

Pinja Kettunen, Marc Baumann ja Juha Saarikangas

Proteiinien laskostumishäiriöt aivojen rappeumasairauksissa

Proteiinien rakenne määrittää niiden toiminnan. Proteiinien virheellinen laskostuminen, joko satunnaisesti tai mutaation seurauksena, voi johtaa ristikkäisbeetalevyrakenteesta muodostuvan säiemäisen amyloidin syntyyn. Ihmisistä on tunnistettu yli kolmekymmentä amyloidia muodostavaa proteiinia, jotka liittyvät eri kohde-eliimiin vaikuttaviin sairauksiin. Sairauksista tunnetuimpia ovat ikääntymiseen liittyvät parantumattomat keskushermoston rappeumasairaudet, kuten Alzheimerin ja Parkinsonin tauti, joita yhdistää haitallisen laskostumismuutoksen leviäminen aivoissa. Vaikka amyloidi tunnetaan parhaiten yhteyksistään sairauksiin, sillä on myös hyvin tärkeitä biologisia tehtäviä.

”Minä olen...” [seuraa hämmentynyt ja pelokas hiljaisuus]. Kati Outisen etenevästä muistisairaudesta kertova monologi Niin kauan kuin omat siivet kantaa alkaa pysähdyttävästi. Sanonta ”vanhuus ei tule yksin” realisoituukin yhä useamman suomalaisen elämässä dementiaa aiheuttavien aivojen rappeumasairauksien muodossa. Ikä on merkittävin yksittäinen riskitekijä sairastua vailla parannuskeinoa oleviin hermoston rappeumasairauksiin, joiden yhteiskunnallinen merkittävyys edelleen lisääntyy keskimääräisen eliniän pidentyessä. Muistisairauksista kärsii maailmanlaajuisesti noin 50 miljoonaa ihmistä, ja luvun on arvioitu miltei kolminkertaistuvan vuoteen 2050 mennessä.

Pohjimmiltaan ikääntymiseen liittyvissä aivojen rappeumasairauksissa on kyse häiriöistä hermosolujen proteiinien laskostumisessa ja laadunvalvonnassa. Proteiinit vastaavat kaikista solunsisäisistä toiminnoista, ja oikein toimiakseen niiden on laskostuttava tiettyyn kolmiulotteiseen rakenteeseen. Proteiinien väärin laskostuminen virheelliseen rakenteeseen voi laajamittaisena johtaa solu- ja kudostason toiminnan häiriintymiseen. Proteiinien virheellisestä laskostumisesta johtuvia sairauksia, proteinopatioita, tunnetaan useita. Niihin lukeutuu myös suomalaisen tautiperimään

kuuluva perinnöllinen gelsoliiniamyloidoosi eli Meretojan tauti.

Merkittävimpiä keskushermoston proteino-patioista ovat Alzheimerin tauti, lewyngappaleaudit, Parkinsonin tauti, otsa-ohimolohkorappeuma ja amyotrofinen lateraaliskleroosi (ALS) (**TAULUKKO**). Nämä sairaudet ovat pääasiassa sporadisia. Taustalla vaikuttaakin olevan monimutkainen perinnöllisten ja ympäristötekijöiden välinen vuorovaikutus. Aivojen rappeumasairauksien taustatekijöitä kartoitetaan esimerkiksi käynnissä olevassa Terveiden ja hyvinvoinnin laitoksen FINGER-tutkimushankkeessa, jossa selvitetään elintapojen merkitystä muistisairauksien ehkäisemisessä.

Proteiinien väärin laskostuminen ja ongelmallisen amyloidin synty

Perimäaineksemme geenit sisältävät rakennusohjeet tuhansille erilaisille proteiineille, jotka vastaavat elämää ylläpitävistä toiminnoista. Geenien luenta synnyttää lähetti-RNA-juosteen, joka toimii ohjeena solujen ribosomeissa tapahtuvalle polypeptidiketjun rakentamiselle. Polypeptidiketjun laskostumista toiminnalliseen kolmiulotteiseen muotoon säätelevät monet tekijät. Näistä tärkeimpiä ovat ketjun sisäinen aminohappojärjestys ja laskostumista

TAULUKKO. Keskeiset väärin laskostuvat proteiinit keskushermoston proteinopatioissa (1,40).

Proteiini	Muodostuvat proteiinikertymät ja niiden leviäminen	Esimerkkejä esiintyvyydestä keskushermoston sairauksissa
Amyloidiprekursoriproteiini (beeta-amyloidifragmentti)	Amyloidi Prionimainen leviäminen	Alzheimerin tauti
Hyperfosforyloituunut tau-proteiini	Neurofibrillikimppu Prionimainen leviäminen	Alzheimerin tauti Etenevä supranukleaarinen halvaus Otsa-ohimolohkorappeuma Kortikobasaalinen degeneraatio Krooninen traumaattinen enkefalopatia
Huntingtiini, jossa CAG-emästoistojakson monistuma	Amyloidi Prionimainen leviäminen	Huntingtonin tauti
Alfasynkleiini	Amyloidi Prionimainen leviäminen	Parkinsonin tauti Lewynkappaletauti Monijärjestelmäsarkastuma
Prioniproteiini (PrPSC-muoto)	Amyloidi Prionimainen leviäminen Infektiivinen	Creutzfeldt–Jakobin tauti Kuru Fataali perilaalinen unettomuus Gerstmann–Sträussler–Scheinkerin oireyhtymä
TDP-43	Amyloidin kaltainen säie Prionimainen leviäminen	ALS Otsa-ohimolohkorappeuma
FUS	Amyloidin kaltainen säie Prionimainen leviäminen	ALS Otsa-ohimolohkorappeuma
SOD1	Amyloidin kaltainen säie Prionimainen leviäminen	ALS
Ataksiini 1	Amyloidin kaltainen säie Prionimainen leviäminen	Tyypin 1 spinoserebellaarinen ataksia (SCA1)

ALS = amyotrofinen lateraaliskleroosi; CAG = sytosiini-adeniini-guaaniini; FUS = fused in sarcoma; SOD1 = superoxide dismutase 1; TDP-43 = TAR-deoksiribonukleiinihappoon sitoutuva 43 kilodaltonin kokoinen proteiini

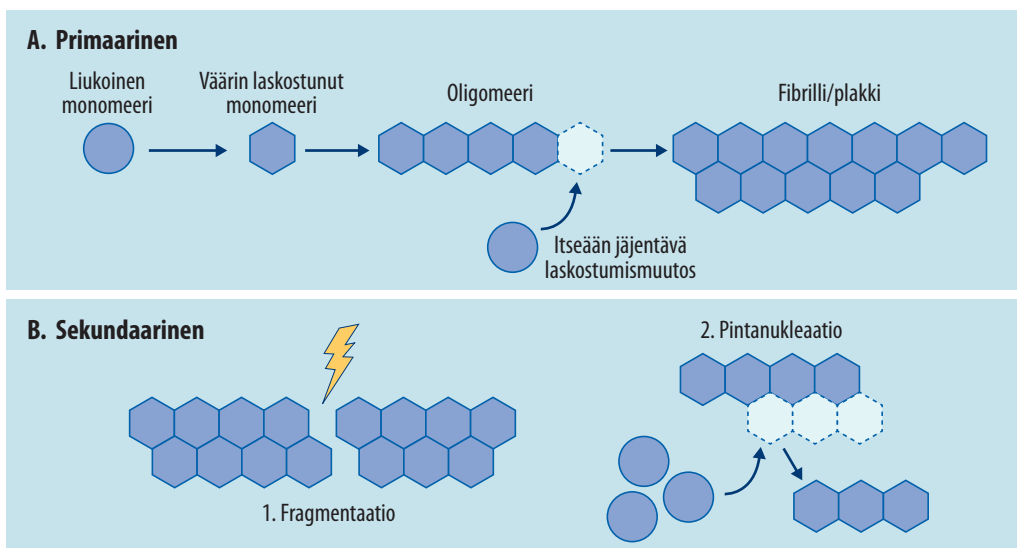
avustavat kaitsijaproteiinit (chaperones), jotka muun muassa estävät laskostumisillaan olevien proteiinien vesipakoisten osien tarttumista toisiinsa ennen niiden hautautumista valmiin proteiinirakenteen sisään.

Monien proteiinien polypeptidiketjussa esiintyy myös rakenteellisesti epäjärjestäytyneitä alueita, joista puuttuu kooperatiiviselle laskostumiselle tärkeitä vesipakoisia aminohappoja ja jotka eivät sen takia omaksu tiettyä kolmiulotteista rakennetta. Tällaisiin proteiineihin lukeutuvat useat aivojen rappeumasairauksiin liitetyt proteiinit, kuten alfasynkleiini (Parkinsonin tauti), prioniproteiini (Creutzfeldt–Jakobin tauti), tau ja amyloidiprekursoriproteiini (Alzheimerin tauti) (**TAULUKKO**) (1).

Epäjärjestäytyneiden alueiden on arveltu

lisäävän proteiinien toiminnallista monimuotoisuutta, mutta rakenteellisen joustavuutensa takia ne ovat erityisen vaativia proteiinien laadunvalvonnalle. Säätelöhäiriöt voivatkin johtaa näiden alueiden epänormaaliin vuorovaikutukseen ja proteiinikasaumien muodostumiseen. Syntyneet kasaumat voivat olla järjestäytymättömiä amorfisista rakenteita.

Vaihtoehtoisesti väärin laskostumisen yhteydessä proteiinit voivat omaksua beeta-levyrakenteen ja pakkautua ristikkäisbeeta-laskoksista koostuvaksi vahvarakenteiseksi proteiiniketjuksi, amyloidiksi (1,2). Mutaatiot voivat edesauttaa amyloidirakenteen sattumanvaraista syntymää esimerkiksi paljastamalla amyloidogeenisen alueen tai johtamalla normaalista poikkeavaan proteolyttiseen pilkkoutumi-



KUVA 1. Amyloidin muodostuminen. **A.** Aivojen rappeumasairauksissa amyloidin muodostuminen alkaa proteiinin väärin laskostumisesta. Väärin laskostuneiden proteiinien liittyminen toisiinsa muodostaa ytimen, josta voi kehittyä amyloidisäie, joka kasvaa nopeasti, kun liukoiset monomeerit liittyvät kasvavan säikeen päähän (2,4). Säikeet voivat kasautua tuhansista yksiköistä rakentuviksi plakkimaisiksi kertymiksi. **B.** Amyloidisäikeet saattavat pilkkoutua oligomeereiksi, ja pilkkoutumisherkkyys riippuu amyloidin rakenteesta (amyloidivariantista). Oligomeerit toimivat uusina nukleatiokeskuksina, jotka kiihdyttävät amyloidin muodostumista ja uusien säikeiden syntyä. Myös säikeiden pinta voi katalysoida uuden säieytimen synnyn monomeereista (5,37).

seen ja amyloidogeenisten peptidifragmenttien syntyyn (1).

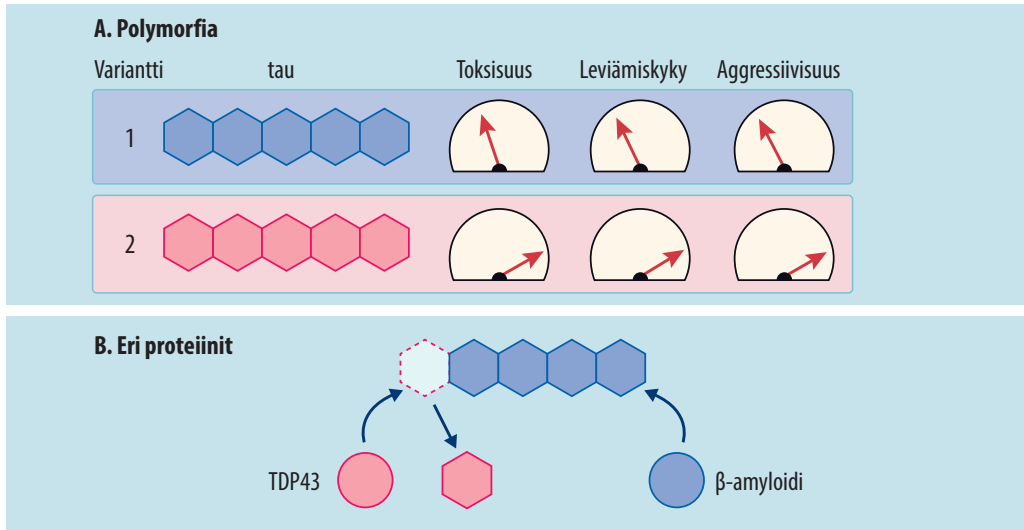
Termi amyloidi viittaa sanaan tarkkelys (amylum). Lääketieteeseen termi tuli 1800-luvun puolivälissä, kun modernin patologian pioneeri Rudolf Virchow kokeili kasvitieteilijöiden käyttämää värjästekniikkaa ihmiskudosten värjäykseen ja havaitsi amyloidoosiin liittyviä pyöreitä amyloidiplakkeja (3).

Amyloidifibrillit eli -säikeet ovatkin ehkä tunnetuin esimerkki proteiinikertymäsairauteen liitetystä rakenteesta. Amyloidirakenteeseen johtava laskostumisvirhe on ilmeisen harvinainen tapahtuma (2). Synnyttyään amyloidimuoto voi kuitenkin monistua solussa nopeasti, sillä sen vakaa ristikkäisbeetalaskosrakenne on energeettisesti edullisempi kuin kyseisen proteiinin natiivirakenne (1,2,4). Molekyylit toisensa jälkeen saman proteiinin normaalisti laskostuneet muodot tarttuvat amyloidisäikeen päihin ja omaksuvat beetalaskosrakenteen, jolloin syntyy pitkiä, kestäviä proteiinisäikeitä, jotka voivat edelleen kasautua plakkimaisiksi kertymiksi (KUVA 1) (1,2,4).

Säikeet voivat pilkkoutua uudelleen pienem-

miksi oligomeereiksi. Pilkkoutuminen kiihdyttää amyloidin muodostumista ja on keskeinen ongelma amyloidipolkeavuuksissa, sillä pilkkoutuneet partikkelit toimivat ytiminä, joista alkaa kasvaa uusia säikeitä (KUVA 1) (2,4,5). Toinen tärkeä piirre on, että samasta proteiinista voi esiintyä erilaisia amyloidivariantteja, joilla on toisistaan poikkeavat rakenteelliset ja toiminnalliset ominaisuudet (KUVA 2) (2,4,5).

Rappeumasairauksissa voi myös samanaikaisesti esiintyä eri proteiinien muodostamia aggregaatteja. Esimerkiksi Alzheimerin tautia sairastavilla havaitaan usein sekä solun sisäisiä tau-säikeitä että solun ulkopuolisia beeta-amyloidiplakkeja (6). Eri aggregaattien esiintyminen voi aiheutua suorasta proteiinien välisestä vuorovaikutuksesta, tai olla sekundaarinen seuraus esimerkiksi yleisen proteiinihomeostaasin häiriintymisestä. Kompleksiset ristireaktiot eri amyloidia muodostavien proteiinien välillä sekä eri amyloidivarianteille ominaiset leviämisominaisuudet todennäköisesti selittävät hermoston rappeumasairauksille tyypillistä potilaiden taudinkuvien vaihtelua (KUVA 2) (2,4,5).



KUVA 2. Amyloidirakenteissa esiintyvä polymorfismi voi monimutkaistaa taudinkuvaan. **A.** Samasta amyloidia muodostavasta proteiinista voi esiintyä erilaisia variantteja, joilla on hieman toisistaan poikkeavat rakenteelliset ja toiminnalliset ominaisuudet (2,4,5). Esimerkiksi Alzheimerin tautiin liittyvästä tau-proteiinista tunnetaan ainakin 18 eri amyloidivarianttia, joiden rakenne, solutoksisuus, leviämiskyky ja kestävyys ym. vaihtelevat. Esimerkiksi kuvan variantti 2 leviää tehokkaammin ja on solutoksisempi kuin variantti 1, mikä voi johtaa aggressiivisempaan taudinkuvaan (2,4). **B.** Yhden proteiinin väärin laskostumisesta seuraava aggregoituminen voi edesauttaa toisen proteiinin aggregoitumista, mikäli proteiinien rakenteet ovat tarpeeksi komplementaarisia. Esimerkiksi lähes puolessa Alzheimerin tauti -tapauksista on havaittu beeta-amyloidin lisäksi myös alfasynukleiinin tai TDP-43:n aggregoitumista (2,4). Beeta-amyloidin on näytetty edesauttavan liukoisien alfa-synukleiinin aggregoitumista (2,4,27).

TDP-43 = TAR-deoksiribonukleinihappoon sitoutuva 43 kilodaltonin kokoinen proteiini

Väärin laskostuneet proteiinit jäljentävät itseään, muuttuvat toksisiksi ja leviävät soluissa sekä kudoksissa

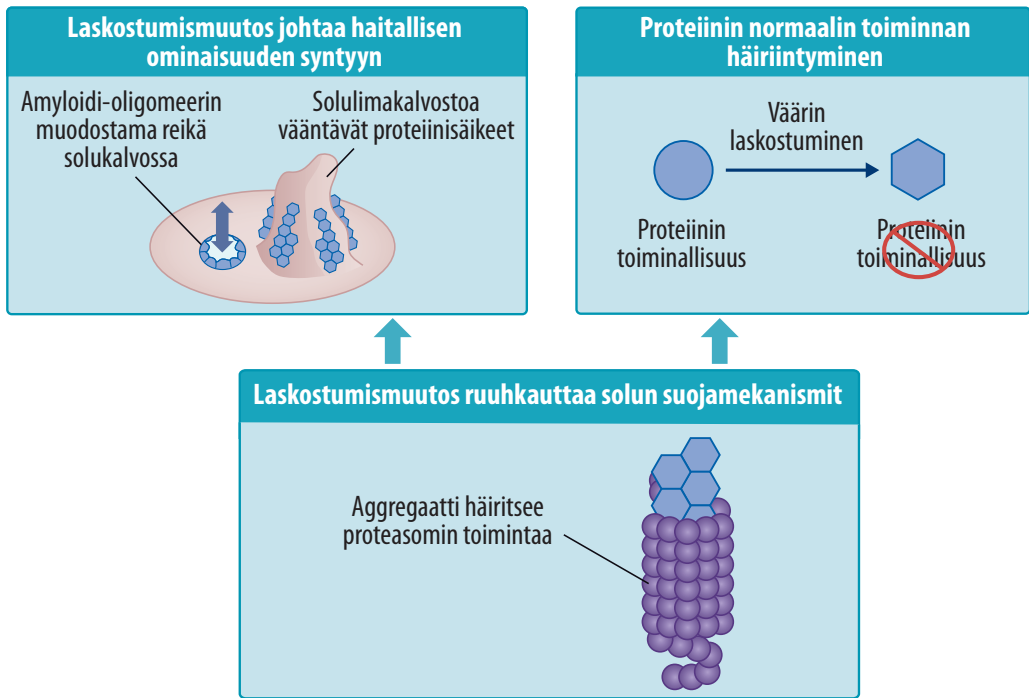
Solun puolustusmekanismeilla on vaikeuksia poistaa vahvarakenteisia sekä monisäikeisiä proteiinikertymiä, jotka voivat häiritä solun normaaleja toimintoja. Karatessaan solujen laadunvalvontamekanismeilta väärin laskostuneet proteiinit aiheuttavat synapsikatoa, hermosolujen kuolemaa ja etenevää kudostuhoa, joka ilmenee potilaiden ajan myötä pahenevina oireina.

Mikroskoopilla havaittavia amyloidiplakkeja luultiin pitkään solutoksisuuden aiheuttajiksi. Viime vuosikymmeninä on kuitenkin huomattu, että suurilla kertymillä voi olla täysin päinvastainen, soluja suojeleva vaikutus (7). Tämä johtuu niiden kyvystä kerätä pienempiä väärin laskostuneita yksiköitä, jolloin niiden haitallinen vuorovaikutuspinta-ala ”hautautuu” ison

kertymän sisään. Sen sijaan pienemmät partikkelit, etenkin sellaiset, joiden pinnalla on vesipakoisia osia, ovat soluille ongelmallisia, sillä ne monistuvat tehokkaasti ja leviävät solujen välillä (1).

Mikä sitten tekee väärin laskostuneista proteiineista niin haitallisia? Väärin laskostunut proteiini ei välttämättä suoriudu normaalista tehtävästään, mikä johtaa itsessään ongelmiin. Esimerkiksi tau-proteiinin hyperfosforylaatio ja siitä seuraava kasautuminen ovat tyypillisiä löydöksiä Alzheimerin taudissa sekä kontaktiurheilulajeihin yhdistetyssä kroonisessa traumattisessa enkefalopatiassa (8). Tau-proteiini säätelee normaalisti solun mikrotubulus-tukirankaa ja sen puutoksen on näytetty johtavan häiriöön synaptisen toiminnan säätelyssä (7). Niinpä väärin laskostumisen seurauksena taapautuva tau-proteiinin normaalin toiminnan häiriintyminen voi jo sinällään johtaa ongelmiin solujen toiminnassa (loss-of-function).

Väärin laskostuneet proteiinit ja niistä muo-



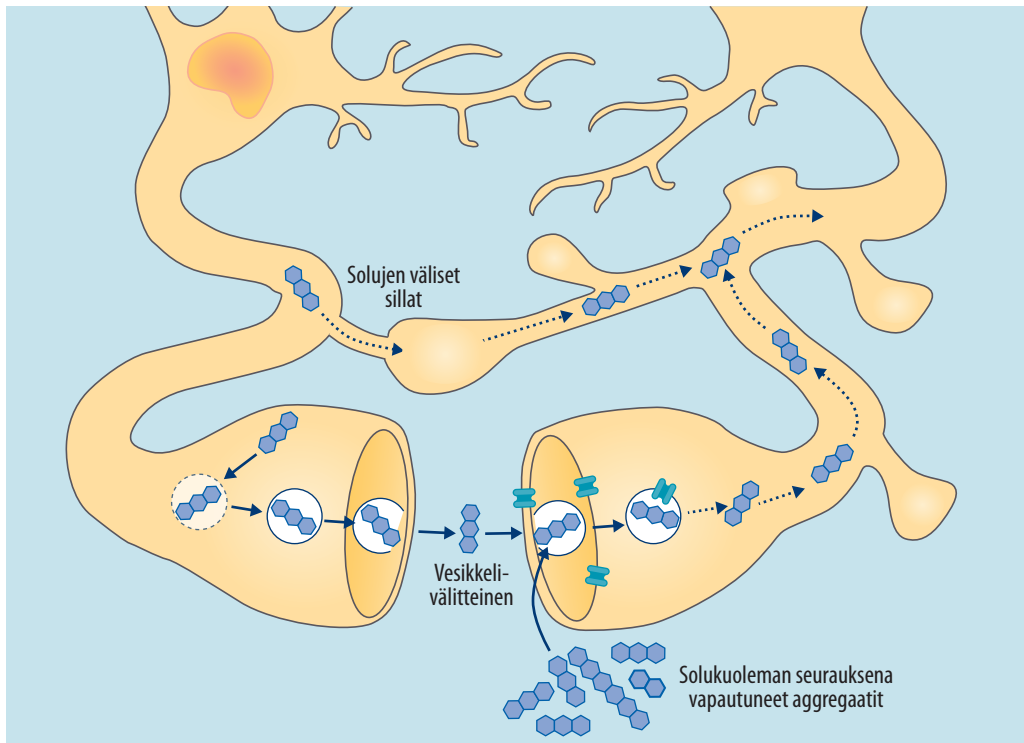
KUVA 3. Hermoston rappeumasairauksissa väärin laskostuvien proteiinien toksisuusmekanismit. Laskostumismuutosten toksisuus voi olla seurausta uuden haitallisen ominaisuuden synnystä (vasen yläkuva). Esimerkiksi amyloidimuotoisen alfasynukleiin tai beeta-amyloidin oligomeerit voivat muodostaa solukalvoon reikiä, jotka voivat johtaa solun ionitasapainon ja kalvopotentiaalin häiriintymiseen. Huntingtonin tautiin liittyvien polysäikeiden on taas näytetty muokkaavan solulimakalvoston rakennetta, joka voi johtaa sen toiminnan häiriintymiseen (38). Proteiinin normaalin toiminnan muutos voi myös pahentaa taudinkuvaa (oikea yläkuva). Esimerkiksi hyperfosforyloitunut ja aggregoituva tau-proteiini menettää normaalin mikrotubulus-tukirankaa stabiloivan aktiivisuutensa, mikä häiritsee solun normaaleja toimintoja. Syntynyt laskostumismuutos voi myös ruuhkauttaa solun suojamekanismit (alakuva). Esimerkiksi tau-säikeet ja Huntingtonin tautiin liittyvät poly-Q-säikeet voivat häiritä proteasomin toimintaa estämällä suojamekanismien normaalin toiminnan proteiinien hajotuksessa (9,39).

dostuvat säikeet voivat myös itsessään olla solutoksisia (gain-of-function). Esimerkiksi tau-säikeiden on näytetty johtavan väärin laskostuneiden proteiinien hajottamisesta vastaavan koneiston, proteasomin tukkeutumiseen (9). Tukkeutumisen seurauksena proteiinien laadunvalvonta voi ruuhkautua. Syntyy noidankehä, jossa solut eivät kykene ylläpitämään perustoimintojaan yhä useamman proteiinin toiminnan häiriintyessä. Toinen esimerkki toksisen ominaisuuden synnystä ovat beeta-amyloidin ja alfasynukleiin muodostamat ioneja läpäisevät rengasmaiset aukot, jotka voivat järkyttää solujen ionitasapainoa (**KUVA 3**) (10–12).

Aivot ovat muovautuva elin, eivätkä laskostumisvirheistä syntyvät ongelmat kenties oli-

si aivojen kokonaistoiminnan kannalta kovin merkityksellisiä, mikäli niiden vaikutus rajoituisi vain yhteen hermosoluun. Ongelmat kuitenkin alkavat, jos häiriö kykenee leviämään solujen välillä ja aiheuttamaan laajamittaisempaa hermosoluverkkojen toiminnan häiriintymistä. Laskostumishäiriöiden kyky levitä infektiivisesti solujen välillä kuvattiin ensin PrP:llä. Sen väärin laskostuminen PrP^{SC}-prionimuotoon aiheuttaa muun muassa harvinaisen Creutzfeldt-Jakobin taudin (2,4,13–15).

Viimeaikaiset tulokset ovat osoittaneet, että prionimainen leviäminen on keskeinen piirre monissa keskushermoston rappeumasairauksissa (esimerkiksi Alzheimerin ja Parkinsonin taudit, ALS ja otsa-ohimolohkorappeuma) (**TAULUKKO**) (15,16). Prioninkaltaisessa leviä-



KUVA 4. Amyloidipoiikkeavuuden leviäminen keskushermostossa. Laskostumismuutokset kykenevät leviämään solusta toiseen monin eri tavoin. Leviäminen voi tapahtua esimerkiksi solujen välisiä siltoja pitkin (tunneling nanotubules), vesikkelivälitteisesti (ekso- ja endosytoosi) sekä naapurisolujen ottaessa sisäänsä soluhajoamisesta vapautuvia väärin laskostuneita proteiineja.

misessä pienet väärin laskostuneet partikkelit, ”aggregaatiosiemenet”, voivat kulkeutua terveisiin naapurisoluihin, joissa ne monistavat laskostumismuutosta (KUVA 1). Esimerkiksi kertaluontoinen kohdennettu ruiske väärin laskostuneita alfasy nukleiinisäikeitä hiiren aivoihin riittää aiheuttamaan solujen välillä leviävän alfasy nukleiniipoiikkeavuuden ja Parkinsonin taudin kaltaisen taudinkuvan (17).

Kuinka väärin laskostuneet proteiinit pääsevät leviämään solujen välillä? Useita vaihtoehtoisia eri leviämismekanismeja on esitetty (KUVA 4). Kuolleista soluista vapautuvien väärin laskostuneiden proteiinien on arveltu kulkeutuvan naapurisoluihin. On myös selvinnyt, että väärin laskostuneet proteiinit leviävät solujen kommunikaatioväylien välityksellä.

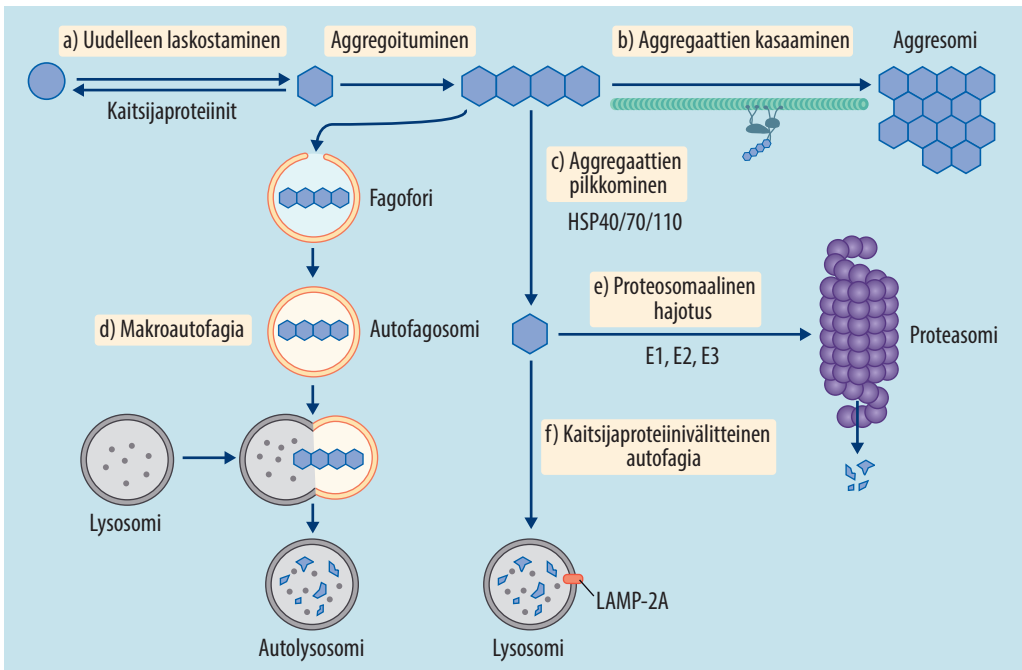
Väärin laskostuneet proteiinit voivat esimerkiksi siirtyä synaptiseen rakoon eritysrakkuloiden välityksellä ja edelleen naapurisoluun endosytoosimekanismien kuljettamina

(5,18). Väärin laskostuneen beeta-amyloidin leviäminen vaikuttaisi olevan ainakin osittain riippuvaista synaptisesta aktiivisuudesta (19). Tau-proteiinit pääsevät siirtymään suoraan solukalvon läpi soluvälialaineeseen lipidivälitteisen eritysmekanismin avulla (20). Lisäksi on havaittu, että väärin laskostuneet proteiinit kykenevät siirtymään solujen välillä siltamaisten solukalvoulukkeiden välityksellä (18).

Väärin laskostuneiden proteiinien toksisuusmekanismeja ja leviämismekanismeja tunnetaan vielä varsin huonosti, mutta panostukset näiden selvittämiseen saattavat tarjota interventiokohtia leviämisen ja toksisuuden lievittämiseksi.

Miten solut puolustautuvat haitallisia laskostumismuutoksia vastaan?

Miten amyloidin syntyä ja leviämistä voitaisiin estää? Solut suojautuvat haitallisilta laskostu-



KUVA 5. Proteiinien laadunvalvontajärjestelmät soluissa pyrkivät estämään proteiinien väärin laskostumista ja siitä syntyviä ongelmia. **A.** Solut pyrkivät ensisijaisesti laskostamaan väärin laskostuneet ja laskostumattomat proteiinit uudelleen kaitsijaproteiinien avulla. **B.** Saman perheen proteiinit Hsp40,-70 ja -110 pilkkovat jo muodostuneita aggregaatteja. **C.** Kaitsijaproteiinit ja ubikitinaatioentsyymit E1–3 ohjaavat soluliman virheellisiä proteiineja proteasomin hajotettavaksi (21,24). **D.** Kaitsijaproteiinivälitteisessä autofagiassa kaitsijaproteiinit ohjaavat hajotettavat proteiinit suoraan lysosomin kalvolle, mistä ne siirtyvät lysosomin luumeniin LAMP-2A-avusteisesti ja hydrolaasientsyymit hajottavat ne. **E.** Makroautofagiassa hajoavan aggregaatin ympäröi fagoforiksi kutsuttu kaksoiskalvorakenne, jolloin muodostuu tästä muodostunut umpinainen kaksoiskalvorakenne autofagosomi. Sen fuusioituminen lysosomin kanssa muodostaa autolysosomin, jossa proteiiniaggregaatit hajoavat entsyymaattisesti. **F.** Solut kykenevät aktiivisesti kuljettamaan väärin laskostuneita ja sakkaantuneita proteiineja solusisäisiin keräyspisteisiin, kuten aggresomiin, jolloin aggregoituvat proteiinit eivät pääse häiritsemään solun normaaleja toimintoja (24,28).

mismuutoksilta monin tavoin (**KUVA 5**). Kaitsijaproteiinit auttavat uusien proteiinien laskostumista, estävät väärin laskostuneiden proteiinien syntyä ja katalysoivat niiden uudelleen laskostumista (21). Kaitsijaproteiineja on kaikissa soluissa, ja ne muodostavat jopa 10 % solujen proteiineista. Kaitsijaproteiinien ilmeneminen sitoutuu tiiviisti solun stressivasteeseen (22).

Väärin laskostuneiden proteiinien kertyminen solulimaan aikaansaa esimerkiksi lämpösokkitekijä HSF1:n (heat shock factor 1) siirtymisen tumaan, missä se aktivoi kaitsijaproteiineja koodaavien geenien luentaa ja näin lisää kaitsijaproteiinien määrää (22).

Kaitsijaproteiinien ilmentyminen voi poiketa erilaisten solujen välillä. Proteiinien laadunvalvontajärjestelmät ovat eri tavoin virittyneet

esimerkiksi hermoston kantasolujen ja erilais-tuneiden hermosolujen välillä, minkä vuoksi hermosolut ovat alttiimpia solustressille ja amyloidin muodostumiselle (23). Soluelimillä, kuten solulimakalvostolla ja mitokondrioilla on omat laadunvalvontajärjestelmänsä. Esimerkiksi laskostumattomien proteiinien vaste (unfolded protein response, UPR) avustaa soluelinten viallisten proteiinien hajotuksessa, lisää kaitsijaproteiinien ilmenemistä ja pysäyttää proteiinisynteesin (24).

Mikäli uudelleen laskostuminen ei ole vaihtoehto, virheellisesti laskostuneet proteiinit saattavat ohjautua proteasomaaliseen hajotukseen, joka on vastuussa valtaosasta soluliman liukoisten proteiinien hajotuksesta. Ubikitinaatioentsyymien E1–3 ohjaama tapahtumaketju

Ydinasiat

- ▶ Proteiinien väärin laskostuminen voi johtaa sairauksiin joko proteiinin toimintahäiriön tai uuden toksisen ominaisuuden synnyn seurauksena.
- ▶ Väärin laskostuneet proteiinit voivat monistua muuttamalla toiminnallisen proteiinin väärin laskostuneeseen muotoon ja edetä kudoksessa leviämällä soluista toiseen.
- ▶ Amyloidi on vahvarakenteinen säiemäinen proteiinikasauma, jolla on biologisesti tärkeitä tehtäviä mutta joka väärin muodostuneena on soluille ongelmallinen.
- ▶ Soluilla on useita eri keinoja estää väärin laskostumista sekä päästä eroon väärin laskostuneista proteiineista ja niiden kertymistä.

liittää hajotettavaan proteiiniin kovalenttisesti ketjun ubikitiiniproteiineja. Ubikitiiniketju rakentuu tässä tapauksessa lysiini 48 -välitteisesti, ja ketjulle ominainen rakenne ohjaa kohdeproteiinin hajotettavaksi proteasomiin (21,24). Solulimakalvoston lumenissa ei ole proteasomia, joten solulimakalvostovälitteisen proteiinihajoituksen järjestelmä (endoplasmic reticulum associated degradation, ERAD) huolehtii hajotettavien proteiinien siirrosta solulimaan kaitsijaproteiinien ja E3-ubikitiiniligaasi Hrd1:n välityksellä (24).

Autofagia on vaihtoehtoinen hajotusreitti. Kaitsijaproteiinivälitteisessä autofagiassa liukoiset proteiinit, joilla on KFERQ-kohdennussekvenssi, esimerkiksi tau-proteiini ja alfasynukleini, voidaan ohjata suoraan lysosomaaliseen hajotukseen LAMP-2A -reseptorin välityksellä (25). Myös kokonaiset aggregaatit voidaan tuhota makroautofagian avulla. Tässä tapauksessa aggregaatit on tyypillisesti leimattu lysiini 62 -välitteisillä ubikitiiniketjuilla. Makroautofagiassa adaptorimolekyylit, kuten p62 ja NBR1, tunnistavat hajotettavat partikkelit ja koordinoivat niiden ympärille muodostuvan kaksoiskalvollisen autofagosomin synnyn (26,27). Autofagosomi yhdistyy tämän jälkeen lysosomin

kanssa, ja lysosomaaliset entsyymit hajottavat sen sisältämät aggregaatit (21,24).

Ongelmat proteiinien laskostumisessa voivat siis johtaa kasaumien ja amyloidin muodostumiseen. Soluilla on tietyistä kaitsijaproteiineista koostuva koneisto, jonka tehtävänä on kolata väärin laskostuneita proteiineja hallitusti kasaumiin, kun muut laadunvalvontamekanismit ruuhkautuvat (28). Lisäksi soluilla on keinoja amyloidin purkamiseksikin. Yleiset kaitsijaproteiinit Hsp70, Hsp40 ja Hsp110 pystyvät yhteistyössä ja adenosiinitrifosfaatti (ATP) -energiaa hyväksi käyttämällä irrottamaan amyloidisäikeisiin juuttuneita polypeptidiketjuja ja auttamaan niiden uudelleen laskostumisessa (29). Lisäksi HtrA1-seriini-proteaasi voi hajottaa ainakin beeta-amyloidi- ja tau-säikeitä (30).

Proteiinien laskostumishäiriöiden esto lääkeaineilla

Solujen laadunvalvontamekanismien toiminnan ymmärtäminen voi auttaa myös terapeutisten interventioiden kehittämisessä. Pienimolekyylisiä lääkeaineita voidaan kohdentaa ongelmallisiin proteiinilaskoksiin, joissa ne toimivat kaitsijaproteiinien kaltaisesti (31). Esimerkiksi perinnöllisen amyloidisen polyneuropatian hoitoon käytettävä suun kautta otettava pienimolekyylinen tafamidiisi toimii farmakologisena kaitsijana. Se stabiloi transtyretiini-proteiinin toiminnallisen tetrameerisen muodon, mikä vähentää monomeeristen transtyretiini-proteiinien väärin laskostumista amyloidimuotoon (32).

Kehitteillä on myös lukuisia lääkeaihoita, joiden avulla voidaan aktivoida edellä kuvattuja proteiinien laadunvalvontajärjestelmiä, esimerkiksi tehostamalla kaitsijaproteiinien aktiivisuutta, aggregaattien purkamista tai proteolyyttisten järjestelmien toimintaa (31). Alzheimerin taudin hoitoon on esimerkiksi kehitteillä pienmolekyylejä, jotka estävät APP:n proteolyyttistä hajoamista ja beeta-amyloidin muodostumista estämällä beeta- ja gammasekretaasi-entsyymien toimintaa.

Lisäksi kehitteillä on erilaisia beeta-amyloidin neutralointiin pohjautuvia uusia monoklonaalisia vasta-aineita (33). Esimerkiksi

monoklonaalinen beeta-amyloidin vasta-aine adukanumabi pienensi amyloidipitoisuuksia ja hyperfosforyloituneen tau-proteiinin määrää aivo-selkäydinnesteessä sekä paransi riittävän suurina annoksina Alzheimerin tautia sairastavien potilaiden kognitiivista toimintakykyä ja muistia. Tulokset antavat toivoa siitä, että markkinoille on tulossa lääkkeitä, joita voidaan käyttää Alzheimerin taudin hoidossa kuratiivisesti, ei ainoastaan hidastamaan taudin etene- mistä.

Toiminnalliset amyloidirakenteet

Vaikka amyloidilla on pelottava maine, on tärkeää tiedostaa, että proteiinin kyky laskostua amyloidirakenteeksi ei ole pelkästään patologinen kuriositeetti. Amyloidikonformaatio voi olla tarkasti säätnyt proteiinien olomuoto, jolla on monia tärkeitä biologisia toimintoja.

Toiminnallisia amyloidirakenteita esiintyy luonnossa aina bakteereista ihmisiin (34). Esimerkiksi lukuisat hormonit ovat varastoituneet eritysrakkuloihin tiiviisti pakkautuneina amyloidilaskoksina. Näihin lukeutuvat muun muassa aivolisäkkeen erittämät kasvuhormoni, kortikotropiini, antiidiureettinen hormoni ja prolaktiini. Eritysvaiheessa amyloidirakenne hajoaa ja peptidihormonit vapautuvat liukoisina verenkiertoon (35).

Lisäksi ihmisen siemennesteessä on amyloidia muodostavia proteiineja. Eturauhasen hapan fosfataasi -proteiinin (prostatic acid phosphata-

se, PAP) proteolyttisistä fragmenteista muodostuvat SEVI-amyloidit ja seminogeliinifragmenteista muodostuvat SEM-säikeet sitoutuvat vaurioituneisiin siittiöihin ja rajoittavat niiden liikkumista, jolloin valkosolut voivat nopeammin poistaa vaurioituneet siittiöt (36).

Toiminnallisten amyloidirakenteiden tutkiminen saattaa auttaa ymmärtämään, kuinka solut kykenevät säätämään laskostumismuutoksia sekä selvittämään, mikä tekee tietyistä laskostumismuutoksista patologisia.

Lopuksi

Proteiinien väärin laskostuminen yhdistää keskushermoston rappeumasairauksia. Näihin sairauksiin ei ole parannuskeinoja ja ne diagnosoidaan usein vasta, kun oireet ovat selviä ja hermosolujen tuhoutuminen laaja-alaista. Niinpä uusien työkalujen kehittäminen laskostumishäiriöiden varhaiseen diagnosointiin ja hoitoon on tarpeen. Haaste on yhteiskunnallisesti merkittävä, sillä väestön ikääntyessä yhä suurempi osa suomalaisista sairastuu tulevaisuudessa proteiinien väärin laskostumisesta johtuviin muistisairauksiin. ■

* * *

Kiitämme Tuomas Haltiaa ja Leena Kontturia artikkelin kommentoinnista sekä aihepiiriin liittyvää tutkimustamme rahoittaneita tahoja: Suomen Akatemiaa, Sigrid Juséliuksen Säätiötä, Helsingin yliopistoa ja Aivot ja mieli -tohtoriohjelmaa.

PINJA KETTUNEN, FM, tohtorikoulutettava

Helsinki Institute of Life Science sekä bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta, Helsingin yliopisto

MARC BAUMANN, FT, dosentti, johtaja

Läketieteellinen tiedekunta, Medicum, biokemian ja kehitysbiologian osasto, kliinisen proteomiikan yksikkö, Helsingin yliopisto

JUHA SAARIKANGAS, FT, dosentti, apulaisprofessori

Helsinki Institute of Life Science, bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta sekä neurotieteen tutkimuskeskus, Helsingin yliopisto
Twitter: @SaarikangasLab

VASTUUTOIMITTAJA

Perttu Lindsberg

SIDONNAISUUDET

Juha Saarikangas: Muut sidonnaisuudet (Oriola osakeomistus)

Pinja Kettunen: Ei sidonnaisuuksia

Marc Baumann: Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Orion Oy, AstraZeneca), muut sidonnaisuudet (Orion Oy osakeomistus)

KIRJALLISUUTTA

1. Chiti F, Dobson CM. Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: a summary of progress over the last decade. *Annu Rev Biochem* 2017;86:27–68.
2. Riek R, Eisenberg DS. The activities of amyloids from a structural perspective. *Nature* 2016;539:227–35.
3. Tanskanen M. "Amyloid" – historical aspects. *IntechOpen, julkaistu verkossa* 12.6.2013. DOI:10.5772/53423.
4. Soto C, Pritzkow S. Protein misfolding, aggregation, and conformational strains in neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci* 2018;21:1332–40.
5. Iadanza MG, Jackson MP, Hewitt EW, ym. A new era for understanding amyloid structures and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018;19:755–73.
6. Bloom GS. Amyloid-beta and tau: the trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA Neurol* 2014;71:505–8.
7. Wolfe KJ, Cyr DM. Amyloid in neurodegenerative diseases: friend or foe? *Semin Cell Dev Biol* 2011;22:476–81.
8. Katsumoto A, Takeuchi H, Tanaka F. Tau pathology in chronic traumatic encephalopathy and Alzheimer's disease: similarities and differences. *Front Neurol* 2019;10:980.
9. Myeku N, Clelland CL, Emrani S, ym. Tau-driven 26S proteasome impairment and cognitive dysfunction can be prevented early in disease by activating cAMP-PKA signaling. *Nat Med* 2016;22:46–53.
10. Lashuel HA, Hartley D, Petre BM, ym. Neurodegenerative disease: amyloid pores from pathogenic mutations. *Nature* 2002;418:291.
11. Anguiano M, Nowak RJ, Lansbury PT, ym. Protofibrillar islet amyloid polypeptide permeabilizes synthetic vesicles by a pore-like mechanism that may be relevant to type II diabetes. *Biochemistry* 2002;41:11338–43.
12. Quist A, Doudevski I, Lin H, ym. Amyloid ion channels: a common structural link for protein-misfolding disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:10427–32.
13. Scheckel C, Aguzzi A. Prions, prionoids and protein misfolding disorders. *Nat Rev Genet* 2018;19:405–18.
14. Aguzzi A, Polymenidou M. Mammalian prion biology: one century of evolving concepts. *Cell* 2004;116:313–27.
15. Polymenidou M, Cleveland DW. Prion-like spread of protein aggregates in neurodegeneration. *J Exp Med* 2012;209:889–93.
16. Aguzzi A, Falsig J. Prion propagation, toxicity and degradation. *Nat Neurosci* 2012;15:936–9.
17. Luk KC, Kehm V, Carroll J, ym. Pathological alpha-synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in non-transgenic mice. *Science* 2012;338:949–53.
18. Costanzo M, Zurzolo C. The cell biology of prion-like spread of protein aggregates: mechanisms and implication in neurodegeneration. *Biochem J* 2013;452:1–17.
19. Cirrito JR, Yamada KA, Finn MB, ym. Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid-beta levels in vivo. *Neuron* 2005;48:913–22.
20. Merezhko M, Brunello CA, Yan X, ym. Secretion of Tau via an unconventional non-vesicular mechanism. *Cell Rep* 2018;25:2027–35.
21. Ciechanover A, Kwon YT. Protein quality control by molecular chaperones in neurodegeneration. *Front Neurosci* 2017;11:185.
22. Joutsen J, Sistonen L. Stressiproteiiniin merkitys ja käyttö lääkekehityksen kohde-molekyyleinä. *Duodecim* 2019;135:1586–94.
23. Vonk WIM, Rainbolt TK, Dolan PT, ym. Differentiation drives widespread rewiring of the neural stem cell chaperone network. *Mol Cell* 2020;78:329–45.
24. Penke B, Bogar F, Crul T, ym. Heat shock proteins and autophagy pathways in neuroprotection: from molecular bases to pharmacological interventions. *Int J Mol Sci* 2018;19:325.
25. Kaushik S, Cuervo AM. The coming of age of chaperone-mediated autophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018;19:365–81.
26. Deng Z, Purtell K, Lachance V, ym. Autophagy receptors and neurodegenerative diseases. *Trends Cell Biol* 2017;27:491–504.
27. Chuang E, Hori AM, Hesketh CD, ym. Amyloid assembly and disassembly. *J Cell Sci, julkaistu verkossa* 13.4.2018. DOI:10.1242/jcs.189928.
28. Sontag EM, Samant RS, Frydman J. Mechanisms and functions of spatial protein quality control. *Annu Rev Biochem* 2017;86:97–122.
29. Nillegoda NB, Bukau B. Metazoan Hsp70-based protein disaggregases: emergence and mechanisms. *Front Mol Biosci* 2015;2:57.
30. Poepsel S, Sprengel A, Sacca B, ym. Determinants of amyloid fibril degradation by the PDZ protease HTRA1. *Nat Chem Biol* 2015;11:862–9.
31. Eisele YS, Monteiro C, Fearn C, ym. Targeting protein aggregation for the treatment of degenerative diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2015;14:759–80.
32. Coelho T, Maia LF, Martins da Silva A, ym. Tafamidis for transthyretin familial amyloid polyneuropathy: a randomized, controlled trial. *Neurology* 2012;79:785–92.
33. Briggs R, Kennelly SP, O'Neill D. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clin Med (Lond)* 2016;16:247–53.
34. Fowler DM, Koulou AV, Balch WE, ym. Functional amyloid—from bacteria to humans. *Trends Biochem Sci* 2007;32:217–24.
35. Maji SK, Perrin MH, Sawaya MR, ym. Functional amyloids as natural storage of peptide hormones in pituitary secretory granules. *Science* 2009;325:328–32.
36. Roan NR, Sandi-Monroy N, Kohgadai N, ym. Semen amyloids participate in spermatozoa selection and clearance. *Elife, julkaistu verkossa* 27.6.2017. DOI:10.7554/eLife.24888.
37. Linse S. Monomer-dependent secondary nucleation in amyloid formation. *Biophys Rev* 2017;9:329–38.
38. Bauerlein FJB, Saha I, Mishra A, ym. In situ architecture and cellular interactions of PolyQ inclusions. *Cell* 2017;171:179–87.
39. Bennett EJ, Bence NF, Jayakumar R, ym. Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates precedes inclusion body formation. *Mol Cell* 2005;17:351–65.
40. Polymenidou M, Cleveland DW. The seeds of neurodegeneration: prion-like spreading in ALS. *Cell* 2011;147:498–508.