

## ABSTRACT

Epigenetiske mekanismer udøver en vævsspecifik kontrol af genekspressionen og kan potentielt bidrage til langvarige ændringer i forbindelse med miljøpåvirkninger. De seneste landvindinger inden for det epigenetiske område rummer spændende muligheder for klinisk anvendelse - fra diagnostik til personlig medicin. Formålet med denne fokusartikel er at definere de forskellige underinddelinger inden for det meget brede epigenetiske forskningsområde og skabe indsigt i de tendenser, der kan danne grundlag for fremtidige ændringer i daglig odontologisk praksis. Der gives eksempler inden for diagnostik, stamcellebaseret behandling og forebyggende medicin.

**EMNEORD** Epigenetics | DNA methylation | histone | chromatin | dental health.



Korrespondanceansvarlig forfatter:

**ROMAIN BARRÈS**  
barres@sund.ku.dk

## Epigenetik: kliniske fremtidsperspektiver

**ROMAIN BARRÈS**, professor, ph.d., Novo Nordisk Foundation Center for Basic Metabolic Research, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

► Artiklen er accepteret til publikation den 18. februar 2020

Tandlægebladet 2020:124:xxx-xxx

**E**pigenetiske mekanismer er celleprocesser, som omprogrammerer genekspressionen så effektivt, at ændringerne er stabile i flere cellegenerationer. De indtil nu bedst undersøgte epigenetiske mekanismer er cytosin-metylering af DNA, post-translatonel modifikation af de histonproteiner, DNA-molekyler er pakket omkring, samt ekspression af visse typer små RNA-molekyler. Biokemisk set er DNA-metylering og histonmodifikation kovalente modifikationer af henholdsvis DNA og histonproteiner, og de regulerer genekspressionen ved at styre DNA-molekylets tredimensionelle struktur som enten åben (eukromatin) eller lukket (heterokromatin). Ordet *kromatin* er sammensat af det oldgræske *khrôma*, der betyder farve, og endelsen *-in*, som hentyder til tætte cellekernestrukturer, som kan farves med histologiske metoder. Det bør bemærkes, at epigenetiske mekanismer længe har været anvendt inden for diagnostik af cancer, idet fortættet kromatin er et kendetegn for cancerceller og kromatin som nævnt let lader sig farve. Ved cancer og andre ikke-overførbare sygdomme er der efterhånden betydelig evidens for, at miljøfaktorer i bred forstand (fx kost, fysisk aktivitet, forurening) kan modulere vores cellers epigenetiske sammensætning og derved bidrage til sygdomsrelateret dysregulering af genekspressionen.

### PRÆSENTATION OG DISKUSSION AF EMNET

Indtil de epigenetiske mekanismer blev karakteriseret på biokemisk niveau, var epigenetik blot en opfattelse baseret på fundamentale og fascinerende iagttagelser af, at et individs genom under fosterudviklingen kunne være ophav til mange forskellige celletyper. Conrad Waddington, som var den første, der anvendte begrebet *epigenetik*, var som udviklingsbiolog interesseret i de celledifferentieringsprocesser, der resulterede i, at stamceller uafvendeligt sporedes ind på at udvikle sig til

specifikke celletyper – et forhold, der også kaldes *celleskæbne* (1). Waddington udviklede den nu ikoniske epigenetiske landskabsmodel, hvor han sammenligner stamcellers differentiering med kugler, der fra en bjergtop triller ned igennem et landskab med bakker og dale for til sidst at lande i en specifik dal, hvor de erhverver sig deres celletypiske egenskaber (de faktorer, der påvirker retningen, var ikke kendte på det tidspunkt) (2). Takket være Waddingtons geniale intuition og moderne genetiske og molekylærbiologiske metoder har vi nu opnået en god forståelse af de epigenetiske mekanismer, der gør, at det samme DNA-molekyle kan udtrykke forskellige celletypiske programmer, så cellen kan udvikle sig til fx en hudfibroblast, en adipocyt eller et neuron. Med denne grundlæggende forståelse står vi nu på tærsklen til en række opdagelser, der kan anvendes til forebyggelse og behandling af sygdomme. Fx stamcellebaserede behandlinger, der tilstræber at erstatte manglende celler, eller udvikling af beta-celler i pancreas, som danner ekstra meget insulin og dermed kan indgå i en kur mod type 1-diabetes (3). I komplicerede vævsdykningsmodeller har man ved manipulation af differentierede cellers epigenetiske forhold fundet mulighed for at afvende celleskæbne og få celler til at omdifferentiere til andre celletyper (3). Det er umuligt at vide, hvornår stamcelleterapien er fuldt udviklet; men med den aktuelle eksponentielle vækst i vores forståelse af de epigenetiske mekanismer bag celleskæbne er der grund til optimisme med hensyn til tidshorizonten for stamcellebaserede behandlingsmuligheder.

### Miljøet påvirker cellers udvikling

Et andet begreb, som er tæt sammenvævet med epigenetikken, er genomets tilbøjelighed til at undergå remodellering på grund af miljøpåvirkninger. Hvis vi vender tilbage til Waddingtons epigenetiske landskabsanalogi, kan man sige, at kuglernes vej gennem landskabet påvirkes af forskellige ekstracellulære faktorer som hormoner, metabolitter og næringsstoffer samt af eksogene forureningsmolekyler. Erkendelsen af, at miljøfaktorer kan ændre celleprogrammeringen, er gammel; men det er først for nylig, vi har opdaget, at epigenetiske mekanismer også er i spil. Et markant eksempel på, at miljøfaktorer påvirker biologisk udvikling, ses hos honningbier, hvor larverne kan udvikle sig til arbejdsbier eller dronninger, ikke på grund af deres genetiske sammensætning, men udelukkende på baggrund af den føde, de tilbydes (4). Sådanne *polyphenismer* findes hos mange insekter og hænger sammen med, at kosten inducerer epigenetiske forandringer såsom posttranslationelle modifikationer af histonproteiner (strukturelle proteiner, som regulerer DNA's foldning inde i cellen) og metylering af DNA-molekylet. Disse interessante observationer førte til formodninger om, at miljø- eller livsstilsfaktorer også hos mennesket kunne påvirke cellers udvikling og fænotype og senere i livet føre til sygdom. Eller hvis vi skal være filosofiske: Når vi ved, at vores fænotype er resultatet af komplicerede interaktioner mellem vores genetiske sammensætning og epigenetiske korrektioner, som er tilføjet efter tidligere miljøpåvirkninger, er der mulighed for, at den epigenetiske forskning, i hvert fald til en vis grad, kan frigøre os fra den skæbne, vores gener binder os til.

## Klinisk relevans

**Epigenetiske modifikationer er bindeledet mellem miljøpåvirkninger og langvarige ændringer i cellebiologi og genskspresion. Miljøpåvirkninger spiller en væsentlig rolle i fx kranio-facial udvikling og i patogenesen ved parodontale sygdomme. En dybere forståelse af de epigenetiske mekanismer kan give os mulighed for at forebygge eller modvirke odontologiske skadevirkninger efter tidligere miljøpåvirkninger.**

### Epigenetiske modifikationer huskes længe og kan påvirke sundheden

Udover disse filosofiske overvejelser, der af gode grunde har tiltrukket sig meget positiv opmærksomhed i offentligheden, har miljøbetingede epigenetiske forandringer hos enkeltindivider åbnet mulighed for at ændre det kliniske udtryk for miljøpåvirkninger tidligere i livet, da vi nu ved, at disse ændringer lagres i cellernes hukommelse – med dramatiske konsekvenser. Et klassisk studie, som påviste, at miljøfaktorer ændrer den epigenetiske handlingsplan, blev udført på monozygotiske tvillingepar i forskellige alder og viste, at tegn på DNA-metylering i blodceller hos ældre tvillingepar var mere afvigende end hos yngre tvillingepar (5). Et andet tvillingestudie viste, at odontogenesen kunne forløbe forskelligt hos to monozygote tvillinger, hvilket tyder på, at epigenetiske faktorer er i spil under den kranio-faciale udvikling (6). Det er også påvist, at alderen i sig selv er tæt knyttet til tegn på DNA-metylering i blodceller, og faktisk anvendes denne viden inden for retsmedicinen til bedømmelse af en persons alder ud fra afsatte blodspor. Metoden kaldes "Epigenetic Ageing Signature" (7) og har vist sig at være meget præcis, idet den kronologiske alder kan estimeres med få års fejlmargen. Samme metode er også anvendelig til vurdering af cellealdring og af, hvor mange celledelinger en cellekultur har gennemgået. Med andre ord kan man ved hjælp af epigenetiske målinger bestemme ikke blot den kronologiske alder, men også i hvilket omfang den kronologiske alder er blevet påvirket af miljøpåvirkninger. I en kohorteundersøgelse har man fundet, at T-lymfocytter fra personer, der har overlevet kritisk cancersygdom i barndommen, årtier senere udviser accelereret "Epigenetic Ageing Signature", hvis personerne var blevet behandlet med helkropsstrålebehandling i modsætning til kemoterapi alene (8). Disse fund styrker opfattelsen af, at miljøfaktorer påvirker vores cellers epigenetiske mønster, og rummer mulighed for udvikling af diagnostiske redskaber.

Selv om fundene af accelereret epigenetisk aldring er fascinerende, er der dog ikke hidtil fundet nogen sammenhæng med øget prævalens af sygdomme. Der er imidlertid flere humane undersøgelser, der påviser en potentielt klinisk relevant forbindelse mellem sygdom og epigenetisk hukommelse. Primære celledelinger, som er etableret ud fra biopsier af human tværstribet muskulatur, udviser stadig donorens fænotypiske karakteristika efter flere celledelinger og -differentieringer. Muskelceller fra donorer med type 2-diabetes udviser på tilsvarende vis ►

nedsat energistofskifte i samme grad som *in vivo* (9,10). Sådanne tegn på fænotypisk hukommelse kunne være genetisk betingede; men andre interventionsstudier har vist, at cellekulturer, som er etableret fra samme donor på forskellige tidspunkter, har forskellige fænotyper, hvilket tyder på, at genetiske faktorer ikke alene kan forklare hukommelseseffekten. I forbindelse med fysisk aktivitet er kulturer, som er etableret før og efter et træningsforløb, klart forskellige, idet kulturer opnået efter træning udviser bedre metabolisk funktion end kulturer, der er etableret inden træningsforløbet (11). Disse fund understøtter teorien om, at ikke-genetiske, miljøafhængige mekanismer er ansvarlige for vores cellers metaboliske sundhed. De åbner mulighed for at anvende epigenetiske markører som biomarkører for tidligere miljøpåvirkninger og eventuelt for at påvirke epigenomet terapeutisk med henblik på at udviske epigenetiske markører, der er årsag til ændret cellefunktion.

### Epigenetik på tværs af generationer

Epigenetisk hukommelse i forbindelse med livsstilsfaktorer vil ofte påvirke fænotypen ud over den første generation. Dette fænomen kaldes *epigenetisk arv*, og forskning i området undersøger miljøpåvirkninger, der ændrer den epigenetiske sammensætning i kønsceller (spermatozoer og ægceller) og fosterceller og dermed fører til ændret fænotype i kommende generationer (12). Forskningsområdet er præget af intens aktivitet, bl.a. fordi det kan bidrage til at forstå den øgede prævalens af en række sygdomme, hvor miljøfaktorer (i bredeste forstand) menes at spille en rolle, fx fedme og autismespektrumlidelser. Flere forskningsgrupper har fremlagt indicier på, at livsstilsændringer kan ændre spermatozoers epigenetiske signatur på gener, der kontrollerer den embryonale udvikling, hvilket giver støtte til at antage, at miljøpåvirkninger før udfangelsen kan ændre vores børns fænotype (12-14). Tilsvarende ser det ud til, at eksponering *in utero* kan ændre næste generations fænotype. Der mangler imidlertid studier, der på molekylært niveau påviser ændringer i kønscellers epigenetiske indhold hos mennesker, og det er derfor ikke muligt at konkludere noget endeligt om den epigenetiske effekt, der nedarves via kønsceller (15). Det er påvist, at eksponering for alkohol *in utero* påvirker afkomets kranio-faciale udvikling, formentlig ved at ændre det tidlige fosters epigenotype (16). Der mangler dog stadig forskning, der afklarer den kliniske relevans af forskellige epigenetiske signaturer i kønsceller og fostervæv, før man kan overveje at anvende dem til at forudsige sygdomsrisiko eller til at forebygge eller modvirke miljøbetingede epigenetiske forandringer.

### EPIGENETIK OG ORAL SUNDHED

Da mundslimhindeceller er lette at få fat i, har der været foretaget mange epigenetiske undersøgelser af disse celler, og man har fundet en række sammenhænge mellem epigenetiske forhold og sygdomsspecifikke cellekarakteristika; men det er indtil videre småt med evidens for, at epigenetiske faktorer indgår i ætiologien for orale sygdomme. Histon-deacetylasen (HDACs) regulerer histoners binding til DNA og spiller dermed en rolle i genekspressionen. Hæmning af HDACs ved hjælp af specifikke inhibitorer har i en musemodel forhindret knogletab ved parodontitis (17). Da HDACs ikke er genspecifikke, tyder virkningen af HDAC-inhibitorer på knoglemængden på, at der er uligevægt i den totale mængde acetylgrupper, som er bundet til histoner. Der er behov for flere studier, der kan forøge vores viden om HDAC-inhibitorernes virkningsmåde; men fundene tyder på, at det kan være relevant at rette behandlingen af visse odontologiske tilstande mod epigenetiske modifikatorer. Ved analyse af mønstre for DNA-metylering i biopsier fra inflammære interdentalpapiller har man fundet generel hypermetylering og differentieret metylering af gener, der kontrollerer apoptose (18). Andre undersøgelser har påvist afvigende genmetyleringsmønstre hos patienter med kronisk parodontitis (19,20). Det er ikke muligt ud fra undersøgelserne at afgøre, om de påviste epigenetiske forskelle skyldes ændringer inden for samme celletype eller ændringer i celletypesammensætningen i det patologiske væv. Det er tænkeligt, at de epigenetiske forskelle skyldes infiltration af immunceller i det inflammære væv, idet immuncellers epigenom er forskelligt fra de øvrige cellers (21). Under alle omstændigheder kan veldefinerede, sygdomsrelaterede DNA-metyleringsprofiler fungere som biomarkører til karakterisering af sygdomsprogressionen og måske også anvendes til tidlig diagnostik.

### KONKLUSION

Det epigenetiske forskningsområde er i hastig vækst og vil føre den kliniske praksis ind i en ny æra, hvor klinikerne kan få kendskab til tidligere miljøpåvirkninger og vurdere deres relevans i relation til sygdomsrisiko. Manipulation af det humane epigenom er i sin vorden, men rummer store muligheder inden for stamcelleforskning og vævsregeneration. I forening vil disse indsatser utvivlsomt give os mulighed for bedre at kunne håndtere miljøpåvirkninger og dermed forbedre sundheden for fremtidige generationer. ♦

## EPIGENETICS: OPPORTUNITIES FOR THE CLINIC

Epigenetic mechanisms control the expression of genes in a tissue-specific fashion, and have the potential to carry the long-term influence of environmental factors. Recent developments in the field of epigenetics have provided exciting perspectives for clinical applications, from diagnosis to per-

sonalized medicine. This focus article aims to define the different sub-divisions in the broad field of epigenetic research and to provide insight into the current developments that may form a basis for clinical practice in dental health. Examples of applications for diagnosis, stem-cell based therapies and preventive medicine are presented.

## LITTERATUR

- Robertson A. Conrad Hal Waddington, 8 November 1905 – 26 September 1975. *Biogr Mem Fellows R Soc* 1977;23:575-622.
- Haldane JBS. Organisers and Genes. *Nature* 1940;146:413.
- Aghazadeh Y, Nostro MC. Cell Therapy for Type 1 Diabetes: Current and Future Strategies. *Curr Diab Rep* 2017;17:37.
- Cridge AG, Leask MP, Duncan EJ et al. What do studies of insect polyphenisms tell us about nutritionally-triggered epigenomic changes and their consequences? *Nutrients* 2015;7:1787-97.
- Fraga MF, Ballestar E, Paz MF et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:10604-9.
- Townsend GC, Richards L, Hughes T et al. Epigenetic influences may explain dental differences in monozygotic twin pairs. *Aust Dent J* 2005;50:95-100.
- Weidner CI, Ziegler P, Hahn M et al. Epigenetic aging upon allogeneic transplantation: the hematopoietic niche does not affect age-associated DNA methylation. *Leukemia* 2015;29:985-8.
- Daniel S, Nylander V, Ingerslev LR et al. T cell epigenetic remodeling and accelerated epigenetic aging are linked to long-term immune alterations in childhood cancer survivors. *Clin Epigenetics* 2018;10:138.
- Gaster M, Rustan AC, Aas V et al. Reduced lipid oxidation in skeletal muscle from type 2 diabetic subjects may be of genetic origin: evidence from cultured myotubes. *Diabetes* 2004;53:542-8.
- Wensaas AJ, Rustan AC, Just M et al. Fatty acid incubation of myotubes from humans with type 2 diabetes leads to enhanced release of beta-oxidation products because of impaired fatty acid oxidation: effects of tetradecylthioacetic acid and eicosapentaenoic acid. *Diabetes* 2009;58:527-35.
- Bourlier V, Saint-Laurent C, Louche K et al. Enhanced glucose metabolism is preserved in cultured primary myotubes from obese donors in response to exercise training. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3739-47.
- Donkin I, Barres R. Sperm epigenetics and influence of environmental factors. *Mol Metab* 2018;14:1-11.
- Denham J, O'Brien BJ, Harvey JT et al. Genome-wide sperm DNA methylation changes after 3 months of exercise training in humans. *Epigenomics* 2015;7:717-31.
- Ingerslev LR, Donkin I, Fabre O et al. Endurance training remodels sperm-borne small RNA expression and methylation at neurological gene hotspots. *Clin Epigenetics* 2018;10:12.
- Pembrey ME, Bygren LO, Kaati G et al. Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur J Hum Genet* 2006;14:159-66.
- Kaminen-Ahola N, Ahola A, Maga M et al. Maternal ethanol consumption alters the epigenotype and the phenotype of offspring in a mouse model. *PLoS Genet* 2010;6:e1000811.
- Cantley MD, Bartold PM, Marino V et al. Histone deacetylase inhibitors and periodontal bone loss. *J Periodontol Res* 2011;46:697-703.
- Barros SP, Offenbacher S. Modifiable risk factors in periodontal disease: epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response. *Periodontol* 2000 2014;64:95-110.
- De Oliveira NF, Andia DC, Planello AC et al. TLR2 and TLR4 gene promoter methylation status during chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2011;38:975-83.
- Oliveira NF, Damm GR, Andia DC et al. DNA methylation status of the IL8 gene promoter in oral cells of smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009;36:719-25.
- Simar D, Versteyhe S, Donkin I et al. DNA methylation is altered in B and NK lymphocytes in obese and type 2 diabetic human. *Metabolism* 2014;63:1188-97.