

ASTMA OCH GENETIK I SAMBAND Luftföroreningar och rökning

SAMMANFATTNING:

Både ärftliga och miljörelaterade faktorer påverkar risken att utveckla allergisjukdomar. Förekomst av allergisjukdom i familjen är en av de starkaste riskfaktorerna för sjukdomsutveckling, men ett flertal miljöfaktorer som ger ökad eller minskad risk är också välkända. Samverkan mellan ärftliga och miljörelaterade faktorer är därför sannolikt av stor betydelse. Målsättningen med denna artikel är att belysa sådan samverkan genom att ge exempel på hur effekten av exponering för olika luftföroreningar, till exempel från trafiken eller i form av passiv rökning, kan påverkas av vår genetiska uppsättning avseende risk för astma och allergi. Två gener, TNF och GSTP1, har särskilt analyserats i studier på interaktioner mellan genetik och luftföroreningar, eftersom dessa gener är involverade i kroppens immunsvaret och reaktion i samband med exponering.

Erik Melén

är ST-läkare och med. dr. vid Astrid Lindgrens Barnsjukhus, Karolinska Universitetssjukhuset, samt Institutet för Miljömedicin, Karolinska Institutet, Stockholm

KONTAKTADRESS:

Erik Melén
Astrid Lindgrens Barnsjukhus, Q80
Karolinska Universitetssjukhuset
171 77 Stockholm
erik.melen@ki.se

ERIK MELÉN,

Astrid Lindgrens Barnsjukhus, Karolinska Universitetssjukhuset, Karolinska Institutet

Förekomsten av allergisjukdomar har ökat kraftigt under de senaste decennierna även om nya rön talar för att ökningen nu tycks ha planat av. Studier på tvillingar talar för att den ärftliga komponenten vid astma och allergi är hög, upp mot 60–70% (1). Den ärftliga faktorn kan dock inte enbart förklara ökningen i förekomst, eftersom vår genetiska uppsättning inte har ändrat sig så mycket på så kort tid. Man vet idag att ett flertal miljöfaktorer är viktiga för utveckling av allergisjukdomar, bland annat uppväxtmiljö, kost, olika virusinfektioner samt exponering för tobaksrök och luftföroreningar. Stora förändringar i vår exponering för dessa faktorer har också skett under samma tidsperiod som ökningen skett. Individerna uppvisar dock stora skillnader i hur man påverkas av olika miljöfaktorer. En förklaring kan vara att denna känslighet styrs av vår genetiska uppsättning.

Samband mellan luftföroreningar och astma/allergi

Exponering för luftföroreningar skattas vanligen med hjälp av olika mätningar av partiklar (till exempel PM_{2,5} och PM₁₀ med diameter 2,5 respektive 10 µm), sot, ozon, svaveldioxid (SO₂), kvävedioxid (NO₂) och en blandning av kväveoxider (NO_x). Halterna av olika föroreningar i luften anges till exempel som µg/m³ och nivåerna varierar för olika luftföroreningar och mellan olika geografiska lokaliseringar. Partiklar som PM₁₀ och gaser i

form av kvävedioxid härrör framför allt från vägtrafiken, medan svaveldioxid bildas i samband med uppvärmning, till exempel från fjärrvärmecentraler.

Flera studier har påvisat ett positivt samband mellan exponering för olika luftföroreningar och luftvägssymtom hos barn, och det är välkänt att trafikrelaterade avgaser kan leda till förvärrade symptom hos barn med känd astma (2). Vissa studier talar också för ett samband mellan höga nivåer av luftföroreningar, särskilt från trafiken, och hög förekomst av astma i befolkningen (3) men det är fortfarande oklart om luftföroreningar kan orsaka sjukdom. Ett klart samband mellan exponering och sänkt lungfunktion har kunnat ses redan vid 10 års ålder, och en nyligen publicerad studie talar också för att tidig exponering kan påverka lungfunktionsutvecklingen upp till 18 års ålder (4). Studier på både vuxna och barn tyder på att exponering för luftföroreningar även ökar risken för allergi (sensibilisering), till exempel mot utomhusallergen som björk- och gräspollen (5, 6). Framför allt har dieselpartiklar kopplats till ökad risk för allergier, eftersom dessa partiklar har visat sig kunna stimulera IgE-bildning via effekter direkt på B-cellerna, samt via ökad produktion av cytokiner som ger ett allergibenäget immunsvaret (7). Få prospektiva studier på nyinsjuknande har dock hittills genomförts och verkningsmekanismen är inte heller helt kartlagd.

Rökning, såväl passiv som aktiv, är en mycket välkänd riskfaktor för luftvägs-



Det finns flera studier om gen-miljöinteraktioner inom astma- och allergiområdet, bland annat när det gäller större risk att utveckla astma i områden med höga halter av luftföroreningar från trafiken och effekterna av aktiv och passiv rökning. ILLUSTRATIONSFOTO: MATTEO NATALE / SASCHA BURKARD

sjukdom hos både barn och vuxna, och många barn är exponerade redan tidigt i livet (8). Om mamman röker under graviditeten påverkas tidigt barnets tillväxt och lungutveckling och sänkt lungfunktion har konstaterats redan vid födseln (9). Flera studier visar också på ökad risk för astma senare i livet (10).

Genetik och astma/allergi

En nyligen genomförd sammanställning av ett stort antal publicerade studier visar att över 100 gener kan vara inblandade i utvecklingen av astma och allergi (11). De flesta av dessa gener har valts ut och studerats på basen av deras funktionella och biologiska roll. Ett flertal gener har associerats med astma och/eller allergi i ett stort antal studier (IL4, IL4R, IL13, ADRB2, TNF, HLA-DRB1 och HLA-DQB1, FCER1B, CD14 samt den nyligen identifierade ADAM33) och dessa betraktas som viktiga gener för sjukdomsutveckling. Även GPRA (eller *GPR154*, *NPSR1*) på kromosom 7p som identifierades via studier på familjer från en relativt isolerad del av Finland (Kainuu) betraktas idag som en av de viktigaste «astmage-nera» och samband mellan varianter i denna gen har visats för såväl sensibilisering, hösnuva och astma (12). Flera av de ovan nämnda generna återfinns på kromosomerna 5 och 6, där man också sett starka samband i kopplingsstudier.

Generna representerar väl den patofysiologi som anses vara viktig för utveckling av astma och allergi; Th2-domi-

nerat immunsvar (IL4, IL4R och IL13), β 2-receptorn som återfinns bland annat i luftvägarna (ADRB2), inflammationsmolekyler (TNF), antigenspresenterande molekyler (HLA-DRB1 och HLA-DQB1), högaffinitets-receptorn för IgE (FCER1B) samt receptorer i immunförsvaret för bakteriekomponenter, till exempel endotoxin (CD14). I de flesta generna har ett antal polymorfier som påverkar genens funktion identifierats, till exempel aminosyrautbytet glutamin mot arginin (position 130) i CD14-genen, vilket påverkar immunförsvarets signalering och aktivering, eller nukleotidutbytet guanin (G) mot adenin (A), position-308 i promotorn till TNF-genen, vilket påverkar mängden TNF-protein som produceras. Flera studier talar också för att kombinationen av flera polymorfier i olika gener, till exempel IL4RA och IL13, kan vara av särskild betydelse för utveckling av astma och allergi (via gen-geninteraktion).

Två gener, TNF och GSTP1 har särskilt analyserats i studier på interaktioner mellan genetik och miljö kopplat till olika luftföroreningar, eftersom dessa gener är involverade i kroppens immunsvar och reaktion i samband med exponering.

TNF – Tumor necrosis factor

TNF är en välkänd cytokin med pro-inflammatoriska egenskaper, och har en viktig roll i patofysiologin av flera sjukdomar, inklusive astma och allergi. Även om samband mellan varianter i TNF-genen

(kromosom 6) och astma/allergi har visats i många studier, är det inte helt kartlagt vilka varianter som faktiskt påverkar sjukdomsutvecklingen. Starkast samband har setts till -308-varianten i promotorn som nämnts tidigare (11). När luftvägar och slemhinnor utsätts för irriterande gaser och partiklar i luften initieras ett inflammatoriskt svar som delvis styrs av TNF och dess transkriptionsfaktor NF- κ B. Hypotesen är att varianter i TNF-genen, till exempel -308A/G påverkar graden av inflammation (via aktiviteten och nivåer av TNF-proteinet) och på så sätt risken att utveckla astma/allergi i samband med exponering för olika luftföroreningar.

GSTP1 – Glutathione S-transferase P1

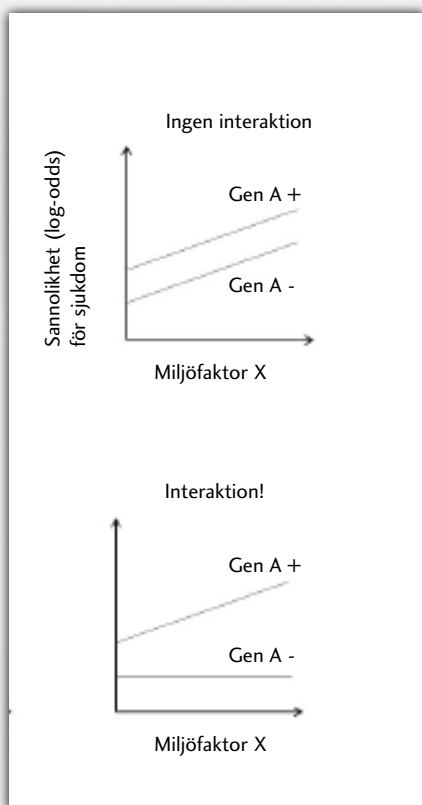
Glutathion S-transferas (GST)-enzymerna (GSTM1, GSTP1 och GSTT1) har särskilt varit i fokus när det gäller effekter av olika luftföroreningar, inklusive passiv rökning, eftersom de utgör skyddssystem i kroppens celler mot toxiska ämnen och oxidativ stress. När andningsvägarna utsätts för luftföroreningar leder detta till inflammation och cellskada, och om dessa enzym inte fungerar på ett effektivt sätt kan den inflammatoriska processen förvärras och ge upphov till skador på luftvägsepitetet. Individer med astma har också högre total GST-aktivitet i kroppen jämfört med friska individer, vilket indikerar en hög grad av oxidativ stress till följd av inflammation i luftvägarna (13). GSTP1 är särskilt viktigt för lungornas skydd mot

oxidativ stress, eftersom enzymet där svarar för den huvudsakliga GST-aktiviteten. Samband mellan varianter i GSTP1-genen på kromosom 11q och astma har också visats i flera studier, särskilt till aminosyrautbytet isoleucin mot valin (position 105), vilket också påverkar funktionen hos GSTP1-enzymet. Varianter av övriga GST-enzym, GSTM1 och GSTT1 (framför allt som deletioner, det vill säga avsaknad av en eller två genupsättningar av enzymet), har också kopplats till astma och allergi i olika studier.

Interaktionsanalyser

Analys av samverkan, eller interaktion, mellan olika faktorer kan göras på flera olika sätt beroende på studiedesign, underliggande hypotes och önskad modell

FIGUR 1. Sannolikhet (presenterat som log-odds) för sjukdom i relation till exponering för faktor X i två olika grupper, med och utan den genetiska varianten A, och med och utan varianten B. I det första exemplet (A) föreligger ingen interaktion, eftersom effekten och riskökningen av miljöfaktorn X är lika hos de som har gen A (+) och de som inte har gen A (-). Notera dock att individer med A+ generellt har högre risk för sjukdom till följd av effekten av gen A. I det andra exemplet (B) är effekten och riskökningen av miljöfaktorn X beroende av att individen har den genetiska faktorn B(+), eftersom faktorn X inte alls har någon effekt på individer som saknar genetiska faktorn B (-).



för att presentera resultaten. En tydlig definition av vad som menas med interaktion är därför en förutsättning för att kunna tolka olika resultat. Interaktionseffekter mellan arv och miljö studeras vanligen med hjälp av logistiska regressionsmodeller med den primära frågeställningen «Är effekten av miljöfaktor X oberoende av individens genetiska uppsättning?». En schematisk bild av en sådan interaktionsmodell visas i figur 1. Målsättningen kan till exempel vara att ge ökad förståelse varför bara vissa individer har ökad risk för sjukdom till följd av någon exponering, eller att identifiera särskilt känsliga individer för en speciell miljöfaktor. Motsvarande analyser kan också användas i farmakogenetiska studier, där syftet kan vara att identifiera individer som svarar (eller inte svarar) på en viss behandling. Speciella dataprogram finns idag tillgängliga för mer avancerade interaktionsanalyser, till exempel mellan flera olika genetiska varianter och flera olika miljöfaktorer, men forskningsområdet är relativt outvecklat och inom de närmaste åren kommer sannolikt stor utveckling att ske inom detta område.

Samverkan mellan arv och miljö, gen-miljöinteraktioner

Ett flertal studier på samverkan mellan arv och miljö, eller gen-miljöinteraktioner, finns beskrivna inom astma- och allergiområdet. Barn med en särskild GSTP1-variant (homozygota för isoleucin 105) löper till exempel större risk att utveckla astma i områden med höga halter av luftföroreningar (framförallt höga NO_x- och SO₂-nivåer) jämfört med barn utan denna variant (14). I en experimentell studie på vuxna individer med gräsallergi studerades samma gen (GSTP1) och syftet var att studera om de genetiska varianterna påverkade effekten av intranasal provokation med gräsallergen samt gräsallergen och dieselpartiklar. Även i denna studie sågs störst effekt hos individer homozygota för isoleucin 105 i form av högst frisättning av IgE och histamin i samband med provokationen (15). Andra studier har visat att individer homozygota för valin 105 kan vara känsligast i andra sammanhang; barn med astma som exponeras för höga halter av ozon löper till exempel störst risk att få akuta andningsbesvär snarare än individer homozygota för isoleucin. Även varianter i TNF-genen har visat sig påverka

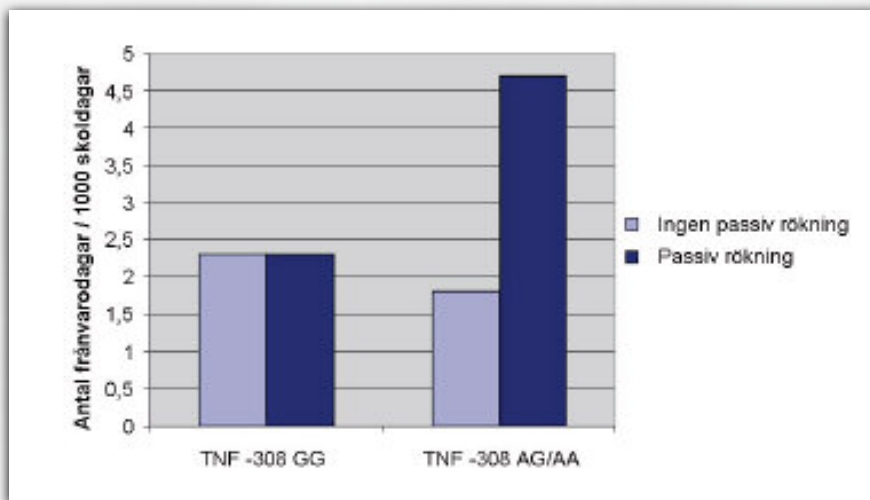
effekterna av akuta exponeringar för ozon. Det är ännu inte kartlagt om skillnaderna i resultaten ovan beror på olika effekter av lång- eller korttidsexponering eller om olika luftföroreningar, till exempel NO_x- och ozon, har olika verkningsmekanismer.

Även effekterna av aktiv och passiv rökning har visat sig påverkas av vår uppsättning i olika gener. En av de första studierna inom forskningsområdet visade att risken för astma var flerfaldigt förhöjd hos rökande individer homozygota för arginin 16 i den adrenerga β₂-receptorn (ADRB2) (16). Dessa resultat har dock inte kunnat upprepas i andra studier och betydelsen av ADRB2-genen i relation till olika miljöfaktorer är fortfarande oklar.

Rökning under graviditeten påverkar sannolikt alla foster negativt, men kan medföra en särskilt påtaglig risk för astma hos barn som saknar GSTM1-enzymet (GSTM1-deletion). Resultaten kan förklaras av att i avsaknad av GSTM1-enzymet har kroppen en sämre förmåga att ta hand om de skadliga ämnena i cigarett-rök, vilket leder till ökad inflammation och i känsliga organ som lungorna (17). Ett mått på effekten av passiv rökning hos barn är antal dagar med skolfrånvaro till följd av astma- eller andningsbesvär. I en välgjord amerikansk studie kunde man tydligt konstatera att förekomsten av sådan skolfrånvaro kopplat till passiv rökning i hemmet modifieras av varianter i TNF-genen, och barn med en särskild genotyp (-308 AA/AG) löper extra stor risk för att drabbas (fig. 2) (18).

Pågående studier

Ett flertal större studier pågår närvarande med syftet att kartlägga betydelsen av olika genmiljöinteraktioner vid astma och allergi. Den skyddande effekten av att växa upp på en bondgård har till exempel beskrivits i flera europeiska studier, och nu pågår analyser för att undersöka om denna effekt skiljer sig mellan olika individer beroende på uppsättningen av gener som framför allt är involverade i kroppens immunförsvar. Ett välstuderat exempel är att varianter i CD14-genen, som kodar för en receptor för endotoxin, kan påverka kroppens immunsvaret vid exponering för just endotoxiner, vilket är vanligt bland annat i jordbruksmiljöer. Flera studier är också inriktade på att utvärdera om vissa individer är särskilt känsliga för



FIGUR 2. Passiv rökning hemma och skolfrånvaro på grund av astmabesvär i relation till TNF-308 GG eller AG/GG genotyp (efter Wenten 2005).

olika virusinfektioner, till exempel RS-virus och rhinovirus, vilket kan vara av betydelse för senare utveckling av astma och allergi.

Inom BAMSE-studien på cirka 4000 barn i Stockholm, vilka följts sedan födseln, har miljöfaktors roll i den tidiga uppväxten studerats sedan studiestarten 1994. Av särskilt intresse är att studera effekter av exponering för passiv rökning och andra luftföroreningar redan under graviditeten och under första levnadsåret, eftersom sådan tidig exponering har visat sig vara mycket betydelsefull för sjukdomsutveckling senare i livet. I ett tidigare arbete konstaterades att mammas rökning ökar risken för astmabesvär upp till 2 år ålder (8) och preliminära analyser visar nu att denna risk påverkas av varianter i TNF-genen (19). Resultaten stöder tidigare fynd att TNF är en viktig mediator vid luftvägsinflammation till följd av passiv exponering, men att vissa individer är särskilt känsliga för att utveckla symtom.

Noggrann kartläggning har också gjorts av BAMSE-barnens hemadresser under de första levnadsåren. Genom att koppla adresserna till beräknade årliga luftföroreningshalter i olika stadsdelar och områden, har vi kunnat skatta barnens individuella exponering för luftföroreningar med förhållandevis stor noggrannhet. Resultaten visar att ju högre nivåer av partiklar och kvävedioxid som barnen blivit utsatta för under första levnadsåret, desto större risk att utveckla astmabesvär och allergi fram till 4 års ålder (5). Gen-miljöanalyser pågår nu för att undersöka om gene-

tiska varianter påverkar även denna risk, och preliminära resultat talar för att GSTP1-genen är särskilt intressant i detta sammanhang.

De genetiska analyserna i BAMSE-studien har hittills gjorts på cirka 500 utvalda barn med astmabesvär upp till 4 år och 500 friska kontroller. Extraktion av DNA från alla barn som vid 4- eller 8-årsundersökningen lämnade blodprov och som samtyckt till genetiska analyser pågår för närvarande, totalt cirka 3000 prover. Inom de närmaste åren kommer vi att fortsätta med analyser av genmiljöinteraktioner, främst inom luftföroreningsområdet, och förhoppningen är att vi med detta värdefulla studiematerial kan ytterligare bidra till kunskap och förståelse till uppkomst och utveckling av astma- och allergisjukdomar.

Denna artikel har belyst några exempel på samverkan mellan ärftliga och miljörelaterade faktorer som är betydelsefulla för utveckling av astma och allergi. För komplexa sjukdomar som astma och allergi är ett stort antal gener, liksom ett stort antal miljöfaktorer, sannolikt viktiga för sjukdomsutveckling. Någon genetisk screening för att identifiera känsliga individer är därför inte aktuell idag, eftersom vi fortfarande saknar värdefulla och pålitliga test för detta. Resultat från ett flertal pågående studier leder förhoppningsvis till ökad förståelse för patofysiologin vid astma- och allergisjukdomar. Riktade hälsoråd till olika individer baserat på genetiska test kan i framtiden bli möjliga, men sådana test måste noggrant utvärderas vetenskapligt och etiskt innan klinisk användning.

Pågående genetiska analyser på barn som ingår i BAMSE-studien kommer förhoppningsvis att ge värdefull kunskap om uppkomsten av astma- och allergisjukdomar.



Referenser

1. Koeppen-Schomerus, G., J. Stevenson, and R. Plomin. 2001. Genes and environment in asthma: a study of 4 year old twins. *Arch Dis Child* 85(5):398–400.
2. Schildcrout, J. S., L. Sheppard, T. Lumley, J. C. Slaughter, J. Q. Koenig, and G. G. Shapiro. 2006. Ambient air pollution and asthma exacerbations in children: an eight-city analysis. *Am J Epidemiol* 164(6):505–17.
3. Brauer, M., G. Hoek, P. Van Vliet, K. Meliefste, P. H. Fischer, A. Wijga, L. P. Koopman, H. J. Neijens, J. Gerritsen, M. Kerkhof, J. Heinrich, T. Bellander, and B. Brunekreef. 2002. Air pollution from traffic and the development of respiratory infections and asthmatic and allergic symptoms in children. *Am J Respir Crit Care Med* 166(8):1092–8.
4. Gauderman, W. J., E. Avol, F. Gilliland, H. Vora, D. Thomas, K. Berhane, R. McConnell, N. Kuenzli, F. Lurmann, E. Rappaport, H. Margolis, D. Bates, and J. Peters. 2004. The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age. *N Engl J Med* 351(11):1057–67.
5. Nordling, E., N. Berglind, E. Melen, G. Emenius, J. Hallberg, F. Nyberg, G. Pershagen, M. Svartengren, M. Wickman, and T. Bellander. 2006. Exposure to traffic related air pollution in early life affects lung function, sensitization and airway disease in 4-year-old children. *Epidemiology* 17(6):148 Suppl.
6. Kramer, U., T. Koch, U. Ranft, J. Ring, and H. Behrendt. 2000. Traffic-related air pollution is associated with atopy in children living in urban areas. *Epidemiology* 11(1):64–70.
7. Sydbom, A., A. Blomberg, S. Parnia, N. Stenfors, T. Sandstrom, and S. E. Dahlen. 2001. Health effects of diesel exhaust emissions. *Eur Respir J* 17(4):733–46.
8. Lannero, E., M. Wickman, G. Pershagen, and L. Nordvall. 2006. Maternal smoking

- during pregnancy increases the risk of recurrent wheezing during the first years of life (BAMSE). *Respir Res* 7:3.
9. Lodrup Carlsen, K. C., J. J. Jaakkola, P. Nafstad, and K. H. Carlsen. 1997. In utero exposure to cigarette smoking influences lung function at birth. *Eur Respir J* 10(8):1774–9.
 10. Goksor, E., M. Amark, B. Alm, P. M. Gustafsson, and G. Wennergren. 2007. The impact of pre- and post-natal smoke exposure on future asthma and bronchial hyper-responsiveness. *Acta Paediatr* 96(7):1030–5.
 11. Ober, C., and S. Hoffjan. 2006. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immun* 7(2):95–100.
 12. Melen, E., S. Bruce, G. Doekes, M. Kabesch, T. Laitinen, R. Lauener, C. M. Lindgren, J. Riedler, A. Scheynius, M. van Hage-Hamsten, J. Kere, G. Pershagen, M. Wickman, and F. Nyberg. 2005. Haplotypes of G protein-coupled receptor 154 are associated with childhood allergy and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 171(10):1089-95.
 13. Mak, J. C., S. P. Ho, H. C. Leung, A. H. Cheung, B. K. Law, L. K. So, J. W. Chan, C. H. Chau, W. K. Lam, M. S. Ip, and M. Chan-Yeung. 2007. Relationship between glutathione S-transferase gene polymorphisms and enzyme activity in Hong Kong Chinese asthmatics. *Clin Exp Allergy* 37(8):1150–7.
 14. Lee, Y. L., Y. C. Lin, Y. C. Lee, J. Y. Wang, T. R. Hsiue, and Y. L. Guo. 2004. Glutathione S-transferase P1 gene polymorphism and air pollution as interactive risk factors for childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 34(11):1707-13.
 15. Gilliland, F. D., Y. F. Li, A. Saxon, and D. Diaz-Sanchez. 2004. Effect of glutathione-S-transferase M1 and P1 genotypes on xenobiotic enhancement of allergic responses: randomised, placebo-controlled crossover study. *Lancet* 363(9403):119–25.
 16. Wang, Z., C. Chen, T. Niu, D. Wu, J. Yang, B. Wang, Z. Fang, C. N. Yandava, J. M. Drazen, S. T. Weiss, and X. Xu. 2001. Association of asthma with beta(2)-adrenergic receptor gene polymorphism and cigarette smoking. *Am J Respir Crit Care Med* 163(6):1404–9.
 17. Gilliland, F. D., Y. F. Li, L. Dubeau, K. Berhane, E. Avol, R. McConnell, W. J. Gauderman, and J. M. Peters. 2002. Effects of glutathione S-transferase M1, maternal smoking during pregnancy, and environmental tobacco smoke on asthma and wheezing in children. *Am J Respir Crit Care Med* 166(4):457-63.
 18. Wenten, M., K. Berhane, E. B. Rappaport, E. Avol, W. W. Tsai, W. J. Gauderman, R. McConnell, L. Dubeau, and F. D. Gilliland. 2005. TNF-308 Modifies the Effect of Second-Hand Smoke on Respiratory Illness-related School Absences. *Am J Respir Crit Care Med* 172(12):1563-8.
 19. Panasevich, S., E. Melen, C. Lindgren, J. Kere, M. Wickman, G. Pershagen, and F. Nyberg. 2007. Gene-environment interactions of tumor necrosis factor single nucleotide polymorphisms with passive smoking and development of asthma symptoms in early childhood *Allergy* 62(58 Suppl.):83.