere og dyrke de stamceller, der er bedst egnede til at bruge til behandling ved transplantation.

Stamcelletransplantation

Muskelgruppen består ud over af Henrik Daa Schrøder af cand.scient., ph.d. Charlotte Harken Jensen og de ph.d.-studerende Stine Petersen, Ditte Andersen, Louise Helskov Jørgensen og stud.scient. Jeeva Sellathurai. I et samarbejde, der kan minde om et orkester, hvor Henrik Daa Schrøder og Charlotte Harken Jensen er dirigenter, lægges brikkerne i form af enkeltprojekter til det puslespil, der til sammen giver svarene på de store spørgsmål.

Stine Petersen arbejder med analysen af regenerationsprocessen, som hun følger ved en serie undersøgelser af skader på musemuskler. Ved hjælp af den avancerede PCR-maskine aflæser hun genudtrykket, 1 dag, 2 dage, 3 dage osv. op til 14 dage, efter at skaden er opstået og finder på denne måde ud af, hvilke gener og dermed hvilke proteiner der er aktive på et givet tidspunkt, efter at musen har fået skadet sin muskel. Dette arbejde afdækker trin for trin forekomsten af de proteinstoffer, kroppen selv benytter for at reparere en skade.

Næste skridt for Stine Petersen er at lave et lignende forskningsprogram, der kan vise, om menneskemuskel opfører sig på samme måde som musemusklen.

Man har tidligere lavet forsøg med transplantation af stamceller til de såkaldte mdx-mus, der ligesom mennesker med Duchennes muskeldystrofi mangler proteinet dystrofin. Man prøvede simpelthen at indsprøjte stamceller direkte i blodbanen på de syge mus, men selv om stamcellerne selv kunne fordele sig til musens skadede muskler og begynde en reparationsproces, så hjalp det forbausende lidt på musenes almentilstand. Muskelgruppen forsøger derfor nu at opformere stamceller, når de er i den fase, hvor de er bedst til at reparere skadet væv, hvilket man ved som et resultat af Stine Petersens arbejde.

På baggrund af denne viden er det Ditte Andersens speciale at kunne sortere stamcellerne, efter hvilke proteiner der er aktive i dem, så man kan isolere de mest potente og bruge dem til transplantation.

Jeeva Sellathurais dyrker og opformerer stamcellerne, så man har passende mængder til forsøgene, og det er ikke så enkelt. Det vanskelige er at holde cellerne på stamcelleniveau og få dem til at dele sig uden at modne til færdige muskelceller. Samtidig skal man sikre sig, at cellerne ikke begynder at vokse sammen, ligesom det er en stor risiko, at der pludselig begynder at udvikle sig bindevæv i muskelcellevævet.

Sammenfattende kan man ifølge Henrik Daa Schrøder sige, at Stine Petersen arbejder på at kunne afdække, i hvilken fase stamcellerne er mest potente og bedst egnede til transplantation. De egnede celler vil kunne sorteres fra de uegnede med de sorteringsteknikker, Ditte Andersen udvikler. Passende mængder af egnede stamceller vil så kunne dyrkes og opformeres af Jeeva Sellathurai, til der er nok til nye forsøg eller behandling ved transplantation.

"Det er ikke, fordi det er så indviklet, det tager bare år at nå så langt," siger Henrik Daa Schrøder.

Behandling af mus

At man muligvis kan behandle muskelsvind med transplantation af stamceller, er bare et af flere behandlingsspor. Forskernes indsigt i funktionen af de forskellige proteiner, der optræder under stamcellernes reparationsproces, har vist nye veje. Man ved nu, at proteinet FA1 har betydning for delingsevnen og dermed væksten af cellerne, og at proteinet NCAM betyder noget for stamcellernes evne til at fusionere med hinanden og andre celler. Når der ikke er behov for yderligere stamcelledeling, optræder proteinet myostatin, der får delingsprocessen til at standse.

Denne viden forbereder Muskelgruppens medlemmer sig på at bruge til at behandle mus med muskelsvind – de såkaldte mdx-mus. For ikke så mange år siden blev det betragtet som en mulighed, at muskelsvind kunne skyldes, at stamcellernes evne til at reparere skadet muskeltvæv på en eller anden måde var defekt. Men i dag ved man, at sådan er det ikke. Tværtimod kan man konstatere, at der er fuldt tryk på stamcellernes forsøg på at reparere mdx-musenes muskelskader. Uden hjælp kan musenes stamceller bare ikke holde trit med den nedbrydning af muskeltvæv, der skyldes muskelsvindsygdommen.

Forsøg har vist, at det går meget bedre, når man blokerer for mdx-musenes dannelse af myostatin. Stamcellerne bliver så ved med at dele sig langt ud over det normale, og musene får mærkbart mindre muskelsvind – i hvert fald på kort sigt. Hvad der sker på langt sigt, ved man ikke.

Med genmanipulation kan man også få musenes celler til at lave mere FA1-protein end normalt, og det bevirker, at skader på musenes muskler bliver repareret meget hurtigere end normalt. Man har endnu ikke prøvet denne teknik på mdx-mus, men det vil ske i den nærmeste fremtid, ligesom Muskelgruppen har planer om at lave forsøg med mus, der er blevet genmanipuleret til at lave mere NCAM end normalt.

"Boosting"

Teknikken med at få musene til at producere mere af et protein end normalt kaldes "boosting". Boosting-teknikken benytter man bl.a. på proteinet ADAM12, der formentlig deltager i stamcelleprocessen ved at forhindre stamcellerne i at modne til færdige muskelceller, før der er behov for det. Men ADAM12 styrer også dannelsen af proteinet utrofin, der ligesom dystrofin har betydning for stabiliseringen af muskelcellemembranen. Dystrofin er det protein, mennesker med Duchennes muskeldystrofi mangler, og på grund af denne mangel nedbrydes deres muskelsceller unormalt hurtigt.

Henrik Daa Schrøder fortæller, at han har været med til at lave et forsøg, hvor man har genmanipuleret mdx-mus, der ikke har noget dystrofin, så de har fået boosted deres ADAM12-produktion. Dermed fik musene også meget mere af det stabiliserende utrofin, og selv om musene stadig ikke havde noget dystrofin, fik de, lidt populært sagt, meget mindre muskelsvind.

Ved booster-teknikken er det genetisk manipulation, der får cellerne til at øge produktionen af bestemte stoffer, kroppen allerede har, men som det kan være hensigtsmæssigt at have mere af. Denne teknik har den fordel, at man aldrig støder ind i reaktioner fra immunsystemet, fordi det stof, man får mere af, allerede er kendt og accepteret af kroppen. Både ved transplantation af stamceller eller hvis man genmanipulerer mdx-mus til at producere dystrofin, som de netop ikke producerer i forvejen, kan man risikere ubehagelige reaktioner fra immunsystemet.

Det er ph.d.-studerende Louise Helskov Jørgensen, der i starten af sin ansættelse i Muskelgruppen blev finansieret af støtten fra Muskelsvindfonden, der arbejder videre med boosting-teknikken. I dag er hendes forskning støttet af Lundbeckfonden, og udover ADAM12-boosting skal hun undersøge, hvad der sker, hvis man booster FA1.

Steroidbehandling

Sidste forår anbefalede en international kreds af forskere og behandlere, at Duchennes muskeldystrofi bliver behandlet med steroider. Under ledelse af professor Kate Bushby fra Newcastle, England, arbejdes der for øjeblikket på højtryk for at få en forskningsprotokol klar, så man ved et stort anlagt internationalt forsøg kan få afklaret præcis, hvordan det er bedst at steroid-behandle. Muskelgruppen har kontaktet Kate Bushby og bedt om at få lov til at deltage i forsøget. Ved hjælp af PCR-teknikken håber Henrik Daa Schrøder dels at kunne finde ud af, hvorfor steroid virker på Duchennes muskeldystrofi, dels at kunne sige noget om steroid-doseringens betydning for behandlingsresultatet på langt sigt.

En af teorierne er, at steroid virker ved at blokere for myostatin, så stamcellereparationen ikke stoppes. En PCR-analyse af en celleprøve fra en Duchenne-dreng i steroid-behandling vil kunne vise, om teorien er rigtig.

PCR-analyserne vil også kunne vise, om forekomsten af proteiner er anderledes og i andre mængder end i en ubehandlet muskel. Når man sammenligner disse forekomster med undersøgelser af, om der er sket ændringer i drengens funktionsniveau, har man måske fundet et enkelt middel til at regulere steroidbehandlingen. Henrik Daa Schrøder håber, at der kan påvises en sammenhæng mellem drengenes funktionsniveau og PCR-analyseresultaterne, så man i fremtiden på en enkel måde kan regulere behandlingen efter, hvad der virker bedst for den enkelte dreng.

Uanset om Kate Bushby og det internationale konsortium bag steroid-forsøget vil have Muskelgruppen med i forsøget, har Henrik Daa Schrøder tænkt sig at gennemføre lignende

undersøgelser i mindre skala, f.eks. i samarbejde med pædiatrisk afdeling på Odense Universitetshospital. Henrik Daa Schrøder mener, at undersøgelserne kan laves ved at tage en muskelprøve – en biopsi – fra drengene, ca. seks måneder efter deres behandling er begyndt, og sammenligne med den prøve, der under alle omstændigheder skal tages, før behandlingen går i gang.

Nysgerrighed

Der er mange bolde i luften i Muskelgruppen: boosting, cellesortering, dyrkning af celler og bestemmelse af proteiner med PCR-teknikken. Henrik Daa Schrøder og hans medarbejdere forsøger at have for øje, at det drejer sig om, hvordan man kan behandle mennesker med muskelsvind. Men det kan ske, at de taber sigtet.

”Jeg må ærligt indrømme, at jeg ikke går hver dag og tænker, at det her skal ende med, at man skal behandle mennesker. Somme tider er det bare spændende. Men jeg undskylder mig med, at man er nødt til at lade sig styre af sin nysgerrighed. Hvis man hele tiden var 100 % anvendelsesorienteret, ville man ikke støde ind i så mange overraskende ting,” siger Henrik Daa Schrøder.

Men der arbejdes alligevel målrettet på at gøre den nye viden anvendelsesorienteret. Hvis resultaterne af forskernes undersøgelser på cellekulturer i petriskåle er spændende nok, fortsættes der måske med forsøg på mus og senere på mennesker.

Det er stadig for tidligt at sige noget om, hvornår resultaterne af Muskelgruppens arbejde kan bruges til at behandle mennesker med muskelsvind, men Henrik Daa Schrøder mener, at det ikke er usandsynligt, at man i løbet af cirka fem år vil lave de første forsøg med boosting af ADAM12 eller FA1 på mennesker. Hvis senere opdagelser ikke har godtgjort, at det vil være en dårlig ide. Men sådan er forskningens vilkår. Man kan aldrig rigtig vide, hvor det fører hen.

Muskelgruppen er nu en fast etableret del af Patologisk Institut på Odense Universitetshospital, og selv om Henrik Daa Schrøders professorat i første omgang kun var fem-årigt, tror han på, at det gøres permanent. Arbejdet med muskelstamceller vil i hvert fald fortsætte.

Stamceller

Stamceller er celler, der har den egenskab, at de kan dele sig i to nye celler, hvoraf den ene celle bevarer stamcelleegenskaben, og den anden kan modne og blive til en helt anden celletype, f.eks. en muskelcelle, en nervecelle eller en knoglecelle.

Der findes tre typer stamceller: Embryonale, føtale og adulte stamceller. De embryonale og føtale stamceller rummer muligheden for at kunne dele sig til alle de forskellige celletyper kroppen er bygget af, mens de adulte stamceller har mere begrænsede muligheder.

Muskelceller kan dannes af den type stamceller, der hedder satellitceller, og som ligger jævnt fordelt i muskelvævet. Eller de kan dannes af sidepopulationsceller, der ligger i muskelvævet karvægge.

Satellitcellerne kan dele sig ca. 30 gange og kan kun blive til muskelvæv.

Side-populationscellerne er bedre til at 'vandre' i kroppen og kan dele sig til flere forskellige typer væv. Muskelgruppen arbejder mest med satellitceller og sidepopulationsceller.

Billedtekst:

Gruppebillede:

Muskelgruppen ledes af professor, dr.med. Henrik Daa Schrøder og ph.d., cand.scient. Charlotte Harken Jensen (nr. 2 og 3 fra venstre) og består desuden af (fra venstre) de ph.d.-studerende, cand.scient.'er Ditte Andersen, Louise Helskov Jørgensen og Stine Petersen. Yderst til højre specialestuderende, stud.scient Jeeva Sellathurai.

Cellesorteringsmaskine:

Når først cellesorteringsmaskinen, som her betjenes af Ditte Andersen, er kalibreret, kan den sortere 30.000 celler i sekundet efter hvilke proteiner, der er aktive i dem.

Musebillede:

Studiet af, hvordan muskelregenerationen foregår hos genetisk manipulerede mus, er vigtigt for Stine Petersens arbejde med at forstå stamcellernes funktion.