



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Mutation i FOXI3 - orsaken till tre hårlösa hundraser



Elin Johansson

Mutation i FOXI3 – orsaken till tre hårlösa hundraser

Mutation in FOXI3 – the cause of three hairless dog breeds

Elin Johansson

Handledare: Tomas Bergström, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Examinator: Erling Strandberg, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0553

Program: Agronomprogrammet - Husdjur

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Serienamn, delnr: Examensarbete / Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjursgenetik, 517

Omslagsbild: Från vänster: Laila Synnøve Fjeld Sehlín, Anna Lydin, Anna Granberg

Nyckelord: FOXI3, hund, hårlösa hundraser, canine ectodermal dysplasia, forkhead box

Key words: FOXI3, dog, hairless dog, canine ectodermal dysplasia, forkhead box

Sammanfattning

Hunden (*Canis lupus familiaris*) är ett av de populäraste sällskapsdjuren idag. Efter domesticeringen har det genom avel uppstått hundratals hundraser med stor variation i storlek, pälsfärg och pälstyp. Alla hundar har dock inte päls, genom avel har det även uppstått hårlösa hundar. I Syd- och Centralamerika antas hårlösa hundar funnits redan för 3 000 år sedan. Fenotypen hos hårlösa hundar kallas för Canine ectodermal dysplasia och kännetecknas av sparsam eller avsaknad behåring och drabbade tänder. De hårlösa individer av hundraserna Chinese crested dog, Xoloitzcuintle och Perro sin Pelo del Perú har alla samma heterozygota mutation i transkriptionsfaktorn *FOXI3*. *FOXI3* reglerar utvecklingen av ektodermala organ så som hår, tänder, exokrina körtlar samt utvecklingen av huvudet. *FOXI3* tros ligga nedströms en viktig signaleringsväg, Ectodysplasin (Eda) som är viktig för bildandet av plakoden, det första steget i utvecklingen av ektodermala organ. Minskad kroppsbehåring och påverkade tänder misstänks delvis bero på det minskade uttrycket av *FOXI3* hos de hårlösa individerna. Den hårlösa fenotypen hos hårlösa hundar är intressant och hårlösa hundar är efterfrågade. Fokus i denna litteraturstudie är därför hårlösa hundraser och genetikerna som orsakar deras fenotyp.

Nyckelord: *FOXI3*, hund, hårlösa hundraser, canine ectodermal dysplasia, forkhead box

Abstract

The dog (*Canis lupus familiaris*) is one of the most popular pets today. After the domestication of dogs, several hundred breeds have been formed with significant differences in size, coat color and coat type. However, all breeds do not have a coat. Hairless dogs have also formed through breeding. These dogs are believed to have originated 3 000 years ago in Central and South America. The phenotype of hairless dogs is known as canine ectodermal dysplasia and is characterized by absent or sparse hair coat and affected teeth. The hairless individuals of Chinese crested dog, Xoloitzcuintle and Perro sin Pelo del Perú all share the same heterozygous mutation in the gene encoding for the transcription factor *FOXI3*. *FOXI3* is regulator of development of ectodermal organs such as hair, teeth and exocrine glands and in craniofacial development. *FOXI3* is located downstream of Ectodysplasin (Eda), which is an important signaling pathway for placode formation, which is the first step in the development of ectodermal organs. Sparse or absent hair and the affected teeth in the heterozygous individuals may in part be caused by the reduced expression of *FOXI3*. The hairless phenotype is indeed interesting and hairless dogs are in demand. The aim of this literature study is therefore hairless dog breeds and the genetics behind the hairless phenotype.

Key words: *FOXI3*, dog, hairless dog, canine ectodermal dysplasia, forkhead box

Innehållsförteckning

Förkortningar	5
Introduktion	6
1 Gener som styr päls hos hund	7
1.1 Hårlösa hundraser	7
1.1.1 Xoloitzcuintle	8
1.1.2 Perro sin pelo del peru	8
1.1.3 Chinese crested dog	9
1.2 Mutation i FOXI3 orsakar hårlöshet	9
1.3 Transkriptionsfaktorer	10
1.4 Forkhead box familjen	11
2 FOXI3	12
2.1 Foxi3 i den embryonala utvecklingen	13
2.1.1 Ektodermala organ	13
2.1.2 Signalmolekyler i bildandet av ektodermala organ	14
2.1.3 Foxi3 ligger nedströms Eda	15
2.1.4 CED visar likheter med XLHED	15
2.2 Utvecklingen av hårfolliklar	15
2.2.1 Foxi3:s roll i hårfollikelutvecklingen	16
2.3 Tandutveckling	16
2.3.1 Foxi3 i tandens utveckling	17
2.4 Foxi3 i andra ektodermala organ	18
2.5 Huvudets utveckling	18
2.5.1 Gälbågar	19
2.5.2 Foxi3:s roll i gälbågarnas utveckling	19
2.5.3 Valpar homozygota för mutation i FOXI3 dör i utvecklingen	20
2.5.4 Kraniala plakoder	20
2.5.5 Defekta hörselgångar hos CCD, Xolo och PSPP	21
3 Diskussion	22
3.1 Slutsats och framtida forskning	24
Referenslista	25

Förkortningar

Bmp	Bone morphogenetic protein
CCD	Chinese crested dog
CED	Canine ectodermal dysplasia
Eda	Ectodysplasin A
Edar	Ectodysplacin A receptor
FGF	Fibroblast growth factor
FOX	Forkhead box
<i>FOXI3</i>	Forkhead box I3
GTF	Generella transkriptionsfaktorer
GWAS	Genome wide association study
PSPP	Perro sin Pelo del Perú
Shh	Sonic hedge hog
TBP	TATA-bindande protein
XHLED	X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasias
Xolo	Xoloitzcuintle
-/- eller +/-	Homozygot eller heterozygot för muterad gen

Introduktion

Hunden (*Canis lupus familiaris*) är idag ett av de populäraste sällskapsdjuren och i Sverige finns idag över 850 000 hundar enligt statistik från Jordbruksverket (Jordbruksverket, 2017).

Det finns många teorier om var och när hunden domesticerades. I en studie av Wang et.al (2015) föreslås att hunden domesticerades i sydöstra Asien för cirka 33 000 år sedan från gråvargen (*Canis Lupus*). Därefter, för cirka 15 000 år sedan utvandrade en undergrupp av dessa hundar till Mellanöstern, Afrika och Europa. En del hundar tros ha vandrat tillbaka till Kina och sedan vidare med människan till den nya världen, Amerika (Wang *et al.*, 2016)

Domesticering följt av artificiell selektion från människans sida har gett upphov till en stor variation av hundraser. Idag finns det cirka 400 raser runt om i världen med stora skillnader i utseende så som storlek, färg och pälstyp (Wells, 2009).

Vissa raser har avlats fram utan päls och hårlösa hundar antas ha uppstått för över 3 000 år sedan i Sydamerika. Tre av dessa hårlösa hundraser, Chinese crested dog (CCD), Xoloitzcuintle (Xolo) och Perro sin Pelo del Perú (PSPP) är hårlösa till följd av samma mutation i transkriptionsfaktorn *FOXI3* (Drögemüller *et al.*, 2008). En av dessa hundraser, CCD, har ökat i popularitet och år 2014 var rasen placerad som hundras nummer 14 på listan över antal registreringar hos Svenska kennelklubben (Svenska kennelklubben, 2014a)

Syftet med denna litteraturstudie är att ge en förståelse för *FOXI3* samt vad mutation i denna transkriptionsfaktor ger för effekter hos hund.

1 Gener som styr päls hos hund

Pälsens utseende och längd är en av de karakteristiska egenskaperna hos våra hundraser. Genom att undersöka hundens genom fann Cadieu *et al.* (2009) att mutation i enbart tre gener ger upphov till en stor del av de pälstyper som förekommer hos renrasiga hundar i USA. Dessa gener var RSPO2, FGF5 och KRT71. RSPO2 kontrollerar tillväxtmönster och textur, mutation i genen påverkar päls-tillväxten i bryn och mustasch, typiskt för många strävåriga raser så som schnauzer. FGF5 kontrollerar päls-längd, dubbel uppsättning av mutationen i FGF5 ger en långhårig pälstyp och KRT71 kontrollerar lockighet (Cadieu *et al.*, 2009).

Kombinationer av dessa tre mutationer ger upphov till sju olika pälstyper, långhårig, korthårig, lockig, strävårig, långhårig med bryn och mustasch, lockig och strävårig samt lockig med bryn och mustasch. Studien visade att 95 % av de medverkande hundarna, motsvarande 108 raser hade dessa 3 mutationer i olika kombinationer. Exempelvis så ger kombination av RSPO2 och FGF5 en lång päls med bryn och mustasch som återfinns hos exempelvis hundrasen Old English Sheepdog. För att bli lockig krävs dock en viss längd på pälsen, en korthårig hund kan ej vara lockig. Korthåriga hundar saknar mutation i ovanstående gener (Cadieu *et al.*, 2009).

1.1 Hårlösa hundraser

Flera hårlösa raser har uppstått genom avel. Den hårlösa fenotypen styrs av andra gener än de som är beskrivna i Cadieu *et al.* (2009). Den hårlösa fenotypen är en intressant fenotyp och hårlösa hundraser är efterfrågade. De mest kända hårlösa raserna är CCD, Xolo och PSPP där de tre rasernas fenotyp är orsakad av samma mutation i *FOXI3* (Drögemüller *et al.*, 2008).

1.1.1 Xoloitzcuintle



Figur 1. Vänster: Xoloitzcuintle Standard, Hairless (Foto: Anna Lydin). Höger: Xoloitzcuintle Standard, Pälsad (Foto: Anna Lydin)

Xolo är en gammal ras och tros ha funnits i Syd- och Centralamerika under tusentals år. Statyetter daterade till cirka 3 000 år före Kristus föreställande de hårlösa hundarna har hittats i Colimakulturen i Centralamerika. De hårlösa hundarna tros ha använts i religiösa ritualer inom aztek-kulturen och hundarna troddes även ha läkande krafter mot bland annat reumatism. Hundrasen är idag Mexikos nationalras och finns i tre storlekar, standard, medium och miniatyr samt i hårlös och pälsad variant (Svenska kennelklubben, 2014b).

1.1.2 Perro sin pelo del peru



Figur 2. Vänster: Perro sin pelo del peru Medio, hairless (Foto: Lena-Maria Blom) Höger: Perro sin pelo del peru Medio, pälsad (Foto: Anna Lydin)

I Sydamerika har bilder på keramik föreställande hårlösa hundar daterats till 300 år före Kristus, något som tyder på att PSPP är en gammal ras. Den pälsade varianten sägs ha använts som jakthund på grund av sin vindhundsliknande och snabba kropp. Enligt andra källor har denna typ av hundar använts som föda för människor. PSPP finns i tre storlekar, grande, medio och pequeño samt i hårlös och pälsad variant (Svenska kennelklubben, 2014c).

1.1.3 Chinese crested dog



Figur 3. Vänster: Chinese crested dog hairless (Foto: Amanda Nilsson) Höger: Chinese crested dog powder puff (Foto: Jossie Forsling)

CCD skiljer sig något från Xolo och PSPP då den hårlösa varianten av denna ras har lång behåring på huvud, tassar och svans vilket kan bero på inblandning av genotypen för lång päls, något som då även kan förklara den långa pälsen hos den pälsade varianten powder puff (Robinson, 1985). Behåringen på kroppen hos CCD skiljer sig mellan individer och delas vanligen upp i olika behåringssgrader (Wiener *et al.*, 2013). Rasens ursprung är än idag okänt men det finns många teorier om hur den har uppstått. CCD tros härstamma antingen från Kina, från Syd- och Centralamerika eller från Afrika. Mycket tyder dock på att rasen härstammar från Centralamerika och delar haplotyp med bland annat Xolo (Parker *et al.*, 2017). Under 1800-talet fanns denna typ av hårlösa hundar runt om i Europa och även på utställningar i England men försvann därefter, men under början av 1900-talet blev rasen återigen populär (Svenska Kennelklubben, 2014).

1.2 Mutation i *FOXI3* orsakar hårlöshet

Hårlösa hundar av de tre raserna CCD, Xolo och PSPP delar samma mutation i transkriptionsfaktorn Forkhead box I3 (*FOXI3*), något som tyder på att de är besläktade men släktskapet mellan raserna är idag okänt. I heterozygot uppsättning, *FOXI3 +/-*, ger mutationen upphov till hårlöshet. Den hårlösa fenotypen klassificeras som Canine ectodermal dysplasia (CED) och kännetecknas av sparsam eller avsaknad av päls och påverkad tandstatus där tänderna kan vara färre till antalet, malplacerade och framåtriktade.













Den hårlösa fenotypen, CED, uppvisar autosomal semidominant nedärvning där den i heterozygot form ger hårlös fenotyp. Homozygot form av mutationen, *FOXI3 -/-*, är letal och dessa individer dör i fosterutvecklingen (Robinson, 1985). Detta kommer behandlas mer i detalj i del 2.3.2.

Alla tre raser har även en pälsad variant som saknar mutation i *FOXI3*, *FOXI3 +/+* (Wiener *et al.*, 2013).

För den nakna genotypen används ofta symbolen Hr medan den pälsade symboliseras med hr (Robinson, 1985).

Nedan i tabell 1 följer ett korsningsschema över parning mellan hårlösa, pälsad och hårlös samt mellan pälsade individer. Hårlösa och pälsade individer föds alltså i samma kull, bortsett från parning mellan två pälsade individer som ej generar hårlösa avkommor. Mer om *FOXI3* behandlas i avsnitt 1.5.

Tabell 1. Parning mellan två hårlösa individer generar hårlösa (grå) och pälsade (svart) avkommor samt avkommor homozygota för *FOXI3* (röd) vilket är letalt. Parning mellan hårlös och pälsad generar både hårlösa (grå) och pälsade avkommor (svart), inga avkommor homozygota för *FOXI3* generas av denna kombination. Parning mellan två pälsade individer ger enbart pälsade avkommor (svart).

	Hårlös Hrhr		Pälsad hrhr	
				
Hårlös Hrhr		50 % hårlös Hrhr		50 % Hårlös Hrhr
		25 % pälsad hrhr		50 % Pälsad hrhr
		25 % letal HrHr		
Pälsad hrhr		50 % Hårlös Hrhr		100 % Pälsad hrhr
		50 % Pälsad hrhr		

Hårlöshet hos hund kan även orsakas av andra mutationer. Hårlösa hundrasen American hairless terriers fenotyp orsakas av en mutation i *SGK3* som uppvisar autosomal recessiv nedärvning (Parker *et al.*, 2016) men denna typ av hårlöshet kommer dock inte behandlas i litteraturstudien.

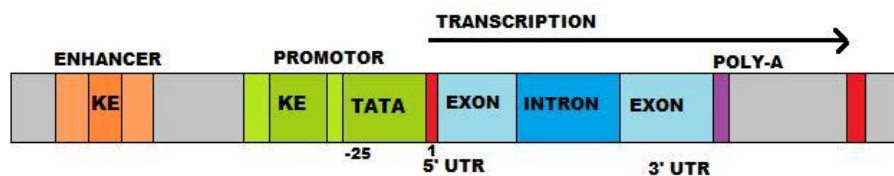
1.3 Transkriptionsfaktorer

FOXI3 är en transkriptionsfaktor. Transkriptionsfaktorer är DNA-bindande proteiner som reglerar transkriptionen (genuttrycket) av gener (Griffiths *et al.*, 2015). Transkriptionsfaktorer spelar en viktig roll i den embryonala utvecklingen. Skillnader i genuttryck i celler ger upphov till olika celltyper med olika funktioner och utseende (Gilbert & Baressi, 2016).

Transkriptionsfaktorer delas in i två klasser, generella transkriptionsfaktorer (GTF) och specifika transkriptionsfaktorer (Benayoun *et al.*, 2011).

GTF krävs för att påbörja transkription (Griffiths *et al.*, 2015). GTF innehåller TATA-bindande protein (TBP) som känner igen och binder till TATA-box, en specifik sekvens i promotorn som vanligtvis är placerad 25 nukleotider från transkriptionens initieringsställe. Detta gör det sedan möjligt för andra GTF att binda in i en given ordning och attraherar enzymet RNA-polymeras II för att starta transkription (Griffiths *et al.*, 2015).

De specifika transkriptionsfaktorerna, även kallade regulatoriska transkriptionsfaktorer binder till specifika kontrollelement i promotor eller enhancer (Griffiths *et al.*, 2015). Specifika transkriptionsfaktorer har utöver sin DNA-bindande domän även ett område som kan verka som aktivator eller repressor (Latchman, 1997). Transkriptionsfaktorer kan verka på DNA på olika sätt. De kan attrahera proteiner som påverkar på kromatinstrukturen på DNA (Alberts *et al.*, 2010) eller själva verka direkt på kromatin, som så kallade pionjärtranskriptionsfaktorer (Gilbert & Baressi, 2016).



Figur 4. Schematisk bild av en eukaryot gen. Enhancer med kontrollelement (KE) (orange), promotor (grön) med kontrollelement (KE) och TATA-box beläget cirka 25 baser från initieringsstället (markerat i rött). Exon (ljusblå) följt av intron (mörkblå) Poly A (lila) tillåter att mRNA translateras till protein. UTR = Untranslated region. Transkriptionen avslutas (röd) Figur sammanfattad från Gilbert & Baressi (2016).

1.4 Forkhead box familjen

Forkhead box transkriptionsfaktorer (Fox) utgör en viktig roll i diverse regulatoriska nätverk i den embryonala utvecklingen, signalering, metabolism och språket. Mutation eller felaktig reglering av Fox kan leda till genetiska sjukdomar och cancer (Cirillo & Barton, 2008). Det finns i dagsläget över 2 000 kända medlemmar av Fox familjen och den återfinns i 108 olika arter av svampar och djur (Benayoun *et al.*, 2011). Fox delas in i 19 olika klasser, från A till S (Hannenhalli & Kaestner, 2009).

Fox innehåller en konserverad del bestående av en cirka 100 aminosyror lång winged-helix domän som definierar denna familj transkriptionsfaktorer. Andra delar av foxproteinet som fungerar som aktivator eller repressor av transkription har stor diversitet. FOX-familjen är en subgrupp som viker sig till en variant av helix-turn-helix struktur (Kaestner *et al.*, 2000).

2 FOXI3

Mutationen i *FOXI3* som orsakar den hårlösa fenotypen, så kallad CED hos raserna CCD, Xolo och PSPP kartlades i en studie av Drögemüller et al. (2008) då en "Genome Wide Association Study" (GWAS) genomfördes. I studien upptäcktes en "single-nucleotide polymorphism" (SNP) på kromosom 17 hos hund som kunde kopplas till den hårlösa fenotypen. Testning av haplotyp associering visade att en 8-SNP, 160 kb haplotyp överensstämde med fenotypen. I denna region i hundens genom är två gener predikterade. En av dessa gener visade homologi till forkhead box familjen. Genen hade liknelser med Foxi3 hos mus och namnet FOXI3 föreslogs därför för hund.

En sekvensanalys (se tabell 2) av *FOXI3* visade en 7 baspar lång duplikation i exon 1 i *FOXI3* som bidrar till en frameshift mutation som ledde till ett prematurt stoppkodon som följde (Drögemüller *et al.*, 2008).

Tabell 2. FOXI3 sekvenser: Övre sekvens visar pälsad variant, nedre visar hårlös variant. Den 7-baspar långa sekvensen är markerad. Duplikationen hos de hårlösa individerna illustreras med två markeringar i sekvensen. Figur sammanfattad från Drögemüller et al. (2008).

Pälsad	+ CTG CCC CC G CCC GCC GCC GCC GCC GCC
	+ CTG CCC CC G CCC GCC GCC GCC GCC GCC
Hårlös	+ CTG CCC CC G CCC GCC GCC GCC GCC GCC
	- CTG CCC CC G CCC GCC GCC CGC CGC CGC CGC

Hos samtliga 140 hårlösa hundar av raserna CCD, Xolo och PSPP som medverkade i studien var duplikationen närvarande. Hos de pälsade varianterna av de tre raserna samt pälsade hundar av andra raser var duplikationen frånvarande (Drögemüller *et al.*, 2008).

Studien kom fram till att den mest rimliga orsaken till CED fenotypen är haploinsufficiens av FOXI3, det vill säga att endast en fungerande kopia av FOXI3 inte

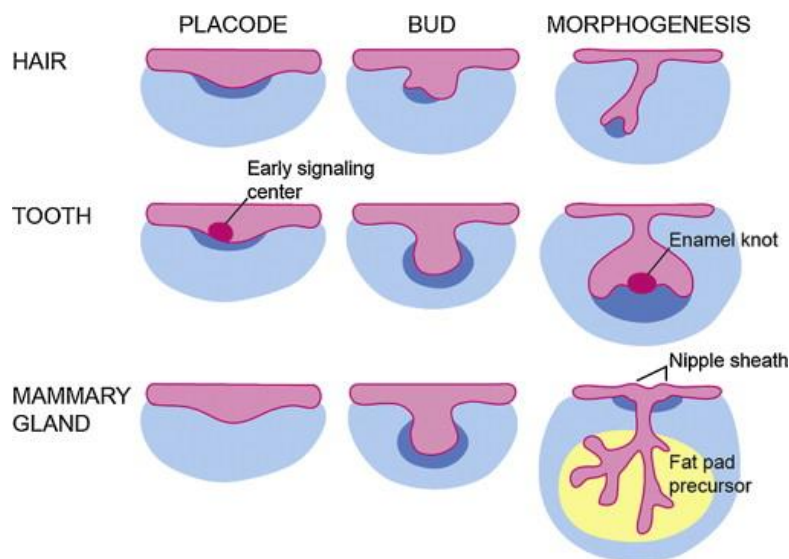
är tillräckligt för normal funktion och fenotyp. Det är oklart om protein från muterade FOXI3 är funktionellt då mer än 95 % av det normala FOXI3 proteinet saknas (Drögemüller *et al.*, 2008).

2.1 *Foxi3* i den embryonala utvecklingen

Genom att studera främst möss har det upptäckts att *Foxi3* medverkar i flera processer i den embryonala utvecklingen, vilket är typiskt för transkriptionsfaktorer. *Foxi3* är bland annat medverkande i flera steg i huvudets utveckling (Ohyama & Groves, 2004) och uttrycks i ektodermala organ så som hår, tänder och körtlar (Shirokova *et al.*, 2013).

2.1.1 Ektodermala organ

Ektodermala organ så som hår, tänder, fjädrar, fjäll och exokrina körtlar bildas genom interaktion mellan de två vävnaderna epitel och mesenkym (se figur 5). Mesenkym är ett omoget vävnadslager som bildas från mesodermet och utvecklas till bland annat bindväv. Trots de stora skillnaderna mellan fullt utvecklade ektodermala organ sker deras utveckling på i stort sätt samma vis (sammanfattning av Biggs & Mikkola, 2014).



Figur 5. Ektodermala organ såsom hår, tänder och juver bildas från de två vävnaderna epitelet (rosa) och mesenkymet (ljusblått) samt kondenserat mesenkym (mörkblått). Plakoden, en förtjockning av epitelet bildas och knoppar sedan in i mesenkymet. Genom morfogenes och utveckling bildas sedan det utvecklade organet. Bild från Biggs & Mikkola (2014)

Interaktionen mellan de två vävnaderna är en av de viktigaste mekanismer inom morfogenesen i specifika organ och ger upphov till plakoder. Plakoden är en förtjockning av epitelet som uttrycker viktiga signaleringsmolekyler. Efter bildandet av plakoden sker nästa steg där epitelet växer in i mesenkymet, så kallat knoppstadie. Fortsatt interaktion mellan knoppen och mesenkymet sker och skillnader mellan de olika ektodermala organen börjar bli tydliga (sammanfattning av Biggs & Mikkola, 2014).

I tandutvecklingen bildas plakoder i dentala lamina, en u-formad förtjockning av epitelet i över och underkäke där varje plakod senare ger upphov till en enskild tand. Det dentala epitelet genomgår efter knoppstadiet hättstadie och klockstadie innan bildandet av hård vävnad påbörjas. Sent i tandens knoppstadie börjar celler i toppen av knoppen att bilda emaljknuten, ett signaleringscenter som styr utvecklingen av omgivande celler. Emaljknuten signalerar till det omkringliggande epitelet, så kallat cervical loops som senare utvecklas till tandrötter att växa ännu längre nedåt i mesenkymet (sammanfattning av Biggs & Mikkola, 2014).

Hårfollikeln växer nedåt och runt det kondenserade mesenkymet och utvecklingen fortskrider sedan i olika stadier innan den når sin slutgiltiga form (sammanfattning av Biggs & Mikkola, 2014).

Juvenilepitelet växer genom kondenserade mesenkymet och ned i den utvecklande fettvävnaden där epitelet sedan förgrenas (sammanfattning av Biggs & Mikkola, 2014).

2.1.2 Signalmolekyler i bildandet av ektodermala organ

I bildandet av ektodermala organ är ett antal signaleringsvägar inblandade. Interaktionen mellan epitelet och mesenkymet verkar styras med hjälp av samma signalmolekyler där de mest studerade är Ectodysplasin (Eda), Activin, Fibroblast growth factors (Fgf), Bone morphogenesis proteins (Bmp), transforming growth factor β , Wnt och Hedgehog (sammanfattat av Ahtiainen *et al.*, 2014; Biggs & Mikkola, 2014). Dessa signalerings molekyler uttrycks i en specifik kombination för bildning av de olika plakodtyperna (Ahtiainen *et al.*, 2014). Mutation i flera av dessa gener leder till defekter i flertalet ektodermala organ.

Eda är nödvändig för normal utveckling av ektodermala organ. Mutation i Eda, dess receptor Edar eller andra molekyler i signaleringsvägen ger upphov till ektodermal dysplasi med sparsam behåring och anormala tänder (sammanfattat av Mikkola & Thesleff, 2003).

2.1.3 *Foxi3* ligger nedströms Eda

En studie av Shirokova et al. (2013) visar att det finns koppling mellan Eda och *Foxi3* samt även en koppling mellan activin och *Foxi3* (Shirokova et al., 2013). Activin är en annan viktig signaleringsmolekyl i utvecklingen av hår och tänder (McDowall et al., 2008).

Foxi3 antas ligga nedströms Eda i signaleringsväg och mycket tyder på att *Foxi3* är ett transkriptionellt mål till Eda i utvecklingen av ektodermala organ.

En klar korrelation finns mellan Eda signalering och uttryck av *Foxi3* in vivo i hår-, tand- och juverplakoder. Activin a och Eda tros verka parallellt för att reglera uttrycket av *Foxi3* (Shirokova et al., 2013).

2.1.4 CED visar likheter med XLHED

Den hårlösa fenotypen, CED, hos CCD, Xolo och PSPP överensstämmer till stora delar med X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasias (XLHED) som drabbar människor, hundar och andra ryggradsdjur. XLHED orsakas av mutation i Eda:s signaleringsväg och är den vanligaste formen av Eda mutation. Då denna typ av ectodermal dysplasi är koppad till X-kromosomen drabbar XLHED främst män och hanhundar. Tänderna hos individer med XLHED är färre till antalet, är ofta koniska och mer framåtriktade och mjölk-tänder kan sitta kvar. Antalet hårfolliklar är kraftigt reducerade och håret samt huden är ofta torr. Ögonen är ofta torra då exokrina körtlar i ögat drabbas (sammanfattat av Moura & Cirio, 2004). XLHED drabbade individer kan inte svettas och även exokrina körtlar i andningsvägar är drabbade, något som kan leda till infektioner (Casal et al., 2007).

2.2 Utvecklingen av hårfolliklar

Hårfollikeln utvecklas som beskrivet i figur 5, där bildandet börjar med en plakod som sedan förknoppas och morfogenes som senare ger upphov till den utvecklade hårfollikeln. Den utvecklade hårfollikeln kan delas upp i två delar, där den nedre består av en cyklisk del. Nedre delen genomgår hårcykeln som pågår under hela livstiden, med stadierna anagen, catagen och telogen, där varje cykel genererar ett nytt hårstrå (Schneider et al., 2009). Hårcykeln är beroende av hårfollikel-stamceller (Morris et al., 2004) som regleras av stamcells markörer där transkriptionsfaktorerna *Lhx2* och *Sox9* är några exempel (Rompolas & Greco, 2014).

2.2.1 *Foxi3*:s roll i hårfollikelutvecklingen

Studier på möss visar att *Foxi3* reglerar flera aspekter i hårfollikelns utveckling och uttrycks i epitelet i alla hårfollikeltyper från och med bildandet av plakoden (Shirokova *et al.*, 2013). I en studie av Shirokova *et al.* (2013) identifierades *Foxi3* i alla stadier i hårfollikelns morfogenes men i mer utvecklade hårfolliklar var *Foxi3* ej detekterbar (Shirokova *et al.*, 2013).

Avsaknad av *Foxi3* påverkar flera aspekter i hårfollikelns utveckling och förnyelse så som hårfollikelns nedväxt, specifikation av stamceller, underhåll av hårfollikeln, början av catagen samt aktivering och underhåll av stamceller.

I möss helt utan *Foxi3* (*Foxi3* KO) nedregleras flertalet stamcellsmarkörer vilket försämrar hårcykeln och hårväxten efter födseln (Shirokova *et al.*, 2016).

Möss med conditional Knock Out av *Foxi3* (*Foxi3* cKO) ger en sparsam behåring, dock i en mildare form än den hos de hårlösa hundarna (Shirokova, 2016). Då *Foxi3* i homozygot form är letalt kan *Foxi3* cKO möss användas, på detta sätt kan det styras i vilka celltyper som *Foxi3* inaktiveras i.

I en studie av Wiener *et al.* (2013) undersöktes hårfolliklar och vävnader genom biopsier från CCD. Studien fann att de hårlösa individerna av rasen endast hade enkla primära hårfolliklar. Den pälsade varianten, powder puff, har hårfolliklar som liknar andra hundrasers. Behåringen hos CCD skiljer sig åt från väldigt hårlös, så kallad true hairless till semipälsad med mer behåring och sedan powder puff med fullt normal behåring.

Densiteten av hårfolliklar var som lägst hos true hairless med minst behåring. Talgkörtlar och svettkörtlar var närvarande i alla biopsier från samtliga grupper (Wiener *et al.*, 2013).

Andelen anormala hårfolliklar varierade mellan individerna av true hairless och semi-pälsade där majoriteten av dessa hårfolliklar saknade hårstrå. Förekomsten av anormala hårfolliklar hos de två hårlösa grupperna föreslår fel i utvecklingen under en specifik tidpunkt under hårfollikelns morfogenes (Wiener *et al.*, 2013).

I studien kunde det inte uteslutas att mutationen i *FOXI3* hos de hårlösa individerna orsakar nedreglering av en eller flera signalmolekyler som är viktiga för hårfollikelns utveckling (Wiener *et al.*, 2013).

2.3 Tandutveckling

Bildandet av tänder sker i dentala lamina i över- och underkäke där plakoden bildas och sedan förknoppas. Därefter sker tandutvecklingen i olika stadier, hättstadiet och klockstadiet och efter differentiering bildas till slut tanden med dess hårda vävnader (Jussila & Thesleff, 2012).

Flertalet däggdjur har två uppsättningar av tänder där de första tänderna, så kallade mjölkttänder ersätts av permanenta tänder (Jussila & Thesleff, 2012). Detta regleras i stort genom samma signaleringsvägar som tidigare beskrivits (Jussila, 2014).

Hunden har normalt 42 permanenta tänder bestående av framtänder (incisiver), hörntänder (canin) främre kindtänder (premolarer) och kindtänder (molarer). Antalet tänder skiljer sig åt i över- och underkäke. Överkäken består av sex incisiver, två canintänder, 8 premolarer och 2 molarer. Underkäken består av samma antal incisiver, canintänder och premolarer men har tre stycken molarer (Evans & Lahunta, 2013).

2.3.1 *Foxi3* i tandens utveckling

I studier på möss av Shirkova et al (2013) har det visats att *Foxi3* är uttryckt i dentala lamina i över- och underkäken under morfogenesen av tänder. Musens tänder består av en incisiv och tre molarer i varje kvadrant av käken, dessa olika tänder åtskiljs med ett tandlöst område som kallas diastema. *Foxi3* var uttryckt i epitelet i incisiv- och molarplakoder men nedreglerat i diastema.

I molarer är *Foxi3* uttryckt under merparten av tandens morfogenes och är uttryckt i många celltyper förutom de celler som senare formar tandens emalj. Detta tyder på att *Foxi3* har en viktig roll i påbörjandet av tandens utveckling samt dess morfogenes (Shirokova et al., 2013). Det är möjligt att *Foxi3* reglerar genuttrycket på flera olika sätt i tandens morfogenes (Jussila, 2014)

Genom att studera *Foxi3* cKO möss upptäcktes att dessa möss hade sammanlagda molarer med onormalt formad tandkrona, något som tyder på att *Foxi3* reglerar morfogenesen mellan knopp- och hättstadiet (Jussila et al., 2015).

I studier på iller var *Foxi3* utöver molarepitelet även uttryckt i området som binder samman de framtida tänderna så kallat interdental lamina (saknas hos mus) samt i området där de permanenta tänderna bildas, vilket kallas successional dental lamina på engelska. Detta tyder på att *Foxi3* spelar en roll även under tandbyte då mjölkttänder ersätts av primära tänder (Jussila, 2014). I studien av Jussila (2014) observerades att det interdental lamina och premolarer växte simultant.

Under tandutvecklingen hos mus är *Foxi3* uttryckt under en period då Edar, Ectodysplasins receptor inte är detekterbar, *Foxi3* är även uttryckt i andra regioner i tanden än Edar, något som tyder på att *Foxi3* regleras av andra regulatorer utöver Eda under primära tandutvecklingen (Shirokova et al., 2013) men även under utvecklingen av permanenta tänder hos iller (Jussila, 2014). Möjliga sådana regulatorer är activin, (Jussila et al., 2014) Shh och Bmp4 (Jussila, 2014).

Mutationen i *FOXI3* hos de hårlösa individerna av CCD, Xolo och PSPP påverkar tänderna och det är inte ovanligt att dessa saknar tänder. Både incisiver, premolarer och molarer drabbas och i extrema fall kan uppemot 50 % av tänderna saknas. Tänderna kan även vara felplacerade (Wiener *et al.*, 2013) och de övre canintänderna är ofta mer raka och framåtriktade (Robinson, 1985). Det är inte heller ovanligt att mjölk-tänder aldrig ersätts av permanenta tänder. Den pålsade varianten har ofta normal dentition (Wiener *et al.*, 2013).

2.4 *Foxi3* i andra ektodermala organ

Foxi3 uttrycks i andra ektodermala organ än hårfolliklar och tänder som är tydligt påverkade hos de hårlösa individerna.

Genom att studera möss upptäcktes att i ett tidigt skede i den embryonala utvecklingen är *Foxi3* uttryckt i juverplakoden samt i spott och svettkörtlar och kan eventuellt medverka i utvecklingen av trampdynor och naglar (Shirokova *et al.*, 2013).

Utöver uttrycket i mjölk-, spott- och svettkörtlar var *Foxi3* uttryckt under den senare delen av ögats utveckling, i det inre lagret av den optiska bågaren som senare i utvecklingen blir det neurala lagret i retina. Neurala retina innehåller bland annat fotoreceptorerna stavar och tappar. Det föreslås därför att *Foxi3* har en roll i neurala retina (Shirokova *et al.*, 2013).

Tidigt i utvecklingen är *Foxi3* uttryckt runt analöppningen (Shirokova *et al.*, 2013) och det förekommer, om än väldigt ovanligt att valpar föds utan analöppning.

I post-mortem biopsier utförda på två CCD fann man inga makroskopiska eller histopatologiska förändringar på exokrina körtlar från trachea, bronker och bronkioler, det återfanns inte heller några förändringar i juven. Svettkörtlar var närvarande i biopsier tagna från CCD, i majoritet var de mindre till storleken men föreslås vara funktionella körtlar (Wiener *et al.*, 2013).

Varför det enbart är hårfolliklar och tänder som påverkas av mutationen i *FOXI3* hos de hårlösa individerna är okänt.

2.5 Huvudets utveckling

Huvudets vävnader bildas i embryot från de tre groddlagren endoderm, ektoderm och mesoderm samt neurallisten. Endoderm ger upphov till svalgets epitel och körtlar, ektoderm genererar ansiktets och halsens epidermis samt komponenter till sinnesorganen. Signalering sker från ektoderm och endoderm till det mellanliggande mesenkymet som består av mesoderm och neurallist. Mesoderm ger

upphov till huvudets och nackens muskler och täcker blodkärlens insida (Szabo-Rogers *et al.*, 2010).

Neurallisten uppstår från neuralröret som senare utvecklas till centrala nervsystemet (hjärna och ryggmärg). Neurallistceller migrerar sedan ut i kroppen där de genererar en stor diversitet av vävnader. I huvudet producerar neurallistceller ben, brosk samt bindväv. Neurallistceller går in i gälbågarna och bildar där benen i över- och underkäke, benen i mellanörat, odontoblaster som tillverkar tandens dentin samt celler i tymus (Gilbert & Baressi, 2016).

2.5.1 Gälbågar

Gälbågarna består av fem utbuktningar i den framtida ansiktet och hals-regionen och bågarna utvecklas senare till delar av ansiktet, hals och svalg vilket redogörs för i tabell 5 nedan. Gälbågarna består av ektoderm på utsidan, endoderm på insidan och neurallist omgärdad av mesoderm i mitten. Där bågarna möts bildas en klyfta på utsidan i ektodermet och en ficka på insidan i endodermet (Graham, 2003).

Tabell 3. Visar de olika delarna av huvud och hals som gälbågarna ger upphov till. Både fem utvecklas endast hos groddjur (Grevillec & Tucker, 2010). Tabell sammanfattad från Gilbert & Baressi (2016).

	Ger upphov till	Klyfta (ektoderm) ger upphov till	Ficka (endoderm) ger upphov till
Första gälbågen, mandibularbåge	Käkarna och dess muskler, örats ben hammaren och städet, tinningsben	Ytteröra	Mellanöra
Andra gälbågen, hyoidbåge	Delar av tungben, tinningsben, örats ben stigbygeln, muskler och nerver i ansikte och nacke	Inget derivat	Tonsiller
Tredje och fjärde gälbågen	Delar av tungbenet, delar av svalget	Inget derivat	Bisköldkörtlar, tymus och ulitmobranchiala organet
Femte gälbågen	-	-	-

2.5.2 *Foxi3*:s roll i gälbågarnas utveckling

Innan bågarna bildas är *Foxi3* uttryckt i regionen i både endoderm och ektoderm.

Då den första gälbågen blir synligt nedregleras uttrycket av *Foxi3* i bågens ektoderm, uttrycket delas sedan till främre och bakre delen av bågen (Edlund *et al.*, 2014). Uttrycket av *Foxi3* sprider sig sedan till området mellan de två första bågarna i främre delen av båge ett samt i bakre delen av båge två och där fortsätter *Foxi3* vara uttryckt. När de bakre bågarna utvecklas delar sig uttrycket av *Foxi3* till endodermet i gälfickorna och gälklyftornas ektoderm, uttrycket i de bakre bågarna blir då starkare medan det i främre bågarna blir svagare (Edlund *et al.*, 2014).

2.5.3 Valpar homozygota för mutation i *FOXI3* dör i utvecklingen

Parning mellan två hårlösa individer generar embryon som är homozygota för mutationen i *Foxi3*, *Foxi3* *-/-*, som är letalt (Robinson, 1985). Forskning gjorda på mutanta *Foxi3* möss har visat att hos dessa individer migrerar neurallistceller normalt men genomgår apoptos då de fyller gälbågarna vilket bidrar till att gälbågarna ej kan utvecklas till skelettdelar. Bildningen av distinkt individuella gälbågar misslyckas hos mutanter och gälfickorna är ej närvarande. Muterade *Foxi3* möss är icke livsdugliga och dessa embryon dör från embryo dag 9,5 och framåt (dräktighet för mus 19 – 21 dagar). Vissa individer överlever till födsel men dör omgående där efter. Dessa individer uppvisar stora defekter såsom att de saknar majoriteten av käkarna, delar av mellanörat, total avsaknad av innerörat samt kontinuerligt ektoderm lager över nedre delen av ansiktet (Edlund *et al.*, 2014).

Dessa svåra defekter tros orsakas av att neurallistcellerna genomgår apoptos efter att de migrerat till gälbågarna där skelett och andra derivat av gälbågarna ej bildas. Detta tros bero på ett minskat uttryck av signaleringsmolekylen Fgf8 hos *Foxi3* mutanter (Edlund *et al.*, 2014). Forskning på Fgf8 har visat att embryon som saknar Fgf8 har mindre gälbågar och gälklyftor, vilket tyder på att Fgf8 är nödvändigt för neurallistens överlevnad (Abu-Issa *et al.*, 2002).

Hos hund dör troligtvis homozygota *FOXI3* *-/-* valpar tidigt i embryonala utvecklingen. I en enkätstudie utförd på CCD under 1980-talet jämfördes kullstorlek efter parning av hårlös och pälsad samt mellan två hårlösa. Studien visade resultat att parning mellan hårlös och pälsad gav ett kullmedelvärde på $4,77 \pm 0,30$ jämfört med parning mellan två hårlösa resulterade i ett kullmedelvärde på $3,52 \pm 0,21$ (Robinson, 1985).

2.5.4 Kraniala plakoder

Kraniala plakoder ger upphov till de parvisa sinnesorganen i huvudet, exempelvis linser, öron och luktorganet (olfaktor). De kraniala plakoderna utvecklas från

ett och samma område som kallas för pre-plakodala regionen som är beroende av signaler från endoderm och mesoderm för att senare formge de kraniala plakoderna (Streit, 2004), där FGF är en av de viktiga signaleringsmolekylerna. Kraniala plakoder tillsammans med neurallistceller utgör senare i utvecklingen det sensoriska nervsystemet (Steventon *et al.*, 2014). Delar av örat härstammar från den öronplakoden som invaginerar och bildar en bågare, den så kallade otocyten, som senare blir olika delar av innerörat (Ohyama *et al.*, 2007).

2.5.5 Defekta hörselgångar hos CCD, Xolo och PSPP

Hos fåtalet heterozygota *FOXI3* +/-, det vill säga hundar med hårlös fenotyp har det förekommit stängda hörselgångar och defekter i öronlappen, ofta är öronlappen mindre i storlek. Stängda hörselgångar är väldigt ovanligt men förekommer hos fåtalet individer. Ofta drabbar detta bara ett öra och följs ofta av dövhet på det drabbade örat. Detta tyder på att *FOXI3* medverkar i morfogenesen av örats yttre strukturer (Tassano *et al.*, 2015).

Det är möjligt att *FOXI3* verkar i flera steg i örats utveckling. *Foxi3* kan reglera gener som definierar pre-plakodala regionen och är en av de tidigaste uttryckta gener i denna region (Khatri *et al.*, 2014). Studier av Khatri *et al.* (2014) föreslår att *Foxi3* är nödvändig för att pre-plakodala regionen ska kunna uttrycka markörer för öronplakoden i respons till FGF-signalering. Det är möjligt att *Foxi3* verkar som en pionjärfaktor i transduktionen av FGF-signalering men detta är något som behöver studeras mer (Khatri *et al.*, 2014).

Homozygota *Foxi3* -/- möss saknar inneröra och uttrycker inga markörer för öronplakoden (Birol *et al.*, 2016).

Hos människa finns ett fall beskrivet med defekta hörselgångar som kan ha koppling till mutation i *FOXI3*. Hos en flicka med congenital aural atresia, en ovanlig defekt av örat tros deletion av *FOXI3* vara orsaken enligt studier av Tassano *et al.* (2015). Flickan saknar hörselgång och har endast en liten del av öronmusslan vilket liknar defekten hos hårlösa hundar. Baserat på liknelsen mellan flickans fenotyp och defekta öron hos hårlösa hundar kan *FOXI3* vara en kandidat för bakomliggande orsak till defekter i örat (Tassano *et al.*, 2015).

3 Diskussion

Det har upptäckts att *Foxi3* spelar en viktig roll i utvecklingen av ektodermala organ så som hår, tänder, exokrina körtlar (Shirokova *et al.*, 2013) och även i huvudets utveckling (Edlund *et al.*, 2014) där *Foxi3* medverkar i flertalet signaleringsvägar. Heterozygot form av mutationen i *FOXI3* ger upphov till den hårlösa fenotypen som är karakteristisk för hundraserna CCD, Xolo och PSSP (Drögemüller *et al.*, 2008).

I en studie av Wiener *et al.* (2013) där CCD studerats är hårfolliklar och tänder påverkade av mutationen i *FOXI3* medan exokrina körtlar inte visar några makroskopiska eller histopatologiska förändringar. En annan form av ektodermal dysplasi, XHLED, orsakat av mutation i *Eda* genererar defekt behåring, defekta tänder samt avsaknad av körtlar (sammanfattning av Moura & Cirio, 2004). Varför det skiljer sig i vilka ektodermala organ som drabbas i dessa typer av ektodermal dysplasi är ännu inte känt.

Trots att mutationen i *FOXI3* är lika närvarande hos de tre raserna (Drögemüller *et al.*, 2008) uppvisar de skillnader i mängd kroppsbehåring. CCD har hår på huvud, nedre delen av benen och på svansen, på övriga kroppen är behåringen varierande mellan individer (Wiener *et al.*, 2013). Xolo och PSPP har överlag en hårlös kropp men lite hår kan förekomma på panna, tår och svanstipp. Den stora skillnaden i behåring mellan CCD och Xolo samt PSPP kan eventuellt bero på inblandning av genotypen som ger lång päls i CCD (Robinson, 1985). Varför behåringen mellan individer av CCD varierar så mycket är inte studerat men kan bero på faktorer som modifierar hur mycket fenotypen påverkas. Även i "normalallelen", wild-type som även de hårlösa har en kopia av kan det finnas en variation som avgör hur mycket hår en individ får. Liksom hos människan där hårmängden kan skilja mellan individer. Då *FOXI3* finns i mindre mängd hos de hårlösa individerna kan inte transkriptionsfaktorn binda till alla bindningsplatser på DNA:t vilket kan påverka genuttrycket.

För att studera *FOXI3*:s roll i tandutvecklingen har mus och iller använts som modelldjur. Musen har dock en annorlunda tanduppsättning samt att musen ej byter tänder, jämfört med hund. Hos mus var *Foxi3* uttryckt i epitelet i utvecklande incisiver och molarer (Shirokova *et al.*, 2013), hos iller var *Foxi3* även uttryckt i området som binder samman tänder och i området där de permanenta tänderna bildas (Jussila, 2014). Illern har en tanduppsättning som är mer lik den hos hund vilket gör den till ett bättre modelldjur.

Då *Foxi3* är uttryckt i området där de permanenta tänderna bildas är det möjligt att avsaknad av *Foxi3* bidrar till att initieringen av permanenta tänder störs. De hårlösa individerna kan sakna både incisiver, premolarer och molarer (Wiener *et al.*, 2013). Min uppfattning dels som ägare till CCD men även genom att prata med uppfödare är att premolarer saknas i högre utsträckning än de andra tänderna. Om detta är fallet och varför premolarer i så fall skulle påverkas mer av avsaknad av *Foxi3* är inte studerat. Om premolarer är känsligare för minskat uttryck av *Foxi3* och om det kan vara kopplat till mindre uttryck i interdental lamina som växer simultant med premolarer hade varit intressant att utforska.

Mus är det djur som främst använts för att forska på *Foxi3*. *Foxi3* cKO möss uppvisar dock inte samma fenotyp som de hårlösa hundarna gör. *Foxi3* cKO möss har mildare hårlöshet (Shirokova, 2016) och uppvisar sammanslagna molarer (Jussila, 2014; Jussila *et al.*, 2014). Att sammanslagna molarer skulle förekomma hos raserna CCD, Xolo och PSPP har inte gått att finna något om.

Mus och hund uppvisar alltså olika fenotyper i avsaknad av *Foxi3*, något som kan tyda på att de olika djurslagen har olika mutationer. Genom att istället studera hund kan en bättre förståelse fås för hur *FOXI3* verkar hos just det djurslaget.

FOXI3 i dubbel uppsättning är letalt. Genom att studera möss upptäcktes att total avsaknad av *Foxi3* påverkar signaleringsmolekylen *Fgf8* som är viktig för neurallistcellers överlevnad i gälbågen. Dessa neurallistceller ger upphov till skelett och bindvävnad i huvudet. Hos *Foxi3* *-/-* individer dör neurallistcellerna vilket ger svåra defekter i skallen så som ett mindre ”ansikte”, avsaknad av underkäke, defekt överkäke och avsaknad av innerörat. Dessa musfoster är ej livsdugliga och dör i livmodern omkring dag 9, efter cirka halva dräktighetstiden. En del *Foxi3* *-/-* musembryon överlever till födsel men dör strax därefter (Edlund *et al.*, 2014).

Parning mellan två hårlösa individer ger färre antal valpar (Robinson, 1985). Statistiskt sett förväntas 25 % av valparna efter två hårlösa föräldrar att bli homozygota för *FOXI3*, det vill säga *FOXI3* *-/-* som är letalt. Hos hund har jag dock inte hittat några uppgifter om att det fötts några valpar som är *FOXI3* *-/-*. Det kan vara så att hos hund dör dessa valpar väldigt tidigt i livmodern och inte överlever till födsel.

En enkätstudie utfördes av Robinson (1985) för att undersöka om det fanns skillnader i kullstorlek när två hårlösa respektive en hårlös och en pälsad CCD parades. Föräldrarnas fenotyp (hårlös eller pälsad) och antalet valpar registrerades och det visades att kombination mellan två hårlösa individer ger ett färre antal valpar i genomsnitt. Skillnaden var i genomsnitt 1.24 ± 0.34 valpar vid korsning mellan hårlös och pälsad jämfört mot korsning mellan två hårlösa individer (Robinson, 1985). Dock kan det behövas mer data för att fastställa att det verkligen finns en skillnad i antal avkommor mellan de olika kombinationerna.

Vetskapen att parning mellan två hårlösa individer genererar ett färre antal valpar i genomsnitt kan vara av intresse för uppfödare. Dels ur ett ekonomiskt perspektiv men även ur ett etiskt då man undviker att defekta embryon dör på grund av dubbel uppsättning av mutationen i *FOXI3*.

Mutation i *FOXI3* har även föreslagits som en bakomliggande orsak till odiagnotiserade abnormaliteter i exempelvis behåring, tänder, öron och käkar. I en studie av Tassano et al. (2015) studerades en flicka med stängd hörselgång och anormalt mellanöra. Då flickans tillstånd efterliknande fenotypen som kan förekomma hos de hårlösa hundraserna kan detta vara kopplat till avsaknad av *FOXI3* (Tassano et al., 2015). Det kan därför vara till stor nytta att studera *FOXI3* och dess roll i embryonala utvecklingen ytterligare.

3.1 Slutsats och framtida forskning

FOXI3 reglerar signalmolekyler som är viktiga för utvecklingen av ektodermala organ: hår, tänder, exokrina körtlar samt gälbågarna som senare utgör skelettdeklar i ansiktet. Hos de hårlösa varianterna av hundraserna CCD, Xolo och PSPP orsakas fenotypen av haploinsufficiens av *FOXI3* på grund av duplikationen i exon 1. 95 % av det normala *FOXI3*-proteinet saknas vilket påverkar utvecklingen av hårfolliklar och tänder hos hårlösa individer.

För framtida forskning kan det vara av intresse att ytterligare studera *FOXI3*:s roll i den embryonala utvecklingen, inte enbart för ökad förståelse kring de hårlösa hundarnas genetik utan även ur ett humanmedicinskt perspektiv. Då *FOXI3* misstänkts ligga bakom defekter i en flickas öra kan det vara av intresse att undersöka om andra fall av nedsatt behåring, färre antal tänder, anormala öron eller defekter i käke kan kopplas till mutation i *FOXI3* hos människa.

Referenslista

- Abu-Issa, R., Smyth, G., Smoak, I., Yamamura, K. & Meyers, E. N. (2002). Fgf8 is required for pharyngeal arch and cardiovascular development in the mouse. *Development*, 129(19), p 4613.
- Ahtiainen, L., Lefebvre, S., Lindfors, P. H., Renvoisé, E., Shirokova, V., Vartiainen, M. K., Thesleff, I. & Mikkola, M. L. (2014). Directional Cell Migration, but Not Proliferation, Drives Hair Placode Morphogenesis. *Developmental Cell*, 28(5), pp 588–602.
- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2010). *Essential Cell Biology*. 3. ed New York: Garland Science, Taylor and Francis Group. ISBN 978-0-8153-4129-1.
- Benayoun, B. A., Caburet, S. & Veitia, R. A. (2011). Forkhead transcription factors: key players in health and disease. *Trends in Genetics*, 27(6), pp 224–232.
- Biggs, L. C. & Mikkola, M. L. (2014). Early inductive events in ectodermal appendage morphogenesis. *Development of Ectodermal Organs*, 25–26, pp 11–21.
- Biol, O., Ohyama, T., Edlund, R. K., Drakou, K., Georgiades, P. & Groves, A. K. (2016). The mouse Foxi3 transcription factor is necessary for the development of posterior placodes. *Developmental Biology*, 409(1), pp 139–151.
- 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., Elkahloun, 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*, 326(5949), pp 150–153.
- Casal, M. L., Lewis, J. R., Mauldin, E. A., Tardivel, A., Ingold, K., Favre, M., Paradies, F., Demotz, S., Gaide, O. & Schneider, P. (2007). Significant Correction of Disease after Postnatal Administration of Recombinant Ectodysplasin A in Canine X-Linked Ectodermal Dysplasia. *The American Journal of Human Genetics*, 81(5), pp 1050–1056.

- Cirillo, L. A. & Barton, M. C. (2008). Many forkheads in the road to regulation. Symposium on Forkhead Transcription Factor Networks in Development, Signalling and Disease. *EMBO Reports*, 9(8), pp 721–724.
- Drögemüller, C., Karlsson, E. K., Hytönen, M. K., Perloski, M., Dolf, G., Sainio, K., Lohi, H., Lindblad-Toh, K. & Leeb, T. (2008). A Mutation in Hairless Dogs Implicates FOXI3 in Ectodermal Development. *Science*, 321(5895), pp 1462–1462.
- Edlund, R. K., Ohyama, T., Kantarci, H., Riley, B. B. & Groves, A. K. (2014). Foxi transcription factors promote pharyngeal arch development by regulating formation of FGF signaling centers. *Developmental Biology*, 390(1), pp 1–13.
- Evans, H. E. & Lahunta, A. de (2013). *Miller's Anatomy of the Dog - E-Book*. Elsevier Health Sciences. ISBN 978-0-323-26623-9.
- Gilbert, S. F. & Baressi, M. J. (2016). *Developmental Biology*. 11. ed Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Graham, A. (2003). Development of the pharyngeal arches. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 119A(3), pp 251–256.
- Grevellec, A. & Tucker, A. S. (2010). The pharyngeal pouches and clefts: Development, evolution, structure and derivatives. *Molecular Motors in Mitosis/Craniofacial Morphogenesis*, 21(3), pp 325–332.
- Griffiths, A. J., Wessler, S. R., Carroll, S. B. & Doebley, J. (2015). *Introduction to genetic analysis*. 11. ed New York: W.H. Freeman and company. ISBN 978-1-4641-0948-5.
- Hannenhalli, S. & Kaestner, K. H. (2009). The evolution of Fox genes and their role in development and disease. *Nature Reviews Genetics*, 10(4), pp 233–240.
- Jordbruksverket (2017) *Hundregistrets statistik över nyregistreringar och ägarbyten*. Tillgänglig: <http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/olikaslagsdjur/hundarochkatter/hundregistret/statistik.4.45fb0f14120a3316ad78000672.html>. [2017-04-30].
- Jussila, M. (2014). *Transcription Factors Foxi3 and Sox2 in the Regulation of Tooth Development*. Diss. University of Helsinki. Available from: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/135580/transcri.pdf?sequence=1>.
- Jussila, M., Aalto, A. J., Navarro, M. S., Shirokova, V., Balic, A., Kallonen, A., Ohyama, T., Groves, A. K., Mikkola, M. L. & Thesleff, I. (2015). Suppression of epithelial differentiation by Foxi3 is essential for molar crown patterning. *Development*, 142(22), pp 3954–3963.
- Jussila, M., Crespo Yanez, X. & Thesleff, I. (2014). Initiation of teeth from the dental lamina in the ferret. *Exotic Animals in Development*, 87(1–2), pp 32–43.
- Jussila, M. & Thesleff, I. (2012). Signaling Networks Regulating Tooth Organogenesis and Regeneration, and the Specification of Dental Mesenchymal and Epithelial Cell Lineages. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(4), p a008425.

- Kaestner, K. H., Knöchel, W. & Martínez, D. E. (2000). Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors. *Genes & Development*, 14(2), pp 142–146.
- Khatri, S. B., Edlund, R. K. & Groves, A. K. (2014). Foxi3 is necessary for the induction of the chick otic placode in response to FGF signaling. *Developmental Biology*, 391(2), pp 158–169.
- Latchman, D. S. (1997). Transcription factors: An overview. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 29(12), pp 1305–1312.
- McDowall, M., Edwards, N. M., Jahoda, C. A. B. & Hynd, P. I. (2008). The role of activins and follistatins in skin and hair follicle development and function. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 19(5–6), pp 415–426.
- Mikkola, M. L. & Thesleff, I. (2003). Ectodysplasin signaling in development. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 14(3–4), pp 211–224 (The TNF Superfamily).
- Morris, R. J., Liu, Y., Marles, L., Yang, Z., Trempus, C., Li, S., Lin, J. S., Sawicki, J. A. & Cotsarelis, G. (2004). Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. *Nature Biotechnology*, 22(4), pp 411–417.
- Moura, E. & Cirio, S. M. (2004). Clinical and genetic aspects of X-linked ectodermal dysplasia in the dog – a review including three new spontaneous cases. *Veterinary Dermatology*, 15(5), pp 269–277.
- Ohyama, T. & Groves, A. K. (2004). Expression of mouse Foxi class genes in early craniofacial development. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 231(3), pp 640–646.
- Ohyama, T., Groves, A. K. & Martin, K. (2007). The first steps towards hearing: mechanisms of otic placode induction. *International Journal of Developmental Biology*, 51(6–7), pp 463–472.
- Parker, H., Harris, A., Dreger, D., Davis, B. & Ostrander, E. (2016). The bald and the beautiful: hairlessness in domestic dog breeds. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online],. Available from: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/372/1713/20150488>. [Accessed 2017-03-01].
- Parker, H. G., Dreger, D. L., Rimbault, M., Davis, B. W., Mullen, A. B., Carpintero-Ramirez, G. & Ostrander, E. A. (2017). Genomic Analyses Reveal the Influence of Geographic Origin, Migration, and Hybridization on Modern Dog Breed Development. *Cell Reports*, 19(4), pp 697–708.
- Robinson, R. (1985). Chinese crested dog. *The Journal of Heredity*, 1985(76), pp 217–218.
- Rompolas, P. & Greco, V. (2014). Stem cell dynamics in the hair follicle niche. *Seminars in cell & developmental biology*, 0, pp 34–42.
- Schneider, M. R., Schmidt-Ullrich, R. & Paus, R. (2009). The Hair Follicle as a Dynamic Miniorgan. *Current Biology*, 19(3), pp R132–R142.
- Shirokova, V. (2016). *Transcription Factor Foxi3 in Hair Follicle Development and Homeostasis*. Diss. University of Helsinki.
- Shirokova, V., Biggs, L. C., Jussila, M., Ohyama, T., Groves, A. K. & Mikkola, M. L. (2016). Foxi3 deficiency compromises hair follicle stem cell

- specification and activation. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 34(7), pp 1896–1908.
- Shirokova, V., Jussila, M., Hytönen, M. K., Perälä, N., Drögemüller, C., Leeb, T., Lohi, H., Sainio, K., Thesleff, I. & Mikkola, M. L. (2013). Expression of Foxi3 is regulated by ectodysplasin in skin appendage placodes. *Developmental Dynamics*, 242(6), pp 593–603.
- Steventon, B., Mayor, R. & Streit, A. (2014). Neural crest and placode interaction during the development of the cranial sensory system. *Developmental biology*, 389(1), pp 28–38.
- Streit, A. (2004). Early development of the cranial sensory nervous system: from a common field to individual placodes. *Developmental Biology*, 276(1), pp 1–15.
- Svenska kennelklubben (2014a). *SKK:s registreringsstatistik 2014*. Tillgänglig: <https://www.skk.se/sv/nyheter/2015/1/Nu-okar-antalet-valpregringringar/>. [2017-05-01].
- Svenska kennelklubben. (2014b) (Xoloitzcuintle). Available from: <https://www.skk.se/sv/hundraser/xoloitzcuintle-stor/>. [Accessed 2017-03-15].
- Svenska kennelklubben. (2014c) *Perro sin pelo del Perú, grande*. Tillgänglig: <https://www.skk.se/sv/hundraser/perro-sin-pelo-del-peru-grande/>. [2017-03-15].
- Svenska Kennelklubben. (2014) *Chinese crested dog*. Tillgänglig: <https://www.skk.se/sv/hundraser/chinese-crested-dog/>. [2017-03-15].
- Szabo-Rogers, H. L., Smithers, L. E., Yakob, W. & Liu, K. J. (2010). New directions in craniofacial morphogenesis. *Special Section: Morphogenesis*, 341(1), pp 84–94.
- Tassano, E., Jagannathan, V., Drögemüller, C., Leoni, M., Hytönen, M. K., Severino, M., Gimelli, S., Cuoco, C., Di Rocco, M., Sanio, K., Groves, A. K., Leeb, T. & Gimelli, G. (2015). Congenital Aural Atresia Associated with Agenesis of Internal Carotid Artery in a Girl With a FOXI3 Deletion. *American journal of medical genetics. Part A*, 0(3), pp 537–544.
- Wang, G.-D., Zhai, W., Yang, H.-C., Wang, L., Zhong, L., Liu, Y.-H., Fan, R.-X., Yin, T.-T., Zhu, C.-L., Poyarkov, A. D., Irwin, D. M., Hytonen, M. K., Lohi, H., Wu, C.-I., Savolainen, P. & Zhang, Y.-P. (2016). Out of southern East Asia: the natural history of domestic dogs across the world. *Cell Res*, 26(1), pp 21–33.
- Wells, D. (2009). Behaviour of Dogs. *The Ethology of Domestic Animals 2nd edition -an introductory text*. Edited by Per Jensen. 2. ed, pp 192–203. CAB International. ISBN 978-1-84593-536-8.
- Wiener, D. J., Gurtner, C., Panakova, L., Mausberg, T.-B., Müller, E. J., Drögemüller, C., Leeb, T. & Welle, M. M. (2013). Clinical and histological characterization of hair coat and glandular tissue of Chinese crested dogs. *Veterinary Dermatology*, 24(2), pp 274-e62.

Bildförteckning

Figur 5: Återtryckt från *Development of Ectodermal Organs*, 25, Biggs & Mikola, Early inductive events in ectodermal appendage morphogenesis, pp 11-21, Copyright (2014), med tillåtelse från Elsevier.