

Stressiproteiinit lääkekehityksen kohteena

LuK-tutkielma
Turun Yliopisto
Bioteknologian laitos
Biokemia
04/2024

Nenna Tanskanen

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO

Bioteknologian laitos

TANSKANEN NENNA: Stressiproteiinit lääkekehityksen kohteena

Luk-tutkielma, 20 s.

Biokemia

5/2024

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä.

Stressiproteiineista lämpöstressiproteiinit vaikuttavat eniten solun stressiolosuhteissa. Niiden tehtävä on ylläpitää proteiinitasapainoa solun normaalitilassa ja suojata solua stressiolosuhteiden haittavaikutuksilta. Lämpöstressiproteiinit auttavat proteiineja laskostumaan oikein ja purkavat väärin laskostuneita aggregaatteja. Stressiolosuhteissa ne aiheuttavat lämpöshokkivasteen, jossa lämpöstressiproteiinien tuotanto lisääntyy merkittävästi. Syöpäsoluissa lämpöstressiproteiinien ilmentyminen on lisääntynyt. Erityisesti tämä on liitetty vakaviin syöpämuotoihin, joilla on etäpesäkkeitä ja nopeaa kasvua. Lämpöstressiproteiinien estäjät hidastavat syövän etenemistä ja laskevat lääkeresistenssiä.

Alzheimerin taudissa hermosolujen ympärille ja sisälle muodostuu liukenemattomia plakkeja. Lämpöstressiproteiinit ehkäisevät näiden plakkin muodostumista. Lämpöstressiproteiinien ylituotantoa on tutkittu Alzheimerin eläinkoemalleissa. Ylituotannon on havaittu hidastavan taudin etenemistä. Lisäksi on tutkittu lämpöstressiproteiini90-estäjän aiheuttaman lämpöshokkivasteen vaikutusta taudinkuvaan. Vaste on aiheuttanut muiden lämpöshokkiproteiinien lisä tuotannon, mikä hidastaa taudin etenemistä.

Autoimmunisissa rakkulaihossa sairauksissa on havaittu lämpöstressiproteiinien ylituotantoa ihossa. Näiden proteiinien tarkkaa merkitystä taudinkuvassa ei tiedetä. Lämpöstressiproteiinien estäjillä on kuitenkin havaittu taudin oireita helpottava vaikutus koe-eläinmalleilla.

Syövän hoitoon tarkoitettuja lämpöstressiproteiinilääkkeitä on tutkittu eniten ja osa niistä on päässyt kliinisten tutkimusten vaiheeseen. Muiden sairauksien hoitoon tällaisilla lääkkeillä on paljon mahdollisuuksia, mutta lisätutkimuksia vaaditaan sekä lääkeaihoihin että lämpöstressiproteiinien merkityksen ymmärtämiseen taudinkuvassa.

Avainsanat: lämpöstressiproteiinit, syöpä, Alzheimer, autoimmuunisairaus

Sisällysluettelo

1	Johdanto	4
2	Lämpöstressiproteiinit	5
3	Syöpä	8
3.1	Hsp:n merkitys syövässä	8
3.2	Merkitys lääkekohteena	10
4	Alzheimer	12
4.1	Lämpöstressiproteiinien merkitys sairaudessa	12
4.2	Mahdolliset lääkekohteet	14
5	Autoimmuuniset rakkulaihосairaudet	15
5.1	Hs-proteiinien merkitys taudinkuvassa	15
5.2	Merkitys lääkekohteena	16
5.2.1	Hsp 90	16
5.2.2	Hsp70	17
5.2.3	Merkitys eri sairauksissa	17
5.2.4	Tulevaisuus	19
6	Yhteenveto	20
7	Lähteet	21

1 Johdanto

Stressiproteiineja on paljon erilaisia, mutta tässä tutkielmassa keskityn lämpöstressiproteiinien (*engl. heat shock proteins, Hsp*) merkitykseen lääkekohteena. Lämpöstressiproteiinit ovat stressiproteiineista tärkeimpiä solun stressin vastaisessa tasapainossa ja ovat välttämättömiä solun toiminnalle. Niiden tehtävä on proteiininen väärin laskostumisen ehkäisy ja aktiivisuuden säätely. Lämpöstressiproteiinien toiminta on yhdistetty moniin sairauksiin, joista syöpä, Alzheimer ja autoimmuunisairaudet ovat yleisesti lisääntyneet erityisesti iäkkäämpien ihmisten keskuudessa (Syöpärekisteri). Alzheimerin tauti taas on yleisin dementiaa aiheuttava sairaus ja sen hoidossa ei ole parantavia vaan ainoastaan tautia hidastavia lääkkeitä (Terveyskirjasto). Näiden sairauksien hoitoon kaivataan uusia lääkemahdollisuuksia.

Lämpöstressiproteiinit kuuluvat jokaisen solun stressivasteeseen. Tämän takia niiden toiminta on yhteydessä moniin sairauksiin elimistössä. Tässä tutkielmassa käsitellään kolmea sairautta ja lämpöstressiproteiinien osallisuutta taudinkuvaan. Keskityn tutkielmassa lämpöstressiproteiinien merkitykseen syövässä, Alzheimerin taudissa ja autoimmuunisen rakkulaihossa-sairaudessa. Nämä sairaudet ovat yleisiä ja ne eroavat toisistaan, mikä kuvaa lämpöstressiproteiinien laajoja vaikutuksia. Näiden sairauksien lisäksi on paljon muitakin sairauksia, joihin lämpöstressiproteiinit vaikuttavat, esimerkiksi Parkinsonin tauti. Tässä tutkielmassa käsitelen jokaisen sairauden kohdalla myös lämpöstressiproteiinien merkitystä lääkekohteina ja tutkimuksen tämänhetkistä vaihetta.

2 Lämpöstressiproteiinit

Lämpöstressiproteiinit ovat kaperoneja, jotka ovat mukana proteiinien laskostumisprosessissa. Tämän avulla ne ylläpitävät proteiinihomeostaasia soluissa. Toiminta perustuu denaturoituvien proteiinien sitomiseen, mikä estää niiden aggregoitumisen peruuttamattomasti. (Haslbeck ja Vierling 2015.) Lämpöstressiproteiineilla on toisistaan eriäviä rakenteita, mutta ne toimivat yhdessä säädellessään proteiinien laskostumista (Rosenzweig ja muut 2019).

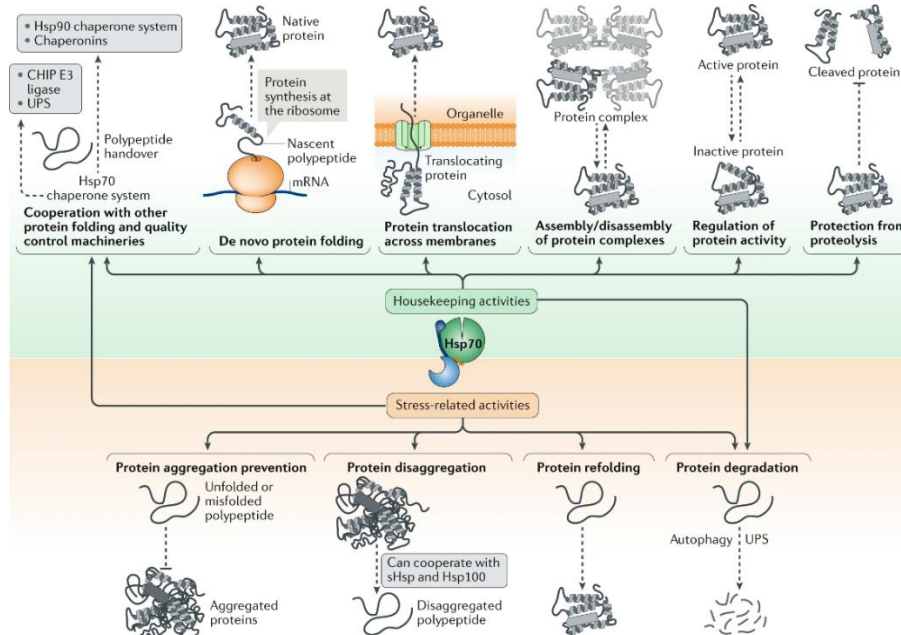
Lämpöstressiproteiinien toiminnalla on suora yhteys ihmisen terveyteen. Jos lämpöstressiproteiinien toiminta on häiriintynyt, se voi johtaa moninlaisiin sairauksiin. Esimerkiksi mutaatiot näitä proteiineja koodaavissa geeneissä ovat syy sairaudelle. (Rosenzweig ja muut 2019.)

Lämpötilan muutokset elimistössä aiheuttavat haasteita solun toiminnalle. Solu on kehittänyt selviytymismekanismeja lämpötilan muutoksien aiheuttamia seurauksia vastaan. Jo muutaman asteen nousu aiheuttaa solussa lämpöshokkivasteen, jonka laukaisee laskostumattomat proteiinit. Proteiinien toiminta on mahdollista vain pienessä lämpötilaikkunassa, koska niiden konformaation muutokset ovat herkkiä lämpötilan vaihtelulle. Lämpöshokkivasteen laukaisevat myös oksidatiivinen stressi, raskasmetallit ja muut myrkylliset aineet. Laskostumattomat proteiinit aktivoivat lämpöshokkifaktorin, joka lisää lämpöstressiproteiinien tuotantoa merkittävästi normaaliin verrattuna. (Richter ja muut 2010.)

Lämpöstressiproteiinien tehtävät jaetaan proteiinihomeostaasia ylläpitäviin ja stressiolosuhteiden toimintoihin (kuva 1). Proteiinitasapainon ylläpitoon liittyviä tehtäviä ovat uusien proteiinien laskostaminen, proteiinien siirtäminen mitokondrioihin, kloroplasteihin ja endoplasmiseen retikulumiin sekä proteiini-kompleksien kokoaminen ja purkaminen. Lisäksi lämpöstressiproteiinit säätelevät proteiinien aktiivisuutta ja siirtävät niitä seuraavalle kaperonille. (Rosenzweig ja muut 2019.)

Stressiin liittyvät toiminnot ovat proteiinien aggregaation eli kerääntymisen estäminen ja kerääntymien liuottaminen (kuva 1). Näiden lisäksi stressiproteiinit uudelleenlaskostavat väärin laskostuneita tai laskostumattomia proteiineja. Ne toimivat myös yhteistyössä proteiineja hajottavien systeemien, esimerkiksi

autofagian ja ubikitiiniproteosomijärjestelmän, kanssa. Yhteistyössä ne hävittävät vialliset proteiinit ja proteiinikertymät. (Rosenzweig ja muut 2019.)



Kuva 1. **Hsp70:n tehtävät solussa.** Hsp70:n tehtävät jaetaan proteiinitasapainoa ylläpitäviin ja stressiolosuhteiden tehtäviin. (Rosenzweig ja muut 2019.)

Lämpöstressiproteiinit jaetaan kuuteen pääryhmään: Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 ja pienet Hsp:t. Jako perustuu proteiinien molekulaariseen painoon kilodaltonneina. (Tukaj ja Sitko 2022). Hsp70- ja Hsp60-perheen proteiinit estävät aggregaatiota auttaen laskostumisessa. Hsp100-perhe irrottaa aggregoituneita proteiineja toisistaan ja Hsp90-perhe auttaa proteiinien kypsymisessä ja aktivoitumisessa. (Lu ja muut 2014.) Lämpöstressiproteiinien substraatteina voivat toimia monenlaiset proteiinit, esimerkiksi erilaiset laskostumattomat peptidiketjut, jotka irtoavat ribosomista, ja erilaiset reaktioiden väliaineet sekä isot proteiinikompleksit. Lämpöstressiproteiinien substraattit voivat olla toimivia tai toimimattomia, kun niitä uudelleen laskostetaan. (Rosenzweig ja muut 2019.)

Lämpöstressiproteiinien pystyvät uudelleen laskostamaan proteiineja ennen niiden kasautumista. Sen mahdollistaa käsiteltävien proteiinien nopea yhteen kiinnittyminen ja oikea-aikainen vapautuminen lämpöstressiproteiinista. Tämän mahdollistaa tarkka allosterinen säätely. Säätelyn takia stressiproteiinin

affiniteetti laskostettavaan proteiiniin kasvaa. Kun ATP kiinnittyy lämpöstressiproteiini-substraatti-kompleksiin, lämpöstressiproteiinin konformaatio muuttuu. Nämä muutokset laskevat affiniteettia niin paljon, että substraatit irtoavat. Allosteeristen säätelyn on esitetty olevan mahdollinen lääkekohte. Tätä vaikeuttaa kuitenkin lämpöstressiproteiinien lähes yhtenevä rakenne, koska silloin vaikuttaminen yhteen tiettyyn proteiiniin vaikeutuu. (Rosenzweig ja muut 2019.)

3 Syöpä

Terveet solut kehittyvät syöpäsoluiksi perimän mutaatioiden takia. Näitä mutaatioita täytyy syntyä useampi solun jakaantumista ja apoptoosia ohjaavissa soluissa, jotta solu alkaa jakautua hallitsemattomasti. Vioittuneet geenit voivat olla syövän syntyyn liittyviä. Tällaisia geenejä kutsutaan onkogeeneiksi. Ne voivat olla myös kasvunrajoitegeenejä, jotka normaalisti toimiessaan estäisivät syövän synnyn. Syöpäkasvain voi kasvaa vain paikallisesti tai se voi lähettää syöpäsoluja verenkierron tai imusuoniston kautta muihin elimiin. Kasvaimen lähettämät syöpäsolut voivat aiheuttavat etäpesäkkeitä eli metastaseja muihin elimiin. Etäpesäkkeitä voi muodostua esimerkiksi maksaan, keuhkoihin ja aivoihin. (Syöpäjärjestöt)

3.1 Hsp:n merkitys syövässä

Lämpöstressiproteiinit (Hsp) osallistuvat syöpäsolujen jakaantumiseen, etäpesäkkeiden muodostumiseen ja syöpälääkeresistenssiin. Lisäksi Hsp:t säätelevät ohjatun solukuoleman aktivoimista. Tutkimuksissa on todettu lämpöstressiproteiinien ylituottoa erilaisissa syövässä ja ylituotto on yhdistetty syövän huonoon ennusteeseen. Toisaalta niiden normaali tehtävä on suojata soluja stressitekijöiltä, jotka voivat aiheuttaa solun muuttumisen syöpäsoluksi. Tällaisia ovat esimerkiksi altistuminen reaktiivisille happiradikaaleille (*engl. reactive oxygen species, ROS*) ja soluvauriot. Hsp:ia käytetään syöpien biomarkkereina, koska ne ovat keskeinen tekijä syövän synnyssä. Monilla erilaisilla Hsp:illa on vaikutusta syöpään ja kerron seuraavaksi muutaman erilaisen esimerkin niistä. (Yun ja muut 2019.)

Hsp27 toimii säätelijänä apoptoosireitissä ja solun jakautumisessa sekä tukirangassa. Tämän proteiinin ylituottaminen solussa on yhdistetty kasvaimen muodostumiseen ja etäpesäkkeisiin. Hsp27:n ylituottoa on esimerkiksi rintasyövässä, paksusuolensyövässä ja lasten akuutissa myeloidisessa leukemiassa. Hsp27 lisääntynyt ilmentyminen johtaa transkriptiotekijän YAP:n siirtymiseen tumaan, mikä aktivoi onkogeenejä ja metastattisia reittejä. Lisäksi yli-ilmentyminen stimuloi epidermaalisen kasvutekijän aikaansaamaa solumigraatiota ja invaasiota. (Yun ja muut 2019.)

Hsp40-perheen proteiinit ovat ylituotettuja monissa syövässä, esimerkiksi maha-, keuhko- ja peräsuolen syövässä. Erityisesti hsp40 ilmenee syövässä, joissa on kehittynyt etäpesäkkeitä imusolmukkeisiin ja alkulähteestä kauempana oleviin elimiin ja se on myös liitetty kyseisten syöpien aggressiivisiin muotoihin. Esimerkiksi Hsp40-perheeseen kuuluvan DnaJC12:n yli-ilmentymisen on transkriptioanalyysissä havaittu liittyvän lymfaattiseen tunkeutumiseen, imusolmukkeiden etäpesäkkeisiin ja mahasyövän etenemiseen. (Yun ja muut 2019.)

Mitokondrioissa Hsp60-perheellä on tärkeä asema proteiinien kuljetus- ja laadunvalvontajärjestelmässä. Se voi toimia joko syövän kehityksen voimistajana tai kasvun estäjänä. Munasarjasyövässä Hsp60 stabiloi mitokondrion homeostaasia ja sen myötä voimistaa kasvaimen kasvua. Glioblastoomassa taas se inhiboituu, mikä aiheuttaa reaktiivisten happiradikaalien (ROS) muodostumisen mitokondriossa. ROS-yhdisteet aikaansaavat reaktiosarjan, joka johtaa syöpäsolujen kasvun estämiseen. Lisäksi ne mahdollisesti lisäävät syöpäsolujen metastaattisia ominaisuuksia. Hsp60-perheeseen kuuluu tyyppin II hetero-oligomeerinen kaperoni, joka laskostaa proteiineja, joita ei laskosta muut yksinkertaisemmat kaperonit. Tällaisista proteiineista STAT3:n epänormaali aktivointi käynnistää transkriptioprosesseja, jotka estävät ohjelmoitua solukuolemaa. (Yun ja muut 2019.)

Syövän hoidossa Hsp90-perhettä on tutkittu lämpöstressiproteiineista eniten. Sen ylituotanto on yhdistetty vakaviin syöpätyyppeihin, esimerkiksi keuhko-, maha- ja rintasyövässä. Hsp90:tä koodaavat geenit on yhdistetty kasvaimen kasvuun, invaasioon, etäpesäkkeisiin, angiogeneesiin ja solukuolemaan. Hsp90 säätelee monien onkogeenisten proteiinien laskostumista ja toimintaa. Se aktivoi myös onkogeenisiä proteiinikinaaseja, jotka helpottavat syöpäsolujen kehittymistä. Lisäksi Hsp90 lisää verisuonten endoteelikasvutekijäreseptorien ilmenemistä ja ylituotto johtaa syövän leviämiseen ja lisääntymiseen. Se myös estää syöväälle välttämättömän mevalonaattireitin rajoittavana tekijänä toimivan entsyymin hajoamista. Hsp90:llä on merkittävä rooli eturauhassyövän muodostumisessa. Se stabiloi androgeenireseptorin konformaatiota. (Yun ja muut 2019.)

3.2 Merkitys lääkekohteena

Lämpöstressiproteiineja käytetään kliinisesti syövän diagnosointiin ja ennusteen biomarkkereina. Niitä voitaisiin mahdollisesti käyttää myös lääkekehityksen kohdemolekyyleinä. (Yun ja muut 2019.) Seuraavaksi esitellään mahdollisia lääkeaineita yllä esiteltyihin lämpöstressiproteiineihin.

Hsp27-estäjiä ovat kversetiini (*quercetin engl.*) ja RP101. Ne estävät syövän kasvua erilaisissa syöpäsolukoissa, kuten leukemiassa ja glioblastoomassa. Leukemiassa kversetiini parantaa apoptoosia ja estää solujen jakaantumista. Lisäksi Hsp-estäjien yhdistelmähoidot estävät syöpäsolujen tunkeutumisen uusiin kudoksiin säätelemällä angiogeneesiin osallistuvien proteiinien ilmenemistä. Kversetiini vaikuttaa myös autofagiaan. Se vähentää Atg7-proteiinin ilmenemistä, joka saa aikaan syöpäsolukuolemaa. Tähän päästään, kun annetaan kversetiinin kanssa sytotoksista t-AUCB:tä. Toinen Hsp27-estäjä RP101 estää sen sitoutumisen substraattiinsa. Tämä johtaa kemoterapian parempaan tehoon ja yhdessä lääkkeet ovat pidentäneet haimasyöpäpotilaiden elinikää. (Yun ja muut 2019.)

Hsp40-perheen proteiinien säätelyn mekanismia ei vielä tarkkaan tiedetä. Näillä proteiineilla on kuitenkin havaittu syöpää estäviä ominaisuuksia. KNK437 on bentsylideenilaktaami-yhdiste ja estää Hsp40-perheen proteiineja muiden Hs-proteiinien ohella. Peräsuolen syövässä KNK437 estää Hsp40-perheeseen kuuluvan DnaJA1:n ilmentymisen, mikä johtaa solusyklin estämiseen. Lisäksi eri Hsp40-proteiinien estäminen herkistää syöpäsoluja, jolloin niihin tehoaa tietyt muut yhdisteet. Esimerkiksi DnaJB8:n esto lisää munuaissyöpäsolujen herkkyyttä deketakselille. Muita Hsp40-proteiinien liittyviä havaintoja on esimerkiksi DnaJB6:n estäminen. Siinä inhibitio aiheuttaa apoptoosin neuroblastoomassa, osteosarkoomassa ja keuhkosyövässä. (Yun ja muut 2019.)

Hsp60:n säätelyllä on havaittu syöpää estäviä ominaisuuksia. Geldanamysiini on Hsp60-estäjä ja aiheuttaa osteosarkoomasolujen tuhoutumisen. Toinen mahdollinen lääkeaine on Myrtin lehdissä oleva prenyloimaton asyylifloroglusini, joka yhdessä Hsp60:n kanssa lisää mitokondrioiden apoptoosia. Melonoomasoluissa Hsp60:n estäminen taas johtaa

kaspaasijärjestelmän voimistumiseen ja sen kautta apoptoosiin. (Yun ja muut 2019.)

Hsp90-estäjiä on löydetty monia erilaisia ja joidenkin kliinisiä tutkimuksia on viety loppuun asti. Ganetespibia on synteettinen Hsp90-estäjä. Sen kliiniset tutkimukset rinta- ja keuhkosyövän hoitoon ovat kesken. Ganetespibia aiheuttaa G2/M-solusyklin pysähtymisen ja estää näin syövän etenemistä. Toisella Hsp90-estäjällä PU-H71:llä on myös syöpää ehkäiseviä ominaisuuksia. Se vähentää B-solureseptorikinaasien ilmenemistä ja ohjaa kroonisessa lymfosyyttileukemiassa syöpäsoluja apoptoosiin. Lisäksi Hsp90β:ta estää gambogiinihappo. Se on luonnontuote ja aiheuttaa solusyklin pysähtymistä ja apoptoosia haimasyövässä. Tämä estää syöpäsolujen lisääntymistä. Eturauhassyöpää vastaan kehitetty Hsp90-estäjä-KU675 ja Hsp90:n substraattien hajottaminen aiheuttaa sytotoksisen vaikutuksen syöpäsoluissa. (Yun ja muut 2019.) Hsp90-estäjien haaste on, että ne voivat aiheuttaa lämpöshokkivasteen eli syövän eloonjäämismekanismiin, joka on yhdistetty pahanlaatuisiin ja korkean kuolleisuuden syöpiin. Lämpöshokkivaste aiheuttaa lämpöshokkifaktori-1:n aktivaation, joka osallistuu syöpäsolujen kasvuun ja selviytymiseen. Tämän haitan ohittamiseksi on kehitetty yhdistelmähoito, jossa vain Hsp90α estetään. Yhdistelmähoidossa on havaittu olevan syövänvastaista vaikutusta. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Lämpöstressiproteiinit ovat merkittävä osatekijä syövän synnyssä ja muissa kehitysvaiheissa, mikä tekee niihin kohdistuvien hoitojen tutkinnasta tärkeää. Hsp-hoidot voivat olla ratkaisu syöpähoitojen nykyisiin rajoituksiin. Hsp-estäjien lääkeresistenssiä vähentävä ominaisuus tuo uusia mahdollisuuksia syöpähoitoihin. Suoraa Hsp-estäjää ei ole vielä hyväksytty syöpälääkkeeksi Yhdysvaltain elintarvike ja lääkeviraston (*engl. U.S. Food and Drug Administration, FDA*) toimesta. Niitä on kuitenkin sekä prekliinisessä että kliinisessä tutkimuksessa useampia. (Yun ja muut 2019.)

4 Alzheimer

Alzheimerin tauti johtaa aivojen vajaatoimintaan vanhemmalla iällä. Sen on ennustettu yleistyvän suuresti ihmisillä tulevaisuudessa. Tautia sairastavien potilaiden aivoissa on todettu erilaisia muutoksia. Niitä ovat esimerkiksi hermosolujen surkastuminen ja hermosäiekimppujen lisääntynyt muodostuminen. Näitä muutoksia aiheuttavat kovat liukenemattomat plakit. Plakkeja on havaittu sekä hermosolujen sisä- ja ulkopuolella. Väärin laskostunut amyloidi muodostaa plakit hermosolujen ulkopuolelle ja tau-proteiinikertymät sisäpuolelle. Tau-proteiinin normaali tehtävä on ylläpitää ja stabiloida mikrotubuluksia aksoneissa. Solunsisäisten tau-kertymät muodostavat myrkyllisiä, liukenemattomia ja kiertyneitä kuituja. Ne aiheuttavat Alzheimerin taudissa kognitiivisten ominaisuuksien heikkenemisen ja hermosolujen rappeutumisen. Perimmäinen taudin kuva on epäselvä, mutta useita erilaisia rakennemuutoksia on yhdistetty tautiin. (Lu ja muut 2014.)

4.1 Lämpöstressiproteiinien merkitys sairaudessa

Lämpöstressiproteiinit on yhdistetty hermosolujen tuhoutumiseen johtavaan neurodegeneratiiviseen prosessiin sitä säätelevänä tekijänä. (Lu ja muut 2014.) Seuraavaksi käsitellään Hsp70:n ja Hsp90:n osallisuutta sairaudessa.

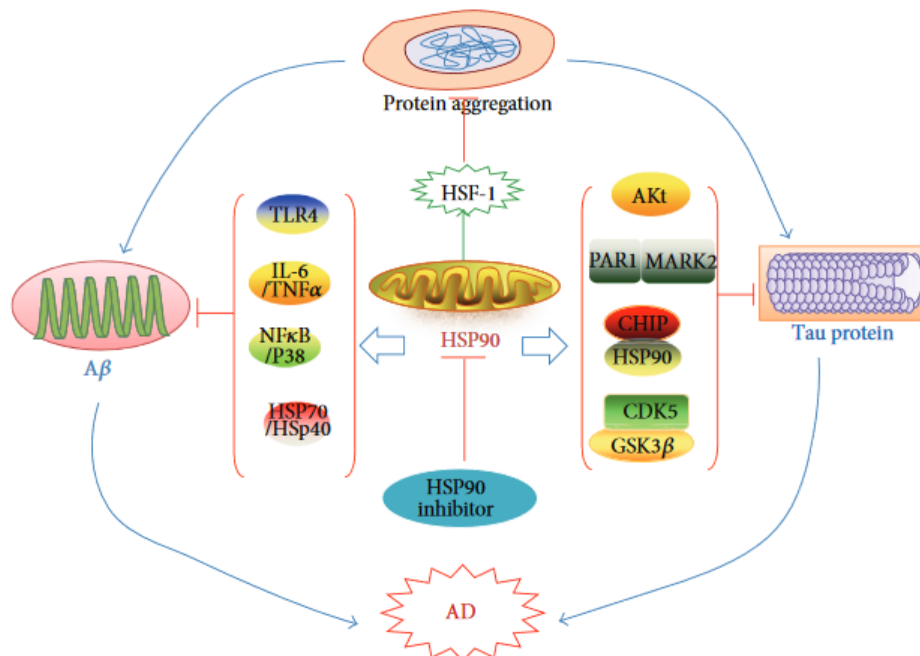
Hsp70:n tehtävä on estää aggregoitumista, auttaa proteiineja laskostumaan ja hajoamaan. Tämä ehkäisee Alzheimerin taudissa muodostuvia proteiiniaggregaatteja. (Lu ja muut 2014.) Alzheimerin taudissa havaittuja muutoksia ovat beeta-amyloidin ($A\beta$) oligomerisaatio ja kertyminen aivoihin, mikä johtaa aggregaattien muodostumiseen ja sen myötä plakin muodostumiseen, synapsien toiminnan ja rakenteen hajoamiseen sekä hermosolukuolemaan (Tanila ja muut 2018). Hsp70 estää $A\beta$:n oligomerisaatiota tunnistamalla sen oligomeerit ja muuttamalla niiden konformaatiota, mikä estää $A\beta$:n toimintaa. (Lu ja muut 2014.)

Hsp 70:n tavoin Hsp90 estää $A\beta$ -peptidien kertymisen amyloidiplakeiksi (kuva 2). Hsp90 sitoutuu väärin laskostuneeseen amyloidiin ja estää sen aggregoitumisen joko ATP-riippuvaisesti muuttaen $A\beta$:n konformaatiota tai ilman ATP:tä. Ei tiedetä kumpaa mekanismia Hsp90 käyttää. Lisäksi Hsp90 lisää interleukiini-6:n ja

kasvainnekroositekijä- α :n (engl. *tumor necrosis factor α* , *TNF α*) tuotantoa. Nämä sytokiinit lisäävät A β -peptidien puhdistumaa ja fagosytoosia aktivoimalla mikrogliaa. (Ou ja muut 2014.)

Hsp70 vaikuttaa myös hermosäikeiden muodostumiseen, joka on lisääntynyt Alzheimerin taudissa. Hsp70 säätelee Tau-proteiinin homeostaasia. Alzheimerin taudissa tau-proteiineja hyperfosforyloituu ja niiden tasapaino häiriintyy. Tämä johtaa tau-proteiinien kertymiseen hermosoluissa. Hsp70 estää kertymien muodostumista purkamalla aggregaatteja. (Lu ja muut 2014.)

Hsp90 on myös mukana tau-proteiinitasapainon säätelyssä (kuva 2). Se muodostaa proteiinikompleksin yhdessä tau-ubikitiiniligaasi-CHIP:n kanssa ja aiheuttaa tau-proteiinien ubikitoinnin ja hajottamisen. Lisäksi CHIP/Hsp90-kompleksi voi uudelleen laskostaa tau-proteiiniaggregaatteja. Tätä kompleksia rajoittaa solukinaasi-Akt. Se hidastaa CHIP/Hsp90-kompleksin toimintaa. Lisäksi on havaittu, että Akt aiheuttaisi tau-proteiinin fosforylaation sellaiseen kohtaan, jota CHIP/Hsp90-kompleksi ei tunnista. (Ou ja muut 2014.)



Kuva 2. **Hsp90:n merkitys Alzheimerin taudinkuvassa.** Hsp90 ehkäisee sekä amyloidi- että tau-proteiiniplakkien muodostumista. (Ou ja muut 2014.)

4.2 Mahdolliset lääkekohteet

Hsp70:n yli-ilmenemistä on tutkittu AD-eläinmalleissa. Sen on todettu suojaavan hermosoluja taudin etenemiseltä. Aiemmin mainittu Hsp70:n luonnollinen tehtävä on estää A β :n oligomerisaation aiheuttamia hermosoluja tappavia plakkeja. Hsp70:n ilmenemisen tehostaminen lisää A β :n poistoa verenkierron kautta ja estää sen kertymistä aivoihin. Tämä voisi estää AD:n etenemisen. (Lu ja muut 2014.)

Hsp70-perheen proteiineilla vaikutukset ovat olleet eri tutkimuksissa vastakkaisia Tau-proteiinin puhdistuman suhteen. Hsp72:n tuoton lisääminen voisi olla mahdollinen lääkekohte hermostojen sisäisten kertymien ehkäisyyn. Hsp70 on taas vastakkaisesti tutkittu hidastavan tau-proteiinien puhdistumaa ja vähentävän sen stabiilisuutta. Hsp70-ATPaasien estäjien on tutkittu edistävän tauproteiini tasapainoa ja tau-proteiinipuhdistumaa. (Lu ja muut 2014.)

Syöpälääkkeiksi kehitettyjä Hsp90-estäjiä on testattu AD-koe-eläimille. Hsp90:n esto voisi johtaa lisääntyneeseen proteiinien hyperfosforylaatioon ja kertymiseen hermosoluihin sekä niiden ulkopuolelle. (Ou ja muut 2014.) On ehdotettu, että solutoksisuus eli solun toiminnalle myrkylliset olosuhteet aiheuttaisi tau-proteiinien hyperfosforylaatiota. Solutoksisuus voisi lisääntyä, jos Hsp90 estetään. (Baumann ja muut 1999.) Estäminen kuitenkin aktivoi lämpöshokkifaktori-1:tä (HSF-1) ja muita lämpöstressiproteiineja, esimerkiksi Hsp70:tä. Tämä voisi vähentää proteiinien kertymistä ja toksisuutta. Aktivoitua lämpöshokkivaste lisää Hsp70:n lisäksi Hsp40:n ja -27:n ilmenemistä. Näiden kaperonien ansioista solun puskurointikapasiteetti kasvaa ja proteiinien tasapainotila palautuu. AD-eläinkokeissa on havaittu Hsp90-estäjän aikaansaamaa proteiinitoksisuuden laskua ja aggregoituneen tau-proteiinin eliminaatiota. Lisäksi tau-proteiinia fosforyloivan Akt:n toiminta häiriintyy, koska se on riippuvainen Hsp90:stä. Tämä johtaa hyperfosforyloituneiden tau-proteiinien vähenemiseen. (Ou ja muut 2014.)

Hsp90:hen vaikuttavien lääkkeiden kliinisen käytön mahdollistaminen edellyttää paljon lisätutkimusta, jotta voidaan määrittää tarkasti niiden vaikutukset elimistöön ja Hsp90:n tarkka osallisuus taudinkuvaan. (Ou ja muut 2014.)

5 Autoimmuuniset rakkulaihосairaudet

Ihon rakkulaisia autoimmunisairauksia ovat epidermolysis *bullosa acquisita* (EBA), rakkulainen pemfigoidi (*engl. bullous pemphigoid, BP*) ja ihokeliakia (*engl. dermatitis herpetiformis, DH*). EBA:ssa ja BP:ssä vasta-aineita syntyy ihon rakenteita kohtaan, mikä aiheuttaa tulehdusta ja rakkuloiden muodostumista. Ihokeliakiassa vasta-aineet kohdistuvat ravinnon gluteeniin. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) on epätyypillisen VII kollageeniin (COL7) autovasta-aineita aiheuttava autoimmuuninen ihосairaus (Tukaj ja Sitko 2022). VII kollageenia on tyvikalvon ja sidekudoksen yhdistävissä rakenteissa ihossa (Pihlajaniemi 2013). Sairautta on kahta varianttia, joista toinen ilmenee mekaanisina rakkuloina ja toinen tulehduksellisesti. Jälkimmäinen muistuttaa BP-sairautta, jossa anti-COL7-IgG-sitoutuminen aiheuttaa reaktiivisten happiradikaalien muodostumisen ja neutrofiilien aiheuttaman matriksin metalloproteiinaasien ilmentymisen. Nämä johtavat ihon epidermaalisen liitoksen hajoamiseen ja rakkulan muodostumiseen. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Bullous pemphigoid (BP) on yleisin autoimmuuninen rakkulaihосairaus. Sille tyypillisiä oireita ovat kireät rakkulat ja kudokseen sitoutuneet autovasta-aineet. Taudinkuva on silti suurimmalta osin selvittämättä, vaikka sekä synnynnäisen että adaptiivisen immuunipuolustuksen tiedetään osallistuvan siihen. Näiden sairauksien hoito on vaikeaa, koska sairaus uusiutuu helposti hoidon jälkeen ja hoidoilla on monia sivuvaikutuksia. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Dermatitis herpetiformis (DH) on keliakiaan liitetty autoimmuuninen rakkulainen iho-oire. Sen aiheuttaa gluteiinin aktivoimat IgA-autovasta-aineet epiteelin ja kudoksen transglutamiinia vastaan. (Tukaj ja Sitko 2022.)

5.1 Hs-proteiinien merkitys taudinkuvassa

Lämpöstressiproteiinit ovat merkittävä patofysiologinen tekijä autoimmuunisissa rakkulasairauksissa. Autovasta-aineet aiheuttavat tulehdusvastetta ihossa. Lisäksi hsp90:n pitoisuus orvaskedessä on koholla ja veressä alhaisemmalla tasolla kuin terveellä kontrollilla. Lämpöstressiproteiinit ovat tärkeä osa tulehduksellisia immuuniprosesseja. Tulehdusreaktion signaalimolekyylit ja

transkriptiofaktorit vaativat lämpöstressiproteiineja toimiakseen. Lämpöstressiproteiinit toimivat myös immuunijärjestelmän vahvistajina. Ne aktivoivat tulehdusta edistäviä sytokiinejä, toimivat vuorovaikutuksessa autoantigeenisten polypeptidien kanssa ja osallistuvat antigeenien esittelyyn. (Tukaj ja muut 2015.)

5.2 Merkitys lääkekohteena

Lämpöstressiproteiinien merkitystä tulehduksellisissa rakkulasairauksissa on tutkittu, jotta niiden mahdollisuutta lääkekohteena voidaan arvioida. Lämpöstressiproteiinien toiminta on yhdistetty autoimmuunireaktioiden syntyyn, koska niiden on tutkittu toimivan immuunijärjestelmän vahvistajina. Lisäksi ne esittelevät autoantigeneja. (Tukaj ja muut 2015).

Lämpöstressiproteiinien estäjähoitoja on tutkittu *in vitro*, *ex vivo* ja *in vivo*. Tutkimuksista on saatu vahva näyttö hoidon tehokkuudesta. Estäjät häiritsevät autoimmuunivälitteisen rakkulan muodostumisen avaintekijöitä. Nämä tutkimukset tukevat hoidon kliinistä käyttöä, kun pohjalla on jo lämpöstressiproteiinien kliinisiä syöpätutkimuksia. Samojen lääkeaineiden tutkimuksia on tehty jo syöpälääketutkimuksen yhteydessä, esimerkiksi systeemisen toksisuuden ja sivuvaikutusten osalta. (Tukaj ja muut 2015.)

5.2.1 Hsp 90

Lämpöstressiproteiini 90 (Hsp90) -estäjä sitoutuu ATP-sitomispaikan N-terminaaliseen domainiin. Sen on kuitenkin yksin havaittu olevan toksinen, farmakokineettiseltä profiililtaan huono ja tehoton. Tämä johtuu esimerkiksi siitä, että se voi aiheuttaa lämpöshokkivasteen. Tämän haitan ohittamiseksi on kehitetty yhdistelmähoito, jossa Hsp90 α estetään. Tehokkaampia ja turvallisempia inhibiittorivaihtoehtoja etsitään. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Hsp90-inhibiittorin aktivoiman lämpöshokkivasteen on uskottu aiheuttavan immunosuppressiivisen vaikutuksen autoimmunisairauksissa. Lämpöshokkifaktori-1 säätelee useita immunosäätelyyn liittyviä geenejä, esimerkiksi Hsp70- ja IL-10-geenejä. (Tukaj ja Sitko 2022.)

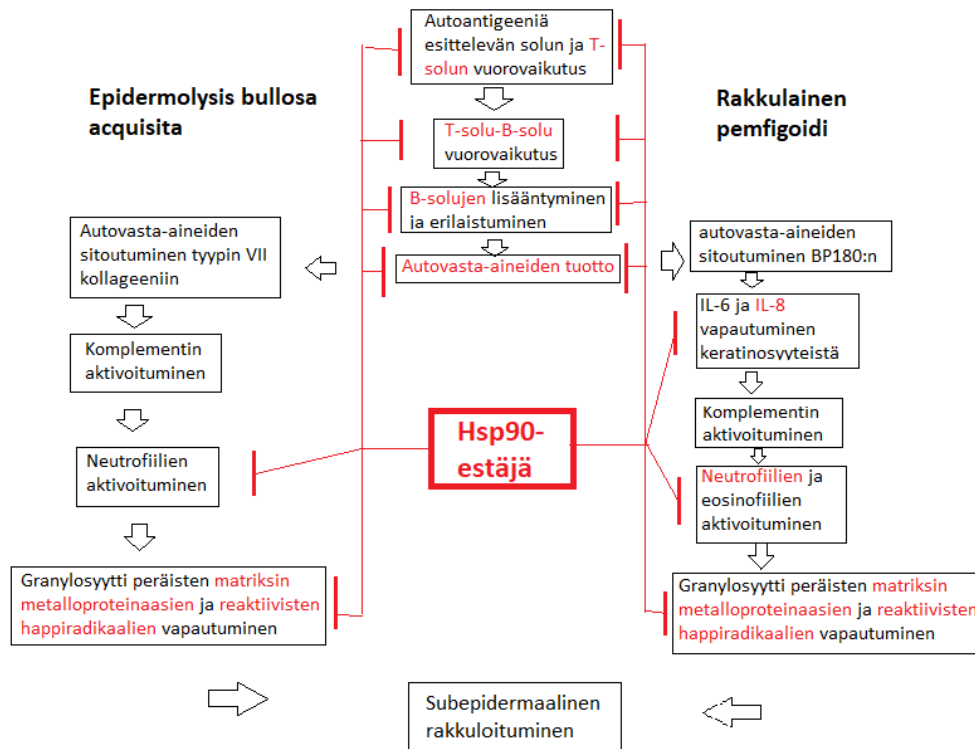
5.2.2 Hsp70

Lämpöstressiproteiini-70 (Hsp70) -estäjän mahdollisuutta lääkkeenä tutkitaan syövän hoidossa, mutta sen mahdollisuutta autoimmuunisten ihosairauksien hoidossa ei ole selvitetty. Hsp 70 inhiboi NF-kB:n aktiivisuutta. Se on tärkeä tekijä tulehdusreaktiossa ja autoimmunitetissa. DNA-rokotteilla, jotka koodaavat lämpöstressiproteiini-70:tä, on potentiaalia autoimmuunisten sairauksien hoidossa. (Tukaj ja Sitko 2022.)

5.2.3 Merkitys eri sairauksissa

Bullous pemphigoidissa Hsp90:n inhibition on todettu vähentävän Nf-kB:n aktivaatiota ja IL-8 ekspressiota eläinkokeissa. IL-8 on tärkeä kemokiini oireiden synnyssä. Lisäksi Hsp90:tä estävän 17-DMAG-hoidon on yhdistetty Hsp70:n lisääntymiseen soluissa. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Hsp90-inhibiittori hoitoa on tutkittu COL7-immunisoiduilla hiirillä. Niissä on tutkittu sekä 17-DMAG- ja TCBL-145-inhibiittoreita. Molemmat inhibiittorit ovat tehonneet sairauden oireisiin ja vähentäneet anti-COL7-IgG:n määrää sekä vähentäneet neutrofiilien kertymistä kudokseen. (Tukaj ja Sitko 2022.)



Kuva 3. Hsp90:n merkitys Epidermolysis bullosa acquisita ja Bullous pemphigoid sairauksien taudinkuvassa. Hsp90 ehkäisee monia rakkuloiden muodostumista aiheuttaviin tekijöitä. (Alkuperäinen Tukaj ja Sitko 2022, muokattu 08.03.2024)

Estäjähoidot eivät vaikuttaneet plasmakomponenttien ja keskus-B-solujen toimintaan, mutta B-solujen ja T-solujen aktivaatio mahdollisesti laski niiden vaikutuksesta. 17-DMAG-inhibiittoriterapia aiheutti lämpöstressiproteiini-vasteen muodostumisen ja Hsp70:n sekä B_{reg}-solujen lisääntymiseen. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Toinen tutkittu inhibiittori 17-AAG lisättiin suoraan ihovaurioon. Sen huomattiin helpottavan oireita ilman systeemistä toksisuutta EBA-malleissa. Hoito vähensi neutrofiilien ja NF-κB-aktivaation aiheuttamaa ihon infiltraatiota. Lisäksi paikallinen hoito lisäsi Hsp 70:tä ihosta. Hsp70:n merkitystä taudin kehityksessä ei tiedetä tarkkaan, mutta EBA-potilailla veren anti-Hsp70-IgG-autovasta-aineet ovat lisääntyneet verrattuna terveisiin yksilöihin. Lisäksi anti-Hsp70 IgG:llä käsitellyille hiirille tuli voimakkaampi sairauden muoto. Näiden perusteella uskotaan, että autovasta-aineilla on merkitys EBA:n kehityksessä. (Tukaj ja Sitko 2022.)

Toisin kuin muilla esitellyillä ihosairauksilla ihokeliakiassa kiertävien HSp60:n, Hsp70:n ja Hsp90:n autovasta-aineiden määrä oli merkittävästi koholla taudin aktiivisessa vaiheessa. Kun oireet ovat vähentyneet tai laantuneet, potilaiden anti-Hsp-autovasta-aineiden sekä eTG- ja tTG-vasta-aineiden määrät ovat laskeneet merkittävästi. Tämän takia kyseiset autovasta-aineet liittyvät todennäköisesti DH:n kehittymiseen ja ylläpitoon. Näiden havaintojen pohjalta anti-Hsps-autovasta-aineita sekä eTG- ja tTG-vasta-aineita voitaisiin käyttää taudin uusina biomarkkereina. (Tukaj ja Sitko 2022.)

5.2.4 Tulevaisuus

Hsp:n aktiivisuuden tai ilmentymisen muuntaminen on lupaava suunta autoimmuunisten rakkulaihosairauksien hoidossa. Hoidon validointi vaatii kuitenkin vielä lisää kehitystä niin tehon, turvallisuuden kuin optimaalisen annostuksen osalta pidempiaikaisessa käytössä. Validointi vaatisi lisää tutkimusta kaperonien merkityksestä autoimmuunisten rakkulaihosairauksien patogeenisissä. Vaikka sairauteen on liitetty nousseet ihon Hsp90/70-tasot, se ei riitä lopulliseen johtopäätökseen niiden osallisuudesta patogeenisiin. Muutos Hsp90/70:n toiminnassa voi esimerkiksi johtua toisesta mekanismista, joka aiheuttaa taudin. Tämä tarkoittaisi sitä, että Hsp90/70:n ylituotto johtuisi tuntemattomasta taudin aiheuttajasta. On tärkeää selvittää Hsp90/70:n merkityspatogeenisissä, koska Hsp90/70 vaikuttaa nopeasti ja tehokkaasti stressin ensivasteeseen ja mahdollistaa vaurion korjaamisen. (Tukaj ja Sitko 2022.)

6 Yhteenveto

Yhteinen haaste lämpöstressiproteiineihin vaikuttavien lääkkeiden kehitykselle on Hsp:n monenlaiset vaikutukset. Toisten sairauksien taudinkuvassa tietyt Hsp:t hidastavat etenemistä, mutta toisissa sairauksissa epänormaali ilmentyminen edistää patogeneesiä. Esimerkiksi Alzheimerin taudissa Hsp:n toiminta ehkäisee taudin etenemistä, kun taas syövässä Hsp:tä pyritään estämään. Syövän hoitoon kehitetyt Hsp-estäjät ovat ratkaisu nykyisten hoitojen rajoitukseen. Nykyisten hoitojen lääkeresistenssiä elimistössä olisi mahdollista laskea Hsp-estäjien avulla. Syöpään kehitetyistä lääkkeistä Hsp90-estäjien tutkimukset myös Alzheimerin hoitoon ovat tuoneet lupaavia tuloksia. Lisätutkimuksia kuitenkin vaaditaan Hsp-estäjien laajempien vaikutusten kartoittamiseen elimistössä. Rakkulaisten ihosairauksien hoidossa Hs-proteiineihin vaikuttaminen nähdään potentiaalisena tulevaisuuden hoitomuotona. Lisätutkimuksia kuitenkin tarvitaan, jotta saadaan tarkempaa tietoa Hs-proteiinien merkityksestä näiden sairauksien patogeenisissä. Lisäksi haasteena on lääkkeiden mahdollinen toksisuus, jonka aiheuttaa useimmiten lämpöshokkivaste.

7 Lähteet

- Haslbeck, M. & Vierling, E. (2015) A first line of stress defense: Small heat shock proteins and their function in protein homeostasis. *J Mol Biol* **427**:1537–1548.
- Lu, R.-C., Tan, M.-S., Wang, H., Xie, A.-M., Yu, J.-T. & Tan, L. (2014) Heat shock protein 70 in Alzheimer's disease. *BioMed Res Int* **2014**:435203.
- Ou, J.-R., Tan, M.-S., Xie, A.-M., Yu, J.-T. & Tan, L. (2014) Heat shock protein 90 in Alzheimer's disease. *BioMed Res Int* **2014**:796869.
- Richter, K., Haslbeck, M. & Buchner, J. (2010) The heat shock response: Life on the verge of death. *Mol Cell* **40**:253–266.
- Rosenzweig, R., Nillegoda, N., Mayer, M. & Bukau, B. (2019) The Hsp70 chaperone network. *Nat Rev Mol CELL Biol* **20**:665–680.
- Tukaj, S. & Sitko, K. (2022) Heat Shock Protein 90 (Hsp90) and Hsp70 as Potential Therapeutic Targets in Autoimmune Skin Diseases. *Biomolecules* **12**.
- Tukaj, S., Zillikens, D. & Kasperkiewicz, M. (2015) Heat shock protein 90: A pathophysiological factor and novel treatment target in autoimmune bullous skin diseases. *Exp Dermatol* **24**:567–571.
- Yun, C. W., Kim, H. J., Lim, J. H. & Lee, S. H. (2019) Heat Shock Proteins: Agents of Cancer Development and Therapeutic Targets in Anti-Cancer Therapy. *Cells* **9**.
- Tanila, H., Hiltunen, M., Myllykangas, L. (2018) Alzheimerin taudin patofysiologia – mitä uutta? *Lääketieteellinen aikakauslehti Duodecim* **134**(24):2511–8
<https://www.duodecimlehti.fi/duo14656> (Luettu 25.01.2024)
- Suomen Syöpärekisteri (2021) <https://syoparekisteri.fi/tilastot/syopa-suomessa/>
(Luettu 05.02.2024)
- Juva, K. (2021) Alzheimerin tauti. Lääkärikirja Duodecim
<https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00699> (Luettu 05.02.2024)
- Pihlajaniemi, T. (2013) Soluvälitteisen tutkimuksen monet ulottuvuudet. *Lääketieteellinen aikakauslehti Duodecim* **129**(21):2262–72
<https://www.duodecimlehti.fi/duo11296> (Luettu 06.02.2024)
- Syöpäjärjestöt: Kaikki syövästä <https://kaikkisyovasta.fi/tietoa-syovasta/mika-on-syopa/>
(Luettu 27.02.2024)

Baumann, M., Tienari, P., Haltia, M. (1999) Käsitukset Alzheimerin taudin patogeenisistä muuttumassa. *Lääketieteellinen aikakauslehti Duodecim* 115(7):767- <https://www.duodecimlehti.fi/duo90192> (Luettu 06.02.2024)