

Genetiken bakom medfödd avsaknad av tänder

Pekka Nieminen och Sirpa Arte

Under det senaste decenniet har vår kunskap om de mekanismer och den genetik som ligger bakom tandutvecklingen ökat enormt. Genom molekylär-genetiska och djurexperimentella utvecklingsstudier på möss har mekanismerna bakom såväl den tidiga tandutvecklingen som differentieringen av de celler som producerar hårdvävnaden kring tänderna blivit mycket klarare.

Det har visat sig att tänderna under sin utveckling i stor utsträckning använder sig av liknande interaktioner och molekylära mekanismer som andra organ. Den ärftliga bakgrunden till avsaknad av tänder hos människan har visat sig vara synnerligen heterogen. En av framtidens utmaningar blir därför att identifiera orsakerna till de lindrigare former av hypodonti som är vanliga inom befolkningen.

Man har konstaterat att medfödd avsaknad av tänder i vissa fall kan vara en indikator för en ökad cancerrisk vilket ytterligare framhäver vikten av att utreda orsakerna till olika former av tanddefekter.

Den moderna biologin har hyst ett brett intresse för tänderna. Såväl paleontologer, antropologer som utvecklingsbiologer och genetiker har fascinerats av de karakteristiska tandstrukturer som kännetecknar varje enskild art. Inom forskningen kring tandutvecklingen förekommer många olika sätt att närma sig ämnet. Man har bland annat utrett ursprunget till de vävnader som deltar i tandutvecklingen samt deras verkan på interaktionen mellan olika vävnader. Molekylärgenetiska studier har redan identifierat ett stort antal gener som påverkar tandutvecklingen (*Gene expression in tooth*, <http://bite-it.helsinki.fi>). Men trots detta återstår ännu många utmaningar när det gäller de mekanismer som påverkar tändernas placering, form och regeneration.

De viktigaste verktygen vid utredning av den genetiska bakgrunden till tandutvecklingen är dels experimentella studier på djur (särskilt mus), dels av identifiering av de genetiska avvikelser som leder till en rubbning av tandutvecklingen. Den molekylärgenetiska forskningen har klarlagt genetiska avvikelser som orsakar strukturella fel i dentinet och tandemaljen samt andra avvikelser som påverkar tändernas antal, storlek och form. I denna artikel diskuteras främst de ärftliga omständigheter som leder till medfödd avsaknad av tänder.

Medfödd avsaknad av tänder

Den vanligaste utvecklingsstörningen hos människan är medfödd avsaknad av en eller flera tänder. Mer än en femtedel av befolkningen saknar tredjemolarerna och cirka 6–8 procent saknar en eller flera permanenta tänder (hypodonti) (1–3). Ju större antal tänder som saknas, desto mer sällsynt är förekomsten: Cirka 1 procent av befolkningen saknar tre tänder eller fler, medan endast cirka 1–2 promille saknar sex tänder eller fler (oligodonti) (1,2,4). Oftast förekommer hypodontier som enskilda företeelser hos i övrigt friska personer. Tandavsaknad av olika grad förekommer dock i ett tiotal olika syndrom som även involverar andra delar av kroppen. Mycket omfattande oligodontier förekommer nästan uteslutande i samband med sällsynta syndrom.

Vid såväl hypodonti som oligodonti saknas näst efter visdomständerna andrapremolarer eller övre laterala framtänder. Allra ovanligast är avsaknad av de övre mittframtänderna, nedre hörntänderna och förstamolarerna (1–4). Medfödd avsaknad av mjölkttänder är också sällsynt (3). Avsaknad av tänder är med andra ord vanligast för tänder som bryter fram sist, vilket låter oss förstå att det finns vissa kvantitativa faktorer som inverkar på avsaknaden av tänder. Dessa faktorer kan gälla antalet celler som deltar i tandutvecklingen eller signalöverföringen mellan dessa celler.

Hypodontierna associeras med många andra störningar i tandutvecklingen. Störningarna kan förekomma både hos patienten själv och inom patientens släkt. Många studier har visat att särskilt oligodonti är associerat med att tänderna är små till växten och att deras form är förenklad (4,5). En egenskap som associeras kraftigt med hypodonti är konformade laterala övre framtänder. Den avvikelserna förekommer bland 1–2 procent i populationen (6,7). Tjurtand (taurodonti) och korta tandrötter är betydligt vanligare bland hypodontipatienter än hos genomsnittsbefolkningen (3,7). Jämfört med genomsnittspopulationen har hypodontipatienter och deras släktingar oftare vridna tänder och felplacerade hörntänder (8,9).

Etiologi

Tandutvecklingen inleds tidigt under fosterutvecklingen och pågår upp i tidig vuxenålder. Det är alltså möjligt för olika yttre omständigheter att påverka tandutvecklingen under fosterutvecklingen och barndomen. Cancerbehandlingar i barndomen (strålbehandling och kemoterapi) kan till exempel ge upphov till avsaknad av tänder eller små tänder (10,11). Personer som exponerades för dioxin vid olyckan i Seveso har oftare hypodonti än genomsnittet (12) (Faktabox I). Djurexperiment har även visat att dioxin kan orsaka hypodonti (13). Trots att doserna såväl i de djurexperimentella studierna som vid olyckan i Seveso var höga är det tänkbart att dioxiner och andra miljögifter kan ha en effekt också på populationsnivå om effekten kombineras med andra yttre omständigheter samt genetiska faktorer.

Enligt rådande uppfattning beror medfödd avsaknad av tänder i huvudsak på ärftliga faktorer. Vid sidan om otaliga fallbeskrivningar har man med systematiska familjeundersökningar visat att avsaknad av tänder är betydligt vanligare bland släktingar till hypodontipatienter än i normalpopulationen (1,14,15). Det är vanligare att båda tvillingarna i ett tvillingpar saknar tänder om de är identiska tvillingar jämfört med om tvillingarna inte är identiska (16–18). Enligt uppskattningar som baserar sig på tvillingstudier förklarar ärftliga faktorer cirka 75–90 procent av storleksvariationen och avsaknaden av tänder (19). Utifrån familjeundersökningar anser en del forskare att hypodontier i huvudsak ärvs dominant men med låg genomslagskraft (1,4,20). Andra forskare förespråkar att etiologin är polygen eller multifaktoriell (14,15,21). Ett recessivt nedärvningsmönster och en association till X-kromosomen har också beskrivits (4,22). Man har även beskrivit en modell som bygger på en multifaktoriell etiologi där avsaknad av tänder, storleksvariation och hyperodonti placeras ut på en s.k. kvasikontinuerlig axel (15).

Metodologi för att identifiera genetiska avvikelser

Beroende på scenariot kan man använda olika strategier när man ställs inför frågan om vilka genetiska defekter som ligger bakom hypodonti (Fig. 1). Forskningen kan fokusera direkt på de så kallade kandidatgenerna, men man kan också söka i hela genomet. Man kan använda sig av genetisk analys eller utreda ordningen för basparen i målgenen (sekvensering eller sekvensbestämning).

En gen anses vara en kandidatgen om man känner till att den är associerad med hypodonti eller om den är intressant från djurmodeller (till exempel »knockout-möss« som saknar tänder). Numera känner man till ett antal olika mutationer hos möss där tandutvecklingen är störd i olika grad (*Gene expression in tooth*, <http://bite-it.helsinki.fi>). När man undersöker kandidatgener med genetisk analys är målet att utreda om den fenotyp som orsakas av den genetiska avvikelserna finns i själva kandidatgenen eller i dess omgivning.

På populationsnivå kan man använda sig av så kallad *assciationsanalys*. Den går ut på att utreda om en viss allel av en gen, dess haplotyp eller den genotyp som de tillsammans utgör förekommer oftare hos patienterna än hos en frisk kontrollgrupp. Vid undersökning av hypodontier i släkter är *kopplingsanalys* en effektiv metod för att utreda vilka kandidatgener som inverkar. De sjuka släktingarna skulle ju ha ärvt den samma kromosomformen av det genomområde som innehåller kandidatgenen. Oftast har man dock endast tillgång till ett begränsat material, kanske endast ett prov av en enskild patient. Då måste man nöja sig med att undersöka *basparsekvenserna*. Av praktiska skäl riktas denna sekvensering oftast in endast på exonerna, de segment av DNA som innehåller de proteinkodande områdena. Den genetiska avvikelserna som leder till en viss fenotyp kan också finnas utanför dessa områden och påverka genom att störa gentranskriptionen. De områden som påverkar transkriptionen

Faktabox I

Olyckan i Seveso

År 1976 fick ett utsläpp av dioxin i staden Seveso i Italien mycket allvarliga följder. Dioxin, som är giftigt och cancerframkallande, spred sig omedelbart över en yta på ungefär 25 kvadratkilometer. Ingen människa dog som en direkt följd av olyckan men mer än 600 evakuerades från sina hem och ungefär 2000 drabbades av dioxinförgiftning. Området var sedan obeboeligt för många år framåt.

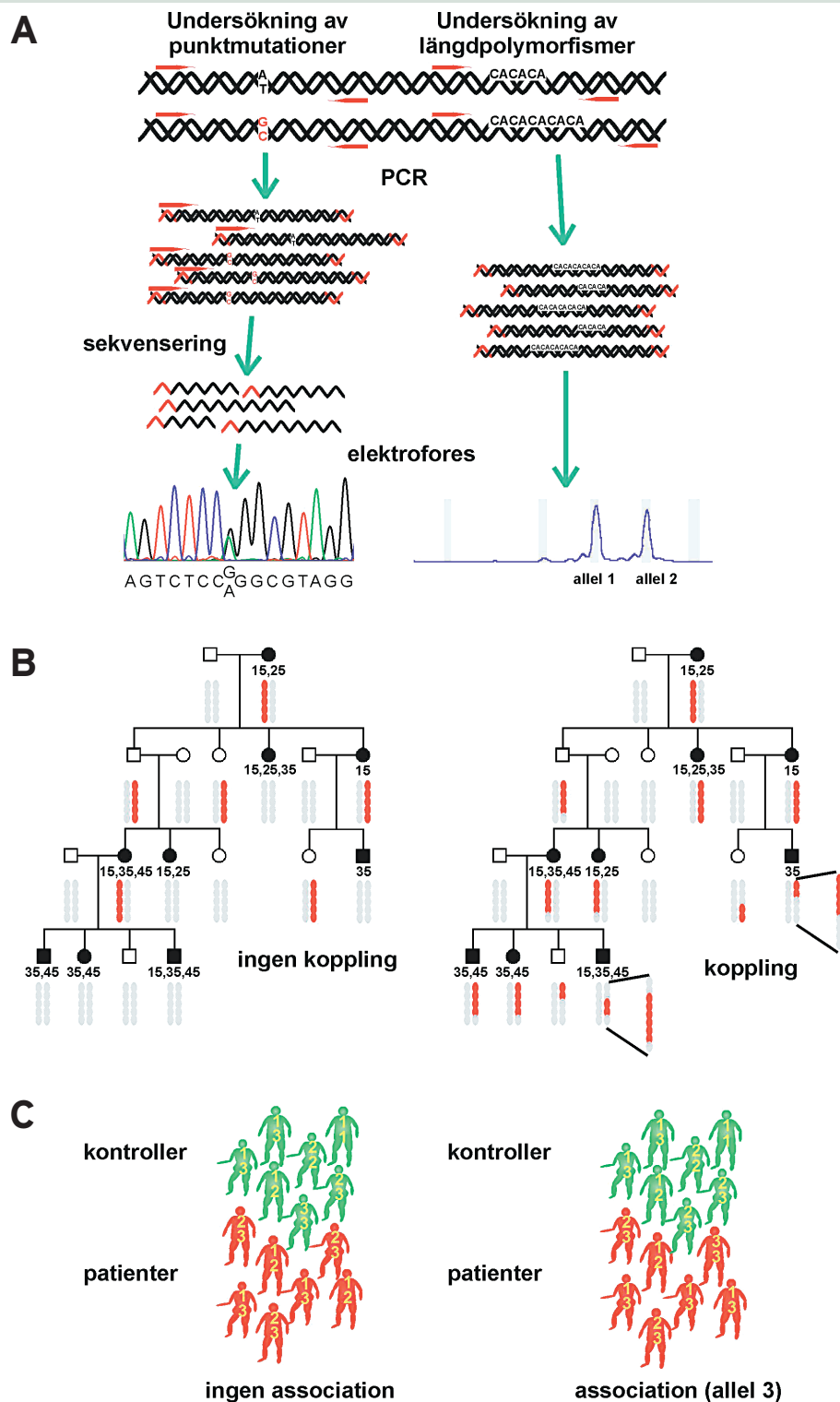


Fig. 1. Molekylärgenetiska grundmetoder.

A: Undersökning av punktmutationer (till exempel A>G) samt längdpolymorfismer med hjälp av polymeraskedje-reaktion (PCR). I båda fallen replikeras DNA med PCR med primrar (rött) som är specifika för de sekvenser som ligger bredvid området som ska undersökas. För identifikation av punktmutationer sekvenseras det replikerade DNA:t genom en primer. Sekventeringsprodukterna undersöks sedan elektroforetisk.

B: Kopplingsanalys för en släkt med ärftlig avsaknad av andrapremolarerna. Saknade tänder samt kromosomform/haplotyp anges under symbolen för varje släktmedlem. I det vänstra släktträdet har hypodontipatienterna inte ärvt samma form av kromosomen och resultatet är därför negativt (ingen koppling, lod score<0). Kandidatgenen inom det undersökta stråket kan inte förklara hur avsaknaden av tänder uppstått. I det högra släktträdet har man först använt gles markörtäthet och den analysen visar att de flesta hypodontipatienter inom släkten har samma kromosomform inom ett visst område av genomet (sannolik koppling, lod score 1,8). Närmare kartläggning visar att alla patienter har en och samma kromosomform (koppling, lod score 3,4).

C: Grundkonceptet för associationsanalys. I undersökningen till vänster ses ingen statistiskt signifikant skillnad i förekomsten av allel 1, 2 och 3 mellan patienterna och kontrollerna. I undersökningen till höger ses att allel 3 förekommer signifikant oftare bland patienterna. (I verkligheten är antalet patienter och kontroller större, till exempel 50 och 50 eller till och med flera hundra.)

nen kan dock vara belägna mycket långt från det område som kodar för proteinet.

Om man har tillgång till ett större familjematerial (det vill säga prover från fler än tio sjuka patienter inom samma släkt) kan man leta upp den genetiska avvikelserna med en kopplingsanalys av hela genomet. Forskarna söker då efter områden inom genomet som innehåller en haplotyp som nedärvs tillsammans med den aktuella fenotypen. Ett bra sådant exempel är identifieringen av den mutation i kromosom AXIN2 som orsakar oligodonti i en finländsk släkt (23). I den studien använde forskarna först kopplingsanalys för att utesluta de mest sannolika kandidatgenerna. Sedan kartlades genomet i samarbete med Finlands genomcenter och på basis av dessa undersökningar identifierades och avgränsades ett visst område på kromosom 17. Sekvensering av basordningen hos genen AXIN2 (som ligger vid det avgränsade området) identifierade en förändring i ett baspar som återfanns hos alla sjuka medlemmar inom släkten.

Vid genomgång av hela genomet kan man också använda associationsanalys. Målet är att identifiera områden inom genomet där vissa alleler eller haplotyper förekommer oftare hos sjuka än hos friska personer som inte behöver vara besläktade. Om man även har tillgång till släktingar kan man kontrollera om de sjuka individerna har ärvt vissa former oftare än de friska medlemmarna i släkten. Metoden har använts för många olika multifaktoriella sjukdomar men vid hypodonti endast för studier av inverkan av kandidatgener. Associationsanalys av hela genomet har blivit möjlig i och med modern DNA-mikromatristeknik.

Genavvikelser som leder till avsaknaden av tänder

Hypodonti förekommer vid många syndrom vars genetiska avvikelser är kända, exempelvis ett flertal ektodermala dysplasier, van der Woudes syndrom (som ger mun- och gomsplatt) samt Riegers syndrom (3). De olika hypodontierna kan vara typiska för vissa syndrom men kan också vara lika som de hypodontier som förekommer isolerade, utan association till ett syndrom. Anhidrotiska ektodermala dysplasier kännetecknas av en omfattande avsaknad av tänder, både mjölk- och permanenta tänder, men leder också till en förenkling av tändernas form. Det faktum att fenotyperna kan vara likadana beror på att de genetiska avvikelserna finns i de gener som ansvarar för signalöverföringen mellan celler längs samma signallinje. Vid Riegers syndrom saknas oftast framtänderna i överkäken samt mjölk- och permanenta tänder medan det vid van der Woudes syndrom eller diastrofisk dysplasi oftast är andrapremolarerna och de övre framtänderna som saknas.

År 1996 beskrev man för första gången en genetisk avvikelse som endast påverkade tänderna. Avvikelsen fanns i MSX1-genen (24). Denna genetiska avvikelse (som leder till en förändring i en enda aminosyra) orsakar en dominant ärftlig oligodonti som kännetecknas av avsaknad av samtliga andrapremolarer, visdomständerna samt i varierande grad även andra tänder. År 2000 beskrevs hur man satte in ett baspar i genen PAX9 i en familj där omfattande avsaknad av särskilt de permanenta molarerna nedärvdes dominant (25). Senare har man i båda dessa gener beskrivit många genetiska avvikelser (26-28) som leder till dominant nedärvda

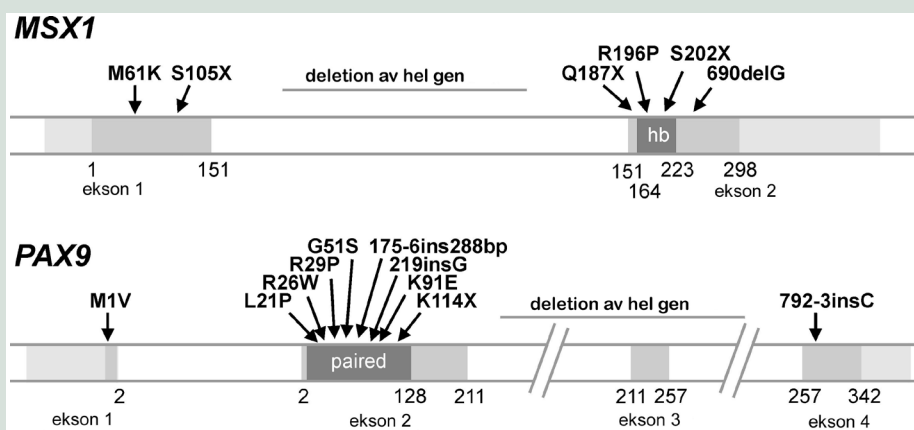


Fig. 2. Strukturen för generna MSX1 och PAX9 samt mutationer. Områdena i ljusgrått är exoner, grått kodar för proteiner medan mörka områden anger homeobox och paired domain-området. Siffrorna ovanför figurerna anger de aminosyror som ska ingå i det protein som kodas. Ovanför figurerna anges mutationerna antingen i form av ändrade aminosyror i form av övergång av en aminosyra till stoppkodon (x), eller i form av insertion som leder till förändrad aminosyrakod.

Tabell I. Mutationer i MSX1, PAX9 och AXIN2: avsaknad av tänder.

	Mutation	Patienter		Tänder som saknas i procent							
				1	2	3	4	5	6	7	8
MSX1	11*)	40	Övre	0	30	5	76	96	30	15	86
			Nedre	20	21	8	15	90	51	20	89
PAX9	11	50	Övre	2	24	10	19	67	80	89	98
			Nedre	50	4	0	4	37	34	86	96
PAX9, endast missense			Övre	0	33	24	21	52	64	76	95
			Nedre	64	5	0	0	45	17	76	90
AXIN2	2	12	Övre	0	71	25	58	75	50	71	100
			Nedre	79	67	29	33	92	54	71	100

*) sex släkter och fem andra patienter med omfattande deletion i MSX1

oligodontier. De liknar i huvuddrag de fenotyper som uppstått till följd av de mutationer som först identifierades (Fig. 2, Tabell I). I samtliga fall verkar det som om den genetiska avvikelserna hindrar uttrycket av den andra genkopien. Det bildas en fenotyp på grund av att den syntetiserade proteinmängden halveras (haploinsufficiens).

MSX1 och PAX9 är transkriptionsfaktorer som anses reglera avläsningen av målgenerna genom att binda till bindningsställena i DNA. MSX1 hör till gruppen homeoboxgener där en så kallad homeobox (en proteinsekvens som konserverats under evolutionens lopp) ansvarar för bindningen till DNA. Det är tänkbart att homeoboxsekvensen också förmedlar bindningen mellan olika proteiner. När det gäller PAX9 är det en så kallade paired domän som binder till DNA. Denna domän är också en proteinsekvens som klarat sig under evolutionen. Med några få undantag riktar sig mutationseffekterna på olika sätt mot homeoboxsekvensen eller paired domän (Fig. 2). Dessa genuttryck sker i det tandbildande mesenkymet. Man tror att generna är viktiga när mesenkymet ska ta över förmågan att styra tandutvecklingen. I knockout-möss leder utslagningen av MSX1 eller PAX9 till avsaknad av alla tänder, gomspalt samt andra utvecklingsstörningar. Tandutvecklingen stannar av på tandanlagstadiet på grund av att förtätningen av de mesenkymala cellerna (som härstammar från neurallisten) hindras i närheten av tandens epitelanlag. De mesenkymala cellerna kan då inte ta emot eller behandla vissa signaler från epitelvävnaden.

Om endast den ena kopien av en gen slås ut hos möss uppstår inga utvecklingsstörningar. Därför kan sådana experiment inte hjälpa oss att förklara patogenesen vid vissa heterozygota tillstånd hos människa. Det samma gäller för

de genetiska avvikelserna i generna PITX2 och TP63 som ger upphov till Riegers syndrom respektive EEC-syndromet (hos möss uppstår utvecklingsstörning en endast om generna för syntesen av transkriptionsfaktorerna slås ut helt). Man kan dock anta att det hos en heterozygot människa uppstår vissa kvantitativa brister eftersom endast den ena genkopien producerar det protein som behövs och att detta leder till de olika fenotyperna. Det är troligt att bristerna uppstår på grund av att det under tandutvecklingen inte finns tillräckligt många celler eller att de celler som finns delar sig sämre än normalt. I många fall är anledningen troligtvis en försämrad signalöverföring mellan cellerna.

Ett gemensamt drag för samtliga mutationer i MSX1 är avsaknaden av andrapremolarer och tredjemolarer ofta i kombination med avsaknad av några av framtänderna (Tabell I, Fig. 3A). Man kan tolka det så att mutationerna i MSX1 påverkar samtliga tandgrupper och åstadkommer störningar i utvecklingen av de tänder som bildas sist. Frontalområdets tänder kan dock vara mindre känsliga för MSX1:s reducerande effekt. Därmed blir avsaknaden av framtänder endast sporadisk.

Mutationerna i PAX9 är annorlunda eftersom det främst är molarerna som utsätts för defekter (Tabell I, Fig. 3B). Eftersom PAX1 är en förutsättning för att MSX1-uttrycket upprätthålls i tandmesenkymet hos möss (29) är det tänkbart att en del av de hypodontier som orsakas av mutationer i PAX9 beror på brist på MSX1. Mutationer i PAX9 som ger ett utbyte av en enda aminosyra tycks ofta leda till en liknande fenotyp som vid mutationer i MSX1. Vid mer omfattande mutationer (kromosomrubbningar i hela genen samt mutationer som bryter av den så kallade läsramen för proteiner)

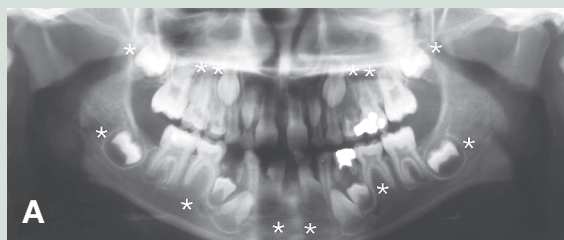


Fig. 3. Oligodontier relaterade till MSX1, PAX9 och AXIN2. Tänder som saknas anges med stjärna.

A: Tandavsaknad på grund av mutation i MSX1 hos 15-årig flicka.

B: Tandavsaknad på grund av mutation i PAX9 hos 10-årig pojke. Pojken saknade även andramolarerna i mjölkstadsstadiet.

C: Tandavsaknad på grund av mutation i AXIN2 hos 20-årig kvinna. Mjölktänderna hade utvecklats normalt.

är avsaknaden av andrapremolarerna och förstamolarerna så gott som alltid associerad med avsaknad av mer posterior belägna tänder (27).

En tredje identifierad gen som i muterad form leder till isolerad avsaknad av tänder kallas AXIN2 och är en intracellulär reglerare av Wnt-signalsystemet. En mutation i AXIN2 upptäcktes i en finländsk släkt där elva av släktens medlemmar har en omfattande oligodonti (23) (Fig. 3C, 4A). Hos två av släktmedlemmarna hade endast tre permanenta tänder utvecklats; de mittersta framtänderna i övre käken och antingen en av den undre käkens första premolarer eller en av de laterala framtänderna. I det lindrigaste fallet saknade patienten

fyra permanenta tänder utöver visdomständerna. Endast en person i släkten saknade mjölktänder. Undersökningar av andra DNA-prover visade att det fanns en annan mutation i AXIN2-genen hos en patient som också hade omfattande hypodonti av de permanenta tänderna (Fig. 4A). Uppmärksamheten av de genetiska avvikelserna i AXIN2 blev särskilt intressant eftersom det framgick att de flesta patienterna med oligodonti hade tjocktarmscancer eller ett förstadium till tjocktarmscancer.

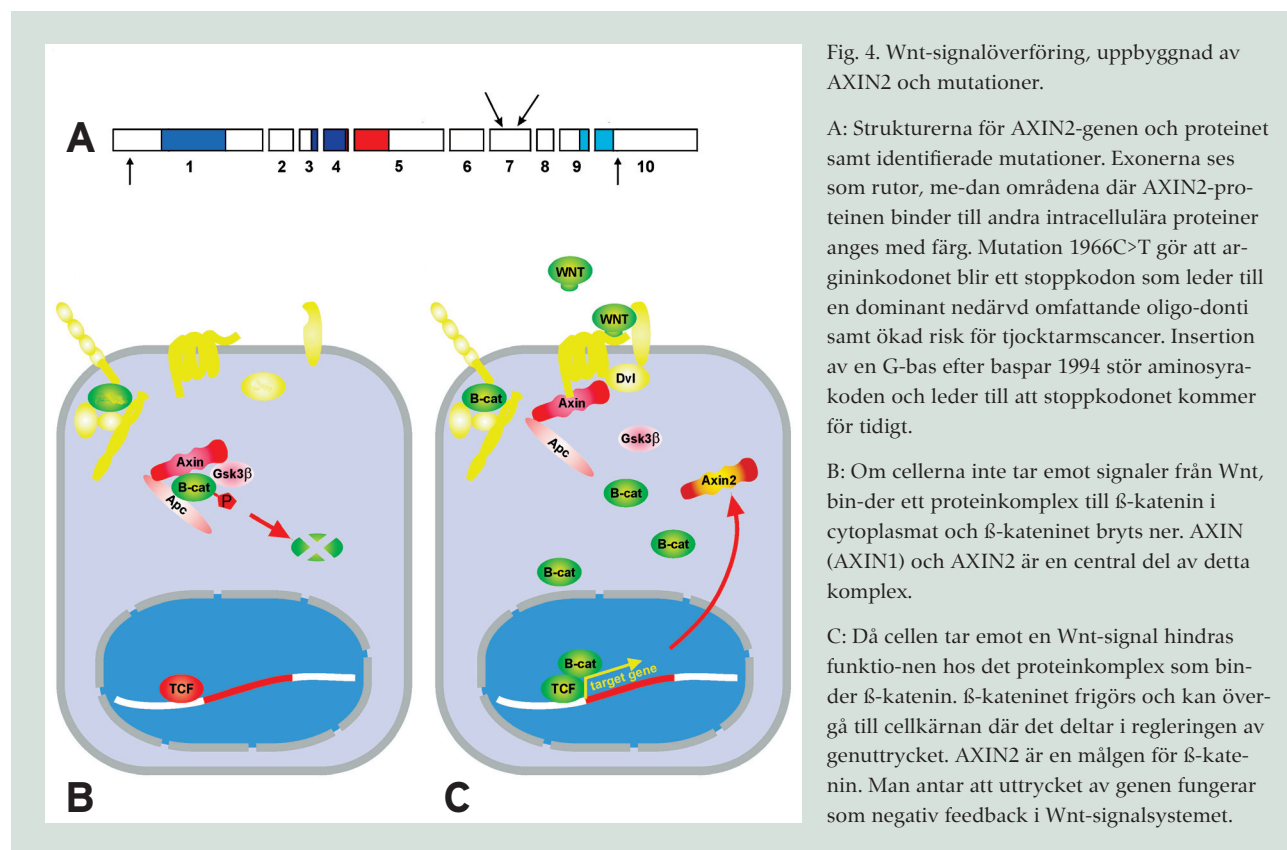
De genetiska avvikelserna i generna MSX1, PAX9 och AXIN2 utgör endast en liten del av de oligodontifall som studerats. De flesta patienter har inte mutationer i dessa gener. Eftersom mutationsstudierna i huvudsak har gjorts för de områden på gener som kodar för proteinsyntesen är det tänkbart att vi i framtiden kommer att hitta mutationer i områden som reglerar funktionen hos dessa gener. Det är uppenbart att vi måste leta efter genetiska avvikelser som leder till oligodonti även på andra gener. Den genetiska bakgrunden till oligodonti har visat sig vara synnerligen heterogen – den innehåller både genetisk och allelisk heterogenitet.

Inom släkter med oligodonti varierar fenotypen från patient till patient trots att den genetiska avvikelsen är densamma. I några rapporter har man också beskrivit att de tänder som utvecklas är något mindre än genomsnittet. Variationen i fenotyp är typisk även för många andra monogena utvecklingsstörningar (bland annat kraniosynostossyndrom) och kan antingen bero på andra genetiska omständigheter, epigenetiska orsaker eller yttre faktorer.

Ett gemensamt drag för samtliga identifierade genetiska avvikelser som leder till avsaknad av tänder är att de riktar sig mot utvecklingsreglerande gener, ofta mot transkriptionsfaktorer men också mot gener som deltar i signalöverföringen mellan celler. Genetiska avvikelser som orsakar strukturella avvikelser i proteiner i dentinet eller emaljen leder i allmänhet inte till medfödd avsaknad av tänder.

Wnt-signalkaskadens betydelse för utveckling och karcinogenes

Signalöverföringen längs Wnt-kaskaden baserar sig i huvudsak på reglering av det intracellulära β -kateninproteinets mängd och lokalisation (30). β -katenin deltar i överföringen av celladhesion till cellskelettet samt reglerar gentranskription i cellkärnan (Fig. 4B och C). β -katenins förmåga att övergå till cellkärnan begränsas av att proteinet binder till ett proteinkomplex i cytoplasman. Detta leder till fosforylering av β -kateninet och följs av nedbrytning. De viktigaste komponenterna i detta proteinkomplex är AXIN1 och AXIN2, APC (adenomatosis polyposis coli) samt fosforyleringsenzymet GSK β (glykogensyntaskinas-3 β). När den extra-



cellulära signalbärande Wnt-molekylen binder till sin receptor på cellmembranet hindras den funktion hos proteinkomplexet som bryter ner β-katenin. Det leder i sin tur till en ökad halt av β-katenin i cellen och cellkärnan. I cellkärnan bildar β-katenin en aktiv transkriptionsfaktor som främjar transkription av generna.

Det överraskande sambandet mellan avsaknaden av tänder och ökad risk för cancer blir möjligt eftersom de mekanismer som reglerar celltillväxt och cellinteraktioner används både under organismens utveckling och vid vävnadsåterbildning senare i livet. Signalöverföringen längs Wnt-kaskaden är avgörande i bägge fallen. Mutationerna som uppstår vid regleringen av β-kateninhalten är kända cancerframkallande mutationer. Ärftliga mutationer i tumörsuppressorgen APC ger upphov till polypös tjocktarmscancer (familial adenomatös polyp, FAP) men även i de flesta icke ärftliga tjocktarmstumörer hittar man avvikelser i APC. I ett stort antal cancertumörer har man funnit mutationer i APC, β-katenin och andra gener inom Wnt-signalkaskaden och man antar att en okontrollerad dos av β-katenin är en avgörande faktor för carcinogenesen (30). Mutationen inom

AXIN2 har också påträffats i cancertumörer. Denna gen anses därför vara en tumörsuppressorgen.

Signalöverföringen med Wnt är en nödvändig förutsättning för tandutvecklingen. Hos möss som saknar genen Lef1 (en transkriptionsfaktor som tillhör TCF-genfamiljen) eller där Wnt-signalöverföringarna avbryts extracellulärt med hjälp av antagonisten DKK1 stannar tandutvecklingen upp i tandanlagstadiet eller tidigare (31,32). Mutationerna i AXIN2 leder till en allt för intensiv Wnt-signaltrafik. Det visar att även en allt för kraftig signalering kan skada utvecklingen. Uttrycket av AXIN2 regleras med hjälp av signaler från Wnt och genen kan inta en särskild roll som hämmare av de signaler som cellerna tar emot från Wnt (det vill säga genen ger negativ feedback) (Fig. 4C). Eftersom avsaknaden av AXIN2 i huvudsak tycks rikta sig mot de permanenta tänderna är det tänkbart att en allt för kraftig eller långvarig signal i ett visst skede under tandutvecklingen skadar den initiala utvecklingen av de permanenta tänderna. Man kan till exempel tänka sig att signaltrafiken måste begränsas så att en tillräckligt stor mängd celler som är viktiga för den ursprungliga utvecklingen av de permanenta tänderna garan-

teraser. Wnt-signaleringen är väsentlig för funktionen hos de stamceller som deltar i regenerationen av hår och tarmludd. Det är också möjligt att tandregeneration kan basera sig på stamceller (33).

Om AXIN2-genen slås ut hos möss ger detta en mycket liten effekt på fenotypen (34). Hos knockout-möss sluts sutura frontalis för tidigt. Det beror på att de celler som härstammar från neurallisten och som bildar benvävnad har en snabbare proliferation och större differentieringskapacitet att bli osteoblaster. Samma egenskap skulle kunna finnas hos de alveolbenbildande cellerna hos människa. Avsaknad av permanenta tänder skulle i så fall kunna bero på en störning i interaktionen mellan tändernas och benvävnadens utveckling.

Den ärftliga formen av tjocktarmscancer som beror på mutationer i APC-genen associeras ofta med käkbensosteom och hos en liten del av patienter som har ett överskott av tänder (35). Vi har ingen kunskap om hur överskott av tänder uppstår. Mutationer i generna APC och AXIN2 ger motsatta fenotyper vilket bör bero på det faktum att mutationerna utövar sin effekt vid olika tidpunkter och på olika processer. När det gäller regleringen av β -kateninhalten är variationen i mängden AXIN av större betydelse än variationen i mängden APC (36). Man antar att uppkomsten av tjocktarmscancer förutsätter att det finns en skada även på den andra kopian av APC-genen. Det är alltså möjligt att uppkomsten av övriga symtom som ses vid FAP (osteom och supranumerära tänder) förutsätter att det uppstår ytterligare mutationer efter det tidiga utvecklingsskedet.

Avsaknaden av tänder och cancer

Hur långt kan man generalisera sambandet mellan risken för cancer och absaknaden av tänder? Kan hypodonti anses utgöra en cancerrisk? Enligt rådande kunskap kan absaknaden av tänder beror på många olika externa faktorer och ärftliga omständigheter. Det är alltså osannolikt att de flesta hypodontipatienter skulle ha en ökad risk för cancer. Eventuell misstanke om en ökad cancerrisk kan i huvudsak väckas vid omfattande hypodontier.

Å andra sidan känner vi för närvarande till endast en liten del av orsakerna till absaknaden av tänder. Bland de oligodontipatienter som vi har undersökt, har vi kunnat identifiera en genetisk avvikelse hos färre än 10 procent. Det är därför mycket troligt att man upptäcker nya gener som orsakar absaknad av tänder och som bidrar till regleringen av Wnt-signalsystemet eller har patogenetiska mekanismer som påminner om dem som gäller för AXIN2. Det finns också anledning att observera att en signifikant del av ärftligheten av vissa cancersjukdomar kan basera sig på alleler

med låg genomtränglighet. Många av de gener som inverkar på tändernas utveckling (bland annat MSX1 och MSX2) är målgener för Wnt-signaltransduktionssystemet i cancer-celler. Man har också fäst allt större uppmärksamhet mot homeoboxgenerna och deras betydelse för uppkomsten av cancer (37).

Utmaning: att utreda den genetiska bakgrunden till hypodonti

Hittills har de genetiska avvikelserna endast utretts för vissa syndrom och oligodonti som är dominant nedärvda. De genetiska orsakerna till de lindriga hypodontier som är vanliga hos befolkningen är än så länge okända. Under det arbete som riktar in sig på identifiering av de gener som leder till hypodonti har man i huvudsak lyckats utesluta inverkan av vissa kända gener och identifiera en del svaga associationer (38-40). Arbetet försvåras uppenbarligen å ena sidan av att hypodonti orsakas av ett mycket stort antal faktorer och å andra sidan av att variationen i fenotyp i en given genetisk avvikelse är mycket stor.

Patogenesen för de mutationer som leder till oligodonti stöder tanken att samma gener skulle kunna ligga bakom de lindrigare formerna av hypodonti. Mutationerna som leder till oligodonti eller tandavsaknadssyndrom är »starka» och släcker den andra genkopians funktion så gott som helt. Grunden till hypodontier skulle kunna ligga i sekvensförändringar i samma gener som leder till en lindrigare reducering av genproduktens mängd eller funktion. Dessa »svaga» mutationer eller alleler skulle till och med kunna vara ganska vanligt förekommande i populationen. Förekomsten av tiotals olika svaga och starka alleler skulle kunna förklara många fall av dominant nedärvd hypodonti, den minskade förmågan till genomtränglighet, de fenotypiska variationerna (1,7) samt de fall av hypodonti eller oligodonti som tycks vara sporadiskt förekommande eller recessivt nedärvda. De skulle också kunna förklara fall där släktingar till oligodontipatienter endast har lindriga fenotypiska förändringar (4,22).

Vilka krav ställer den heterogena etiologin på att kunna identifiera genetiska avvikelser som orsakar lindriga hypodontier eller icke-dominant oligodonti? Om man i sina studier vill kunna använda sig av genetiska metoder (metoder som baserar sig på koppling eller association) krävs tillräckligt stora undersökningspopulationer för att få statistiskt relevanta resultat. Ställer man stränga krav på fenotypen kan detta underlätta forskningen till viss del men det blir i stället svårare att få tillgång till en tillräckligt stor undersökningspopulation. Ett bra och direkt sätt är att söka upp släkter med någorlunda enhetlig (exempelvis där samma tänder

saknas) och där man kan skönja ett dominant nedärvningsmönster med hög genomtränglighet (Fig. 1B).

Om antalet DNA-prover från olika patienter är fler än tio kan man vänta sig att studien ger signifikant resultat. Å andra sidan måste man komma ihåg att ju större släkt det gäller desto mer sannolikt blir det att det ligger flera olika genetiska avvikelser bakom tandfenotypen. För att man uppnå signifikanta resultat med associationsmetoden ska materialen helst bestå av flera hundra patienter och kontrollpersoner. Alternativet är att kunna komma fram till samma resultat i flera mindre studier. Nackdelen med heterogeniteten kan minskas om man undersöker populationer som man anser vara genetiskt mer homogena än genomsnittet.

Sammanfattning

Bra patientarbete innebär att man utreder den genetiska bakgrunden särskilt hos personer som har omfattande former av tandavsaknad. Sådan utredning ger information om avsaknadens etiologi och eventuellt ärftliga natur. Forskningen om den genetiska bakgrunden till avsaknad av tänder har i stor grad skett genom grundforskning som gett upplysningar om tändernas och käkarnas biologi. Detta arbete utgör en grund för utvecklingen av patientarbetet, det vill säga bättre diagnostik och vård. Bättre förståelse för den molekylärgenetiska bakgrunden till variationen i tänderna skulle i framtiden kunna spela en betydande roll för forskningen om människans och andra däggdjurs evolution. Den kommer att bidra med ny information om de allmänna mekanismer som styr individens utveckling. Å andra sidan utgör identifieringen av de genetiska avvikelserna i AXIN2-genen ett exempel på hur grundforskning kan leda till observationer av stor klinisk betydelse.

Hittills har man i huvudsak identifierat genetiska avvikelser vid omfattande ärftlig avsaknad av tänder. Resultaten visar att avvikelser i ett tiotal olika gener som deltar i den molekylära regleringen av tandutvecklingen kan leda till avsaknad av tänder. Olika fenotyper kan vara typiska för varje felaktig gen eller feltyp. Å andra sidan visar den fenotypiska variationen att uppkomsten av hypodonti hos en enskild patient alltid påverkas av hans eller hennes övriga genetiska bakgrund samt av epigenetiska och yttre omständigheter.

Fyndet att en och samma genetiska avvikelser kan orsaka både tandavsaknad och en ökad risk för vissa former av cancer leder omedelbart till frågan om det kanske finns någon mer generell association mellan tandavsaknad och risken för cancer. Grunden till denna association skulle kunna ligga i att samma mekanismer är verksamma vid utvecklingen som vid vävnadsregenerationen. Upptäckten sporrar oss att utreda associationen mellan risken för cancer

och hypodontier/oligodontier på populationsnivå samt att försöka minska den kunskapslucka vi för närvarande har om hittills okända gener som leder till avsaknad av tänder. Identifiering av faktorer som ger upphov till lindriga hypodontier är en särskilt stor utmaning.

English summary

Genetics of tooth agenesis

During the last decennium, understanding of the developmental and genetic mechanisms of tooth formation has greatly increased. Applying molecular genetics to human dental malformations and using mouse teeth as a model in experimental studies, it has become obvious that mechanisms of tooth development closely parallel those of other organs. Unraveling of the genetic basis of tooth agenesis, the most common malformation in man, contributes to the understanding of developmental and evolutionary mechanisms shared by teeth and other organs, and it may have important implications for clinical dentistry. Genetic and molecular analysis of isolated and syndromic tooth agenesis has revealed several mutated genes, implying that the genetic background for tooth agenesis is extremely heterogeneous. Mutations in three genes, MSX1, PAX9 and AXIN2, usually only affect dentition, causing severe type of tooth agenesis (oligodontia). However, the patterns of missing teeth associated with these mutations are different for each gene. Interestingly, mutations in AXIN2 also predispose to colorectal cancer, underlying the similarity of genetic mechanisms of tooth development and regulation of tissue homeostasis, and suggesting that tooth agenesis in some cases may be an indication for increased susceptibility to cancer. From the mutations that so far have been identified because dominant oligodontia or syndromic tooth agenesis, it is plausible that sequence variants in the same genes may contribute to other, more common types of tooth agenesis.

Referenser

1. Grahnen H. Hypodontia in the permanent dentition. *Odont Revy* 1956; 7 (Suppl 3): 1-100.
2. Haavikko K. Hypodontia of permanent teeth. *Proc Finn Dent Soc* 1971; 67: 219-25.
3. Arte S. Phenotypic and genotypic features of familial hypodontia. Institute of Dentistry, University of Helsinki; 2001.
4. Schalkvan der Weide Y, Prah-Andersen B, Bosman F. Tooth formation in patients with oligodontia. *Angle Orthod* 1993; 63: 31-7.
5. Garn SM, Lewis AB. The gradient and the pattern of crown-size reduction in simple hypodontia. *Angle Orthod* 1970; 40: 51-8.
6. Alvesalo L, Portin P. The inheritance pattern of missing, peg-shaped and strongly mesio-distally reduced upper lateral incisors. *Acta Odontol Scand* 1969; 27: 563-73.

7. Arte S, Nieminen P, Apajalahti S, Haavikko K, Thesleff I, Pirinen S. Characteristics of incisor-premolar hypodontia in families. *J Dent Res* 2001; 80: 1445-50.
8. Bjerklin K, Kurol J, Valentin J. Ectopic eruption of maxillary first permanent molars and association with other tooth and developmental disturbances. *Eur J Orthod* 1992; 14: 369-75.
9. Baccetti T. A controlled study of associated dental anomalies. *Angle Orthod* 1998; 68: 267-74.
10. Näsman M, Forsberg CM, Dahllöf G. Long-term dental development in children after treatment for malignant disease. *Eur J Orthod* 1997; 19: 151-9.
11. Hölttä P, Alaluusua S, Saarinen-Pihkala UM, Peltola J, Hovi L. Agenesis and microdontia of permanent teeth as late adverse effects after stem cell transplantation in young children. *Cancer* 2005; 103: 181-90.
12. Alaluusua S, Calderara P, Gerthoux PM, Lukinmaa PL, Kovero O, Needham L, et al. Developmental dental aberrations after the dioxin accident in Seveso. *Environ Health Perspect* 2004; 112: 1313-8.
13. Yasuda I, Yasuda M, Sumida H, Tsusaki H, Arima A, Ihara T, et al. In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) affects tooth development in rhesus monkeys. *Reprod Toxicol* 2005; 20: 21-30.
14. Chosack A, Eidelman E, Cohen T. Hypodontia: A polygenic trait – a family study among Israeli jews. *J Dent Res* 1975; 54: 16-9.
15. Brook AH. A unifying aetiological explanation for anomalies of human tooth number and size. *Arch Oral Biol* 1984; 29: 373-8.
16. Markovic M. Hypodontia in twins. *Swed Dent J (Suppl)* 1982; 15: 153-62.
17. Townsend G, Rogers J, Richards L, Brown T. Agenesis of permanent maxillary lateral incisors in South Australian twins. *Aust Dent J* 1995; 40: 186-92.
18. Kotsomitis N, Dunne MP, Freer TJ. A genetic aetiology for some common dental anomalies: a pilot twin study. *Aust Orthod J* 1996; 14: 172-8.
19. Dempsey PJ, Townsend GC. Genetic and environmental contributions to variation in human tooth size. *Heredity* 2001; 86: 685-93.
20. Burzynski N, Escobar V. Classification and genetics of numeric anomalies of dentition. *Birth Defects* 1983; 13: 95-106.
21. Suarez BK, Spence A. The genetics of hypodontia. *J Dent Res* 1974; 53: 781-5.
22. Pirinen S, Kentala A, Nieminen P, Varilo T, Thesleff I, Arte S. Recessively inherited lower incisor hypodontia. *J Med Genet* 2001; 38: 551-6.
23. Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I, et al. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 1043-50.
24. Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Idman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet* 1996; 13: 417-21.
25. Stockton DW, Das P, Goldenberg M, D'Souza RN, Patel PI. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia. *Nat Genet* 2000; 24: 18-9.
26. Nieminen P, Kotilainen J, Aalto Y, Knuutila S, Pirinen S, Thesleff I. MSX1 Gene is deleted in Wolf-Hirschhorn Syndrome patients with oligodontia. *J Dent Res* 2003; 82: 1013-7.
27. Lammi L, Halonen K, Pirinen S, Thesleff I, Arte S, Nieminen P. A missense mutation in PAX9 in a family with distinct phenotype of oligodontia. *Eur J Hum Genet* 2003; 11: 866-71.
28. Jumlongras D, Lin JY, Chapra A, Seidman CE, Seidman JG, Maas RL, et al. A novel missense mutation in the paired domain of PAX9 causes non-syndromic oligodontia. *Hum Genet* 2004; 114: 242-9.
29. Peters H, Neubuser A, Kratochwil K, Balling R. Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit cranio-facial and limb abnormalities. *Genes Dev* 1998; 12: 2735-47.
30. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005; 434 (7035): 843-50.
31. van Genderen C, Okamura RM, Farinas I, Quo RG, Parslow TG, Bruhn L, et al. Development of several organs that require inductive epithelial-mesenchymal interactions is impaired in LEF-1- deficient mice. *Genes Dev* 1994; 8: 2691-703.
32. Andl T, Reddy ST, Gaddapara T, Millar SE. WNT signals are required for the initiation of hair follicle development. *Dev Cell* 2002; 2: 643-53.
33. Huyseune A, Thesleff I. Continuous tooth replacement: the possible involvement of epithelial stem cells. *Bioessays* 2004; 26: 665-71.
34. Yu HM, Jerchow B, Sheu TJ, Liu B, Costantini F, Puzas JE, et al. The role of Axin2 in calvarial morphogenesis and craniosynostosis. *Development* 2005; 132: 1995-2005.
35. Wolf J, Jarvinen HJ, Hietanen J. Gardner's dento-maxillary stigmata in patients with familial adenomatosis coli. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1986; 24: 410-6.
36. Lee E, Salic A, Kruger R, Heinrich R, Kirschner MW. The roles of APC and Axin derived from experimental and theoretical analysis of the Wnt pathway. *PLoS Biology* 2003; 1: E10.
37. Abate-Shen C. Deregulated homeobox gene expression in cancer: cause or consequence? *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 777-85.
38. Nieminen P, Arte S, Pirinen S, Peltonen L, Thesleff I. Gene defect in hypodontia - exclusion of MSX1 and MSX2 as candidate genes. *Hum Genet* 1995; 96: 305-8.
39. Arte S, Nieminen P, Pirinen S, Thesleff I, Peltonen L. Gene defect in hypodontia: exclusion of EGF, EGFR, and FGF-3 as candidate genes. *J Dent Res* 1996; 75: 1346-52.
40. Vieira AR, Meira R, Modesto A, Murray JC. MSX1, PAX9, and TGFA contribute to tooth agenesis in humans. *J Dent Res* 2004; 83: 723-7.

Författare

Pekka Nieminen, biokemist, fil.mag.

Odontologiska institutionen, Biomedicum, Helsingfors universitet, Finland

Sirpa Arte, specialisttandläkare, odont.dr.

Odontologiska institutionen, Biomedicum, Helsingfors universitet, Finland, och Kliniken för mun- och käksjukdomar, Kirurgiska sjukhuset, Helsinki University Central Hospital, Finland

Korrespondens:

Pekka Nieminen, Odontologiska institutionen Biomedicum, PB 63, 00014 Helsingfors universitet, Helsingfors, Finland. Tfn. +358-(0)9-191 252 15; fax +358-(0)9-191 253 71. E-mail: pekka.nieminen@helsinki.fi