

Kai Kaarniranta, Seppo Meri ja Eeva-Liisa Eskelinen

Lääketieteen Nobelin palkinto autofagian tutkijalle

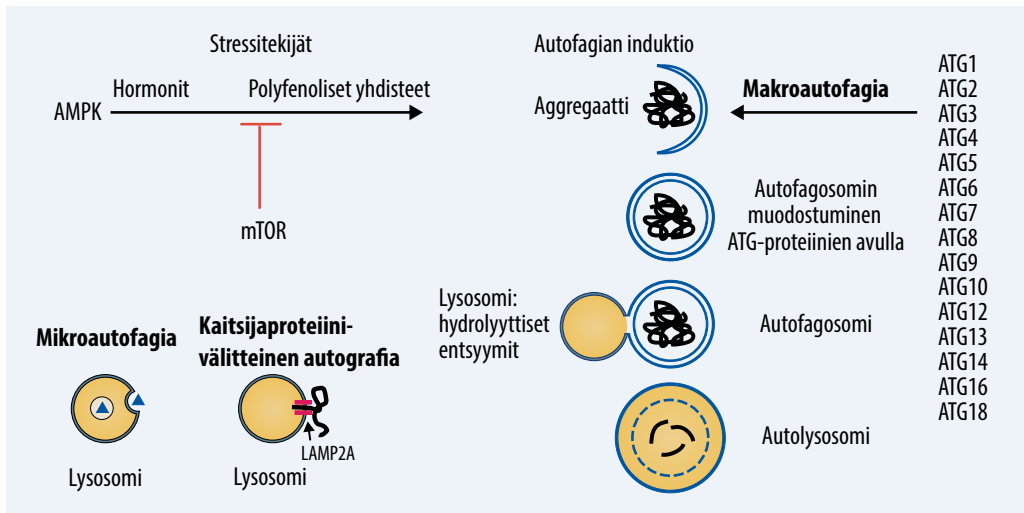
Vuoden 2016 fysiologian tai lääketieteen Nobelin palkinto on myönnetty professori Yoshinori Ōsumille hänen autofagiitutkimuksistaan. Hän syntyi 1945 Japanin Fukuokassa ja väitteli tohtoriksi Tokion yliopistossa 1972. Sittemmin Ōsumi toimi tutkijatohdorina Rockefeller-instituutissa New Yorkissa. Oman tutkimusryhmänsä hän perusti Tokion yliopistoon 1988. Tutkimuskohteena olivat *Saccharomyces cerevisiae* -hiivasienten mutanttikannat, joiden avulla Ōsumi löysi ensimmäiset autofagiaa säätelevät geenit ja proteiinit. Tutkimuslinjan valintaansa hän perusteli sillä, että ei tiennyt kenenkään muun käyttävän hiivaa autofagiitutkimukseen.

Autofagia tulee kreikan sanoista auto- (”itse-”) ja phagein (”syönti”). Autofagia eli solujen kyky hajottaa ja kierrättää omia soluelimiään ja -rakenteitaan löydettiin 1950-luvun lopulla, kun elektronimikroskooppi kehitettiin. Autofagiitutkimuksen juuret ulottuvat kuitenkin jo 1950-luvun alkuun, jolloin belgialainen tiedemies Christian de Duve löysi lysosomit (1). Hän tutki insuliinin vaikutusta glukoosi-6-fosfataasiin. Tutkimuksissa selvisi entsyymien aktiivisuuden väheneminen, kun näytteitä varastoitiin pitkään. Lisätutkimukset elektronimikroskoopin avulla johtivat lysosomien löytymiseen. Lysosomaalinen proteolyysi osoittautui entsyymiaktiivisuuksien vähentämisen syyksi. Vuonna 1974 de Duve palkittiin lysosomilöydöksestään solufysiologian Nobelin palkinnolla. Autofagia on osa solujen lysosomaalista hajotus- ja kierrätysjärjestelmää. Autofagosomaalisten kalvorakenteiden havait-



Yoshinori Ōsumi

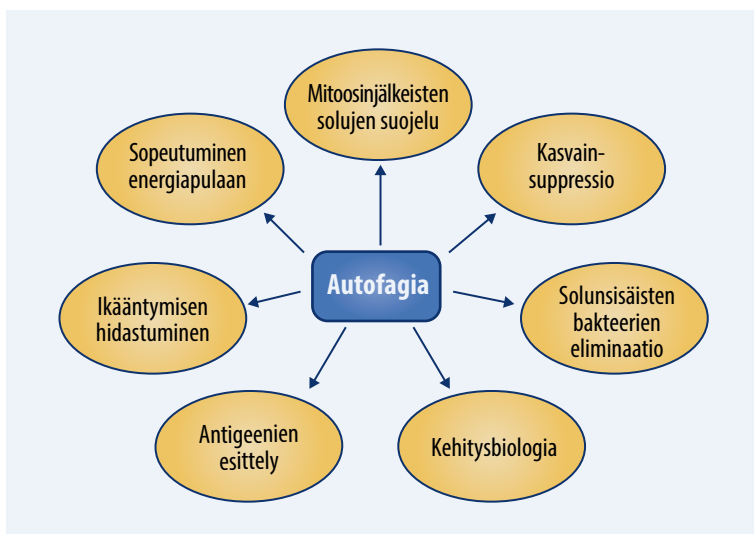
tiin 1960-luvulla sulautuvan yhteen lysosomien kanssa, mikä johtaa solun omien rakenteiden hajotukseen (KUVA 1) (2). De Duve antoi nimen autofagialle. Samoihin aikoihin professori Antti Arstila teki Yhdysvalloissa ja Suomessa pioneerityötä autofagosomien morfologiasta ja kypsymisestä (3). Seuraavat vuosikymmenet olivat kuitenkin varsin hiljaista aikaa autofagiitutkimuksessa. Ōsumi käynnisti uuden aallon autofagiitutkimuksessa 1990-luvun alkupuolella hyödyntämällä hiivasolumallia (4). Hän löysi keskeisimmät autofagiaan osallistuvat proteiinit ja kloonasi niiden geenit (15 geeniä). Hän on myös selvittänyt autofagiaa säätelevät päämekanismit (5,6).



KUVA 1. Autofagian induktio ja hajotusprosessi. Kuvassa on mainittu Yoshinori Ōsumin löytämät 15 ATG-proteiinia. AMPK = adenosiinimonofosfaattikinaasi, ATG = autofagiageeni, mTOR = sirolimuusin mekaaninen kohde, LAMP2A = lysosomin kalvoproteiini

Autofagia jaetaan kolmeen pääluokkaan: mikroautofagia, kaitsijaproteiinivälitteinen autofagia ja makroautofagia (7). Mikroautofagiassa proteiinit siirtyvät suoraan lysosomeihin hajotettavaksi lysosomin kalvosta kuroutuvan vesikkelin avulla. Kaitsijaproteiinivälitteisessä autofagiassa lämpöshokkiproteiinit ohjaavat tietyn signaalin sisältävät proteiinit lysosomeihin hajotettaviksi. Lysosomin kalvoproteiini LAMP2A osallistuu proteiinin kuljetukseen kalvon läpi. Makroautofagia hajottaa ja kiertää pitkäikäisiä ja sakkautuneita proteiini-komplekseja ja vaurioituneita soluelimiä, kuten mitokondrioita. Poistuva materiaali pakkautuu kaksoiskalvon ympäröimän vesikkelin sisään, ja muodostuvaa rakkulaa kutsutaan autofagosomiksi. Autofagosomit sulautuvat yhteen lysosomien kanssa, jolloin lysosomeista vapautuu entsyymejä, jotka hajottavat autofagosomin lastin (KUVA 1). Makroautofagiassa siis toimivat sekä autofagosomit että hydrolyyttisiä entsyymejä sisältävät lysosomit. Ōsumin tutkimuskohteena on ollut nimenomaan makroautofagia. Autofagia toimii lähes kaikissa aito-tumaisissa soluissa perustasolla ja ylläpitää näin normaalia tasapainotilaa. Ravinnon ja energian puute, useat stressitekijät (kuten oksidatiivinen stressi), hormonit, polyfenoliset yhdisteet ja laaja kirjo lääkeaineita aktivoivat tehokkaas-

ti autofagiaa. Muun muassa metformiini on yksi autofagian tunnetuista laukaisijoista (8). Adenosiinimonofosfaattikinaasi (AMPK) ja mTOR (sirolimuusin mekaaninen kohde) ovat keskeisiä proteiineja autofagian käynnistämisessä. AMPK:n aktivointi indusoi autofagosomien muodostumisen, kun taas mTOR estää sitä. mTOR:in salpaaminen esimerkiksi sirolimuusilla puolestaan aktivoi autofagosomin muodostumisen. Ōsumin tutkimuksen keskiössä ovat autofagosomin muodostumisen molekulaariset mekanismit. Nykyään tiedetään, että autofagosomien muodostumiseen osallistuvat ainakin solulimakalvosto sekä mahdollisesti endosomien ja mitokondrioiden kalvorakenteet (9). Ōsumin ja muiden tutkijoiden löytämät ATG (autofagiageeni, autophagy related gene) -proteiinit ovat keskeisen tärkeitä autofagosomien muodostumisessa. ATG-proteiineja tunnetaan nykyään yli 30, joista siis noin puolet on löydetty Ōsumin tutkimusryhmässä (10). Hiivasoluissa ATG-proteiinit muodostavat komplekseja, jotka ohjaavat autofagosomin muodostumista. Samanlaiset mekanismit on löydetty nisäkässoluistakin. Usein autofagia toimii yhdessä proteasomien kanssa, joka on toinen tärkeä proteolyttinen järjestelmä (11,12). Proteasomeihin ohjattavat liukoiset proteiinit merkitään ubiquitiinillä. Mikäli proteasomeissa



KUVA 2. Autofagian moniulotteisuus.

on toimintavaajausta, proteiinit sakkautuvat, jolloin ne ohjataan autofagiahajotukseen. Yksi osoitus proteolyysin tärkeästä merkityksestä on vuonna 2004 Aaron Ciechanoverille, Avram Hershkolle ja Irwin Roselle myönnetty kemian Nobelin palkinto. He tutkivat proteasomivälitteistä proteolyysia soluissa (13).

Autofagian ja proteasomien merkitys sairauksissa ja lääkehoidon kohteena on näiden nobelistien tutkimusten myötä auennut, ja uusia hoitojen kehittämismahdollisuuksia on auennut. Molempia mekanismeja tutkitaan aktiivisesti neurodegeneratiivisissa, tulehduksellisissa, aineenvaihdunta- ja syöpätaudeissa sekä fysiologisen ikääntymisen yhteydessä (6,12,14,15). Toimiva autofagia edistää solujen pysymistä toiminnallisina, jolloin sen oletetaan ehkäisevän ikääntymiseen liittyviä sairauksia (**KUVA 2**). Autofagian rooli syövässä on kaksitahoinen. Toisaalta autofagia estää normaaleja soluja muuttumasta syöpäsoluiksi vähentämällä metabolista stressiä. Syöpäsolut kuitenkin usein hyödyntävät autofagiaa pysyäkseen hengissä vähähappisessa ja -ravinteisessa ympäristössä ja välttääkseen syöpähoitojen aiheuttaman solukuoleman (14). Proteasomien estäminen ja autofagian voimakas aktivointi johtavat solukuolemaan, jota hyödynnetään uusien syöpähoitojen kehittämisessä (16).

Hyvä esimerkki autofagian ja proteasomien häiriintymisestä on silmänpohjan ikärappeuma, jossa silmänpohjaan kertyy haitallisia proteiinikomplekseja, jotka aiheuttavat rappeuman ja keskeisen näön menetyksen (7,12,17,18). Alzheimerin tautiin liittyy samansuuntaisia plakkiinmuodostumismekanismia, kun proteolyysi häiriintyy neuroneissa (19).

Ösumin löydökset autofagiageeneistä ja niiden koodaamien proteiinien mekaanisista toimintaperiaatteista ovat lisänneet ymmärrystämme siitä, miten solut kierrättävät rakenteitaan uudelleen käytettäväksi. Tämä on muuttanut ja muuttaa käsityksiämme sairauksien ehkäisystä ja syntymekanismeista sekä siitä, kuinka autofagiaa voidaan hyödyntää lääkehoidon kohteena. Osittain siinä saattaa piillä myös pidemmän ikämme salaisuus. ■

KAI KAARNIRANTA, professori, ylilääkäri
Itä-Suomen yliopisto ja Kuopion yliopistollinen sairaala, silmätaudit

SEPPO MERI, professori
Medicum, Haartman-instituutti ja immunobiologian tutkimusohjelma, Helsingin yliopisto ja HUSLAB, HUS

EEVA-LIISA ESKELINEN, dosentti
Biotieteiden laitos, Helsingin yliopisto

KIRJALLISUUTTA

1. de Duve C, Pressman BC, Gianetto R, ym. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J* 1955;60:604–17.
2. de Duve C, Wattiaux R. Functions of lysosomes. *Annu Rev Physiol* 1966;28:435–92.
3. Arstila AU, Trump BF. Studies on cellular autophagocytosis. The formation of autophagic vacuoles in the liver after glucagon administration. *Am J Pathol* 1968;53:687–733.
4. Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 1993;333:169–74.
5. Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA, ym. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell* 2003;5:539–45.
6. Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell* 2011;147:728–41.
7. Kaarniranta K, Sinha D, Blasiak J, ym. Autophagy and heterophagy dysregulation leads to retinal pigment epithelium dysfunction and development of age-related macular degeneration. *Autophagy* 2013;9:973–84.
8. Hyttinen JM, Petrovski G, Salminen A, Kaarniranta K. 5'-Adenosine monophosphate-activated protein kinase – mammalian target of rapamycin axis as therapeutic target for age-related macular degeneration. *Rejuv Res* 2011;14:651–60.
9. Biazik J, Ylä-Anttila P, Vihinen H, ym. Ultrastructural relationship of the phagophore with surrounding organelles. *Autophagy* 2015;11:439–51.
10. Mochida K, Oikawa Y, Kimura Y, ym. Receptor-mediated selective autophagy degrades the endoplasmic reticulum and the nucleus. *Nature* 2015;522:359–62.
11. Pankiv S, Clausen TH, Lamark T, ym. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *J Biol Chem* 2007;282:24131–45.
12. Ferrington DA, Sinha D, Kaarniranta K. Defects in retinal pigment epithelial cell proteolysis and the pathology associated with age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2016;51:69–89.
13. Latonen L, Laiho M. Kemian Nobelin palkinto. *Duodecim* 2004;120:2868–71.
14. Eskelinen EL. The dual role of autophagy in cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2011;11:294–300.
15. Damme M, Suintio T, Saftig P, Eskelinen E-L. Autophagy in neuronal cells: general principles and physiological and pathological functions. *Acta Neuropathologica* 2015;129:337–62.
16. Wojcik S. Crosstalk between autophagy and proteasome protein degradation systems: possible implications for cancer therapy. *Folia Histochem Cytobiol* 2013;51:249–64.
17. Kaarniranta K, Seitsonen S, Paimela T, Meri S, Immonen I. Silmänpohjan ikärappeuman patogeneesi. *Duodecim* 2009;125:145–53.
18. Viiri J, Amadio M, Marchesi N, ym. Autophagy activation clears ELAVL1/HuR-mediated accumulation of SQSTM1/p62 during proteasomal inhibition in human retinal pigment epithelial cells. *PLoS One* 2013;8:e69563.
19. Hyttinen JM, Amadio M, Viiri J, ym. Clearance of misfolded and aggregated proteins by autophagy and implications for aggregation diseases. *Ageing Res Rev* 2014;18:16–28.