

Gener som påverkar pälsens utseende och hälsan hos hästrasen american curly

Maria Pettersson





Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Gener som påverkar pälsens utseende och hälsan hos hästrasen american curly

Genes that affect the pelage appearance and the health of the horse breed American Curly

Maria Pettersson

Handledare:

Sofia Mikko, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Examinator:

Gabriella Lindgren, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0553

Program: Agronomprogrammet–Husdjur

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2014

Omslagsbild: Sabrina Prichard

Serienamn, delnr: Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik, 436

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: american curly häst, lockig, päls, gen, mutation, hypotrikos

Key words: American Curly Horse, curly, pelage, gene, mutation, hypotrichosis

Abstract

American Curly Horses have curly pelage and in some cases suffer from hypotrichosis, which is hair loss. Many of the horses shed their mane and tail as well when they shed coat. Curly pelage also occurs in cat, dog, mouse, fancy rat and curly or wooly hair in humans. Several of these are also affected by hypotrichosis. The aim of this study was to investigate which genes probably affect the appearance and health of American Curly Horses. Two genes that cause curly coat and/or hypotrichosis are *KRT71* and *LPAR6*. *KRT71* encodes a protein of the intermediate filaments. The gene is expressed in the hair follicle where the cells of the inner root sheath is supposed to form a cylinder and support the hair shaft on its way to the skin surface. Animals with the mutation get bent follicles with diminished capacity to retain the hair shaft and therefore curly hair and in some cases hypotrichosis. *LPAR6* encodes a protein that forms a receptor in the cell membrane that bind LPA, which stimulate hair growth. As in the *KRT71* mutants, the inner root sheath gets misshaped and the hair shaft curly. Moreover, the growth of the hair gets disturbed. The conclusion is that the American Curly Horses may have a mutation in *KRT71* that leads to the curly phenotype and health of the horses.

Sammanfattning

American curly hästar har lockig päls och drabbas i vissa fall av hypotrikos vilket innebär håravfall. Många tappas förutom pälsen även manen och svansen när de fäller. Lockig päls förekommer även hos katt, hund, mus och tamråtta samt extremt lockigt eller ulligt hår hos människor. Flera av dessa är även drabbade av hypotrikos. Syftet med denna studie är att studera vilka gener som troligtvis styr utseendet och hälsan hos american curly. Två gener som orsakar lockig päls och/eller hypotrikos är *KRT71* och *LPAR6*. *KRT71* kodar för ett protein i de intermediära filamenten. Genen uttrycks i hårfollikeln där cellerna i den inre rotskidan ska bilda en cylinder och stötta hårstråets väg mot hudytan. Djur med mutationen får böjda folliklar med försvagad förmåga att hålla kvar hårstrået och får därför lockig päls och i vissa fall hypotrikos. *LPAR6* kodar för ett protein som bildar en receptor i cellmembranet som ska binda LPA som stimulerar hårväxt. Även hos dessa individer blir den inre rotskidan missformad och hårstrået lockigt. Dessutom blir tillväxten av håret störd. Slutsatsen är att det troligtvis är en mutation i *KRT71* som orsakar utseendet och hälsan hos american curly hästarna.

Introduktion

Hästar av rasen american curly horse har lockig eller vågig päls. Vinterpälsen är oftast mer lockig medan sommarpälsen är mjukare och vågig. Hästarna kan drabbas av hypotrikos vilket innebär håravfall helt eller fläckvis (Scott, 2004). Hypotrikos kan även drabba människor och har diagnosticerats hos individer med extremt lockigt hår (Fujimoto et al, 2012).

Även andra djurslag som hund och katt har raser som uppvisar lockig päls. Hundraser med lockig päls är bland annat portugisisk vattenhund och hos katt förekommer det hos till exempel devon rex. Hos devon rex är det konstaterat att den lockiga pälsen beror på en mutation i genen keratin 71 (*KRT71*) (Gandolfi et al., 2010). Andra mutationer i *KRT71* ger även lockig eller vågig päls hos tamråttor (Kuramoto et al., 2010) och hund (Cadieu et al., 2009). *KRT71* är en gen som kodar för proteinet keratin 71 som återfinns i de intermediära filamenten (Langbein et al., 2002). Cytoskelettets funktion är bland annat att hålla cellens struktur (Sjaastad et al., 2010). Proteinets finns i hårsäckarna i den inre rotskidan (Langbein et al., 2002). Proteinets är uppbyggt av en startdel som kallas "head", en mittendel som kallas

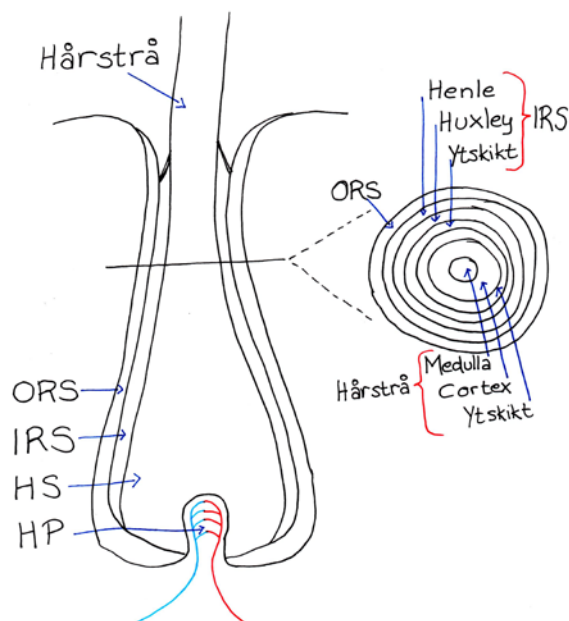
”rod” och en sista del som kallas ”tail”. Mittendelen är framförallt uppbyggd av olika α -helixdelar sammanlänkade av korta regioner subsegment, se figur 1 i Coulombe & Omary (2002) studie. Hos katt och människa har det även visats att mutationer i genen lysophosphatidic acid receptor 6 (*LPAR6*) kan ge den lockiga fenotypen och hypotrikos (Pasternack et al., 2008; Nahum et al., 2011; Gandolfi et al., 2013a; Kurban et al., 2013).

Syftet med den här studien är att undersöka vilka gener som styr uttrycket för fenotypen lockig päls samt vilka sjukdomar som eventuellt drabbar dessa djur och som har ett samband med den lockiga pälsen. Genom att undersöka genetiken hos olika djurslag, som det finns forskning om, kunna dra slutsatser kring den troliga orsaken till lockig päls och hypotrikos hos american curly hästarna. Ännu är genomet för american curly inte kartlagt, forskning pågår vid Sveriges lantbruksuniversitet.

Päls och hår

Hårstråna bildas i hårfolliklar i dermis (underhuden) och består av hårsäck och hårstrå (Sjaastad et al., 2010), se Figur 1. Hårfollikeln delas i sin tur upp i inre och yttre rotskidan. Den inre rotskidan (IRS) delas in i Henle och Huxleys lager samt ett ytskikt längst in (Langbein et al., 2002). Hårsäcken omger en hårpapill med blodkärl. Från blodet överförs signaler till hårsäcken om tillväxt eller inhibering av tillväxten innan djuret ska fälla pälsen. Även näring överförs från blodet. Hårstrået byggs upp av keratiniserade epitelceller och delas upp i medulla, cortex och ytskikt. När hårstrået växer är blodgenomströmningen i hårpapillen stor. Håret växer antingen cykliskt eller konstant. De flesta djurs päls växer cykliskt medan man och svans hos häst samt håret på människors huvuden växer konstant.

Håren i pälsen kan delas in i täckhår och underhår. Täckhårens funktion är att skydda mekaniskt men även att isolera och de är ofta starkt pigmenterade. Underhårens enda funktion är att isolera och de har oftast inte lika stark färg och är dessutom betydligt mindre i diameter än täckhår. Underhåren är ca 5-40 μm medan täckhåren är 40-250 μm men stora variationer mellan arter förekommer (Sjaastad et al., 2010). Folliklarna genomgår tre faser när nya hår bildas. Den första är tillväxt - den anagena fasen, då ett nytt hårstrå bildas, från rot till topp. Nästa är regression - den catagena fasen och efter det vila - den telogena fasen. Under de två senare faserna förbereds follikelns stamceller på att bilda nya hårstrån (Dry, 1926). Under den anagena fasen keratiniseras IRS och guidar och stöttar hårstrået på väg mot hudytan. Den catagena fasen är övergången från tillväxt till vila och här saktar differentieringen av inre och yttre rotskidan samt hårstrået ner och cirka två tredjedelar av epitelcellerna genomgår apoptos (Alonso & Fuchs, 2006). Den anagena fasen delas in i sex olika delar och *KRT71* transkriberas i anagen III-VI (Aoki et al., 2001). Hos hund har det visats att olika gener styr olika egenskaper hos pälsen. Gener för hårstråets längd, ansiktshår och lockig päls har identifierats (Cadieu et al., 2009).



Figur 1. Hårfollikel och hårstrå. ORS – yttre (outer) rotskidan, IRS – inre rotskidan, HS – hårsäck, HP – hårpapill. Bilden är inte skalenlig.

KRT71

KRT71 (som tidigare även kallats *K6irs1*) kodar för proteinet keratin71 (Langbein et al., 2002).

Keratin 71 är en av fyra typ II IRS keratiner (Langbein et al., 2003). Vilken kromosom genen är placerad på och i vilken exon som mutationen är placerad varierar mellan djurslagen (Tabell 1 och Figur 2). (Källor tabell 1: ensembl.org; Kikkawa et al., 2003; Peters et al., 2003; Runkel et al., 2006; Cadieu et al. 2009; Gandolfi et al., 2010; Kuramoto et al., 2010; Fujimoto et al., 2012; Gandolfi et al., 2013b)

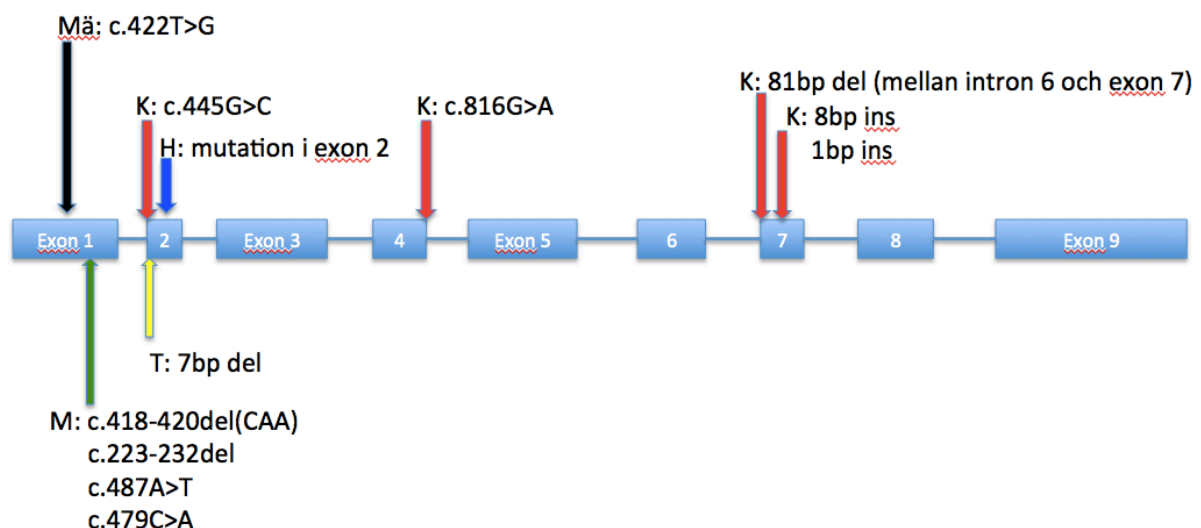
Tabell 1. Översikt över vilken kromosom genen är placerad på, om det är forward eller reverse strand och vilken exon som mutationen är placerad i hos de olika djurslagen

Djurslag	Kromosom	+/- DNA	Påverkad exon
Katt	B4	-	2, 4, 7
Hund	27	+	2
Tamråtta	7	-	2
Mus	15	-	1
Människa	12	-	1

DNA-sekvensen är 91,8 % identisk hos människa och mus (Langbein et al., 2002), 93,2 % identisk hos katt och hund samt 91,7 % identisk hos katt och människa (Gandolfi et al., 2010). *KRT71* transkriberas bara i den inre rotskidan och mer i Henle lager än i Huxley lager. Den uttrycks även i ytskiktet av IRS (Langbein et al., 2002). Den förekommer i de anagena hårfolliklarna i nedre delarna och försvinner tvärt högre upp mot hudytan där cellerna i Henle och Huxley lager blivit keratiniserade. *KRT71* kunde vid försök inte hittas i de telogena hårfolliklarna (Aoki et al., 2001; Porter et al., 2001), vilket beror på att IRS genomgått apoptos och inte längre finns i den telogena fasen (Müller-Röver et al., 2001). Hos möss med en mutation i *KRT71* har det dock visats att keratin71 även förekommer i hårstrået (Kikkawa et al., 2003).

IRS, speciellt Henle skiktet, har en viktig roll i att stödja hårstrået på vägen mot huden, detta genom att bilda en cylinder runt hårståret (Langbein et al., 2002; Peters et al., 2003). Möss med mutationer i *KRT71* får böjda eller vridna hårfolliklar som producerar vågiga hårstrån. Djurens IRS ser också annorlunda ut, jämfört med vildtypen, då möss med mutationen har tunnare IRS och i vissa folliklar i IRS visar onormal keratinisering. Det verkar inte finnas andra typ II keratin som kompenserar avsaknaden av/bristen på normala intermediära filament i Henle och Huxley lager hos individer med mutationen (Kikkawa et al., 2003).

Normalt sett ska de intermediära filamenten vara långa repliknande strukturer som sträcker sig över hela cellen och ser till att hålla dess struktur. Av de tre typerna av filament i cytoskelettet är de intermediära filamenten starkast. Även mellan cellerna, genom desmosomerna, sträcker sig de intermediära filamenten och bildar på så sätt en struktur mellan celler. De repliknande strukturerna snurras runt varandra två och två för att med hjälp av ickekovalenta bindningar bilda buntar av intermediära filament där många delar länkas samman. För att de ska kunna snurra sig på ett korrekt sätt runt varandra krävs att α -helix-delen i mittendelen av proteinet är formad rätt. Alla proteiner som bildar intermediära filament är lika i α -helix-delen för att de tillsammans ska kunna bilda strukturen (Alberts et al., 2010).



Figur 2. Schematisk bild över *KRT71* och de olika mutationerna. Bilden är inte skalenlig. Mä: människa, K: katt, H: hund, M: mus, T: tamråtta.

LPAR6

LPAR6 (som även kallats *P2RY5*) står för lysophosphatidic acid receptor 6 och är placerad på kromosom 13, reverse strand, hos människor (ensembl.org). Genen kodar för en G-proteinkopplad receptor och uttrycks i hårfollikelns celler (Pasternack et al., 2008). Receptorn slingrar sig över cellmembranet och korsar detta sju gånger. Den delas upp i en extracellulär, en intracellulär och en transmembrandel (Sjaastad et al., 2010). G-proteinet aktiverar eller deaktiverar ett enzym eller jonkanal när receptorn signalerar till den. Signalen kommer från den liganden L- α -lysophosphatidic acid (LPA) som då har fäst i receptorn (Alberts et al., 2010). LPA kan binda även till det trunkerade proteinet som bildas vid en mutation. Det trunkerade proteinet ansamlas dock i det endoplasmatiska retiklet i en nätverksstruktur medan vildtypen av proteinet finns i cellmembranet (Pasternack et al., 2008).

När LPA binder till receptorn aktiveras G-proteinet som i sin tur stimulerar till att cAMP ökar i cellen. cAMP påverkar differentiering, förökning och överlevnad hos cellen. LPA stimulerar hårväxt och när receptorn, LPA6, inte finns i cellmembranet i hårsäcken som den ska så överförs inte signalen korrekt. I hårfolliklarna i ögonbrynen finns istället LPA receptor fem som har homologi och liknande signalöverföringsvägar gemensamt med LPAR6 vilket kan förklara att de flesta personerna i Pasterneck et al. (2008) studie hade ögonbryn trots att de var drabbade av hypotrikos på huvudet. Precis som *KRT71* uttrycks *LPAR6* i Henle och Huxley lager i IRS. Ju mer det superbasala lagret i epidermis differentierar så uttrycks den även där. Det har visats att IRS får en onormal form i de nedre delarna av hårsäcken hos individer med mutationen (Shimomura et al., 2008).

Lockig päls och hår

Häst - American Curly Horse

D.W. Scott (2004) undersökte huden på american curly hästar, med hjälp av histologi, men fann inga skillnader mellan årstiderna trots att fenotypen kan skilja mycket. I samband med att djuren fäller vinterpälsen kan de drabbas av alopeci eller hypotrikos vilket innebär håravfall fläckvis eller över större områden. Både pälsen och täckhåren växer sedan ut igen. Samma studie visade även att åtta av 18 hästar hade hypotrikos i man och svans. Alla individer som uppvisade håravfall hade måttlig till extremt lockig päls (Scott, 2004). Genom att studera hästar registrerade hos American Bashkir Curly Horse Registry kom Sponenberg (1990) med teorin att allelen för den lockiga pälsen är dominant. Lockiga avkommor, 224 individer, föddes från föräldrar där den ena inte hade lockig päls och den andra hade lockig päls. Vidare fanns 122 lockiga avkommor med två lockiga föräldrar. Tabell 2 visar en sammanställning på olika egenskaper hos 2250 stycken hästar i curly horse pedigree database. Hästarna är uppdelade i grupper efter hur lockarna i pälsen ser ut, men alla egenskaper finns inte angivna hos alla hästar. Det är ägaren till hästen som anger vilka egenskaper pälsen har. Siffrorna visar ändå att hästar med mer lockig päls i större utsträckning tappar både man och svans då de fäller.

Tabell 2. Statistik från curly horse pedigree database, totalt 2250 individer

Type of curl (number)	Shedding pattern		Hair In ears			Eyelashes			Suspected)			
	Mane & Tail	Only mane Tail	Curly	Curved or wavy	Fuzzy/ furry	Straight	Tightly curled into a circle	Well curved upward	Somewhat curved	Straight	True	False
Baldie (11)	8	-	7	-	-	-	4	2	1	-	3	8
Extreme (234)	174	11	192	3	4	1	51	121	23	-	88	146
Marcel wave (233)	28	12	155	43	11	2	2	92	108	10	9	224
Medlum curl (1050)	119	89	806	109	24	5	17	437	416	18	30	1020
Micro curl (170)	29	6	138	1	7	-	64	76	8	1	61	109
Minimal (193)	8	6	26	36	65	30	2	4	66	79	1	192
Tight curl (359)	59	27	308	8	10	1	63	212	40	3	63	296

Katt

Redan 1968 gjordes studier på rasen german rex. De har kort, vågig till lockig päls och lockiga morrhår. Studien visade att fenotypen nedärvs autosomt recessivt (Robinson, 1968). Cornish rex är en annan kattras med vågig päls över hela kroppen. Hårstråna är korta, tunna och kan enkelt plockas eller dras av, de har även vågiga eller lockiga korta morrhår. Pälsen i ansiktet är kort och rak. Histologiska tester har visat att hårfolliklarnas keratinlager var mer globulär och homogen än hos andra kattraser. Cornish rex katterna är homozygota för en deletion i exon fem i *LPAR6*. De fyra basparen som saknas på position 250-253 i cDNA orsakar att ett stoppkodon bildas vid position 92 på proteinet. Receptorns funktion reduceras då helt eller delvis. Denna mutation har fixerats hos cornish rex. German rex, som avlats fram från cornish rex, har samma mutation. Hypotrikos förekommer ibland hos cornish rex, i en mild form (Gandolfi et al., 2013a). *LPAR6* är placerad på kromosom A1, forward strand hos katter (ensembl.org).

Devon rex har också lockig eller vågig päls och saknar dessutom täckhår. Det orsakas av en 81 baspar lång deletion (med början i intron sex och fortsättning i exon sju) och åtta baspar lång insertion följt av en basinsertion i exon 7 i *KRT71*. Detta förflyttar splicingplatsen och orsakar ett trunkerat protein, 35 aminosyror saknas i α -helix-delen. Mutationen är autosomal recessiv och skrivs re/re, den har fixerats hos devon rex (Gandolfi et al., 2010). En del devon rex individer uppvisar hypotrikos när de fäller, framför allt på bröstet och magen (Robinson, 1969).

Även hos rasen selkirk rex finns katter med lockig päls som har en mutation i *KRT71*. Mutationen G till C (c.445G>C) stör troligtvis var splicingen sker vid intron ett. En ny acceptorplats för splicingen hittades i exon två. Djuren med lockig päls är antingen homozygota eller heterozygota för mutationen, som alltså nedärvs autosomt dominant, medan djuren med rak päls inom samma ras inte har mutationen (Gandolfi et al., 2013b). Selkirk rex med mutationen föds med lockig päls och lockiga morrhår som lätt går av när djuren är unga. De homozygota katterna tappar ofta pälsen som kattungar men den växer sedan ut igen (Filler et al., 2012).

En mutation i *KRT71* har även hittats hos sphynx katter. Dessa katter är helt utan päls på kroppen. Mutationen (c.816G>A), stör antagligen signalen för splicingplatsen. De flesta katterna i studien, 26 av 34, var homozygota för mutationen. De andra åtta var heterozygota och sex av dessa hade även den muterade allelen som hittats hos devon rex (Gandolfi et al., 2010).

Hund

I en studie av Cadieu et al. (2009) var hundar med lockig päls homozygota för en mutation i *KRT71*. Mutationen gjorde att arginin byttes ut mot tryptofan i det kodade proteinet. På position 5,542,806 finns en SNP som är associerad med den lockiga pälsen. Studien är gjord på portugisiska vattenhundar som har lång vågig päls. Andra raser som också har förändringar i *KRT71* är irländsk vattenspaniel, airedaleterrier och bichon frisé som alla har lockig eller vågig päls.

Tamråtta

Hos tamråtta har det visats att en mutation i *KRT71* kallad rex (Re) nedärvs autosomt dominant och orsakar att djuren får lockig till vågig päls och vågiga morrhår. Mutationen hittades hos en inavlade stam, (KFRS5A/Kyo). Djur som var homozygota (Re/Re) visade ännu

tydligare än de heterozygota (Re/+) upp fenotypen och tappade dessutom all sin päls vid ungefär fem veckors ålder. Hudprover visade att deras hårsäckar var utvidgade. En sju baspar lång deletion mellan intron ett och exon två gör att splicingplatsen troligtvis förflyttas hos individer som bär på mutationen (Re). Detta medför en sex aminosyror lång deletion i α -helix-delen i keratin 71 (Kuramoto et al., 2010).

Mus

Det har visats att möss med lockig/vågig päls och vågiga morrhår har en mutation i *KRT71* genen i exon ett. Missensemutationen gör att aminosyrasekvensen förändras i α -helix-delen i keratin 71. Det finns två olika muterade stammar kallade rco12 och rco13, vilket står för reduced coat 12 och reduced coat 13, där båda visar den lockiga fenotypen. Pälsen var tydligast lockig hos de unga djuren och blev mindre tydlig efter tre månaders ålder. Inget av djuren visade håravfall. Båda stammarna visade förändringar i Henle och Huxley lager i IRS. IRS var oregelbundet format medan hårstrået inte visade någon skillnad från vildtypen. Aggregat hittades i både Henle och Huxley lager, hos rco12 och rco13, vilka bestod av virvlar bildade av de intermediära filamenten. Vid desmosomer och intill aggregaten fanns dock linjära intermediära filament. Detta visades vara hos de heterozygota individerna medan de homozygota individerna inte kunde bilda intermediära filament innehållande keratin 71. Vildtypen hade bara linjära intermediära filament. Hos rco12 innebär mutationen att ett C byts ut mot ett A (c.479C>A) vilket leder till att alanin byts mot glycin vid position 143 på proteinet. Hos rco13 mössen byts ett A ut mot ett T (c.487A>T) vilket leder till att isoleucine byts mot fenylalanine vid position 146 hos dessa. Förändringarna i aminosyrasekvensen hos de båda stammarna sker i övergången mellan proteinets "head"- och α -helix-del. Mutationen är autosomt dominant hos båda stammarna (Runkel et al., 2006).

Det har även visats att andra mutationer i *KRT71* kan orsaka vågig päls och böjda morrhår hos möss. I denna studie var fenotypavvikelsen tydligast mellan tre och sex veckors ålder. En tre baspar deletion (c.418-420delCAA) orsakar en deletion av aminosyran aspargin i α -helix-delen på position 140 i proteinet. Mutationen kallas för caracul Rinshoken (*Ca^{rin}*) och nedärvdes autosomt dominant (Kikkawa et al., 2003).

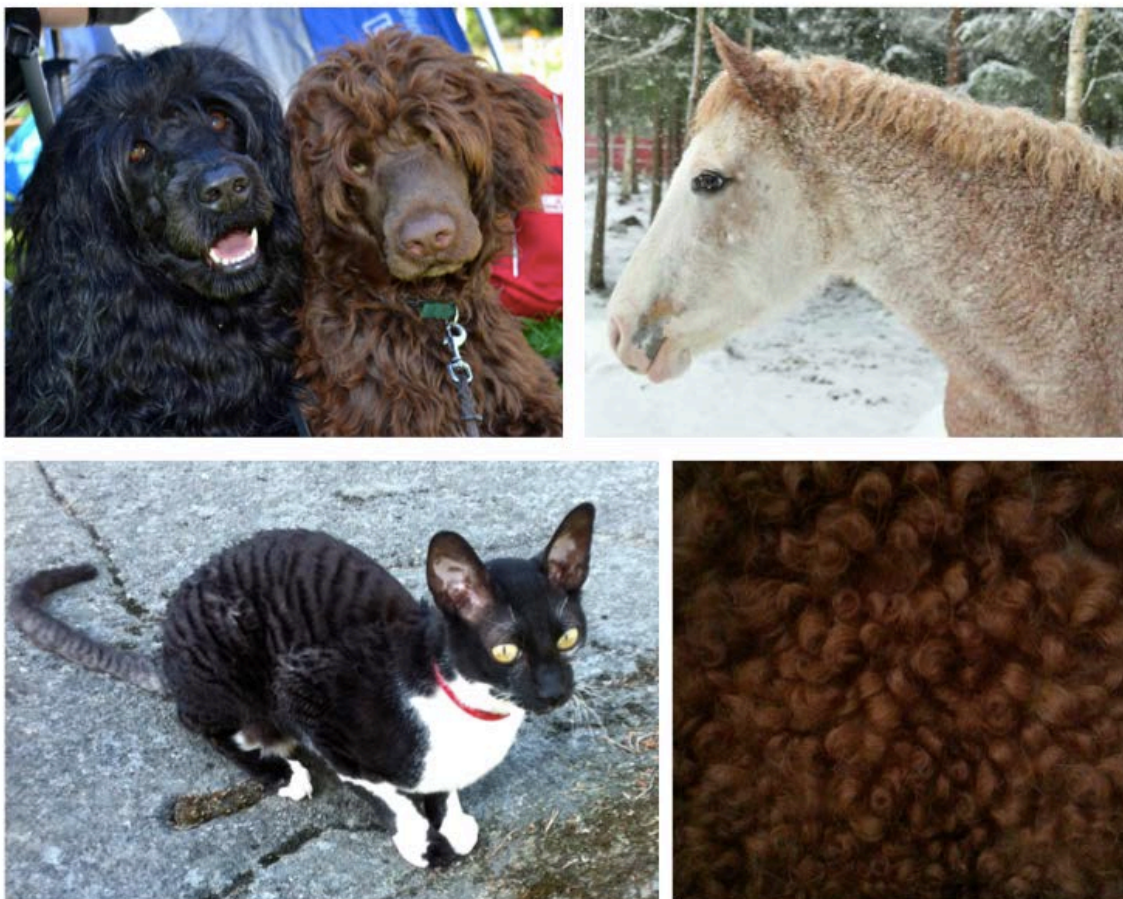
Hos möss med nedärvd alopeci, det vill säga håravfall, har en studie genomförts där forskarna studerade djur med mutationen reduced coat 3, rco3. Möss homozygota för mutationen visar håravfall och lockiga morrhår, den första pälsen de får vid ungefär 16 dagars ålder är dessutom lockig. Håravfallet startar när djuren faller första gången. Individer som är heterozygota för mutationen har samma fenotyp som vildtypen. Mutationen som orsakar sjukdomen är en tio baspar lång deletion (c.223-232delCTTAACATGG) i *KRT71* som gör att proteinet blir trunkerat och hela α -helix-delen saknas. Djur som bär på mutationen har förändringar i hårfollikeln i jämförelse med vildtypen. I Henle och Huxley lager i IRS påverkas keratiniseringen och hårstrået böjs där Henle lager inte keratiniseras korrekt. De intermediära filamenten i dessa celler saknas eller är onormala (Peters et al., 2003).

Människa

Även hos människa har *KRT71* studerats och det har visats att en missensmutation i den första exonen förekommer, personerna i studien var heterozygota för mutationen. Ett T byts ut mot ett G (c.422T>G) vilket leder till att proteinet kodas om vid position 141 och fenylalanin byts mot cystein. Aminosyrabytet sker precis i början av α -helix-delen på proteinet. Mutationen har hittats hos en familj med lockigt eller ulligt hår, med täta lockar, och som dessutom led av hypotrikos. Hos en av de undersökta personerna, ett barn, var både

håret på huvudet och ögonfransar samt ögonbryn påverkade. Håret på huvudet blev aldrig längre än ett par cm. Familjen visade symptom i tre generationer men de vuxna blev mindre påverkade ju äldre de blev (Fujimoto et al., 2012).

Det har även visats att fem olika mutationer i *LPAR6* gett ulligt, lockigt hår på huvudet och/eller hypotrikos. Hos dessa personer är dock skägg, ögonbryn och ögonfransar normala (Kurban et al., 2013). I en annan studie hittades olika mutationer i *LPAR6*, den ena ett byte C till T (c. 463C>T) som orsakar ett för tidigt stoppkodon på proteinet och den andra en två baspar deletion (c.373-374del) som även den orsakar ett stoppkodon. Mutationerna är placerade vid en region som kodar för en cytoplasmadel på proteinet respektive en region som kodar för en extracellulär region på proteinet. Båda mutationerna leder till att proteinet blir trunkerat. De undersökta personerna i studien led av hypotrikos i form av håravfall framförallt på huvudet men hos vissa personer även på ögonbryn och ögonfransar. Hypotrikosen i detta fall var autosomt recessivt nedärvd (Pasternack et al., 2008). Ytterligare en familj som led av hypotrikos har visats ha en mutation i *LPAR6*. Dessa personer hade kort, ulligt hår på huvudet och glest men grova ögonbryn och ögonfransar. Mutationen, en transition vid position 587 på cDNA, leder till aminosyrautbytet proline till leucine vid position 196 på proteinet. Personerna i studien var homozygota för mutationen (Nahum et al., 2011).



Figur 3. Portugisiska vattenhundar, american curly häst, cornish rex katt och närbild på pälsen hos en american curly häst. Foton: Johanna Lundström, Sabrina Prichard, Joel Hamn, Agneta Nilsson.

Diskussion och slutsats

Det finns två olika kända muterade gener som leder till att hårstråna blir vågiga/lockiga och i vissa fall även orsakar hypotrikos. Mutationer i *KRT71* har hittats hos alla de djurslag som tagits upp i denna uppsats utom hos häst där sådan forskning ännu inte finns tillgänglig (Kikkawa et al., 2003; Peters et al., 2003; Runkel et al., 2006; Cadieu et al. 2009; Gandolfi et al., 2010; Kuramoto et al., 2010; Filler et al., 2012; Fujimoto et al., 2012; Gandolfi et al., 2013b). Att genen är identisk mellan olika arter till över 90 % (Langbein et al., 2002; Gandolfi et al., 2010) visar på en väl bevarad gen. Hos människa och katt har det även visats att mutationer i *LPAR6* kan orsaka fenotypen och hypotrikos (Pasternack et al., 2008; Nahum et al., 2011; Gandolfi et al., 2013a; Kurban et al., 2013). Mutationerna är olika både mellan djurslag och mellan raser men tycks påverka proteinerna på samma sätt.

KRT71 är muterad i exon ett hos människa och mus (Kikkawa et al., 2003; Peters et al., 2003; Runkel et al., 2006; Fujimoto et al., 2012), i exon två hos hund, tamråtta och katt (Cadieu et al. 2009; Kuramoto et al., 2010; Gandolfi et al., 2013b), i exon fyra samt i intron sex och exon sju hos katt (Gandolfi et al., 2010). Mutationerna leder till att aminosyrasekvensen förändras eller att proteinet blir trunkeerat (Kikkawa et al., 2003; Peters et al., 2003; Runkel et al., 2006; Cadieu et al., 2009; Gandolfi et al., 2010; Kuramoto et al., 2010; Fujimoto et al., 2012). Flera av studierna har visat att förändringen sker i α -helix-delen på proteinet (Kikkawa et al., 2003; Peters et al., 2003; Runkel et al., 2006; Gandolfi et al., 2010; Fujimoto et al., 2012). Den delen av proteinet är viktig för att de intermediära filamenten ska kunna byggas upp på ett korrekt sätt där proteinerna kan snurra sig runt varandra och bilda de repliknande strukturerna. När de intermediära filamenten blir missformade så orkar cytoskelettet inte hålla cellens egen struktur eller strukturen mellan cellerna (Alberts et al., 2010).

Genen uttrycks i IRS i hårfollikeln vilken har en viktig funktion i att stötta hårstrået när det växer mot hudytan (Langbein et al., 2002; Peters et al., 2003). Under den anagena fasen ska IRS keratiniseras för att orka stötta hårstrået (Alonso & Fuchs, 2006). Om individen är drabbad av mutationen orkar cellerna i IRS inte hålla sin struktur och blir då missformad och böjd. Detta leder till att hårstrået som växer ut böjs där Henle lager inte keratiniserats korrekt. Dessutom blir IRS tunnare och hårfollikeln mindre tigt runt hårstrået vilket kan leda till att detta lossnar (Kikkawa et al., 2003; Peters et al., 2003). Det verkar som att djuren lider mer av hypotrikos ju lockigare päls de har. I tabell 3 syns tydligt att hästar klassificerade som "baldie" eller "extreme" i större utsträckning än de andra klasserna tappar både man och svans när de faller. Även i Scott (2004) studie visades att de individer som drabbades av hypotrikos hade måttligt till extremt lockig päls. Detta skulle kunna förklaras av att ju mer böjd eller missformad follikeln blir desto lockigare blir pälsen och förmågan att hålla kvar hårstrået mindre. En mutation i *KRT71* är även orsaken till att katter av rasen sphynx helt saknar päls (Gandolfi et al., 2010), något som visar hur viktig denna gen är för att pälsen ska bli normal och hårstråna sitta kvar. Den verkar heller inte kunna ersättas av andra typ II keratiner (Kikkawa et al., 2003), även det visar på genens viktiga funktion.

Mutationerna i *LPAR6* skiljer sig både mellan katt och människa och mellan olika studier på människor. Proteinets blir även i dessa fall antingen trunkeerat eller får en förändrad aminosyrasekvens vilket leder till att funktionen hos receptorn helt eller delvis reduceras (Pasternack et al., 2008; Nahum et al., 2011; Gandolfi et al., 2013a). Var på proteinets mutationen orsakar förändring verkar i detta fall vara mindre betydande. Oavsett om förändringen i proteinet sker på en cytoplasma del eller på en extracellulär del så verkar

proteinet tappa sin funktion. När receptorn inte fungerar som den ska i cellmembranet kan inte LPA binda in. Detta medför att tillväxten för nya hår inte stimuleras på ett korrekt sätt och att cAMP inte heller påverkar cellens differentiering och överlevnad som normalt (Pasternack et al., 2008). Även *LPAR6* uttrycks i IRS och när genen på olika sätt muteras får IRS en onormal form (Shimomura et al., 2008). Att hårstråna blir lockiga beror alltså antagligen på att IRS inte kan stötta hårstrået korrekt utan istället blir hårsäcken böjd och hårstrået vågig/lockig. Hypotrikosen i detta fall kan troligtvis bero på att hårfollikeln inte orkar hålla kvar hårstrået men även på grund av att tillväxten störs. Det är möjligt att tänka sig att nya hårstrån inte växer ut normalt när de gamla tappas. I Nahum et al., (2011) studie hade personerna bara korta hårstrån vilket antagligen beror på att tillväxten inte stimulerats när LPA inte kunnat binda in till receptorn. Samma sak gäller pälsen hos kattraserna german rex och cornish rex (Robinson, 1968; Gandolfi et al., 2013a), troligtvis av samma anledning. Dock verkar andra LPA-receptorer i vissa fall kunna ersätta *LPAR6*, som i Pasternack et al. (2008) studie där personerna hade ögonbryn och ögonfransar trots att de led av hypotrikos på huvudet.

Slutsatsen blir att det mest troliga är att american curly hästarna har en mutation i *KRT71*. Dels är det den mutationen som har identifierats hos flest andra djurslag men framförallt så finns det inget som tyder på att hästarna har problem med tillväxten av håren. Hade mutationen legat i *LPAR6* borde de ha problem med att få tillbaka pälsen och täckhåren efter att de fällt. Katter med mutationer i *LPAR6* har dessutom korta hårstrån i pälsen (Gandolfi et al., 2013a). Även personerna i Nahum et al. (2011) studie hade bara kort hår på huvudet. Detta är inte något som visats hos hästarna, där längden på hårstråna är normal.

Sponenberg (1990) kom med teorin att allelen som ger hästarna deras specifika fenotyp är dominant. Den skulle även kunna vara ofullständigt dominant där den ena homozygoten inte visar den lockiga fenotypen eller hypotrikos medan den andra homozygoten får extremt lockig päls och omfattande hypotrikos. Heterozygoterna blir ett mellanting med lockig päls och mer eller mindre allvarlig hypotrikos. Detta har visats hos tamråtta där de individer som var homozygota för mutationen fick extremt lockig päls och dessutom allvarlig hypotrikos medan heterozygoterna fick lockig päls men inte hypotrikos (Kuramoto et al., 2010). Något som också talar för ofullständig dominans är att sphynx-katterna i Gandolfi et al. (2010) studie i de flesta fall var homozygota för allelen som gör att de saknar päls. Vidare har det visats att möss homozygota för mutationen inte kunnat bilda intermediära filament, heterozygoterna hade framförallt förändrade intermediära filament som inte kunde hålla cellens struktur. Vildtypen hade däremot bara korrekt formade, linjära, intermediära filament (Runkel et al., 2006). Av de 2250 hästar registrerade hos curly horse pedigree database misstänks 79,8 % vara heterozygota. En större andel i gruppen "extreme" misstänks vara homozygota än i klassen "minimal". Detta skulle eventuellt kunna tyda på en ofullständig dominant nedärvning. Om den teorin skulle vara korrekt så finns den andra homozygoten dessvärre inte att jämföra med i detta material då dessa i så fall skulle ha rak päls och därmed inte finnas i samma databas. Framtida forskning får visa om mutationen finns i *KRT71* och sedan får det studeras vidare om den är dominant eller ej.

Referenser

- Alberts, A., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2010) *Essential Cell Biology, 3rd edition*. New York och London, Garland Science.
- Alonso, L. & Fuchs, E. (2006). The hair cycle. *Journal of Cell Science*, vol. 119, ss. 391-393.
- Aoki, N., Sawada, S., Rogers, M.A., Schweizer, J., Shimomura, Y., Tsujimoto, T., Ito, K., & Ito, M. (2001). A Novel Type II Cytokeratin, mK6irs, is Expressed in the Huxley and Henle Layers of the Mouse Inner Root Sheath. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 116, ss. 359–365.
- Cadiou, E., Neff, M.W., Quignon, P., Walsh, K., Chase, K., Parker, H.G., VonHoldt, B.M., Rhue, A., Boyko, A., Byers, A., Wong, A., Mosher, D.S., Elkhahloun, A.G., Spady, T.C., André, C., Lark, K.G., Cargill, M., Bustamante, C.D., Wayne, R.K. & Ostrander, E.A. (2009) Coat Variation in the Domestic Dog Is Governed by Variants in Three Genes. *Science Magazine*, vol. 326, ss. 150-153.
- Coulombe, P.A. & Omary, M.B. (2002). ‘Hard’ and ‘soft’ principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments. *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 14, ss. 110-122. Figur 1.
- Dry E. (1926). The coat of the mouse (*Mus musculus*). *Journal of Genetics*, vol. 16, ss. 287-340.
- Filler, S, Alhaddad, H., Gandolfi, B., Kurushima, J.D., Cortes, A., Veit, C., Lyons, L.A. & Brem, B. (2012). Selkirk Rex: Morphological and Genetic Characterization of a New Cat Breed. *Journal of Heredity*, vol. 103, ss. 727–733.
- Fujimoto, A., Farooq, M., Fujikawa, H., Inoue, A., Ohyama, M., Ehama, R., Nakanishi, J., Hagihara, M., Iwabuchi, T., Aoki, J., Ito, M. & Shimomura, Y. (2012). A Missense Mutation within the Helix Initiation Motif of the *Keratin K71* Gene Underlies Autosomal Dominant Woolly Hair/Hypotrichosis. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 132, 2342–2349.
- Gandolfi, B., Alhaddad, H., Affolter, V.K., Brockman, J., Haggstrom, J., Joslin, S.E.K., Koehne, A.L., Mullikin, J.C., Outerbridge, C.A., Warren, W.C. & Lyons, L.A. (2013a). To the Root of the Curl: A Signature of a Recent Selective Sweep Identifies a Mutation That Defines the Cornish Rex Cat Breed. *PLOS ONE*, vol. 8. Tillgänglig: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0067105#pone-0067105-g004> [2014-04-03]
- Gandolfi, B., Alhaddad, H., Joslin, S.E.K., Khan, R., Filler, S., Brem, G. & Lyons, L.A. (2013b). A splice variant in *KRT71* is associated with curly coat phenotype of Selkirk Rex cats. *Scientific Reports*, vol. 3. Tillgänglig: http://www.nature.com/srep/2013/130617/srep02000/full/srep02000.html?WT.mc_id=FBK_SciReports [2014-03-07]
- Gandolfi, B., Outerbridge, C.A., Beresford, L.G., Myers, J.A., Pimentel, M., Alhaddad, H., Grahn, J.C., Grahn, R.A. & Lyons, L.A. (2010). The naked truth: Sphynx and Devon Rex cat breed mutations in *KRT71*. *Mammalian Genome*, vol. 21, ss. 509-515.
- Kikkawa, Y., Oyama, A., Ishii, R., Miura, I., Amano, T., Ishii, Y., Yoshikawa, Y., Masuya, H., Wakana, S., Shiroishi, T., Taya, C. & Yonekawa, H. (2003). A Small Deletion Hotspot in the Type II Keratin Gene *mK6irs1/Krt2-6g* on Mouse Chromosome 15, a Candidate for Causing the Wavy Hair of the Caracul (*Ca*) Mutation. *Genetics*, vol. 165, ss. 721-733.
- Kuramoto, T., Hirano, R., Mitsuru Kuwamura, M. & Serikawa, T. (2010). Identification of the Rat Rex Mutation as a 7-bp Deletion at Splicing Acceptor Site of the *Krt71* Gene. *The Journal of Veterinary Medical Science*, vol. 72, ss. 909-912.
- Kurban, M., Wajid, M., Shimomura, Y. & Christiano, A.M. (2013). Mutations in LPAR6/P2RY5 and LIPH are associated with woolly hair and/or hypotrichosis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, vol. 27, ss.545-549.
- Langbein, L., Rogers, M.A., Praetzel, S., Aoki, N., Winter, H. & Schweizer, J. (2002). A Novel Epithelial Keratin, hK6irs1, is Expressed Differentially in All Layers of the Inner Root Sheath, Including Specialized Huxley Cells (Flügelzellen) of the Human Hair Follicle. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 118, ss. 789–799.

- Langbein, L., Rogers, M.A., Praetzel, S., Winter, H. & Schweizer, J. (2003). K6irs1, K6irs2, K6irs3, and K6irs4 Represent the Inner-Root- Sheath-Specific Type II Epithelial Keratins of the Human Hair Follicle. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 120, ss. 512–522.
- Müller-Röver, S., Handjiski, B., van der Veen, C., Eichmüller, S., Foitzik, K., McKay, I.A., Stenn, K.S. & Paus, R. (2001). A Comprehensive Guide for the Accurate Classification of Murine Hair Follicles in Distinct Hair Cycle Stages. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 117, ss. 3–15.
- Nahum, S., Morice-Picard, F., Taieb, A. & Sprecher, E. (2011). A novel mutation in LPAR6 causes autosomal recessive hypotrichosis of the scalp. *Clinical and Experimental Dermatology*, vol. 36, ss. 188-194.
- Pasternack, S.M., von Kügelgen, I., Al Aboud, K., Lee, Y., Rüschenhoff, F., Voss, K., Hillmer, A.M., Molderings, G.J., Franz, T., Ramirez, A., Nürnberg, P., Nöthen, M.M. & Betz, R.C. (2008). G protein-coupled receptor P2Y5 and its ligand LPA are involved in maintenance of human hair growth. *Nature Genetics*, vol. 40, ss. 329-334.
- Peters, T., Sedlmeier, R., Büssov, H., Runkel, F., Lüers, G.H., Korthaus, D., Fuchs, H., Hrabé de Angelis, M., Stumm, G., Russ, A.P., Porter, R.M., Augustin, M. & Franz, T. (2003). Alopecia in a Novel Mouse Model RCO3 Is Caused by mK6irs1 Deficiency. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 121, ss. 674–680.
- Porter, R.M., Corden, L.D., Lunny, D.P., Smith, F.J.D., Lane, E.B. & Mclean W.H.I. (2001) Keratin K6irs is specific to the inner root sheath of hair follicles in mice and humans. *British Journal of Dermatology*, vol. 145, ss. 558-568.
- Robinson, R. (1968). German rex: A rexoid coat mutant in the cat. *Genetica*, vol. 39, ss. 351-352.
- Robinson, R. (1969). Devon Rex – a third rexoid coat mutant in the cat. *Genetica*, vol. 40, ss. 597-599.
- Runkel, F., Klaften, M., Koch, K., Böhnert, V., Büssov, H., Fuchs, H., Franz, T. & Hrabé de Angelis, M. (2006). Morphologic and molecular characterization of two novel Krt71 (Krt2-6g) mutations: Krt71 rco12 and Krt71 rco13. *Mammalian Genome*, vol. 7, ss. 1172-1182.
- Schweizer, J., Langbein, L., Rogers, M.A. & Winter, H. (2007) Hair follicle-specific keratins and their diseases. *Experimental Cell Research*, vol. 313, ss. 2010-2020.
- Shimomura, Y., Wajid, M., Ishii, Y., Shapiro, L., Petukhova, L., Gordon, D. & Christiano, A.M. (2008). Disruption of P2RY5, an orphan G protein-coupled receptor, underlies autosomal recessive woolly hair. *Nature Genetics*, vol. 40, ss. 335 – 339.
- Scott, D.W. (2004) Skin of the neck, mane and tail of the curly horse. *Equine Veterinary Education* vol. 16, ss. 201-206.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2010) *Physiology of Domestic Animals, 2nd edition*. Oslo, Scandinavian Veterinary Press.
- Sponenberg, D.P. (1990). Dominant curly coat in horses. *Genetics Selection Evolution*, vol. 22, ss. 257-260.

Webbsidor:

EMBL-EBI & Wellcome Trust Sanger Institute (feb. 2014) Ensembl.
<http://www.ensembl.org/index.html> [2014-03-20]

<http://www.curlyhorses.info/mainsearch.asp> [2014-04-14]

Foton:

Hund - Johanna Lundström

Häst - Sabrina Prichard

Katt - Joel Hamn

Pälsbild - Agneta Nilsson