

# Neurotrofiset kasvutekijät hermoston kehityksessä ja muovautumisessa

*Matti S. Airaksinen, Urmas Arumäe, Heikki Rauvala ja Mart Saarma*

Neurotrofiset tekijät ovat hermosolujen kuolemaa (apoptoosia) estäviä molekyylejä, joista tunnetuimpia ovat neurotrofiinit, gliasolulinjaperäinen neurotrofinen tekijä- eli GDNF-perhe ja neurokiinit. Niillä on vaikutuksia myös hermoston ulkopuolella. Vaikka eri tekijäperheiden jäsenet ovat rakenteellisesti erilaisia ja signaloivat erityyppisten reseptorien välityksellä, niiden vaikutukset hermosoluihin ovat samankaltaisia. Neurotrofisten tekijöiden tärkein biologinen tehtävä näyttää olevan säädellä kehityksen aikana kutakin kudosta hermottavien hermosolujen lukumäärää. Erityisesti ääreishermostossa kukin neurotrofinen molekyyli on tärkeä tiettyjen toiminnallisesti erilaistuneiden hermosolujen säilymiselle ja yhteyksien muodostumiselle niiden kohdekudokseen. Sen sijaan keskushermostossa solukuoleman esto ei yleensä riipu vain yhdestä tekijästä. Miten nämä tekijät säätelevät hermosolujen apoptoosia, on yhä suurelta osin ratkaisematta. Neurotrofiset tekijät säätelevät myös hermosolujen välisten yhteyksien muovautumista (plastisuus) aikuisella ja osallistuvat siten korkeampiin aivotoimintoihin, kuten muistiin ja oppimiseen.

## Neurotrofiset tekijät

Kasvutekijämolekyylejä tunnetaan jo satoja, ja monet niistä vaikuttavat hermoston. Kuitenkin eräät kasvutekijäperheet – neurotrofiinit, gliasolulinjaperäinen neurotrofinen tekijä ja neurokiinit – vaikuttavat erityisesti hermoston. Ne vaikuttavat hermoston kehityksen eri vaiheissa, mutta koska niiden parhaiten tunnettu vaikutus on kehityksen aikaisen luonnollisen solukuoleman estäminen, niitä kutsutaan yhteisesti neurotrofisiksi tekijöiksi.

Ns. kohde-elinhypoteesin mukaan (kuva 1) lähes kaikki hermosolujoukot tarvitsevat ulkopuolisia neurotrofisia tekijöitä pysyäkseen elossa ja kehittyäkseen normaalisti (Barde 1989, Arumäe ym. 1997). Kohde-elin, johon hermosolun ulokkeet kasvavat, muodostaa näitä tekijöitä ainoastaan rajallisen määrän, joka ei riitä kaikille syntyneille soluille, joten yli puolet niistä kuolee neurotrofisten tekijöiden »nälkään», mitä kutsutaan ohjelmoituneeksi solukuolemaksi. Tämä hypoteesi on osoitettu oikeaksi toi-

mintaa estävien vasta-aineiden, soluviljelmien ja myöhemmin poistogeenisten hiirien avulla useantyyppisten ääreishermoston solujen osalta.

Onko hermosolujen liikatuotto turhaa? Koska erilaistuneet hermosolut eivät yleensä pysty enää jakautumaan sen jälkeen, kun ne ovat alkaneet kasvattaa ulokkeita, solujen liikatuotanto ja ylimäärän poistaminen ohjatusti kohdekudoksen tuottamien troofisten tekijöiden avulla näyttäisi olevan ainoa tapa aikaansaada tasapaino kohdekudoksen koon ja toiminnallisten vaatimusten ja sitä hermottavien solujen määrän välillä.

Viime aikoina on selvinnyt, että neurotrofisten tekijöiden toiminta ja merkitys on monimutkaisempi ja osin paljon ajateltua laajempi: nämä tekijät osallistuvat moniin hermosolun elämän vaiheisiin (kuva 2, taulukko 1), kuten esiasteiden jakaantumiseen ja vaellukseen, hermosolujen kypsymiseseen, ulokkeiden haaroittumiseen ja synapsien muodostumiseen sekä sy-

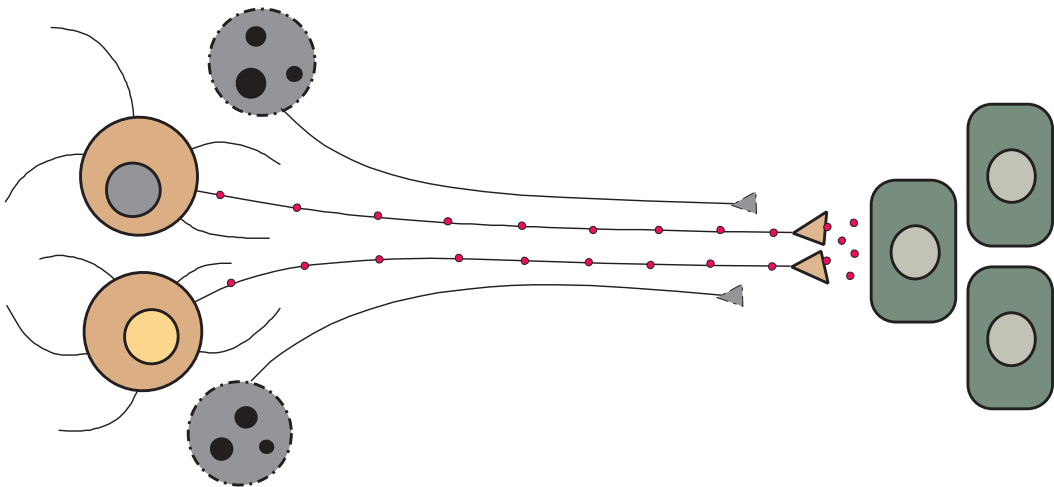
napsivälityksen tehokkuuden säätelyyn. Ne voivat myös suojata hermosoluja erilaisissa vaurioitiloissa (ks. Castrén ja Lindholm, tässä numerossa).

## NGF-perhe eli neurotrofiinit

Rita Levi-Montalcini ja Victor Hamburger kuvasivat ensimmäisen, sympaattisia ja aistiermosoluja ylläpitävän ja niiden erilaistumista lisäävän hermokasvutekijän (NGF) yli 45 vuotta sitten (Levi-Montalcini 1987). NGF- eli neurotrofiiniperheeseen kuuluu lisäksi aivoperäinen neurotrofinen tekijä (BDNF), neurotrofiini 3 (NT-3) ja NT-4 (Lewin ja Barde 1996). Neurotrofiinit ovat pieniä emäksisiä polypeptidejä, jotka sitoutuvat dimeereinä kahdentyyppisiin reseptoreihin. Ne sitoutuvat heikosti p75-neurotrofiinireseptoriin, joka kuuluu tuumorinekroositekijä- eli TNF-reseptoriperheeseen (Chao 1994), mutta voimakkaasti Trk-reseptorikinasiperheen jäseniin, joiden kautta neurotrofiinien pääasiallinen signalointi tapahtuu (kuva 3) (Barbacid 1994). NGF aktivoi TrkA-reseptoria, BDNF ja NT-4 TrkB:tä ja NT-3 pääasiallisesti

TrkC:tä. Lisäksi NT-3 voi sitoutua TrkA:han ja TrkB:hen. Neurotrofiinin sitoutuminen saa aikaan Trk-reseptorin dimerisaation, sen solunsäisen osan tyrosiinien transfosforylaation ja useiden signaalintiketujen aktivoitumisen (Kaplan ja Miller 1997). TrkB- ja TrkC-reseptoreista syntyy vaihtoehoisen silmukoitumisen seurauksena myös muotoja, joista puuttuu solunsäisen tyrosiinikinaasiosa. p75- ja Trk-reseptorit toimivat keskenään ilmeisesti eri tavoin eri soluissa, mutta ainakin p75 edistää NGF:n sitoutumisen spesifisyyttä ja tehokkuutta, vaikkei se olekaan välttämätön Trk-reseptorien signaloinnille (Frade ja Barde 1997).

Sympaattiset ja kipua välittävät sensoriset hermosolut, jotka ilmentävät TrkA-reseptoria, kuolevat, jos eläimiin ruiskutetaan NGF-vastaaineita (Levi-Montalchini 1987). Siten ei ollut yllätys, että sekä NGF- että sen reseptori TrkA-poistogeenisiltä hiiriltä nämä hermosolut puuttuvat kokonaan (taulukko 1). TrkA-geenin mutaatio aiheuttaa ihmisille kipuaistin ja hikirauhasten toiminnan synnynnäisen puutoksen (Wood 1996). Myös hiirillä, joilta p75-reseptorin solunulkoista osaa koodaava alue on pois-



**Kuva 1.** Kohde-elinyhpyoteesi. Hermosolut (vasemmalla) muodostavat ulokkeita ja hermopäätteitä kohdekudukseen (oikealla), joka erittää pieniä määriä neurotrofisia tekijöitä (punaiset pisteet). Ne sitoutuvat hermopäätteiden pinnalla spesifisiin reseptoreihin ja vaikuttavat mm. estämällä solukuolemaa. Solut, jotka eivät saa riittävästi näitä kasvutekijöitä, kuolevat apoptoottisesti (harmaat solut). Tämä johtaa tasapainoon kohdekudoksen koon ja sen hermotuksen määrän välillä.

tettu, esiintyy puutteita NGF-riippuvaisissa hermoissa (Snider 1994). p75 osallistuu myös hermosolujen apoptoosiin.

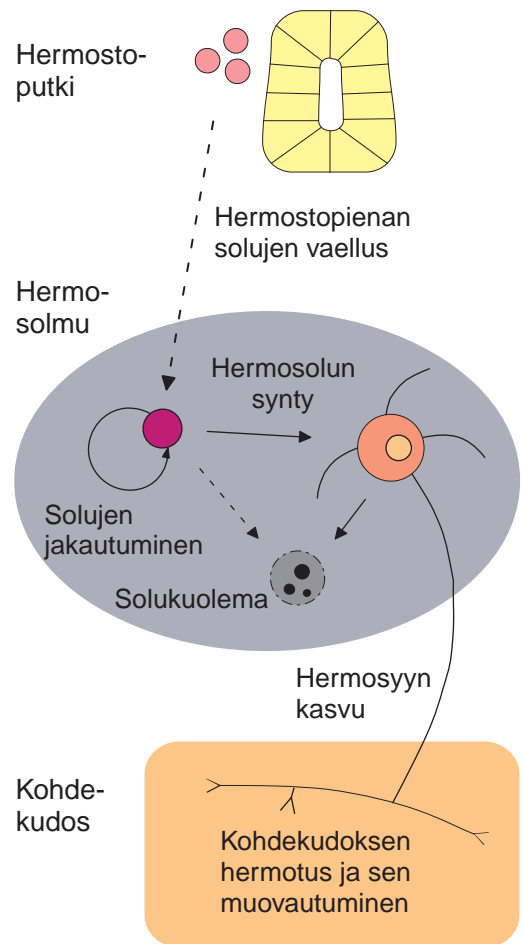
Poistogeenisten hiirien avulla selvisi, että aioperäinen hermokasvutekijä BDNF ja sen reseptori TrkB ovat välttämättömiä etenkin tasapaino- ja makuaistia välittävien sensoristen hermosolujen kehittymiselle (Fritzsch ym. 1997). BDNF- ja TrkB-poistogeenisillä hiirillä esiintyy lieviä puutteita myös muissa sensorisissa hermosolmukkeissa sekä aivohermosolujen hienorakenteessa ja erilaistumisessa (taulukko 1). NT-4-poistogeenisillä hiirillä ilmenee vain lievää solukatoa kieli-kita- ja kiertäjähermojen (aivohermot IX–X) sensorisissa hermosolmuissa. Vaikka NT-4:llä ja BDNF:llä on yhteinen reseptori (TrkB, kuva 3), niistä riippuvaiset solut eivät ole samoja, koska hermosolujen kato TrkB-poistogeenisillä hiirillä on BDNF- ja NT-4-poistogeenisten hiirien puutosten summa (Fritzsch ym. 1997).

Hiirillä, joilta puuttuu NT-3 tai sen reseptori TrkC, esiintyy liikkeen koordinaatiohäiriö lihastuntoaistin hermotuksen (ja lihaskäämien) puuttumisen seurauksena (Snider 1994). Hiiriltä puuttuu myös ihon värinätunto- ja kuuloaistinsolujen hermotus (Airaksinen ym. 1996, Fritzsch ym. 1997). Hiiret kuolevat pian syntymän jälkeen ilmeisesti sydämen kehityshäiriöiden takia (Tessarollo ym. 1997). NT-3-poistogeenisiltä hiiriltä puuttuu 70 % selkäydinhermosolmun soluista, ja ne kuolevat aikaisemmin kuin TrkC-poistogeeniset hiiret, joilta puuttuu vain 30 % vastaavista soluista (taulukko 1). Ero johtuu siitä, että NT-3 vaikuttaa hermosolmun varhaiskehityksessä muiden Trk-reseptorien kautta (kuva 2) estämällä esiasteiden jakautumista tai apoptoosia (kuva 1) (Farinas ym. 1996, ElShamy ym. 1998).

## GDNF-perhe

GDNF ylläpitää viljeltyjä väliaivojen dopamiinihermosoluja ja estää niiden kuolemisen Parkinsonin taudin kokeellisissa malleissa. Se on myös tehokas aivojen noradrenergisia ja selkäytimen motoneuroneja ylläpitävä tekijä (Saarma ja Arumäe 1999). GDNF ja perheen muut

jäsenet neurturiini (NRTN), persefiini ja artemiini (Baloh ym. 1998) kuuluvat kysteiinien järjestyksen perusteella transformoivan kasvutekijä beetan suurperheeseen (Ibáñez 1998). Kaikki GDNF-perheen jäsenet signaloivat Ret-tyrosiini-kinasaasin aktivoinnin kautta, mitä varten ne sitoutuvat ensin spesifisiin GFR $\alpha$ -apureseptoreihinsa, jotka ovat kiinni glykosyyli-fosfatidyyli-inositoli- eli GPI-ankkurilla solun pinnalla (kuva 3). GDNF sitoutuu parhaiten GFR $\alpha$ 1:een ja NRTN GFR $\alpha$ 2:een, kun taas GFR $\alpha$ 3 on artemiinin ja GFR $\alpha$ 4 persefiinin reseptori (Baloh ym. 1998).



**Kuva 2.** Kaavio ääreishermoston hermosolun elämän vaiheista, joihin neurotrofisten tekijöiden tiedetään vaikuttavan. Tekijät osallistunevat vastaaviin vaiheisiin myös keskushermoston kehityksessä.

Taulukko 1. Neurotrofiset tekijät ja niiden reseptorit – geenin poiston vaikutus hiirillä.

<b>Tekijä tai reseptori</b>	<b>Ilmiasu</b>	<b>Ääreishermosto (hermosolujen puutos, %)</b>	<b>Keskushermosto</b>	<b>Muuta</b>
NGF	Kipuaistin puute, letaali <P30	Sympaattisen ja myeliinituettoman sensorisen hermotuksen puutos (ns. C-hermosyyt, DRG –70 %)	Etuaivojen kolinerginen hermotushäiriö	
BDNF	Tasapainohäiriö, letaali P10–20	Tasapaino- ja makuaistin sensorisen hermotuksen puutos (tasapaino –85 %, kieli-kita- ja kiertäjähermojen alahermosolmut –45 %, SCG +35 %)	Pikkaivojen ja interneuronien kypsyminen	
NT-3	Ei lihaskoordinaatiota, letaali P0–1	Lihäs-, kuulo- ja värinäntuntoaistin sensorisen hermotuksen puutos (DRG –70 %, kuulo –85 %, SCG –50 %)		Sydämen kehityshäiriöt
NT-4	Normaali	Kieli-kita- ja kiertäjähermojen alahermosolmut (–40 %)		
TrkA	Kipuaistin puute, letaali <P30	Sympaattisen ja myeliinituettoman sensorisen hermotuksen puutos (ns. C-hermosyyt, DRG –70 %)	Etuaivojen kolinerginen hermotushäiriö	
TrkB	Tasapainohäiriö, letaali P10–20	Tasapaino- ja makuaistin sensorisen hermotuksen puutos (tasapaino –90 %, kieli-kita- ja kiertäjähermojen alahermosolmut –90 %)		
TrkC	Ei lihaskoordinaatiota, letaali P1–4	Lihäs-, kuulo- ja värinäntuntoaistin sensorisen hermotuksen puute (DRG –30 %, kuulo –70 %, SCG normaali)		Sydämen kehityshäiriöt
p75	Normaali, ihon haavaumat	Lievä sympaattisen ja kipuhermotuksen puutos (DRG –50 % mutta (SCG +70 %)	25 % enemmän etuaivojen kolinergisia soluja	
CNTF	Lievä lihasheikkous aikuisena		Lievä motoneuronikato aikuisena	
LIF	Normaali			Vähän veren kantasoluja
CNTRF $\alpha$	Letaali P0		Motoneuronien puute (–40 %)	
LIFR $\beta$	Letaali P0		Motoneuronien puute (–40 %)	Kohdun ja luuston kehityshäiriö
GDNF	Letaali P0	Suolen hermopunos puuttuu (SCG –30 %)		Munuaiset puuttuvat
NRTN	Kuivasilmäisyys, normaali kasvu	Parasympaattisen hermotuksen puutos (kyynel –100 %, ohutsuoli –40 %)		
GFR $\alpha$ 1	Letaali P0	Suolen hermopunos puuttuu, SCG normaali		Munuaiset puuttuvat
GFR $\alpha$ 2	Kuivasilmäisyys, kasvuhäiriö (60 % P40)	Parasympaattisen hermotuksen puutos (kyynel –100 %, sylkirauhanen –80 %, ohutsuoli –50 %)		
Ret	Letaali P1	Suolen hermopunos ja sympaattinen SCG puuttuvat		Munuaiset puuttuvat

DRG = selkäydinhermosolmu, SCG = ylin sympaattinen kaulahermosolmu; muut lyhenteet, ks. kuva 3.

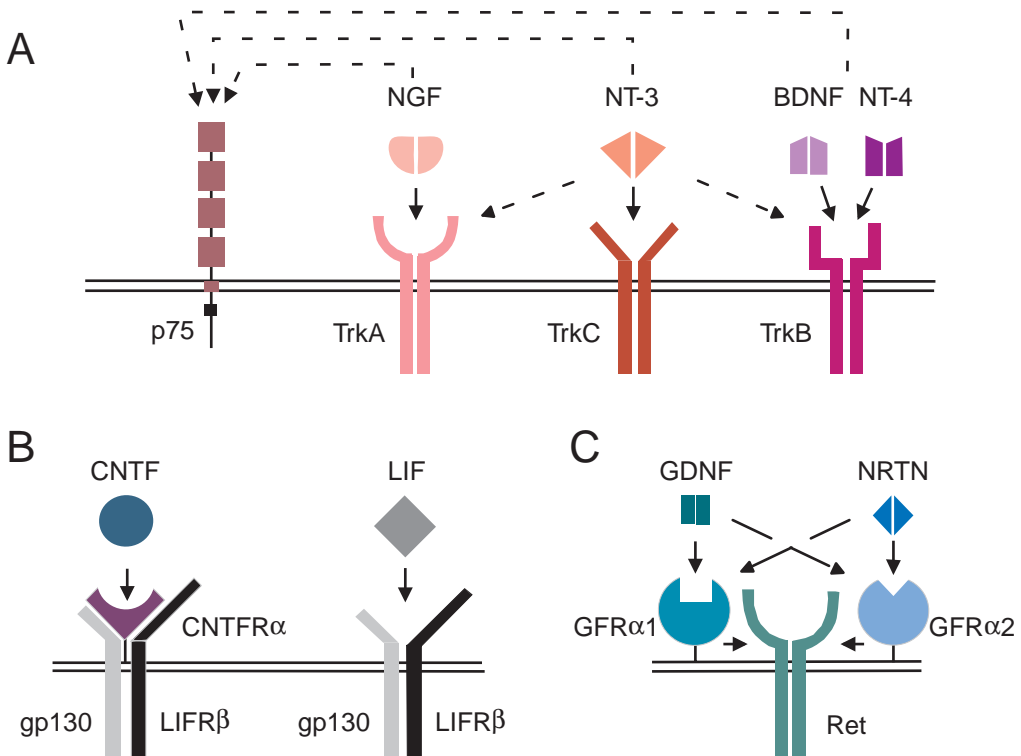
GDNF-perheen proteiineilla on huomattavia vaikutuksia myös hermoston ulkopuolella. Geeninmuuntelu- ja kudosisviljelykokeet ovat osoittaneet selvästi, että munuaismesenkyymistä peräisin oleva GDNF indusoi virtsanjohtimen aiheen muodostumisen ja säätelee sen haaroittamista kokoojaputkistoksi sikiökehityksen aikana (Sariola ja Sainio 1997).

Ret-poistogeenisiltä hiiriltä puuttuvat munuaiset, suolen hermopunos sekä ylin sympaattinen kaulahermosolmu (SCG). Kyseiset hermosolut ovat peräisin hermostopienasta, ja molempien hermosoluryhmien kato tapahtuu jo ennen esiasteiden vaellusta kudokseen (Natarajan ym. 1999). Ihmisillä Ret-geenin mutaatio aiheuttaa vallitsevasti periytyvän paksusuolen aganglionnoosin (Hirschsprungin tauti) (Wartiovaara 1998). Vaikka GDNF ja NRTN vaikuttavat troofisesti samoihin hermosoluihin ja kykenevät

sitoutumaan toistensa apureseptoreihin soluviljelmissä (kuva 2), näin ei ilmeisesti juuri tapahdu *in vivo*, koska kunkin tekijän ja vastaaavan GFR $\alpha$ -reseptorin poiston ilmiäsu on hyvin samankaltainen (taulukko 1) (Rossi ym. 1999). Osasyynä suurempaan spesifisyyteen eläimissä lienee neurotrofisten tekijöiden ja niiden reseptorien ilmentyminen eri aikaan ja eri kudoksissa.

### CNTF-LIF-perhe eli neurokiinit

Leukemiaa estävä tekijä (LIF), kardiotrofiini 1 (CT-1) ja siliaarinen neurotrofinen tekijä (CNTF) signaloivat LIFR $\beta$ - ja gp130-proteiinien muodostaman reseptorikompleksin kautta (kuva 3) (Ip ja Yancopoulos 1996). LIF aktivoi reseptorikompleksin sitoutumalla LIFR $\beta$ :aan, mutta CNTF:n täytyy ensin sitoutua GPI-ankkuroituneeseen



**Kuva 3.** Tunnetuimmat neurotrofiset tekijät ja niiden reseptorit. Reseptorivaikutukset, joiden merkitys *in vivo* on epävarma tai sitoutuminen pieniäffiniteettinen, on merkitty katkoviivalla. GDNF = gliasolulinjaperäinen neurotrofinen tekijä, NGF = hermokasvutekijä, BDNF = aivoperäinen neurotrofinen tekijä, NT = neurotrofiini, p75 = p75-neurotrofiinireseptori, LIF = leukemiaa estävä tekijä, CNTF = siliaarinen neurotrofinen tekijä, gp = glykoproteiini, LIFR $\beta$  = LIF:n  $\beta$ -reseptori, CNTFR $\alpha$  = CNTF:n  $\alpha$ -reseptori, NRTN = neurturiini, GFR $\alpha$  = GDNF-perheen  $\alpha$ -reseptori, Ret = GDNF-reseptori, Trk = neurotrofiinireseptori

CNTFR $\alpha$ -apureseptoriin. Myös CT-1 signaloii vielä tunnistamattoman apureseptorin kautta. Vaikka LIFR $\beta$  ja gp130 (sekä LIF) ilmentyvät laajalti, CNTFR $\alpha$  ilmentyy pääasiassa hermosoluissa, mikä estää CNTF:n signaloinnin väärisissä kudoksissa. Neurotrofiineista ja GDNF-perheestä poiketen neurokiinit indusoivat solulimassa olevien JAK-kinaasien liittymisen reseptorikompleksiin, mikä johtaa STAT-transkriptiotekijöiden aktivoitumiseen. Soluviljelmissä neurokiinit ylläpitävät monia ääreis- ja keskushermoston hermosoluryhmiä, joita myös muut neurotrofiset tekijät ylläpitävät.

CNTF ja LIF estävät motoneuronien solukuolemaa sekä soluviljely- että eläinmalleissa. Vastaavasti hiiriltä, joilta on poistettu reseptorit LIFR $\beta$  tai CNTFR $\alpha$ , puuttuu suuri osa motoneuroneista (taulukko 1). Kuitenkin sekä CNTF- että LIF-poistogeenisten hiirien (ja ihmisten, joilta puuttuu CNTF) motoneuronit kehittyvät normaalisti. Motoneuronipuutos ilmenee vasta hiirissä, joista molemmat tekijät on poistettu; tämä on esimerkki ilmeisestä geenien toiminnan päällekkäisyydestä (Sendtner ym. 1996).

Kukin neurotrofinen kasvutekijä on siis tärkeä tietyille toiminnallisesti erilaistuneille hermosolutyypeille. Erityisesti keskushermostossa hermosolujen säilyminen riippuu useasta neurotrofisesta vaikutuksesta, jotka voivat olla päällekkäisiä tai toisiaan vahvistavia (synergistisiä). On mielenkiintoista, että erityisesti ääreishermostossa myös eri neurotrofiset kasvutekijäperheet ovat erikoistuneet toiminnallisiksi ryhmiksi: neurotrofiinit vaikuttavat lähinnä sensorisiin ja sympaattisiin hermosoluihin, GDNF-perhe parasympaattisiin ja enterisiin hermosoluihin ja neurokiinit motoneuroneihin.

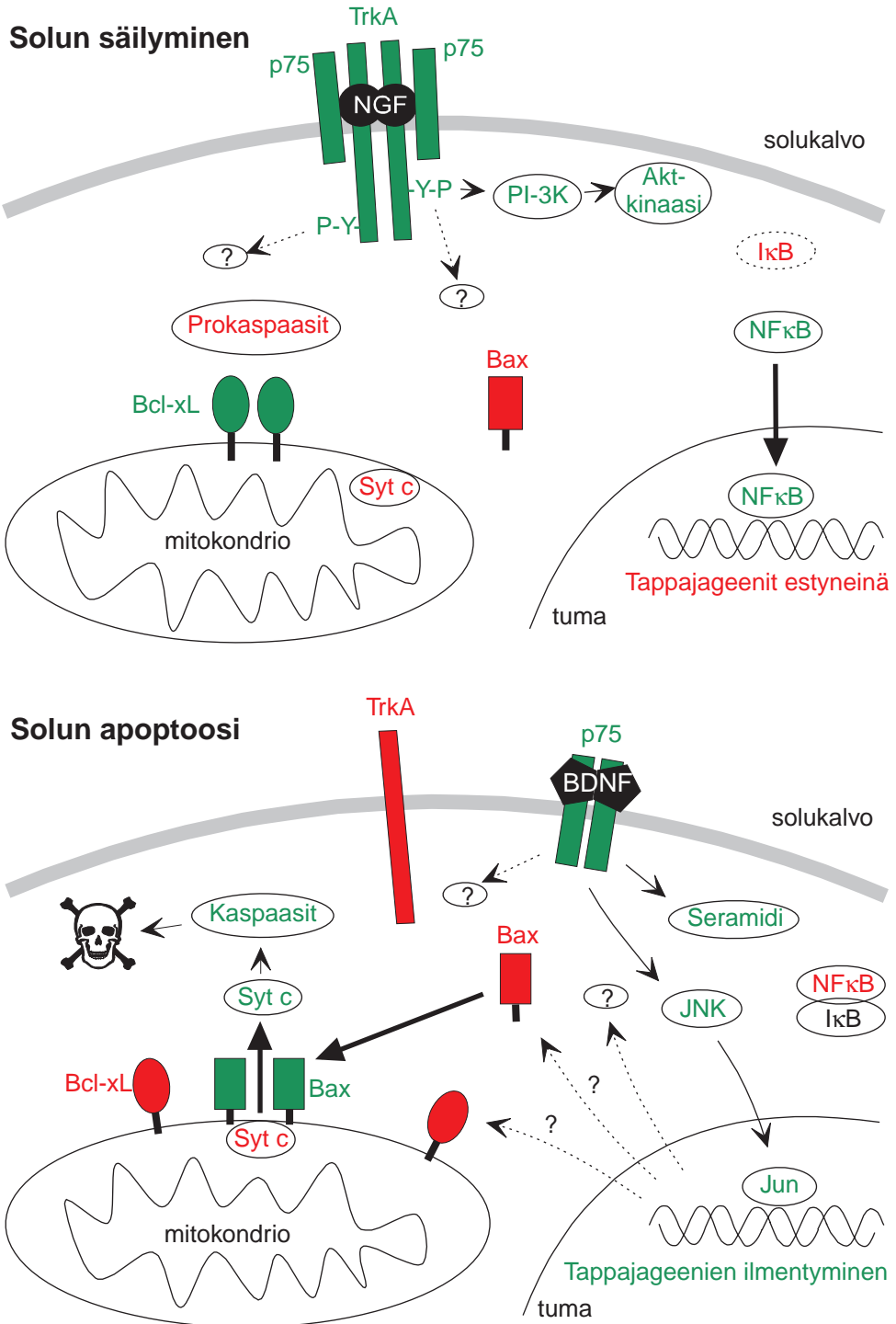
## Neurotrofisten tekijöiden vaikutusmekanismit hermosoluissa

Miten neurotrofiset tekijät säätelevät hermosolujen apoptoosia? Kehityksen tietyssä vaiheessa, joka on ominainen kullekin hermosolutyypille, soluissa laukeaa toimintaan aktiivinen »itsemurhaohjelma» eli ohjelmoitunut solukuolema, jonka morfologinen vaste on apoptoosi (kuva 1) (Arumäe ym. 1997). Hermosolujen

apoptoottisen kuoleman molekylaarinen koneisto tunnetaan yhä huonosti. Valtaosa tutkimuksista on tehty hiiren tai rotan ylimmän sympaattisen kaulahermosolmukkeeseen (SCG) soluilla, joissa on tutkittu NGF:ää ja sen reseptoreita, kun taas muut neurotrofiset tekijät ovat jääneet vähälle huomiolle. Seuraavassa esitetään nykytietämys hermosolujen »elämän ja kuoleman» signaalireiteistä (Arumäe ym. 1997, Pettmann ja Henderson 1998) lähinnä neurotrofiinien ja SCG:n osalta (tiivistelmä kuvassa 4).

Noin puolet hiiren ja rotan SCG:n sympaattisista hermosoluista kuolee syntymän jälkeisellä viikolla NGF:n puutteeseen (Barde 1989). NGF:n läsnäolo pitää TrkA:n aktiivisena. Eräs hermosolujen eloon jäämisen signaalireitti on fosfoinositoli-3-kinaasin (PI-3K) sitoutuminen aktivoituneeseen TrkA:han, mikä johtaa useiden välivaiheiden kautta Akt-kinaasin aktivoitumiseen (kuva 4). Tämä reitti näyttää olevan yleisesti tärkeä hermosolujen säilymiselle, koska PI-3K:n tai Akt:n toiminnan esto aiheuttaa erityyppisten hermosolujen kuoleman eri neurotrofisten tekijöiden läsnäollessa. Kohdeproteiineja, joihin Akt hermosoluissa vaikuttaa, ei vielä tunneta. Myös transkriptiotekijä NF $\kappa$ B on osa NGF:n hermosolujen eloon jäämistä suosiva signaalireittiä. I $\kappa$ B sitoo NF $\kappa$ B:tä ja pitää sen solulimassa, mutta NGF-signaali johtaa I $\kappa$ B:n hajoamiseen. NF $\kappa$ B:n aktivoivia proteiineja ja säätelemiä geenejä ei tunneta.

Jos NGF poistetaan SCG hermosolujen viljelmästä, solut kuolevat 2–3 päivän kuluessa. Prosessi on hidas, ja se voidaan aluksi estää lisäämällä uudestaan NGF:ää. Solujen »kohtalon hetki» eli aikaraja, jonka jälkeen puolet soluista ei enää ole pelastettavissa, on noin 15 tunnin kohdalla (Arumäe ym. 1997). Jakson aikana kuoleman koneisto, jonka osat tunnetaan huonosti, vapautuu toimintaan. Siihen kuuluu uusin tappajageenien ilmentyminen, koska hermosolut säilyvät hyvin elossa ilman neurotrofisia tekijöitä, jos RNA:n transkriptio tai translaatio on estynyt (Arumäe ym. 1997). Muutamien geenien (esim. transkriptiotekijä Jun) ilmentyminen lisääntyy NGF-puutteen aikana, mutta niiden toimintamekanismi apoptoosissa tunnetaan vielä huonosti. Jun:ää fosforyloiva JNK-kinaasi ak-



**Kuva 4.** Sympaattisen hermosolun säilymiseen ja apoptoosiin liittyvät solun signalointitapahtumat ja kohdeproteiinit sekä tunnetut vaikutukset (ohuet nuolet) ja molekyylien liikkuminen soluosasta toiseen (paksut nuolet) kaavamaisesti esitettyinä. Aktivoituneet tai tavallista runsaammin esiintyvät molekyylit on merkitty vihreällä ja inaktivoituneet tai normaalia pienempinä määrinä esiintyvät molekyylit punaisella. Oletetut signaalireitit on merkitty katkoviivalla ja kysymysmerkillä. Bax:n siirtyminen solulimasta mitokondrioon neurotrofisten tekijöiden poiston jälkeen on todennäköistä, vaikka sitä ole vielä osoitettu hermosoluissa, ei myöskään Bcl-xL:n apoptoosia estävää roolia sympaattisissa soluissa. Sytokromi c:n (Syt c) jälkeisiä apoptoosin yksityiskohtia ei ole esitetty.

tivoituu hermosoluissa, joissa apoptoosiprosessi ei vielä ole peruuttamaton, ja Jun:n toiminnan esto pitää hermosolut elossa ilman NGF:ää. Tappajageenejä, joiden ilmentymistä Jun säätelee apoptoottisissa hermosoluissa, ei tunneta.

NGF:n puutteeseen perustuvassa passiivisessa mallissa (kuva 4) kaikissa hermosoluissa valmiina oleva apoptoosiohjelma käynnistyy, kun eloon jäämistä (säilymistä) suosiva signaalinvälitystie tukitaan (estetään). Aktiivinen tappomekanismi voisi kuitenkin olla tehokkaampi. Äskettäin SCG-soluista löydettiin apoptoosin aktiivisesti käynnistävä signaaliireitti – p75-reseptoriin sitoutunut BDNF (kuva 4), (Bamji ym. 1998). BDNF aiheutti sympaattisten hermosolujen apoptoosin ja lisäsi Jun:n fosforylaatiota viljelmässä, jota oli pidetty yllä pienessä NGF-pitoisuudessa. SCG-solut eivät ilmennä BDNF:n troofista TrkB-reseptoria mutta tuottavat BDNF:ää ohjelmoituneen solukuoleman aikana. SCG:ssä on 35 % enemmän hermosoluja hiirilä, joilta puuttuu BDNF, ja 70 % enemmän eläimillä, joilta puuttuu p75 (taulukko 1). p75, johon NGF on sitoutunut, indusoi apoptoosia myös muissa hermosoluissa (Frade ja Barde 1998), joten se on lupaava ehdokas hermoston apoptoosin käynnistäväksi reseptoriksi. p75 sisältää solukuolemaa välittävän »death domain»-alaysikön, jollainen on muissa apoptoosin laukaisevissa reseptoreissa, mutta siihen sitoutuvat molekyylit tunnetaan vielä puutteellisesti.

Neurotrofiset tekijät voivat siis olla joko elämää tai kuolemaa suosivia. p75 suosii eloon jäämistä ollessaan yhdessä Trk-reseptorin kanssa mutta kuolemaa, kun se sitoo neurotrofiineja ilman Trk-reseptoria. Kuitenkaan kaikki solut, joissa on p75 ilman Trk-reseptoria, eivät kuole neurotrofiinien vaikutuksesta, joten muutkin molekyylit vaikuttavat vasteeseen (Davey ja Davies 1998).

## **Hermosolun valinta elämän ja kuoleman välillä**

Apoptoosin keskeiset säätelyproteinit – Bcl-2-perheen jäsenet – ovat ratkaisevia myös hermosoluissa (Arumäe ym. 1997). Esimerkiksi sympaattisten hermosolujen viljelmissä solut

pysyvät elossa ilman NGF:ää, jos niissä ilmenee runsaasti apoptoosin estäviä Bcl-2- tai Bcl-xL-molekyylejä, ja kuolevat NGF:n läsnäollessa, jos niissä ilmenetään apoptoottisia Bax- tai Bak-proteiineja. Bax-poistogeenisessä hiiressä on normaalia enemmän hermosoluja, kun taas Bcl-xL-poistogeenisessä hiiressä niitä puuttuu. Jos Bax on poistettu, sympaattiset hermosolut eivät kuole NGF:n puutteessa (Easton ym. 1997), eli Bax näyttäisi määräävän, seuraako ulkoisesta signaalista apoptoottinen kuolema.

Neurotrofisten tekijöiden oletetaan estävän apoptoottisia ja vastaavasti aktivoivan apoptoosia estäviä Bcl-2-perheen jäseniä, kun taas tekijöiden puutteessa tapahtuu päinvastoin. Sitä, miten neurotrofiset tekijät säätelevät Bcl-2-perheen aktiivisuutta, ei tiedetä. Bax ilmenee runsaasti aivoissa ja sensorisissa hermosolmukkeissa ohjelmoituneen solukuoleman aikana ja vähenee sen jälkeen, kun taas Bcl-xL ilmenee päinvastoin. Kuitenkin Bax ilmenee sympaattisissa hermosoluissa ennen luonnollista solukuolemaa, ja sen määrä pysyy suurena aikuisikästä asti, jolloin solut eivät enää tarvitse NGF:ää (Easton ym. 1997). Siten joissakin hermosoluissa neurotrofiset tekijät näyttävät säätelevän Bax:n toimintaa solu- eikä geenitasolla. Bax ilmenee solulimassa inaktiivisena, mutta apoptoottisen ärsyksen vaikutuksesta se siirtyy mitokondrion kalvolle, jossa se laukaisee solukuoleman (kuva 4) (Wolter ym. 1998).

Sytokromi c:n (ja muiden molekyyliden) vapautuminen mitokondrioista solulimaan aloittaa apoptoosin lopullisen toimeenpanovaiheen. Aktivoitunut Bax indusoi ja Bcl-2 estää sytokromi c:n vapautumista. Solulimassa sytokromi c välittää kaspasiketjun aktivoitumisen, joka johtaa solun lopulliseen apoptoottiseen hajoamiseen. Näin tapahtuu myös hermosoluissa (Schwartz ja Milligan 1996). Sytokromi c:n solulimaan vapautumisen jälkeen neurotrofiset tekijät eivät enää pysty kääntämään kuoleman ohjelmaa.

## **Neurotrofiset tekijät ja aikuisen hermoston muovautuvuus (plastisuus)**

Hermoston kyky muuttaa informaation prosessointia aikaisemman aktiivisuuden seurauk-



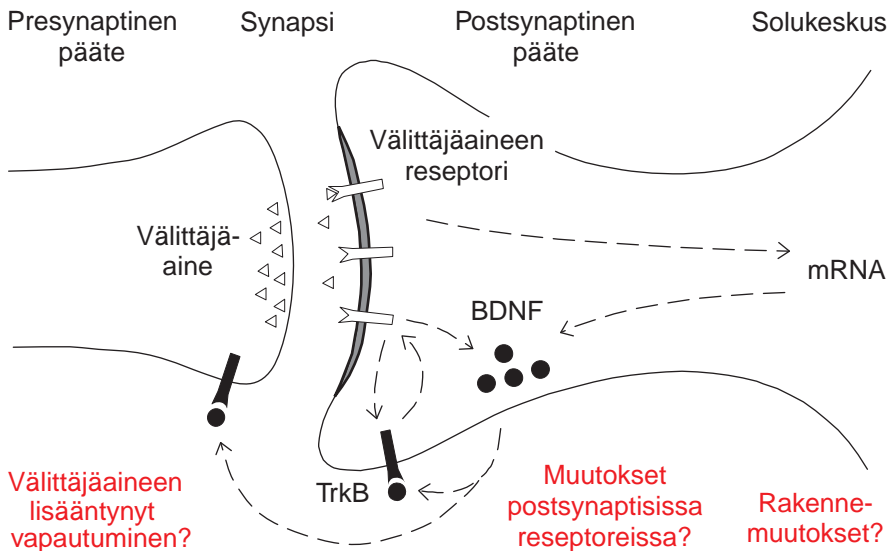
sena on olennainen edellytys monille tärkeille hermoston toiminnoille, kuten muistille ja oppimiselle. Mainittu aktiivisuuden indusoima plastisuus näyttää muistuttavan mekanismeiltaan hermoston kehitysmekanismeja ja myös vaurion indusoimaa plastisuutta (Castrén ja Lindholm, tässä numerossa).

Aikuisen hermoston plastisuusmekanismien selvittäminen kuuluu nykyisen neurobiologisen tutkimuksen suuriin haasteisiin. Etsittäessä plastisia muutoksia sääteleviä molekyyliä on käytetty lähinnä kahta kriteeriä: 1) endogeenisesti esiintyvän molekyylin ilmentyminen hermossa muuttuu sähköisen aktiviteetin seurauksena, ja 2) geenituote vaikuttaa synaptisen toiminnan tehoon. Nykyään tunnetaan useita mainitut kriteerit täyttäviä molekyyliä, joita sen vuoksi pidetään todennäköisinä aikuisen hermoston plastisuuden säätelijöinä.

Neurotrofisista tekijöistä on plastisuuden säätelyn kannalta tutkittu lähinnä NGF-perheen jäseniä, kun taas GDNF-perheen jäsenistä on toistaiseksi vain vähän tietoa.

Useissa tutkimuksissa on osoitettu neurotrofiinien synteysin lisääntyvän aktiivisuuden seurauksena (ks. esim. Ernfors ym. 1991, Castrén ym. 1992, Thoenen 1995). Esimerkiksi aikuisen hippokampuksessa NGF:n, BDNF:n ja NT-3:n synteesi lisääntyy sähköisen stimulaation seurauksena (Lo 1995). Yleisesti ottaen sekä epileptinen että vähäisempi normaalia fysiologista aktiivisuutta vastaava stimulaatio suurentaa neurotrofiinien mRNA-pitoisuuksia. Siten ensimmäinen kriteeri neurotrofiinien osuudesta aikuisen plastisuudessa on hyvin osoitettu.

Onko neurotrofisilla tekijöillä sitten vaikutuksia synaptisen toiminnan tehoon? Neurotrofiinien vaikutuksia aikuisen hermoston muovautuvuuteen on tutkittu erityisesti käyttäen mallina LTP-ilmiötä (long-term potentiation), joka tarkoittaa synaptisen toiminnan pitkäkestoista vahvistumista sähköisen stimulaation seurauksena. Tavallisimmin käytetyssä mallissa mitataan synaptisen tehon vahvistuminen suuritajuisen stimulaation (100 Hz sekunnin ajan) seu-



**Kuva 5.** Kaavio BDNF:n ja NT-3:n vaikutuksista hippokampaalisten synapsien plastisuuden säätelyssä. Synaptinen aktiivisuus lisää BDNF:n mRNA-synteesiä ja TrkB-reseptorin ilmentymistä solukalvolla erityisesti postsynaptisessa solussa. Neurotrofiset tekijät erittyvät solusta ja sitoutuvat TrkB-reseptoriin, mikä lisää edelleen synaptista aktiivisuutta. Synaptisen aktiivisuuden lisääntyminen saattaa johtua siitä, että välittäjäaineen – erityisesti glutamaatin – vapautuminen presynaptisesta hermopäätteestä on lisääntynyt. Neurotrofiineilla saattaa olla myös postsynaptisia vaikutuksia (kuten glutamaattireseptorien tiheyttä lisäävä vaikutus), jotka lisäävät synaptista tehoa. Sekä BDNF:n että NT-3:n on oletettu aiheuttavan vielä aikuisellakin rakenteellisia muutoksia hermosolulyhteyksiin.

rauksena Schaffer-kollateraali/CA1-synapseissa hippokampuksessa. Tätä mallia käyttäen on osoitettu BDNF:n ja NT-3:n synteetin selektiivinen lisääntyminen postsynaptisissa soluissa LTP:n indusoivan sähköisen stimulaation seurauksena (kuva 5). Koska sekä BDNF että NT-3 lisäksi tehostavat huomattavasti synaptista toimintaa samalla alueella, niillä on aivan ilmeisesti plastisuustehtävä ainakin aikuisen hippokampuksessa. Lisäksi on osoitettu, että BDNF-poistogeenisillä hiirillä LTP-taso on madaltunut ja LTP:n kehittymisen todennäköisyys on vähentynyt (Korte ym. 1995).

Millä mekanismeilla neurotrofiset tekijät voivat toimia aikuisen plastisuudessa? Näyttää ilmeiseltä, että sähköinen aktiivisuus lisää neurotrofiinisynteesiä postsynaptisissa solussa (kuva 5) ja Trk-reseptorien ilmentymistä solukalvolla (Meyer-Francke ym. 1998), joskin neurotrofiinisynteesiä voidaan osoittaa myös presynaptisella alueella. On ilmeistä, että NGF-perheen jäsenet vaikuttavat plastisuuden säätelyssä Trk-reseptorien kautta, kuten kehityksen aikana. On esitetty, että lisääntynyt neurotrofiiniaktiivisuus lisäisi neurotransmitterien vapautumista presynaptiselta alueelta ja että tämä olisi syynä neurotrofisten tekijöiden kuten BDNF:n ja NT-3:n synaptista tehoa lisäävään vaikutukseen (Thoenen 1995). Lisäksi neurotrofiset tekijät saattavat lisätä esimerkiksi neurotransmittereceptorien kuten glutamaattireseptorien tiheyttä postsynaptisella alueella ja lisätä sen vuoksi synaptista tehoa (kuva 5).

Missä määrin aikuisen hermostossa voidaan indusoida rakenteellisia muutoksia, jotka olisivat toiminnallisesti merkittäviä? Riippuuko synaptisen tehon pitkäkestoinen lisääntyminen lyhyen edeltävän stimulaation seurauksena siitä, että hermosolukontakteissa tapahtuu itse asiassa aikuisellakin rakenteellisia muutoksia, jotka edistävät stimuloituneen alueen synaptista toimintaa tuntien, vuorokausien tai jopa vuosien ajan? BDNF:n ja NT-3:n osuus LTP-ilmiössä viittaa tähän mahdollisuuteen, koska niiden tiedetään muuttavan aivojen toiminnallista rakennetta ainakin kehityksen aikana tavalla, joka liittyy hermoston aktiivisuuteen (Cabelli ym. 1995). Rakenteellisten muutosten merkitykseen LTP-ilmiössä viittaa myös se seikka, että hermosolujen tukirankaa säätelevät molekyylit näyttävät olevan olennaisia LTP:n ylläpidolle olosuhteissa, joissa ne eivät vaikuta lyhytkestoiseen synaptisen toiminnan vahvistumiseen (Lauri ym. 1999). Hermosolujen tukirankaa säätelevät molekyylit ovat tunnetusti olennaisia hermostoyhteyksien muodostumisessa, kuten aksonien ja dendriittien versomisessa kehityksen aikana (Rauvala 1990). Neurotrofiset kasvutekijät ovat tässäkin mielessä varteenotettavia ehdokkaita plastisuuden säätelyssä, koska niillä tunnetusti on huomattavia vaikutuksia solun tukirankaan ja sitä kautta solumorfologiaan, kuten dendriittien versomiseen aivoissa (Cabelli ym. 1995). Miten ja missä määrin rakenteelliset muutokset selittävät muistin ja oppimisen mekanismeja, on haasteellinen kysymys nykyiselle neurobiologiselle tutkimukselle.

## Kirjallisuutta

- Airaksinen M S, Koltzenburg M, Lewin G R, ym. Specific subtypes of cutaneous mechanoreceptors require neurotrophin-3 following peripheral target innervation. *Neuron* 1996; 16: 287–95.
- Arumäe U, Sariola H, Haltia M. Apoptoosi hermoston kehityksessä ja rappeutumistaudeissa. *Duodecim* 1997; 16: 1590–6.
- Baloh R H, Tansey M G, Lampe P A, ym. Artemin, a novel member of the GDNF ligand family, supports peripheral and central neurons and signals through the GFR $\alpha$ 3-RET receptor complex. *Neuron* 1998; 21: 1291–302.
- Bamji S X, Majdan M, Pozniak C D, ym. The p75 neurotrophin receptor mediates neuronal apoptosis and is essential for naturally occurring sympathetic neuron death. *J Cell Biol* 1998; 140: 911–23.
- Barbacid M. The trk family of neurotrophin receptors. *J Neurobiol* 1994; 25: 1291–302.
- Barde Y.-A. Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* 1989; 2: 1525–34.
- Cabelli R J, Hohn A, Shatz C J. Inhibition of ocular dominance column formation by infusion of NT-4/5 or BDNF. *Science* 1995; 267: 1662–6.
- Castrén E, Zafra F, Thoenen H, ym. Light regulates expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9444–8.
- Chao M V. The p75 neurotrophin receptor. *J Neurobiol* 1994; 25: 1373–85.
- Davey F, Davies A M. TrkB signalling inhibits p75-mediated apoptosis induced by nerve growth factor in embryonic proprioceptive neurons. *Curr Biol* 1998; 8: 915–8.
- Easton R M, Deckwerth T L, Parsadanian A S, ym. Analysis of the mechanism of loss of trophic factor dependence associated with neuronal maturation: a phenotype indistinguishable from Bax deletion. *J Neurosci* 1997; 15: 9656–66.
- ElShamy W M, Fridvall L K, Ernfors P. Growth arrest failure, G1 restriction point override, and S phase death of sensory precursor cells in the absence of neurotrophin-3. *Neuron* 1998; 21: 1003–15.
- Ernfors P, Bengzon J, Kokaia Z, ym. Increased levels of messenger RNAs for neurotrophic factors in the brain during kindling epileptogenesis. *Neuron* 1991; 7: 165–76.

- Farinas I, Yoshida C K, Backus C, ym. Lack of neurotrophin-3 results in death of spinal sensory neurons and premature differentiation of their precursors. *Neuron* 1996; 17: 1065–78.
- Frade J M, Barde Y-A. Nerve growth factor: two receptors, multiple functions. *BioEssay* 1998; 20: 137–45.
- Fritzsch B, Silos-Santiago I, Bianchi L M, Farinas I. The role of neurotrophic factors in regulating the development of inner ear innervation. *Trends Neurosci* 1997; 20: 159–64.
- Ibáñez C F. Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors. *Trends Neurosci* 1998; 21: 438–44.
- Ip N Y, Yancopoulos G D. The neurotrophins and CNTF: two families of collaborative neurotrophic factors. *Annu Rev Neurosci* 1996; 19: 491–515.
- Kaplan D R, Miller F D. Signal transduction by the neurotrophin receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 213–21.
- Korte M, Carroll P, Wolf E, ym. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8856–60.
- Lauri S E, Kaukinen S, Kinnunen T, ym. Regulatory role and molecular interactions of a cell-surface heparan-sulfate proteoglycan (N-syndecan) in hippocampal long-term potentiation. *J Neurosci* 1999; 19: 1226–35.
- Levi-Montalcini R. The nerve growth factor: 35 years later. *Science* 1987; 237: 1154–62.
- Lewin G R, Barde Y-A. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci* 1996; 19: 289–317.
- Lo C L. Neurotrophic factors and synaptic plasticity. *Neuron* 1995; 15: 979–81.
- Meyer-Franke A, Wilkinson G A, Kruttgen A, ym. Depolarization and cAMP elevation rapidly recruit TrkB to the plasma membrane of CNS neurons. *Neuron* 1998; 21: 681–93.
- Natarajan D, Grigoriou M, Marcos-Gutiérrez C V, ym. Multipotential progenitors in the mammalian enteric nervous system capable of colonizing aganglionic bowel in organ culture. *Development* 1999; 126: 157–68.
- Pettmann B, Henderson C E. Neuronal cell death. *Neuron* 1998; 20: 663–74.
- Rauvala H. Aksonien kasvun ja regeneraation mekanismit. *Duodecim* 1990; 106: 307–15.
- Rossi J, Luukko K, Poteryaev D, ym. Retarded growth and deficits in the parasympathetic nervous system in mice lacking GFR $\alpha$ 2, a functional neurturin receptor. *Neuron* 1999; 22: 243–52.
- Saarma M, Arumäe U. GDNF family proteins: new promising neurotrophic factors. *Neurosci News* 1999; 2: 26–34.
- Sariola H, Sainio K. The tip-top branching ureter bud. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 877–84.
- Schwartz L M, Milligan C E. Cold thoughts of death: the role of ICE proteases in neuronal cell death. *Trends Neurosci* 1996; 19: 555–62.
- Sendtner M, Götz R, Holtmann B, ym. Cryptic physiological trophic support of motoneurons by LIF revealed by double gene targeting of CNTF and LIF. *Curr Biol* 1996; 6: 686–94.
- Snider W D. Functions of the neurotrophins during nervous system development: what the knockouts are teaching us. *Cell* 1994; 77: 627–38.
- Tessarollo L, Tsoulfas P, Donovan M J, ym. Targeted deletion of all isoforms of the trkC gene suggests the use of alternate receptors by its ligand neurotrophin-3 in neuronal development and implicates trkC in normal cardiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14776–81.
- Thoenen H. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Science* 1995; 270: 593–8.
- Wartiovaara K. Hirschsprung's disease genes and the development of the enteric nervous system. *Ann Med* 1998; 30: 66–74.
- Wolter K G, Hsu Y-T, Smith C L, ym. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. *J Cell Biol* 1997; 139: 1281–92.
- Wood J N. No pain, some gain. *Nature Genet* 1996; 13: 382–3.

**MATTI S. AIRAKSINEN, dosentti**

**mairaksi@operoni.helsinki.fi**

**URMAS ARUMÄE, dosentti**

**HEIKKI RAUVALA, professori**

**MART SAARMA, professori**

**Biotekniikan instituutti ja Biotieteiden laitos,**

**Viikin biokeskus**

**PL 56, 00014 Helsingin yliopisto**