



UPPSALA
UNIVERSITET

Xeroderma pigmentosum

Hyperkänslighet för ultraviolett ljus

Richard Havam

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2009
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Xeroderma pigmentosum (XP) är en autosomal recessiv sjukdom som leder till extrem känslighet för ultraviolett ljus. XP orsakas av defekter inom excisionreparation som reparerar UV-inducerade DNA-skador. Defekterna inom excisionreparationen leder till 1000 ggr högre risk att utveckla hudcancer. Andra vanliga symptom hos XP-patienter är hyperpigmenterade områden vid solexponerade delar av huden, ögonproblem så som bortfall av ögonfransar och ögonlock, entropion (nedre ögonlocksranden inåtvriden och skaver på ögat), högre risk att drabbas av cancer i ögonen och neurologiska problem så som låg intelligens och abnormal motoraktivitet.

XP delas in i sju typer (XP-A-XP-G) beroende på vilken gen (*XPA-XP-G*) som är muterad. Dessa sju *XP*-gener kodar för proteiner som delar i excisionreparation, där varje protein har en specifik uppgift. XPC lokaliserar cyklobutanpyrimidin-dimerer och fotoprodukter, två vanliga UV-inducerade DNA-skador. Det finns även en möjlighet att XPE kan medverka i lokaliseringen av DNA-skador. En del XP-E-celler har visats sakna ett DNA-skadebindande protein (DDB, DNA damage binding), ett protein som snabbt ansamlas vid UV-inducerade DNA-skador och kan stimulera excisionsreaktionen så den ökar 17-falt för cyklobutanpyrimidin-dimerer.

XPB- och *XPD*-genprodukterna utgör två subenheter i transkriptionsfaktorn II H (TFIIH) som rekryteras av XPC, separerar DNA-kedjan efter att DNA-skadan lokaliserats av XPC. Separeringen möjliggör för XPF och XPG att klippa ut den skadade DNA-regionen. XPF rekryteras till DNA-skadan av XPA som dessutom interagerar med DDB. Mutationer i *XPD* och *XPB* kan inte bara orsaka XP utan även trikotiodystrofi och Cockaynes syndrom, två genetiska sjukdomar som leder till känslighet för UV-strålning precis som XP. En stor skillnad mellan XP, trikotiodystrofi och Cockaynes syndrom är att XP leder till ökad risk för cancer till skillnad från trikotiodystrofi och Cockaynes syndrom. XP-B- och XP-D-patienters symptom kan orsakas av brister inom transkription snarare än defekter inom excisionreparation.

XP-patienternas nedsatta funktion av excisionreparation förklarar inte varför cirka 20 % av patienterna får neurologiska problem. UV-strålningen når inte neuronerna och kan inte orsaka UV-inducerade DNA-skador på dessa celler. DNA-skador orsakade av reaktiva syreföreningar så som 8,5'-(S)-cyklo-2'-deoxyadenosin kan vara en förklaring till XP-patienternas neurologiska problem. Excisionreparationen reparerar inte enbart DNA-skador orsakade av UV-strålning utan även skador så som 8,5'-(S)-cyklo-2'-deoxyadenosin. En större förståelse för excisionreparationens alla mekanismer kan även ge svar på hur kroppen reparerar andra DNA-skador, inte bara UV-inducerade DNA-skador. En djupare förståelse för cellens olika DNA-reparationssystem kan även leda till mer kunskaper om cancers alla mekanismer.

Inledning

Xeroderma pigmentosum är en sjukdom där drabbade individer är hyperkänsliga för ultraviolett ljus. Känsligheten leder till 1000 ggr högre risk för hudcancer, 2000 ggr högre risk för neoplasm i ögonen samt neurologiska problem. Sjukdomen tvingar drabbade individer att leva skyddade från ultraviolett ljus. Även den minsta exponeringen kan vara till fara för drabbade individer. Målet med undersökningen var att ge information och väcka intresse för sjukdomen. Ny forskning kan inte bara leda till kunskaper om cellens reparationsystem, en bättre förståelse för sjukdomen och individerna som drabbas, möjligheter för nya behandlingar, utan även till nya insikter om cancers mekanismer.

Xeroderma pigmentosum

Xeroderma pigmentosum (XP) är en allvarlig autosomal recessiv sjukdom som leder till extrem känslighet för ultraviolett ljus (Kraemer m.fl. 1987). Det finns 7 olika typer av XP (XP-A – XP-G) där indelningen beror på vilken av sju olika gener (*XPA-XPG*) som är muterad (Sugasawa m.fl. 2002). Dessa gener medverkar i ett reparationssystem som reparerar skadat DNA, skador som till största delen orsakats av UV-strålning. Det är inte enbart defekter inom reparationssystemet som kan leda till känslighet för UV-strålning. Det finns en variant av sjukdomen, där reparationssystemet ifråga fungerar normalt till skillnad från de övriga XP-typerna (Wang m.fl. 1993). Orsaken till UV-känsligheten är ett defekt DNA-polymeras som begränsar translesionssyntes och resulterar i känslighet för UV-strålning.

Symptom

I en studie av Kraemer m.fl. (1987) där 830 XP-patienter med en medelålder på 12 år granskades visades att de första symptomen, som kan visa sig redan vid ett till två års ålder, är fräkneliknande hyperpigmenterade områden på huden som uppstår vid solexponerade områden. Ungefär 50 % av alla individer med XP kan bli svårt solbrända vid minimal exponering för UV-strålning, vilket möjligen kan göra det lättare att upptäcka sjukdomen redan i en tidig ålder (Kraemer m.fl. 1987). Den andra hälften blir inte mer solbrända än friska individer vilket medför en högre risk att sjukdomen inte upptäcks i en tidig ålder. Det är av stor vikt att så fort som möjligt kunna diagnostisera sjukdomen för att förebygga uppkomsten av UV-inducerade DNA-skador.

Patienternas ackumulerande UV-inducerade DNA-skador leder främst till ökad risk för hudcancer men även andra symptom. Ögonproblem är vanligt bland många av patienterna (Kraemer m.fl. 1987). Problemen begränsas till UV-exponerade områden så som ögonlocken, binnhinnan och hornhinnan. Risken för att drabbas av neoplasm i ögonen beräknades vara 2000 ggr högre för XP-patienter jämfört med friska individer (Kraemer m.fl. 1987). Andra ögonrelaterade problem som XP-patienter kan drabbas av är fotofobi, bortfall av ögonfransar, bortfall av ögonlock, entropion (nedre ögonlocksranden inåtvriden och skaver på ögat) (Kraemer m.fl. 1987). XP-patienter kan även drabbas av neurologiska problem med symptom som låg intelligens, abnormal motoraktivitet, areflexi (bortfall av senreflexer), nedsatt hörsel och abnormt tal.

Prognos

Patienter yngre än 20 år löper 1000 ggr högre risk att utveckla hudcancer (Kraemer m.fl. 1987). Medelåldern för patienter med ickemelanom hudcancer är 8 år, vilket är ungefär 50 år yngre jämfört med andra patienter med hudcancer i USA. Det är inte enbart huden och ögonen som är exponerade för UV-strålning, även munhålan kan drabbas av skador orsakade av UV-strålningen. XP-patienter har 20 000 ggr större risk att utveckla cancer på tungspetsen. (Kraemer m.fl. 1987). Förutom risken för hudcancer har XP-patienter även en 10-20 ggr större risk att drabbas av interna neoplasmer. Hjärntumörer, leukemi och lungcancer har funnits bland XP-patienter. I studien utförd av Kraemer m.fl. (1987) uppskattades patienterna få medellivslängden reducerad med nästan 30 år.

Liknande sjukdomar

Xeroderma pigmentosum är inte den enda sjukdomen som leder till UV-känslighet (Coin m.fl. 1999, Riou m.fl. 1999). Två andra sjukdomar, trikotiodystrofi och Cockaynes syndrom är båda allvarliga åkommor som har liknande bakomliggande mekanismer som XP, men till skillnad från XP leder varken trikotiodystrofi eller Cockaynes syndrom till ökad risk för cancer. Mutationer i *XPB*-genen kan ge upphov till XP, Cockaynes syndrom eller trikotiodystrofi och vissa patienter kan drabbas av en kombination mellan XP och Cockaynes syndrom eller XP och trikotiodystrofi (Coin m.fl. 1999, Riou m.fl. 1999). I dessa fall finns mutationen i *XPB*-genen och orsakar brister i reparationssystemet av UV-inducerade DNA-skador men kan möjligen även påverka transkriptionen av DNA.

Trikotiodystrofi

Trikotiodystrofi är en autosomal recessiv sjukdom med symptom som sprött och bräckligt hår orsakat av brist på svavel, intellektuell försämring, kortväxthet, hudproblem, okulära problem och benskörhet (Broughton m.fl. 2001, Faghri m.fl. 2008, Giglia-Mari m.fl. 2004). Drabbade individer får en ökad känslighet mot UV-strålning precis som XP-patienter. Känsligheten mot UV-strålning hos individer med trikotiodystrofi beror på mutationer i två gener, *XPD* och *XPB*. Mutationer i någon av dessa två gener, som namnet kan antyda, kan även orsaka XP-D respektive XP-B (Broughton m.fl. 2001, Faghri m.fl. 2008, Giglia-Mari m.fl. 2004). Genprodukterna från *XPD* och *XPB* bygger upp två subenheter i RNA-polymeras II generella transkriptionfaktor H (TFIIH) som har två olika roller i cellen, reparation av DNA-skador och transkription av DNA.

Cockaynes syndrom

Cockaynes syndrom är en autosomal recessiv sjukdom där drabbade individen kan få svåra symptom så som UV-känslighet, mentalt handikapp, dövhet, svåra neurologiska problem, benskörhet och minskad tillväxt i tidig ålder som påverkar både vikt och längd (Ozdirim m.fl. 1996). Sjukdomen orsakas av mutationer i generna, *CSA*, *CSB* och *XPD* vars produkter är inblandade i reparation av DNA-skador (Colella m.fl. 1999, Nospikel m.fl. 1997). Patienter med Cockaynes syndrom är känsliga för UV-ljus, men utan ökad risk för cancer.

Cellens oförmåga att reparera skador orsakade av ultraviolett ljus

Cellerna i huden blir ständigt utsatta för mutationer orsakade av UV-strålning. Skadorna orsakade av UV-strålning repareras i normala celler via excisionreparation där ett flertal proteinkomplex lokaliserar, identifierar och byter ut oligonukleotider som innehåller skadade delar (Dumaz m.fl. 1993). Detta reparationssystem fungerar inte hos individer med XP och skadorna blir aldrig reparerade. Oförmåga att reparera UV-inducerade DNA-skador ökar risken för tumörbildning, vilket utgör det största hotet för XP-patienterna (Dumaz m.fl. 1993). Cyklobutanpyrimidin-dimerer, en vanlig UV-inducerad DNA-skada, kan aktivera vissa onkogener. XP-patienter har mer än dubbelt så hög mutationsfrekvens i onkogener inom genfamiljen *ras* jämfört med friska individer (Dumaz m.fl. 1993). Det finns även en koppling mellan inaktiveringen av tumörsuppressorgen *p53* och skador orsakade av UV-strålning hos XP-patienter. Dumaz m.fl. (1993) visade att 40 % av tumörerna hos XP-patienter hade punktmutationer i *p53* och 61 % av dessa mutationer var unika för just UV-inducerade mutationer.

Excisionreparation

Nukleotidexcisionsreparation (NER, ofta kallat bara "excisionsreparation") består av två huvudvägar, global genomreparation som reparerar skador över hela genomet och transkriptionkopplad reparation som reparerar skador koncentrerade till aktivt transkriberade gener (Berg m.fl. 2000). Excisionsreparation består av fyra huvudsteg; (1) lokalisering av skadat DNA, (2) denaturering av DNA-kedjan, (3) excision av nukleotider vid DNA-skadan och (4) syntetisering av ny DNA-tråd (Berg m.fl. 2000). I det första steget lokaliserar DNA-skadan av XPC proteinet som är bundet till genprodukten från HR23B-genen. XPA proteinet stabiliserar och möjliggör steg två där XPB och XPD denaturerar DNA-kedjan i området kring DNA-skadan. I det tredje steget klipper XPF och XPG ut nukleotider vid DNA-skadan. XP-C- och XP-E-celler har en defekt i global genomreparation, övriga grupper av XP har defekter inom både transkriptionkopplad reparation och global genomreparation (Berg m.fl. 2000). Studier med hårlösa möss har visat att defekter inom global genomreparation resulterar i högre risk att utveckla hudcancer jämfört med defekter inom transkriptionkopplad reparation (Berg m.fl. 2000).

Xeroderma pigmentosum typ C

XPC bildar ett komplex med *HR23B*-genens produkt och binder till DNA i övergången mellan dubbeltrådig och enkeltrådig DNA (Sugasawa m.fl. 2002). XPC-HR23B kan därför lokalisera skador som skapar "bubblor" i DNA-kedjans struktur (se fig. 1). Ett exempel på sådana skador är just cyklobutanpyrimidin-dimerer och fotoprodukter (Sugasawa m.fl. 2002). XPC-HR23B lokaliserar alltså inte själva skadan utan enbart övergången mellan enkel- och dubbeltrådig DNA. XPC föredrar cyklobutanpyrimidin-dimerer framför fotoprodukter, utan närvaro av XPC-protein sker ingen reparation av vare sig cyklobutanpyrimidin-dimerer eller fotoprodukter (Sugasawa m.fl. 2002).

Emmert m.fl. (2000) utförde en studie där XPC-cDNA tillfördes till XP-C-celler och delvis förändrade och helt förändrade celler valdes ut för att sedan belysas med UV-strålning. Cellernas överlevnad mättes och resultaten visade att ingen reparation av cyklobutanpyrimidin-dimerer eller fotoprodukter sker i celler som helt saknar XPC-protein. I celler med nivåer lägre än basnivån av XPC-protein repareras cyklobutanpyrimidin-dimerer men inte fotoprodukter. Ökas XPC-genuttrycket till normala nivåer sker reparation av både cyklobutanpyrimidin-dimerer och fotoprodukter.

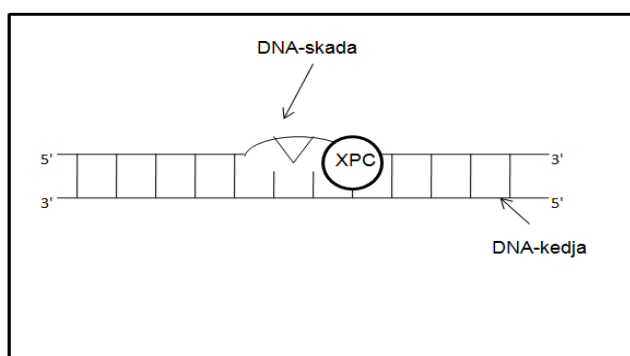


Fig. 1 Steg 1 i excisionreparation. XPC-proteinet binder tillsammans med HR23B till övergången mellan dubbeltrådig och enkeltrådig DNA. Många UV-inducerade DNA-skador skapar "bubblor" i DNA-kedjan som XPC hittar p.g.a. den förändrade DNA-strukturen. XPC bidrar även med att attrahera TFIIH till DNA-skadan.

XPC-HR23B-komplexets förmåga att binda till övergångar mellan enkel- och dubbeltrådig DNA gör att slutsatsen lätt kan dras att XPC-HR23B är först med att binda till en UV-inducerad DNA-skada. Volker m.fl. (2001) påvisade detta i en studie där fluorescerande antikroppsmärkning användes för att detektera vilket komplex som först binder till UV-skador. XPC-HR23B är även essentiell för att rekrytera TFIIH till UV-inducerade DNA-skador. På grund av utebliven reparation av UV-inducerade skador hos XP-C-patienter är risken för cancer betydligt högre (Shimizu m.fl. 2003). Det är möjligt att XP-C-patienter inte enbart har brister inom nukleotidexcisionsreparation utan även inom basexcisionreparation där endast en bas klipps ut till skillnad från nukleotidexcisionsreparation som klipper ut en oligonukleotid (se fig. 2) (Shimizu m.fl. 2003). Basexcisionreparationen initieras av DNA-glykosylaser som avlägsnar basen från sockermolekylen (deoxyribos). XPC-HR23B har visats interagera med tymin-DNA-glykosylas som initierar basexcisionreparation av guanin/tymin-felmatchningar genom att underlätta för tymin-DNA-glykosylaset att lossna från DNA-kedjan (se fig. 3) (Shimizu m.fl. 2003).

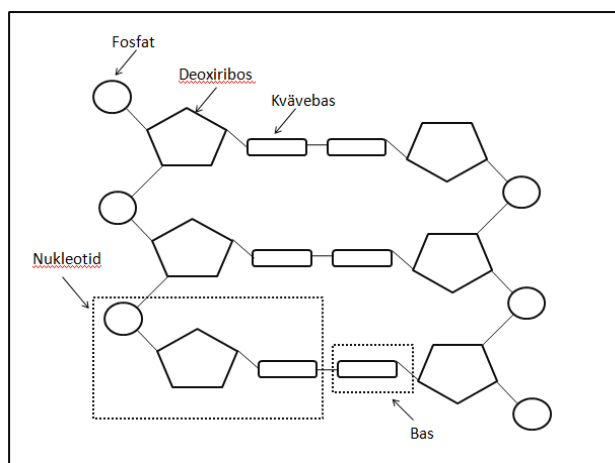


Fig. 2 En nukleotid i DNA-kedjan består av en fosfatgrupp, en sockermolekyl (deoxyribos) och en kvävebas (adenin, guanin, cytosin eller tymin). Vid nukleotidexcisionsreparation klippes en oligonukleotid ut från DNA-kedjan till skillnad från basexcisionreparation där endast en bas avlägsnas från kedjan.

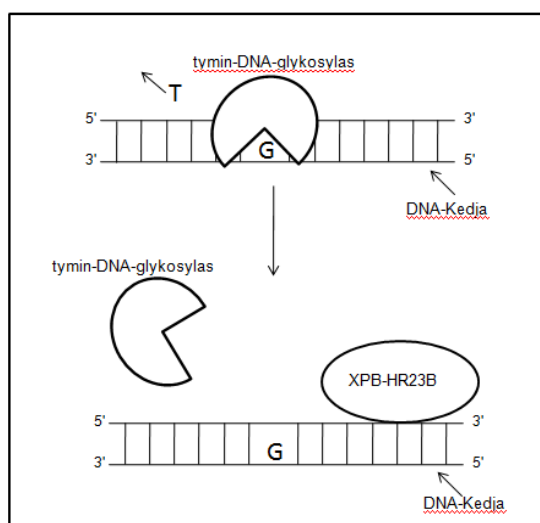


Fig. 3 tymin-DNA-glykosylas initierar basexcisionreparation av guanin/tymin-felmatchningar. XPC-HR23B påverkar genom att underlätta för tymin-DNA-glykosylaset att lossna från DNA-kedjan.

Xeroderma pigmentosum typ E

Personer som har XP-E har den mildaste formen av sjukdomen (Kazantsev m.fl. 1996). Exakt vad XP-E-personer har för defekt inom NER är ännu något oklart. Vad som är klart är att vissa XP-E-celler saknar ett fungerande DNA-skadebindande protein (DDB, DNA damage binding) som binder till fotoprodukter med hög affinitet (Kazantsev m.fl. 1996). XPE-celler har en kraftigt reducerad förmåga att reparera UV-inducerade DNA-skador, med såväl som utan DDB-aktivitet. Trots en del oklarheter kring XP-E så har DDB-proteinet, som är en produkt av *XPE*-genen, en stor affinitet till fotoprodukter och har därmed en stor roll i cellens reparation av UV-inducerade DNA-skador (Hwang m.fl. 1999, Nichols m.fl. 2000, Nag m.fl. 2001). XP-E-celler har en signifikant mindre reparation av cyklobutanpyrimidin-dimerer via global genomreparation jämfört med friska celler (Hwang m.fl. 1999).

Hwang m.fl. (1999) föreslår att DDB i vissa fall kan binda till dessa cyklobutanpyrimidin-dimerskador före XPC-HR23B som sedan byter plats med DDB (se fig. 4). DDB ackumuleras snabbt vid UV-inducerade skador och kan stimulera en 17-faldig ökning av excision för cyklobutanpyrimidin-dimerer och 2-faldig för fotoprodukter jämfört med celler utan DDB (Wakasugi m.fl. 2002). I studien av Hwang m.fl. påvisades en korrelation mellan tumörsuppressorgenen *p53* och en subenhet till DDB (DDB2). Transkriptionen av DDB2 förstärktes av *p53* som i sin tur förstärkte global genomreparation av cyklobutanpyrimidin-dimerer. Basnivåerna av DDB2-transkription är beroende av närvaron av p53-protein, även utan DNA-skador. Utan p53 minskar basnivåerna av DDB2- mRNA kraftigt och ökar inte efter UV-strålning.

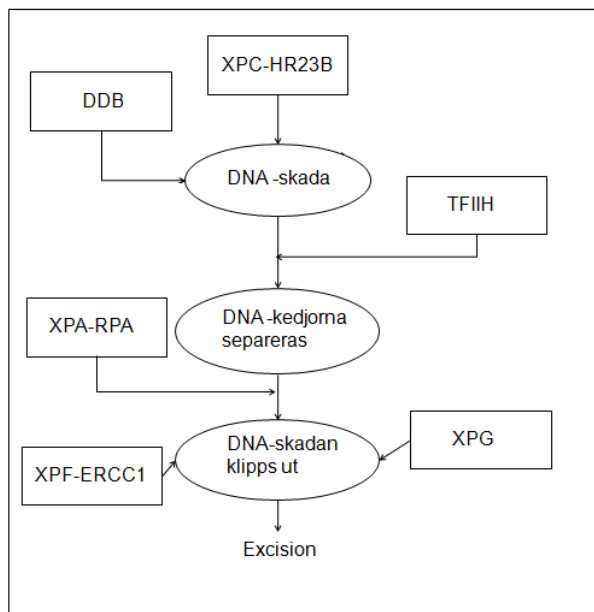


Fig. 4 Schematisk bild över XP-proteinernas roller i global genomreparation. XPC-HR23B lokaliserar en skada, alternativt lokaliserar skadan av DDB som sedan byts ut mot XPC-HR23B. TFIIH separerar DNA-kedjan. XPA-RPA binder till ansamlingen NER-proteiner som gör det möjligt för XPF-ERCC1 och XPG att binda till skadan. XPF-ERCC1 och XPG "klipper" sedan ut skadan.

Xeroderma pigmentosum typ B och D

För att nukleotider ska kunna klippas ut måste den dubbeltrådiga DNA-kedjan separeras (se fig. 5). TFIIH, som består av flera subenheter, bl.a. XPB och XPD, öppnar DNA-kedjan runt

skadan som därefter kan klippas ut. Evans m.fl. (1997) visade att mutationer i *XPB* eller *XPD* helt förhindrar öppning av DNA-kedjan och vid frånvaro av XPA, rot och pollen ADP-ribosyleringsfaktor GTPas-aktiveringsprotein (RPA) eller XPG skapas en denaturerad region med ett mindre omfång jämfört med storleken på öppningen i celler med närvaro av XPA, RPA eller XPG.

Mutationer i *XPB*- och *XPD*-generna kan leda till tre olika sjukdomar, trikotiodystrofi, XP och kombinationen av Cockaynes syndrom och XP (Coin m.fl. 1999). Frågan gällande hur mutationer i *XPB*- och *XPD*-generna kan leda till tre olika fenotyper där XP leder till ökad risk för cancer till skillnad från trikotiodystrofi eller Cockaynes syndrom är svår att förklara enbart med defekter inom NER. Coin m.fl. (1999) undersökte om TFIIH-komplexets två olika roller (transkription och reparation) kunde ge svar på frågan. I deras studie visades att två Cockaynes syndrom- och XP-B-patienter hade en reducerad transkriptionsaktivitet med TFIIH genom att promotoröppningen förhindrades, i jämförelse med celler från friska individer. Mutationer i *XPD* resulterade i partiellt reducerad transkriptionsaktivitet och Coin m.fl. (1999) drog slutsatsen att XP-B- och XP-D-patienters symptom kan orsakas av brister inom transkription snarare än defekter inom NER.

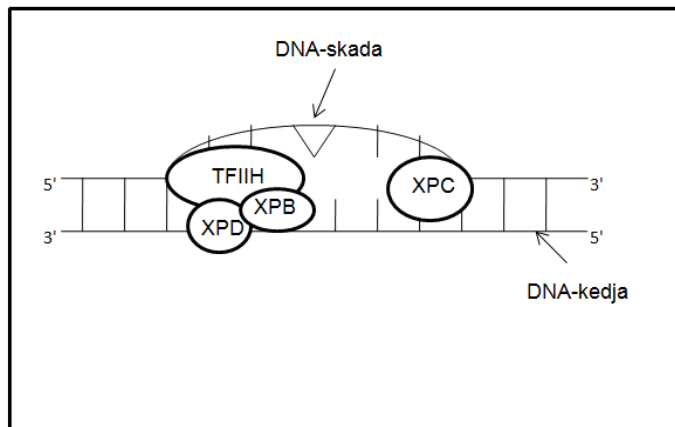


Fig. 5 Steg två i excisionreparation. XPD och XPB som utgör två subenheter till TFIIH binder till DNA-skadan och påbörjar separation av DNA-kedjan.

Mutationer i *XPD* kan orsaka både XP och trikotiodystrofi (Taylor m.fl. 1997). XP leder till ökad risk för cancer till skillnad från trikotiodystrofi. Faktorn som avgör vilken fenotypen blir är mutationens position i *XPD*-genen. I en studie av 11 trikotiodystrofipatienter hade samtliga patienter en reducerad TFIIH-koncentration (Botta m.fl. 2002). Graden av reduktion av TFIIH-koncentration korrelerade inte med graden av fenotyptryck hos trikotiodystrofipatienter, i jämförelse med TFIIH-koncentration och fenotyptryck hos XP-patienter. Botta m.fl. (2002) föreslog att muterad *XPD* inverkar inte enbart på stabiliteten hos TFIIH utan även på transkriptionsaktiviteten.

I en nyligen utförd studie av Boyle m.fl. (2008) undersöktes tre patienter med XP, två patienter med trikotiodystrofi och två patienter med en kombination av XP och trikotiodystrofi orsakad av *XPD*-mutationer. Undersökningen visade reducerade nivåer av TFIIH men nästan normal reparation av fotoprodukter hos patienterna. Studien visade att XP-cellerna rekryterade NER-proteinerna till UV-inducerade DNA-skador men återdistribuerade inte dessa proteiner från skadan, vilket skedde i cellerna från trikotiodystrofipatienterna. Ansamlingen av NER-proteiner vid skadan blockerar möjligheten till felbenägen replikation av DNA polymeras η (eta), och förhindrar därmed polymeraset att ta sig förbi DNA-regionen

där basinformation saknas, vilket förklarar orsaken till XP-patienternas förhöjda cancerrisk till skillnad från trikotiodystrofi-patienter (Boyle m.fl. 2008).

Xeroderma pigmentosum typ A

Efter att den UV-inducerade DNA-skadan lokaliserats av XPC, XPE och TFIIH kan skadan nu "klippas" ut (se fig.3). Det är XPG och ERCC1-genens produkt tillsammans med XPF som klipper ut nukleotider vid DNA-skadan (Volker m.fl. 2001). ERCC1-XPF är beroende av XPA för att kunna binda till ansamlingen av NER-proteiner som nu finns runt skadan. XPG är däremot inte beroende av XPA för att kunna binda till komplexet, men det är möjligt att XPA kan aktivera XPG att utföra incisionen vid skadan (Volker m.fl. 2001). XPA och RPA har även visats bilda komplex med DDB som direkt stimulerar excision av cyklobutanpyrimidin-dimerer i cellfria extrakt (Wakasugi m.fl. 2001). Excisionsreaktionen av cyklobutanpyrimidin-dimerer kan stimuleras ytterligare med tillsats av XPA eller RPA. I en nyligen utförd studie av Wakasugi m.fl. (2009) styrktes hypotesen att XPA interagerar direkt med DDB, främst genom DDB2. I studien visades att en muterad XPA inte kunde interagera med DDB som i sin tur inte kunde stimulera excisionen av cyklobutanpyrimidin-dimerer trots att XPA fortfarande fungerade i övrigt i NER.

Xeroderma pigmentosum typ G och F

När DNA-kedjan separerats klipps oligonukleotiden som innehåller skadan ut med XPG- och XPF-proteiner (se fig.6) (Evans m.fl. 1997). XPF bildar ett komplex med ERCC1 och har en endonukleasaktivitet som utför en incision 5' om skadan (se fig. 6) (Sijbers m.fl. 1996) och XPG utför en incision 3' om skadan (Evans m.fl. 1997). En studie av Nospikel m.fl. (1997) visade att patienter med en kombination av XP-G och Cockaynes syndrom hade en mutation som påverkade XPG-proteinets längd. Patienterna med kombinationen XP-G och Cockaynes syndrom producerade ett kortare protein, medan XP-G-patienter producerade ett fullständigt XPG-protein men där mutationen istället påverkade proteinets endonukleasaktivitet.

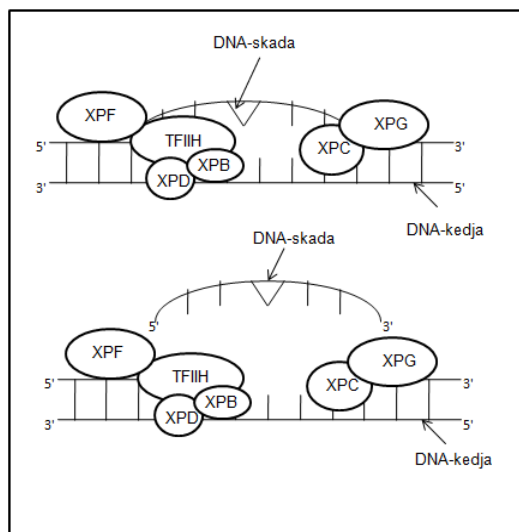


Fig. 6 Steg 3 i excisionreparation. XPF och XPG binder till DNA-skadan och utför varsitt snitt på vardera sidan av DNA-skadan.

Skillnaderna mellan symptomen hos XP- och Cockaynes syndrompatienter skiljer sig åt i hur svåra symptomen blir. Nospikel m.fl. (1997) föreslog att XPG även kan ha en andra funktion

förutom sin endonukleasaktivitet som skulle kunna ge en möjlig förklaring till skillnaderna mellan symptomen hos XP- och Cockaynes syndrompatienter. Denna andra funktion har Ito m.fl. (2007) påvisat i en studie där XPG visades bilda ett stabilt komplex med TFIIH och mutationer i XPG hos patienter med en kombination av XP-G och Cockaynes syndrom påverkade TFIIH-komplexets konstruktion. Mutationerna i XPG hos dessa patienter resulterade i bortkoppling av bland annat XPD från TFIIH-komplexet vilket sannolikt påverkar transkriptionen (Ito m.fl. 2007)

Xeroderma pigmentosum variant

Denna variant av XP (XPV) uppvisar liknande symtom med extrem känslighet mot UV-strålning som de övriga XP-grupperna men med skillnaden att excisionreparation fungerar normalt (Boyer m.fl. 1990, Lehmann m.fl. 1975, Wang m.fl. 2007). Orsaken till känsligheten mot UV-strålning grundar sig i postreplikationreparation som möjliggör replikation av cellens DNA och bildandet av intakta dotterceller trots bestående skador som inte lyckats bli reparerade. XPV-genen kodar för DNA-polymeras η som inte blockeras av cyklobutanpyrimidin-dimerer till skillnad från andra DNA-polymeras och därmed kan replikera förbi skadorna (Johnson m.fl. 1999, Masutani m.fl. 1999).

XP-V-cellen har ett fungerande excisionreparation men är ändå mycket känsliga för UV-strålning trots att cellens UV-inducerade DNA-skador blir reparerade av excisionreparationen. Mutationer i XPV-celler har visats skilja sig signifikant från mutationerna i normala celler (Wang m.fl. 2007). I XP-V-cellerna var oftast puriner utbytta mot pyrimidiner vilket var mycket mer sällsynt i friska celler vilket kan vara ett tecken på att det postreplikativa reparationssystemet inte fungerar normalt.

DNA-polymeras ι (iota) ersätter DNA-polymeras η i XP-V-celler (Tissier m.fl. 2000). DNA-polymeras ι är ett polymeras som replikerar oskadat DNA med väldigt stor osäkerhet och ofta sätter in fel bas, vilket förklarar den höga frekvensen av UV-inducerade mutationer hos XP-V-patienter. I jämförelse med XPV-celler utan DNA polymeras η och med olika nivåer av DNA-polymeras ι är frekvensen av mutationer korrelerat med genuttrycket av DNA-polymeras ι , vilket visar att DNA-polymeras ι är orsaken till den höga och abnormala frekvensen av mutationer i XPV (Wang m.fl. 2007). Celler som saknar DNA-polymeras η har 2-4 ggr lägre replikation förbi cyklobutanpyrimidin-dimerer och 6-17 ggr högre mutationsfrekvens jämfört med celler med DNA-polymeras η (Hendel m.fl. 2008). Det är alltså osäkerheten i replikationen förbi DNA-skador hos DNA-polymeras ι som bär ansvaret för XP-V-patienternas förhöjda cancerrisk.

Neurodegeneration orsakat av oxidativa skador

I en undersökning där 16 finska XP-patienter följdes visades att XP-A-patienterna drabbades av neurologiska och kognitiva problem redan i barndomen (Anttinen m.fl. 2008). De neurologiska problemen ökade med stigande ålder och påverkade till slut hela nervsystemet vilket ledde till dödsfall innan de blev 40 år. XP-cellernas känslighet för UV-strålning förklarar inte varför vissa av XP-patienterna får neurodegenerativa problem i centrala och perifera nervsystemet (Reardon m.fl. 1997, Satoh m.fl. 1993). UV-strålningen når inte neuronerna och kan därför inte orsaka skador på cellernas DNA. Däremot kan oxidativa skador uppstå av biprodukter i form av reaktiva syreföreningar från cellens respiration. Två

vanliga oxidativa DNA-skador, 8-oxoguanin och tyminglykol, har visat sig repareras av NER. 8,5'-(*S*)-cyklo-2'-deoxyadenosin, en fri radikalinducerad skada, som blockerar transkription, repareras av excisionreparation (Brooks m.fl. 2000). Celler från XP-A-patienter med neurodegenerativa problem visades ha en väldigt dålig reparation av 8,5'-(*S*)-cyklo-2'-deoxyadenosin och kan vara en möjlig förklaring till neurologiska problem hos XP-patienter.

Diskussion

XP-patienters symtom kan variera mellan individer och de olika typerna av sjukdomen, men många XP-patienter drabbas hårt av sjukdomen med en kraftig reducerad livslängd. Deras tillvaro begränsas när de ständigt behöver söka skydd från UV-strålningen. Det finns hjälpmedel för XP-drabbade individer, UV-blockerande plastfilm kan sättas upp på fönster i hemmet och speciella skyddskläder kan användas för utomhusvistelse. Men många XP-patienter har känsliga ögon, starkt ljus leder till ögonsmärter och huvudvärk vilket leder till att dessa patienter söker sig till mörkrets skyddande effekt. Att leva i denna begränsade tillvaro måste vara svårt för många och att dessutom veta att risken finns för att drabbas av neurodegenerativa problem kan inte göra deras tillvaro enklare.

Att få svar på excisionreparationens mekanismer kan även leda till svar för andra reparationssystemens mekanismer, XPC-HR23B-komplexet kan exempelvis ha en medverkan i basexcisionreparation. Det är inte bara UV-inducerade DNA-skador så som cyklobutanpyrimidin-dimerer och fotoprodukter som repareras av excisionreparation, även 8,5'-(S)-cyklo-2'-deoxyadenosin repareras av excisionreparation. En större förståelse för hur DNA-skador repareras kan ge insikt i andra DNA-skade relaterade problem så som cancer eller åldrandet.

Tack

Tack till David Lagman, Anna Lundin, Ida Netzel, Johan Svensson och Karin Carlson för korrekturläsning, tips och idéer om uppsatsens utformning. Eran hjälp och era förslag har varit mycket värdefulla.

Referenser

- Anttinen A, Koulu L, Nikoskelainen E, Portin R, Kurki T, Erkinjuntti M, Jaspers NG, Raams A, Green MH, Lehmann AR, Wing JF, Arlett CF, Marttila RJ. 2008. Neurological symptoms and natural course of xeroderma pigmentosum. *Brain*. 131:1979-89
- Berg RJ, Rebel H, van der Horst GT, van Kranen HJ, Mullenders LH, van Vloten WA, de Gruijl FR. 2000. Impact of global genome repair *versus* transcription-coupled repair on ultraviolet carcinogenesis in hairless mice. *Cancer Res*. 60:2858-63
- Botta E, Nardo T, Lehmann AR, Egly JM, Pedrini AM, Stefanini M. 2002. Reduced level of the repair/transcription factor TFIIH in trichothiodystrophy. *Hum. Mol. Genet*. 11:2919-2928.
- Boyer JC, Kaufmann WK, Brylawski BP, Cordeiro-Stone M. 1990. Defective postreplication repair in Xeroderma pigmentosum variant fibroblasts. *Cancer Res*. 50:2593-8
- Boyle J, Ueda T, Oh KS, Imoto K, Tamura D, Jagdeo J, Khan SG, Nadem C, Digiovanna JJ, Kraemer KH. 2008. Persistence of repair proteins at unrepaired DNA damage distinguishes diseases with ERCC2(XPD) mutations: cancer-prone xeroderma pigmentosum vs. non-cancer-prone trichothiodystrophy. *Hum Mutat* 29:1194-208.
- Brooks PJ, Wise DS, Berry DA, Kosmoski JV, Smerdon MJ, Somers RL, Mackie H, Spoonde AY, Ackerman EJ, Coleman K, Tarone RE, Robbins JH. 2000. The oxidative DNA lesion 8,5'-(S)-cyklo-2'-deoxyadenosin is repaired by the nucleotide excision repair pathway and blocks gene expression in mammalian cells. *J Biol Chem*. 275:22355-62
- Broughton BC, Berneburg M, Fawcett H, Taylor EM, Arlett CF, Nardo T, Stefanini M, Menefee E, Price VH, Queille S, Sarasin A, Bohnert E, Krutmann J, Davidson R, Kraemer KH, Lehmann AR. 2001. Two individuals with features of both xeroderma pigmentosum and trichothiodystrophy highlight the complexity of the clinical outcomes of mutations in the XPD gene. *Hum Mol Genet*. 10:2539-47.
- Coin F, Bergmann E, Tremeau-Bravard A, Egly JM. 1999. Mutations in XPB and XPD helicases found in xeroderma pigmentosum patients impair the transcription function of TFIIH. *EMBO J*. 18:1357-66
- Colella S, Nardo T, Mallery D, Borrone C, Ricci R, Ruffa G, Lehmann AR, Stefanini M. 1999. Alterations in the CSB gene in three Italian patients with the severe form of Cockayne syndrome (CS) but without clinical photosensitivity. *Hum Mol Genet*. 8:935-41.
- Dumaz N, Drougard C, Sarasin A, Daya-Grosiean L. 1993. Specific UV-induced mutation spectrum in the p53 gene of skin tumors from DNA-repair deficient Xeroderma pigmentosum patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90:10529-33
- Emmert S, Kobayashi N, Khan SG, Kraemer KH. 2000. The xeroderma pigmentosum group c gene leads to selective repair of cyclobutane pyrimidine dimers rather than 6-4 photoproducts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97:2151-6
- Evans E, Fellows J, Coffey A, Wood RD. 1997. Open complex formation around a lesion during nucleotide excision repair provides a structure for cleavage by human XPG protein. *EMBO J*. 16:625-38.
- Evans E, Moggs JG, Hwang JR, Egly JM, Wood RD. 1997. Mechanism of open complex and dual incision formation by human nucleotide excision repair factors. *EMBO J*. 16:6559-73
- Faghri S, Tamura D, Kraemer KH, Digiovanna JJ. 2008. Trichothiodystrophy: a systematic review of 112 published cases characterizes a wide spectrum of clinical manifestations. *J Med Genet*. 45:609-21
- Giglia-Mari G, Coin F, Ranish JA, Hoogstraten D, Theil A, Wijgers N, Jaspers NG, Raams A, Argentini M, van der Spek PJ, Botta E, Stefanini M, Egly JM, Aebbersold R, Hoeijmakers

- JH, Vermeulen W. 2004. A new, tenth subunit of TFIIH is responsible for the DNA repair Syndrome trichothiodystrophy group A. *Nat Genet.* 36:714-9.
- Hendel A, Ziv O, Gueranger Q, Geacintov N, Livneh Z. 2008. Reduced efficiency and increased mutagenicity of translesion DNA synthesis across a TT cyclobutane pyrimidine dimer, but not a TT 6-4 photoproduct, in human cells lacking DNA polymerase eta. *DNA Repair.* 7:1636-46.
- Hwang BJ, Ford JM, Hanawalt PC, Chu G. 1999. Expression of the p48 xeroderma pigmentosum gene is p53-dependent and is involved in global genomic repair. *Proc Natl Acad Sci USA.* 96:424-8
- Ito S, Kuraoka I, Chymkowitz P, Compe E, Takedachi A, Ishigami C, Coin F, Egly JM, Tanaka K. 2007. XPG stabilizes TFIIH, allowing transactivation of nuclear receptors: implications for Cockayne syndrome in XP-G/CS patients, *Mol. Cell* 26:231–243.
- Johnson RE, Prakash S, Prakash L. 1999. Efficient bypass of thymine-thymine dimer by yeast DNA polymerase, Poleta. *Science.* 283:1001-4
- Kazantsev A, Mu D, Nichols AF, Zhao X, Linn S, Sancar A. 1996. Functional complementation of xeroderma pigmentosum complementation group E by replication protein A in an in vitro system. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93:5014-8.
- Kraemer KH, Lee MM, Scotto J. 1987. Xeroderma pigmentosum. Cutaneous, ocular, and neurologic abnormalities in 830 published cases. *Arch Dermatol.* 123:241–50.
- Lehmann AR, Kirk-Bell S, Arlett CF, Paterson MC, Lohman PH, de Weerd-Kastelein EA, Bootsma D. 1975. Xeroderma pigmentosum cells with normal levels of excision repair have defect in DNA synthesis after UV-irradiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72:219-23
- Masutani C, Araki M, Yamada A, Kusumoto R, Nogimori T, Maekawa T, Iwai S, Hanaoka F. 1999. Xeroderma pigmentosum variant (XP-V) correcting protein from HeLa cells has a thymine dimer bypass DNA activity. *EMBO J.* 18:3491-501.
- Nag A, Bondar T, Shiv S, Raychaudhuri P. 2001. The xeroderma pigmentosum group E gene product DDB2 is a specific target of cullin 4A in mammalian cells. *Mol Cell Biol.* 21:6738-47
- Nichols AF, Itoh T, Graham JA, Liu W, Yamaizumi M, Linn S. 2000. Human damage-specific DNA-binding protein p48. Characterization of XPE mutations and regulation following UV irradiation. *Biol Chem.* 275:21422-8
- Nouspikel T, Lalle P, Leadon SA, Cooper PK, Clarkson SG. 1997. A common mutational pattern in Cockayne syndrome patients from xeroderma pigmentosum group G: implications for a second XPG function, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94:3116–3121
- Ozdirim E, Topcu M, Ozön A, Cila A. 1996. Cockayne syndrome: review of 25 cases. *Pediatr Neurol.* 15:312-6
- Reardon JT, Bessho T, Kung HC, Bolton PH, Sancar A. 1997. *In vitro* repair of oxidative DNA damage by human nucleotide excision repair system: Possible explanation for neurodegeneration in Xeroderma pigmentosum patients. *Proc. Natl. Acad. USA.* 94:9463-8
- Riou L, Zeng L, Chevallier-Lagente O, Stary A, Nikaido O, Taieb A, Weeda G, Mezzina M, Sarasin A. 1999. The relative expression of mutated XPB genes results in xeroderma pigmentosum/Cockayne's syndrome or trichothiodystrophy cellular phenotypes. *Hum Mol Genet.* 8:1125–33.
- Satoh MS, Jones CJ, Wood RD, Lindahl T. 1993. DNA excision-repair defect of xeroderma pigmentosum prevents removal of a class of oxygen free radical-induced base lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90:6335-6339
- Shimizu Y, Iwai S, Hanaoka F, Sugawara K. 2003. Xeroderma pigmentosum group C protein interacts physically and functionally with thymine DNA glycosylase. *EMBO J.* 22:164-73

- Sijbers AM, de Laat WL, Ariza RR, Biggerstaff M, Wei YF, Moggs JG, Carter KC, Shell BK, Evans E, de Jong MC, Rademakers S, de Rooij J, Jaspers NG, Hoeijmakers JH, Wood RD. 1996. Xeroderma pigmentosum group F caused by defect in a structure-specific DNA repair endonuclease. *Cell*. 86:811-22.
- Sugasawa K, Shimizu Y, Iwai S, Hanaoka F. 2002. A molecular mechanism for DNA damage recognition by the xeroderma pigmentosum group C protein complex. *DNA Repair* 1:95-107
- Taylor EM, Broughton BC, Botta E, Stefanini M, Sarasin A, Jaspers NG, Fawcett H, Harcourt SA, Arlett CF, Lehmann AR. 1997. Xeroderma pigmentosum and trichothiodystrophy are associated with different mutations in the XPD (ERCC2) repair/transcription gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 94:8658-63
- Tissier A, McDonald JP, Frank EG, Woodgate R. 2000. poliota, a remarkably error-prone human DNA polymerase. *Genes Dev*. 14:1642-50
- Volker M, Moné MJ, Karmakar P, van Hoffen A, Schul W, Vermeulen W, Hoeijmakers JH, van Driel R, van Zeeland AA, Mullenders LH. 2001 Sequential assembly of the nucleotide excision repair factors in vivo. *Mol Cell*. 8:213-24
- Wakasugi M, Kasashima H, Fukase Y, Imura M, Imai R, Yamada S, Cleaver JE, Matsunaga T. 2009. Physical and functional interaction between DDB and XPA in nucleotide excision repair. *Nucleic Acids Res*. 37:516-25.
- Wakasugi M, Kawashima A, Morioka H, Linn S, Sancar A, Mori T, Nikaido O, Matsunaga T. 2002. DDB accumulates at DNA damage sites immediately after UV irradiation and directly stimulates nucleotide excision repair. *J Biol Chem*. 277:1637-40.
- Wakasugi M, Shimizu M, Morioka H, Linn S, Nikaido O, Matsunaga T. 2001. Damaged DNA-binding protein DDB stimulates the excision of cyclobutane pyrimidine dimers in vitro in concert with XPA and replication protein A. *J Biol Chem*. 276:15434-40.
- Wang Y, Woodgate R, McManus TP, Mead S, McCormick JJ, Maher VM. 2007. Evidence that xeroderma pigmentosum variant cells, which lack DNA polymerase eta, DNA polymerase iota causes the very high frequency and unique spectrum of UV-induced mutations. *Cancer Res*. 67:3018-26.
- Wang YC, Maher VM, Mitchell DL, McCormick JJ. 1993. Evidence from mutation spectra that the UV hypermutability of Xeroderma pigmentosum variant cells reflects abnormal, error-prone replication on a template containing photoproducts. *Mol. Cell. Biol*. 13:4276-83