



**TURUN  
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen  
tiedekunta

# **Integriinisignalointi selkärankaisten keskushermoston aksoniregeneraatiassa**

Kira Laukkanen

Biologian tutkinto-ohjelma

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

16.5.2025

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu

Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

**Pääaine:** Biologia

**Tekijä(t):** Kira Laukkanen

**Otsikko:** Integriinisignalointi keskushermoston aksoniregeneraatiossa

**Ohjaaja(t):** Tiina Henttinen

**Sivumäärä:** 22 sivua

**Päivämäärä:** 16.5.2025

---

Aksonit eli viejähaarakkeet ovat hermosolun solukalvon ulkonemia, jotka vievät neurotransmissiossa aktiopotentiaaleja pois päin hermosolun soomasta eli solukeskuksesta. Dendriitit eli tuojahaarakkeet puolestaan tuovat aktiopotentiaalini soomaan. Hermosolun rakenne on siis polaarinen. Selkärankaisten hermosto jaetaan ääreis- ja keskushermostoon. Ääreishermoston aksonit ovat usein keskushermoston aksoneita pidempiä, mutta niiden toiminta on pääpiirteisesti samanlaista. Siinä missä selkärankaisten ääreishermoston aksonit voivat uudelleenkasvaa eli regeneroitua hermovaurion jälkeen aksoniregeneraatioksi kutsutussa prosessissa, keskushermoston aksonit eivät regeneroidu, koska aksonin regeneraatiokapasiteetti menetetään. Integriinireseptorit ovat solukalvoseptoreja, jotka ohjaavat aksonien kasvukartioita yksilönkehityksen aikana. Tämä ohjaus perustuu adheesiivisiin vuorovaikutuksiin, joissa integriinit muodostavat fyysisen liitoksen soluväliaineen molekyylin ja kasvukartion sytoskeletonin välille. Integriinin ja soluväliaineen molekyylin vuorovaikutuksesta aiheutuu erilaisia alavirran signalointitapahtumia, joista useat muokkaavat kasvukartion sytoskeletonin aktiinifilamenttien polymerisaatioastetta. Aktiinifilamenttien pidentyminen ja lyhentymisen aiheuttaa kasvukartion kääntymistä ja liikettä soluväliaineessa. Yksilönkehityksen aikana aksonin kasvupotentiaali on korkea sekä ääreis- että keskushermoston aksoneilla integriinireseptorien toiminnan ansiosta. Aikuisuudessa havaittu regeneraatiokapasiteetin menetys assosioituu integriinien menetykseen keskushermoston aksoneista. Integriinien merkitystä aksonien kasvussa ja regeneraatiossa korostaa se, että integriinisignaloinnin aktivaatio keskushermostossa edistää aksoniregeneraatiota, kun taas integriinien inaktivaatio soluväliaineen molekyyleillä kuten NogoA:lla tai aggregaaniilla inhiboi aksoniregeneraatiota.

---

**Avainsanat:** Aksoniregeneraatio, kasvukartio, integriinit, soluadheesio, sytoskeletoni

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	1
2	AKSONIT JA KESKUSHERMOSTO .....	2
2.1	Hermosolujen rakenne.....	3
2.2	Keskeiset vaiheet yksilönkehityksessä ja regeneraatiokapasiteetin menetys .....	4
3	INTEGRIINISIGNALOINTI REGENERAATIOTAPAHTUMISSA.....	5
3.1	Solunsisäiset tekijät .....	6
3.1.1	Integriinikuljetus ja -signaali .....	6
3.1.2	Fosfatidyli-inositoli-3-kinaasi .....	7
3.2	Soluväliaineen kasvua inhiboivat molekyylit.....	9
4	SYTOSKELETONI AKSONIREGENERAATIOSSA.....	11
4.1	Kasvukartion sytoskeletoni .....	11
4.2	Integriinivälitteiset sytoskeletaaliset muutokset aksoneissa.....	13
5	YHTEENVETO .....	16
6	LÄHTEET.....	18

# 1 JOHDANTO

Hermovauriossa jokin hermon tai hermosolun rakenne vaurioituu, jolloin neurotransmissioksi kutsuttu informaation välitysprosessi hermostossa häiriintyy tai loppuu täysin. Hermosolulla on informaatiota kuljettavia haarakkeita eli neuriiitteja, joita kutsutaan aksoneiksi ja dendriiteiksi. Dendriitit tuovat informaation sähköisenä signaalina soluun ja aksonit kuljettavat sen seuraavan solun dendriiteille. Hermosolulla on tyypillisesti useita dendriittejä, mutta vain yksi aksoni. Tämän vuoksi aksonin vaurioituminen on haitallisempaa neurotransmissiolle kuin dendriitin vaurioituminen. Selkärankaisten ääreishermostossa aksonit voivat kasvaa uudelleen vaurion jälkeen aksoniregeneraatioksi kutsutussa prosessissa, kun taas aikuisten selkärankaisten keskushermostossa ei tapahdu aksoniregeneraatiota. Prosessia, jossa aksoni menettää kasvukykyä kutsutaan regeneraatiokapasiteetin menetykseksi. Regeneraatiokapasiteetin menetys on monimutkainen prosessi, johon liittyy muun muassa keskushermoston inhibitorinen kasvuympäristö (Brückner ym., 2006; Costa ym., 2007; Gonzenbach ym., 2010; Wang ym., 2002; Zhao ym., 2013) kasvua edistävien reseptorien menetys aksonien solukalvolta (Franssen ym., 2015) ja hermosolun toiminnallinen jakautuminen somatodendriittiseen ja aksonaaliseen alueeseen (Andrews ym., 2016; Franssen ym., 2015). Integriinit ovat solukalvoreseptoreja, jotka muodostavat soluadheesioita soluväliaineen molekyylin ja solun välille integriinidheesiokompleksiksi (engl. Integrin adhesion complex, IAC) kutsutuilla proteiinikomplekseilla. Adheesiossa muodostuu liitos soluväliaineen molekyylin ja solun aktiinisytoskeletonin välille (Chastney ym., 2021.) Kasvukartio on aksonin distaalisen pään rakenne, jolla se aistiin ympäristön kemiallisia ja mekaanisia signaaleja. Ympäristön signaalien aistiminen tapahtuu kasvukartioiden integriinireseptorien välityksellä, jotka välittävät signaalit sytoskeletoniin (Chacón ym., 2012; Gupton & Gertler, 2010; Rico ym., 2004; Robles & Gomez, 2006) ja säätelevät siten kasvukartion liikettä soluväliaineessa. Selkärankaisten yksilönkehityksen aikana integriinisignalointi muun muassa säätelee aivokuoren hermosolukerrosten muodostumista (Graus-Porta ym., 2001) ja edistää neuriiittien kasvua eli neuritogeneesiä (Gupton & Gertler, 2010). Valtaosa integriineistä menetetään yksilönkehityksen aikana keskushermoston aksoneista ja aikuisuudessa ne lokalisoituvat soomaan ja dendriitteihin (Franssen ym., 2015). Integriinien menetys aksoneista vaikuttaa regeneraatiokapasiteetin menetykseen yksilönkehityksen aikana (Franssen ym., 2015) ja integriinien inaktivaatio keskushermoston inhibitorisilla molekyyleillä kuten NogoA:lla inhiboi aksoniregeneraatiota (Huo ym., 2015). Integriinivälitteisen signaloinnin aktivaatio aikuisten keskushermostossa puolestaan johtaa moniin aksoniregeneraatiota edistäviin

signalointitapahtumiin (Cheah ym., 2023; Sekine ym., 2022). Tutkielmassani tarkastelen integriinisignaloinnin merkitystä selkärankaisten keskushermoston aksonien regeneraatiossa. Käsittelen solunulkoisten ja solunsisäisten tekijöiden laukaisemia aksoniregeneraatiota ja yksilönkehityksen aikaista neuritogeneesiä edistäviä integriinisignalointitapahtumia, sekä integriinien inaktivaation ja menetyksen vaikutusta aksonien kasvuun. Keskushermostoon keskittyvien tutkimusten lisäksi käsittelen ääreishermoston DRG-soluilla (takajuurisolmukkeen hermosolut, engl. Dorsal root ganglion) ja sidekudoksen fibroblasteilla tehtyjä tutkimuksia, sillä vaikka signalointimekanismit eivät välttämättä ole keskenään identtisiä, ne ovat migroituvissa soluissa samankaltaisia (Devreotes and Horwitz, 2015).

## 2 AKSONIT JA KESKUSHERMOSTO

Selkärankaisten hermosto on hermosoluista ja niiden tukisoluista muodostuva viestinvälitys- ja säätelyjärjestelmä. Hermostossa informaatio siirtyy eteenpäin soluissa ensin sähköisessä ja myöhemmin kemiallisessa muodossa neurotransmissioksi kutsutussa prosessissa. Kulkevaa signaalia kutsutaan aktiopotentiaaliksi. Aktiopotentiaali syntyy, kun hermosolujen viejähaarakkeen eli aksonin jänniteherkät natriumkanavat avautuvat, ja solukalvon yli indusoituva jännitemuutos etenee kohti hermopäätettä eli synapsia. Synapsissa informaatio siirtyy aksonia ja seuraavan hermosolun dendriittiä erottavan synaptisen raon yli kemiallisessa muodossa. Rakoon vapautuu jännitemuutoksen seurauksena hermovälittäjäaineita, jotka sitoutuvat vastaanottajasolun solukalvon reseptoreihin. Reseptorit laukaisevat aktiopotentiaalिन uudelleen, jolloin informaatio muuttuu jälleen sähköiseksi.

Hermosto jakautuu keskushermostoon ja ääreishermostoon. Keskushermostoon kuuluvat aivot ja selkäydin, kun taas ääreishermostoon kuuluvat kaikki aivojen ja selkäytimen ulkopuoliset hermot. Toiminnallisesti ääreishermosto aistii ympäristön ärsykeitä ja lähettää niitä vastaavat signaalit keskushermostoon, joka prosessoi ääreishermoston signaalit ja tuottaa niihin sopivat vasteet. Keskushermosto lähettää myös tahdonalaisia liikesignaaleja ääreishermoston motoneuroneille, jotka hermottavat kehon lihaksia. Hermosolut ovat rakenteellisesti ja toiminnallisesti pääosin samanlaiset ääreis- ja keskushermostossa, joskin ääreishermoston aksonit ovat merkittävästi keskushermoston aksoneja pidempiä.

## 2.1 Hermosolujen rakenne

Hermostoluja on erityyppisiä, ja niiden jaottelu perustuu toiminnan lisäksi solun haarakkeiden määrään ja muotoon. Jokaisella hermostolulla on sooma eli solukeskus sekä dendriittejä eli tuojahaarakkeita. Soomassa sijaitsevat hermostolun tuma ja soluelimet, ja siellä tapahtuu valtaosa hermostolun metaboliasta. Sooman ja dendriittien lisäksi hermostoluilla voi olla myös haarautunut tai haaraton aksoni eli viejähaarakke. Yhdessä näitä solukalvon ulkonemia kutsutaan neuriiteiksi. Dendriitit ovat solukalvon haarautuneita ulokkeita, jotka välittävät aktiopotentiaalin synapsista soomaan. Soomasta aktiopotentiaali siirtyy aksoniin, joka kuljettaa sen seuraavaan synapsiin. Dendriitit ja aksonit siis kuljettavat aktiopotentiaaleja vastakkaisiin suuntiin soomaan nähden yksisuuntaisesti. Tämän vuoksi hermostolujen rakennetta kutsutaan polaariseksi. Tyypillisesti hermostoluilla on useita dendriittejä, mutta vain yksi aksoni. Koska aksoneja on vain yksi on sen tai aksonin haarojen menetys neurotransmission kannalta haitallisempaa kuin dendriittien menetys. Hermostolua, jolla on yksi aksoni ja monta dendriittiä kutsutaan multipolaariseksi hermostoluksi, ja se on yleisin hermostolutyyppeistä keskushermostossa. Muodoltaan hermostolu voi olla myös unipolaarinen, jolloin sillä on vain dendriittejä; bipolaarinen, jolloin solulla on yksi dendriitti ja aksoni tai pseudounipolaarinen, jolloin hermostolulla ei ole dendriittejä vaan yksi haarautunut aksoni. Hermostolujen jakauma vaihtelee ja erityyppiset solut sijoittuvat määrättyille alueille, jossa ne muodostavat toiminnallisia rakenteita. Keskushermostossa hermostolujen soomat muodostavat niin sanotun harmaan aineen, kun taas aksonit muodostavat valkoisen aineen. Vauriot harmaassa tai valkoisessa aineessa voivat aiheutua esimerkiksi onnettomuudesta tai sairaudesta, kuten multipeliskleroosista eli MS-taudista, jossa keskushermostoon syntyvät tulehduspesäkkeet vaurioittavat aksoneita ja aiheuttavat erilaisia lihasten toimintaan liittyviä oireita.

Aksonin soomaan liittävää aluetta kutsutaan aksonikukulaksi. Sitä seuraa aktiopotentiaalia muokkaava AIS-alue (engl. Axon initial segment) ja aksonin distaaliset osat. AIS muodostuu rakenneproteiineista ja jänniteherkistä natriumionikanavista. Se toimii sooman ja aksonin välisenä anatomisena ja fysiologisena siirtymäalueena, joka ylläpitää hermostolujen polarisoitunutta rakennetta (Hedstrom ym., 2008.) Keskeisesti se säätelee proteiinikuljetusta aksonin ja sooman välillä (Franssen ym., 2015; Hedstrom ym., 2008). AIS-alueen rakenneproteiinin AnkG:n (engl. Ankyrin G) puutoksen on muuntogeenisillä hiirillä havaittu hidastavan aksonien regeneraatiota hermovaurion jälkeen (Teliska ym., 2022), joten normaalitilassa AIS-alue mahdollisesti tukee aksoniregeneraatiota. AIS-aluetta seuraava

aksonin sytoplasma sisältää mikrotubuluksiin assosioituvia proteiineja (MAP-proteiinit), mikrotubuluksia, aktiinifilamenteja, neurofilamenteja sekä spektriiniä. Nämä muodostavat aksonin sytoskeletonin, jota pitkin vesikkelejä kuljetetaan aksonin ja sooman välillä. Sytoskeletoni myös määrittää aksonin muodon ja sen avulla säädellään kasvukartion liikkeitä esimerkiksi neuritogeneesin aikana (Robles & Gomez, 2006; Witte ym., 2008). Aksoneita ympäröi myeliiniksi kutsuttu hermotukisolun solukalvon erikoistunut rakenne, joka edistää aktiopotentiaalien kulkua. Myeliinituppi eristää aksonin ympäristöstään, joka tehostaa etenevän aktiopotentiaalin liikettä. Sen muodostavat keskushermostossa oligodendrosyytit ja ääreishermostossa Schwannin solut kiertymällä aksonin ympärille. Myeliinituppea häiritsevät tekijät, kuten hermovaurio häiritsevät neurotransmissiota.

## *2.2 Keskeiset vaiheet yksilönkehityksessä ja regeneraatiokapasiteetin menetys*

Aksonien kasvu yksilönkehityksen aikana on monimutkainen prosessi, jota ohjaavat monet molekulaariset solunsisäiset ja solunulkoiset tekijät. Kasvumeکانismit ovat kuitenkin säilyneet eliökunnassa pitkälti samanlaisina, joten selkärankaisten aksonien kasvu- ja ohjausmekanismit ovat hyvin samankaltaisia. Keskushermosto kehittyy ektodermin dorsaalisen osan neroepiteelisoluista, jotka muodostavat ensin hermostolevyn sikiön selkäpuolelle. Nämä solut muodostavat hermostoputken, aivokammiot ja lopulta hermoston kantasolut tuottavat neuroblastit. Hermostolut ja hermoston tukisolut erilaistuvat hermostoputken monikykyisistä neuroepiteelisoluista. Neuroblastien erilaistuminen tietyksi hermostolutyypiksi eli hermostolon identiteetin määrittäminen riippuu solun alkuperäisestä sijainnista ja viimeisen jakautumisen ajankohdasta. Hermostolon aksoni kehittyy solun identiteetin määrittämisen jälkeen (Salminen, 2015.) Yksilönkehityksen aikana hermostoluissa muodostuu useita neuriitteja, joista yksi kehittyy aksoniksi (Witte ym., 2008). Neuriitti-identiteetin määrittämiseen vaikuttaa vuorovaikutus soluväliaineen molekyyliden kuten laminiinin kanssa (Ménager ym., 2004) ja solunsisäisten molekyyliden jakauma. Esimerkiksi PIP<sub>3</sub>:n (fosfatidyli-inositoli (3,4,5)-trifosfaatti) kertymisen kasvukartioon on näytetty säätelevän neuriitti-identiteetin määrittämistä (Ménager ym., 2004). Toisaalta Gupton & Gertler (2010) eivät havainneet PIP<sub>3</sub>:a muodostavan PI3-kinaasin (fosfatidyli-inositoli-3-kinaasi) vaikuttavan neuritogeneesiin. On mahdollista, että neuriittien erilaistumista säätelevät prosessit eivät suoraan johda neuriittien kasvuun. Yksilönkehityksen aikana havaitaan myös dendriittien ja aksonien proteiinikomposition muuttuvan erilaisiksi (Andrews ym., 2016; Franssen ym., 2015; Hedstrom ym., 2008; Xu ym., 2013). Esimerkiksi MAP2 kertyy dendriitteihin, kun taas NrCam (engl.

neuronal cell adhesion molecule) kertyy aksoneihin (Xu ym., 2013). Muodostunut aksoni ohjautuu kohdesoluunsa kontakti- ja kemotaksisohjauksella, jonka jälkeen aksonin ja kohdesolun välille muodostuu synapsi. Kasvua ohjaavaa koneistoa kutsutaan kasvukartioksi. Se sijaitsee aksonin kärjessä ja se aistii ympäristön signaaleja. Nämä signaalit välittyvät solukalvon yli hermosoluun ja ohjaavat aksonin kasvua hylkien tai puoleensa vetäen. Aistiärsyksiä kasvukartioille ovat ympäristön solujen pinnan soluadheesiomolekyylit ja soluväliaineen liukoiset molekyylit, joita kasvukartiossa tunnistetaan solukalvoreseptoreilla. Soluväliaineessa kasvua ohjaavia molekyylejä ovat muun muassa laminiini ja fibronektiini. Tyypillisesti kasvusuunnan ohjaus perustuu soluadheesiomolekyylien ja/tai soluväliaineen molekyylien pitoisuusgradienttien aistimiseen. (Salminen, 2015.) Myös sytoskeletoni vaikuttaa aksonien kasvuun yksilönkehityksen aikana. Hermosolun sytoskeletonin mikrotubulusten stabilisaation on havaittu edistävän aksonien kasvua (Witte ym., 2008), jonka lisäksi kasvukartion kääntäminen perustuu aktiinifilamenttien toimintaan (Robles & Gomez, 2006).

Yksilönkehityksen aikana aksonien kasvupotentiaali on korkea. Kasvupotentiaali menetetään kehitysaikana keskushermostossa lähes kokonaan, kun taas ääreishermoston aksonit regeneroituvat hermovaurion jälkeen aikuisuudessakin. Vaikka suuren osan keskushermoston aksoneista on havaittu laukaisevan regeneraatio-ohjelman vasteena vaurioon, vain pieni osa näistä regeneroituu onnistuneesti (Koseki ym., 2017). Tyypillisesti aksonien vaurioituminen johtaa hermosolujen kuolemaan, neuriittien menetykseen tai retraktiorakenteen (engl. retraction bulb) muodostumiseen. Keskiössä regeneraatiokapasiteetin menetyksessä ovat kasvukartioiden integriinireseptorit, joiden menetys aksoneista assosioituu regeneraatiokapasiteetin menetykseen (Franssen ym., 2015).

### 3 INTEGRIINISIGNALOINTI REGENERAATIOTAPAHTUMISSA

Integriinit ovat selkärankaisten keskushermostossa aksoniregeneraatiota edistäviä kalvoreseptoreja (Cheah ym., 2023; Sekine ym., 2022), jotka muodostavat adheesioita soluväliaineen molekyyleihin ja muihin soluihin. Ne ovat  $\alpha$ - ja  $\beta$ -alaysiköistä muodostuvia heterodimeerejä, joista molemmat läpäisevät solukalvon kerran.  $\alpha$ -alaysikkö määrittää integriinin ligandispesifisyyden (Chastney ym., 2021). Solun sisällä sijaitsevat integriinien sytoplasmiset alueet, jotka ovat 20–50 aminohappoa pitkiä. Ne vuorovaikuttavat solunsisäisten molekyylien kanssa ja aloittavat IAC-kompleksien rakentumisen. IAC-kompleksit kiinnittävät integriinin soluväliaineeseen ja solun aktiinisytoskeletoniin (Chastney ym., 2021; Stutchbury

ym., 2017). Suuret solunulkoiset alueet vuorovaikuttavat soluväliaineen molekyylin kanssa. Integriinit ekspressoidaan usein solukalvolla inaktiivisina, ja vasta ligandin sitoutuminen aktivoi niiden toiminnan esimerkiksi signaalinvälitysteissä. Solunsisäisten tai solunulkoisten molekyylin sitoutuminen integriineihin johtaa integriiniaktivaatioon, joka voi alkaa solun sisältä tai ulkoapäin. Solunsisäisessä integriiniaktivaatiossa taliini-proteiini sitoutuu integriinin sytoplasmiseen  $\beta$ -häntään, joka johtaa solunulkoisen alueen konformaationmuutoksiin. Tämä aktivoi integriinejä ja kiinnittää ne solun aktiinisytoskeletoniin. Solunulkoisessa aktivaatiossa soluväliaineen molekyylin sitoutuminen integriineihin johtaa mekaanisen kytköksen muodostumiseen molekyylin, integriinien ja solun sytoskeletonin välille. Tästä aiheutuu lisäksi useiden alavirran signalointitapahtumien aktivaatio fokaaliadheesiokinaasi- eli FAK-välitteisesti (Chastney ym., 2021.) Näin integriinit signaloivat solukalvolla kaksisuuntaisesti. Parhaiten tämä aktivaatioprosessi tunnetaan leukosyyteissä ja verihiutaleissa, mutta mekanismin ajatellaan olevan samankaltainen muissa elimistön kudoksissa ja soluissa. Keskushermostossa kasvukartioiden integriinien sitomia eli aksoniregeneraatiota ohjaavia solunulkoisia molekyylejä ovat laminiini (Gupton & Gertler, 2010; Robles & Gomez, 2006), sekä integriinejä inaktivoivat NogoA ja aggregaani (Brückner ym., 2006; Costa ym., 2007; Gonzenbach ym., 2010; Huo ym., 2015; Wang ym., 2002; Zhao ym., 2013). Solunsisäisiä integriinisignaloinnin alavirran molekyylejä ovat muun muassa FAK (Gupton & Gertler, 2010; Robles & Gomez, 2006) sekä PI3K ja sen tuote PIP<sub>3</sub> (Gary ym., 2003; Gupton & Gertler, 2010).

### *3.1 Solunsisäiset tekijät*

#### *3.1.1 Integriinikuljetus ja -signalointi*

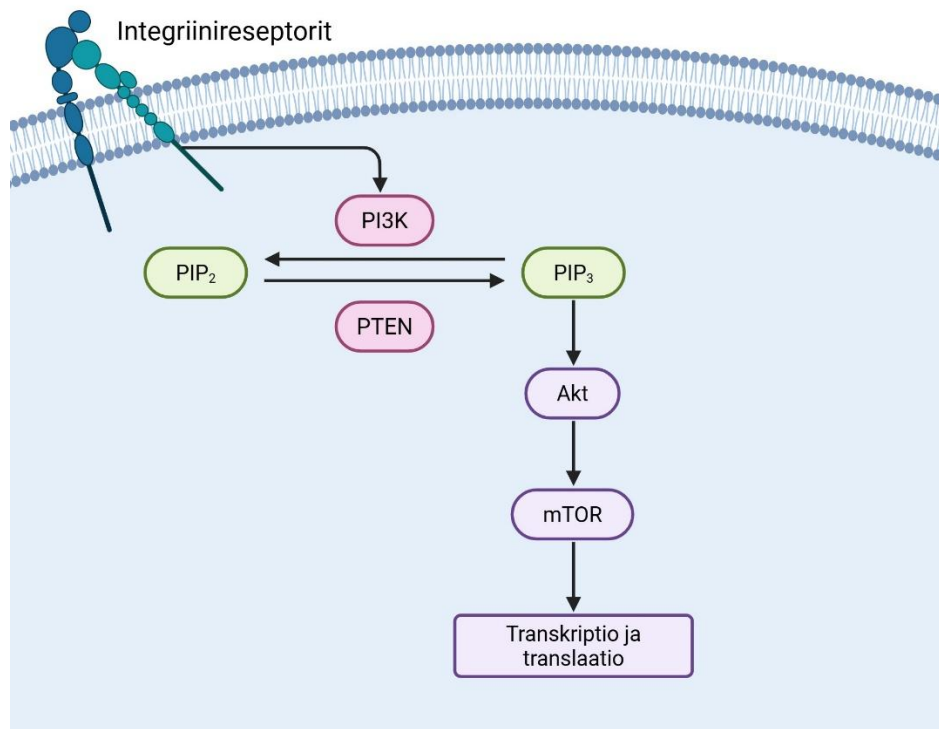
Yksilönkehityksen aikana integriinit ohjaavat hermosolujen migraatiota (Graus-Porta ym., 2001) edistävät laminiiniriippuvaista neuritogeneesiä (Gupton & Gertler, 2010) ja säätelevät solusignalointia (Campos ym., 2004). Lisäksi integriinivälitteistä FAK-signalointia tarvitaan eräissä yksilönkehityksen vaiheissa (Robles & Gomez, 2006). Aikuisuudessa valtaosa integriineistä kertyy hermosolun soomaan ja dendriitteihin yhdessä muiden proteiinien kanssa hermosolun polarisoituessa (Hedstrom ym., 2008; Xu ym., 2013). Tällöin hermosolu jakautuu toiminnallisesti somatodendriittiseen ja aksonaaliseen alueeseen, joiden välinen proteiinikuljetus on tiukasti säädeltyä (Balasanyan ym., 2017; Franssen ym., 2015). Yksilönkehityksen aikana integriinejä kuljetetaan aksonissa anterogradisesti eli soomasta kohti kasvukartiota, mutta tämä kuljetus muuttuu lähes täysin retrogradiseksi aikuisuudessa, jolloin integriinejä siirretään kasvukartioista soomaa kohti (Andrews ym., 2016; Franssen ym., 2015).

Anterogradisen kuljetuksen pysähtymiseen liittyy kehitysaikainen *ARF6*-geenin aktivaatio, sekä AIS-alueen toiminta (Franssen ym., 2015.) Aksonin proksimaalinen AIS-alue on somatodendriittisen ja aksonaalisen alueen välinen fysiologinen ja anatominen siirtymäalue, joka rakentuu AnkG:sta (ankyriini G), NF-186:sta (neurofasiini-186), B-IV spektriinistä, jänniteherkistä natriumkanavista (Hedstrom ym., 2008) ja aktiinifilamenteista (Xu ym., 2013). Aksonin proksimaalisen alueen tiheän aktiiniverkon on ehdotettu estävän somatodendriittisten proteiinien siirtoa aksoniin (Balasanyan ym., 2017) ja AIS-alueen onkin osoitettu estävän integriinikuljetusta soomasta aksonin proksimaalisiin osiin (Franssen ym., 2015). Koska valtaosa proteiineista syntesoidaan hermosolun soomassa, integriinikuljetuksen kääntyminen retrogradiseksi ja anterogradisen kuljetuksen esto johtavat siihen, että suurin osa integriineistä menetetään aksoneista aikuisuudessa. Tällöin integriinivälitteiset aksonin kasvuun ja ohjaukseen liittyvät tapahtumat estetään. Retrogradinen kuljetus ja integriinien siirron esto aksoniin assosioituvatkin aksonien regeneraatiokapasiteetin menetykseen (Franssen ym., 2015), kun taas integriinisignaloinnin aktivointi aikuisten keskushermostossa edistää aksoniregeneraatiota (Cheah ym., 2023; Sekine ym., 2022) ja aksonien kasvua neuritogeneesin aikana (Chacón ym., 2012; Gupton & Gertler, 2010; Robles & Gomez, 2006). Esimerkiksi *ARF6*-geenin inaktivaatio mahdollistaa anterogradisen integriinikuljetuksen aktivaation, jolloin integriinejä siirretään soomasta aksoneihin ja aksonin regeneraatiokapasiteetti palautuu (Franssen ym., 2015). Lisäksi integriinejä aksoneihin kuljettavien Rab11 GTPaasien yliekspressio edistää aksoniregeneraatiota, kun taas näiden molekyylien ekspression inhibitio aksoneissa yksilönkehityksen aikana assosioituu regeneraatiokapasiteetin menetykseen, samoin kuin integriinien retrogradinen siirto (Koseki ym., 2017). Kaiken kaikkiaan integriinien kuljetus kasvukartioihin edistää aksoniregeneraatiota, kun taas integriinikuljetuksen inhibitio johtaa regeneraatiokapasiteetin menetykseen (Franssen ym., 2015; Koseki ym., 2017).

### 3.1.2 Fosfatidyli-inositoli-3-kinaasi

PI3-kinaasit (PI3K) ovat entsyymejä, jotka säätelevät solujen kasvua ja erilaistumista. PI3K:t katalysoivat PIP<sub>2</sub>:n (fosfatidyli-inositoli 4,5-bisfosfaatti) fosforylaatiota PIP<sub>3</sub>:ksi (fosfatidyli-inositoli (3,4,5)-trifosfaatti). Reaktion vastavaikuttaja on PTEN-fosfataasi, joka toimii solussa tuumorisuppressorina. Se muuttaa PIP<sub>3</sub>:a PIP<sub>2</sub>:ksi. Yhdessä PI3K ja PTEN säätelevät solujen normaalia jakautumista ja kasvua. PI3K:t jaetaan neljään luokkaan kinaasien rakenteen ja toiminnan perusteella. Näistä luokan I PI3K:t katalysoivat PIP<sub>3</sub>:n muodostumista katalyyttisellä p110 alayksiköllään, jolla on kolme isomuotoa:  $\alpha$ ,  $\beta$ , ja  $\delta$ . Luokan I PI3K:t ja PIP<sub>3</sub> ovat integriinien alavirran signalointimolekyylejä (Gary ym., 2003; Gupton & Gertler, 2010), jotka

edistävät keskushermostossa aksoniregeneraatiota (Karova ym., 2025; Nieuwenhuis ym., 2020; Nieuwenhuis & Eva, 2022) ja neuritogeneesiä (Ménager ym., 2004). Kuvassa 1 esitetään PI3K:n oletettu signaalintireitti hermosoluissa.



**Kuva 1. PI3K-välitteinen integriinisignalointi.** PI3K fosforyloi PIP<sub>2</sub>:n PIP<sub>3</sub>:ksi ja PTEN defosforyloi PIP<sub>3</sub>:n takaisin PIP<sub>2</sub>:ksi. Alavirrassa PIP<sub>3</sub> signaloi Akt/mTOR-reaktioreitin kautta, ja vaikuttaa solussa transkriptioon ja translaatioon (Nieuwenhuis & Eva, 2022). Kuva tehty Biorenderillä.

Yksilönkehityksen aikana PI3K ja PIP<sub>3</sub> ohjaavat keskushermostossa laminiiniriippuvaista neuritogeneesiä. Kun kasvukartio vuorovaikuttaa laminiinin kanssa, PIP<sub>3</sub> kertyy vuorovaikutusalueille ja nopeuttaa siellä neuriitin kasvuvauhtia (Ménager ym., 2004.) Toisaalta PI3K:n ei aina havaita vaikuttavan laminiiniriippuvaiseen neuritogeneesiin (Gupton & Gertler, 2010). Ristiriitaisia tuloksia voisi selittää PTEN-fosfaatin vaihteleva aktiivisuus, jolloin PIP<sub>3</sub>:n defosforylaatio PIP<sub>2</sub>:ksi muuttuu (kuva 1). Kasvukartioissa epäsymmetrisen PIP<sub>3</sub>- ja siitä alavirtaan tapahtuvan Akt-signaloinnin on havaittu säätelevän soluväliaineen molekyylien tunnistamista (Henle ym., 2011). Lisäksi PIP<sub>3</sub>-signaloinnin suppressio säätelee negatiivisesti integriinejä (Henle ym., 2013). Integriiniriippuvaisen PI3K- ja PIP<sub>3</sub>-signaloinnin tarkka merkitys neuritogeneesissä on vielä epäselvä, ja PI3K:n lisäksi esimerkiksi FAK:in on havaittu

säätävän neuritogeneesiä (Gupton & Gertler, 2010). Molemmat näistä ovat kuitenkin integriinien alavirran signalointimolekyylejä (Gupton & Gertler, 2010; Sekine ym., 2022), joten neuritogeneesiä säädellään luultavasti integriineillä. Aikuisuudessa PIP<sub>3</sub>-tasot laskevat samaan aikaan, kun aksonien regeneraatiokapasiteetti menetetään (Nieuwenhuis ym., 2020). Ääreishermostossa, jossa aksonien regeneraatiokapasiteetti säilyy, havaitaan PI3K:n delta-isomuodon (p110 $\delta$ ) edistävän aksoniregeneraatiota. Tämän isomuodon ekspressio edistää aksoniregeneraatiota keskushermostossa *in vitro* (Nieuwenhuis ym., 2020) sekä rottien selkärangan kortikospinaaliradassa *in vivo* (Karova ym., 2025). Regeneraatiokapasiteetin palautuminen vaikuttaa olevan integriinivälitteinen prosessi, sillä delta-isomuoto signaloi ainakin osittain *ARF6*-välitteisesti ja lisää integriinivesikkelien anterogradista siirtoa aksoneissa Rab11 GTPaasi -endosomeilla (Nieuwenhuis ym., 2020). Tätä ehdotusta mukailevat aiemmat tulokset siitä, että *ARF6*-geeni säätelee integriinikuljetuksen kääntymistä retrogradiseksi aikuisuudessa (Franssen ym., 2015) ja Rab11 GTPaasit kuljettavat integriinejä anterogradisesti kasvukartioihin (Koseki ym., 2017). On siis mahdollista, että PI3K:n yliekspressio edistää aksoniregeneraatiota integriinikuljetuksen suuntaan ja aktiivisuuteen liittyvällä mekanismilla. PI3K:n aksoniregeneraatiota edistävään signalointiin liittyy olennaisesti myös sen vastavaikuttaja PTEN. PTEN-geenin deleetion tiedetään edistävän aksoniregeneraatiota PIP<sub>3</sub>:sta alavirtaan tapahtuvan Akt/mTOR-signaloinnin välityksellä muuntogeenisissä hiirissä *in vivo* (Huang ym., 2019) ja *in vitro* soluviljelmissä (Park ym., 2008). Deleetion aksoniregeneraatiota stimuloiva vaikutus liittyy luultavasti PI3K:n aktiivisuuden lisääntymiseen ja PIP<sub>3</sub>:n muodostumiseen.

### *3.2 Soluväliaineen kasvua inhiboivat molekyylit*

NogoA eli retikuloni 4-proteiini on selkärankaisten hermostossa esiintyvä myeliini-inhibiittori, joka inhiboi aksoniregeneraatiota (Huo ym., 2015). Aksoniregeneraatioon kohdistuvat inhibitoriset vuorovaikutukset tapahtuvat oligodendrosyytin solukalvon ja kasvavan aksonin solukalvon välillä. NogoA:ta ekspressoidaan oligodendrosyyttien sytosolissa ja solukalvolla. Sillä on kolme diskreettiä aluetta (Oertle ym., 2003), joista jokainen inhiboi neuriittien kasvua eri mekanismeilla *in vitro* (Fournier ym., 2001; Oertle ym., 2003). Näistä alueista tunnetaan parhaiten Nogo-66, joka on 66-aminohapon pituinen NogoA-proteiinin sekvenssi. Sitä sitoo Nogo-reseptori eli NgR, jota ekspressoidaan eniten aivoissa ja vähemmän perifeerisissä kudoksissa. Selkäytimessä NgR-reseptori lokalisoituu aksoneihin (Fournier ym., 2001). NogoA:n 112 aminohapon pituinen N-terminaali eli amino-nogo alue (AN-alue) ja NogoA:n

spesifinen 181 aminohapon pituinen alue (Oertle ym., 2003) on karakterisoitu oligodendrosyyteissä usein sytoplasmiseksi. Kuitenkin esimerkiksi Oertlen (2003) tutkimuksessa havaittiin, että molempia alueita ekspressoidaan vaiheittain myös solukalvolla. Kaikkien NogoA:n alueiden ominaisuuksia ei siis tunneta täysin. NogoA:n inhibitorinen vaikutus keskushermoston aksonien kasvuun voi olla NgR-reseptorivälitteisen inhibition (Fournier ym., 2001) lisäksi integriinivälitteistä, sillä NogoA rajoittaa neuriittien kasvua keskushermostossa myös NgR-reseptorista riippumattomasti (Oertle ym., 2003). NogoA:n on havaittu inhiboivan aksoniregeneraatiota integriinivälitteisesti sekä ääreishermostossa (Hu & Strittmatter, 2008; Tan ym., 2011) että keskushermostossa (Huo ym., 2015). Hu & Strittmatter (2008) osoittivat NogoA:n inhiboivan fibroblastien soluadheesiota integriinien soluväliaineen ligandeihin ja suppressoivan soluissa FAK:n aktivaatiota soluissa. Tämän lisäksi NogoA inhiboi DRG-hermosolujen aksoniregeneraatiota ja tämän inhibition havaittiin kumoutuvan integriiniaktivaatiolla (Tan ym., 2011). Vaikka DRG-solut ja fibroblastit eivät ole ominaisuuksiltaan identtisiä keskushermoston hermosolujen kanssa, migroituvien solujen signaalintireitit ovat samankaltaisia (Devreotes & Horwitz, 2015). NogoA:n on osoitettu säätelevän aksoniregeneraatiota integriinivälitteisesti keskushermostossa (Huo ym., 2015). Yhdessä ääreis- ja keskushermostosta saadut tukimustulokset viittaavat NogoA:n inhiboivan aksoniregeneraatiota integriinivälitteisellä mekanismilla. On kuitenkin huomioitava, että NogoA ei inhiboi kaikkia integriinejä (Hu & Strittmatter, 2008), eli vuorovaikutukset NogoA:n ja integriinien välillä ovat monimutkaisia. NogoA-välitteinen aksoniregeneraation inhibitio keskushermostossa on osoitettu rottatutkimuksissa *in vivo*, joissa NogoA:n inhibitio edistää selkäydinvaurioista kärsivien rottien motoristen toimintojen palautumista (Gonzenbach ym., 2010; Zhao ym., 2013). Inhibitorisen vuorovaikutuksen on ehdotettu perustuvan fyysiseen assosiaatioon, joka saattaa heikentää integriinien affiniteettia niiden ligandeille ja siten vähentää integriinisignointia ja aksoniregeneraatiota (Hu & Strittmatter, 2008). Se, mikä tai mitkä NogoA:n alueet vuorovaikuttavat integriinien kanssa ei vielä tunneta.

Kondroitiinisulfaattiproteoglykaanit (engl. Chondroitin sulphate proteoglycans, CSPG) ovat soluväliaineen liukoisia molekyyliä, joita erittävät sekä gliasolut että hermosolut. Perineuronaaliset verkot ovat ns. soluväliaineen organisaatioyksiköitä, jotka ympäröivät soomaa ja sen proksimaalisia neuriitteja. Keskushermostossa soluväliaine ja perineuronaaliset verkot sisältävät hyaluronia, joka on disakkaridipolymeeri. CSPG:t sitovat verkkojen hyaluronia ja muodostavat näin yhteyden soluväliaineen ja solukalvon välille. CSPG-molekyylit keskushermostossa yleisiä ja monimuotoisia. Rakenteellisesti ne koostuvat

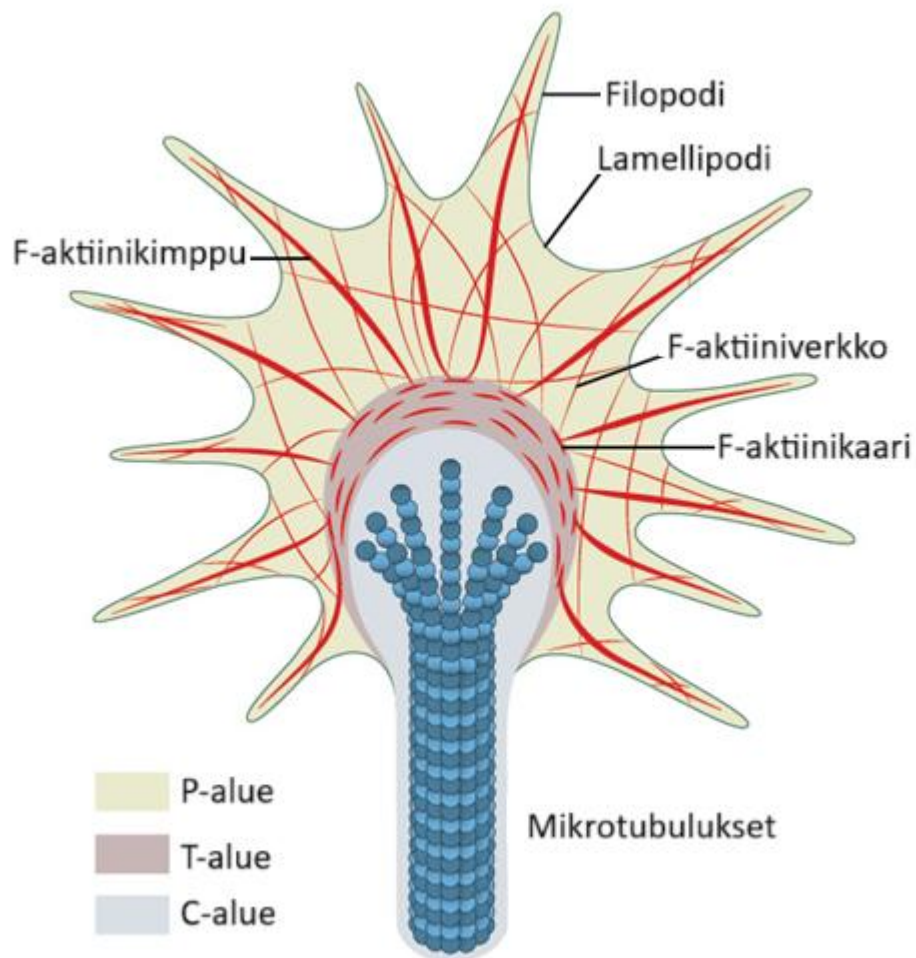
proteiiniytimeistä ja sulfaattiketjusta. Aggrekaani on lektikaaniperheen CSPG-proteiini, johon kuuluu lisäksi kolme muuta proteiinia. Selkärankaisten keskushermostossa aggrekaania on eniten ennen syntymää (Popp ym., 2003), mutta sitä esiintyy myös syntymän jälkeen (Costa ym., 2007). Aivoissa aggrekaania on lähinnä perineuronaalisten verkkojen yhteydessä, joissa se assosioituu hermosolujen AIS-alueeseen (Brückner ym., 2006). Aggrekaanin on osoitettu hidastavan aksonien kasvua ääreishermoston DRG-hermosoluissa inhiboimalla FAK:in fosforylaatiota, joka viittaa integriinisignaloinnin heikkenemiseen (Tan ym., 2011). Tämän lisäksi konstitutiivisen taliinin yliekspressio edistää aksonien kasvua *in vitro* inhibitorisella aggrekaani-laminiinisubstraatilla rotan feokromosytoomasoluissa (Tan ym., 2015). Taliini on tärkeä IAC:n rakenneosana, sekä integriinisignaloinnin alavirran molekyylillä, joten tutkimustulokset viittaavat mahdollisesti aksoniregeneraatiota edistävään integriinisignalointiin. Lisäksi CSPG-molekyylien inhibitorisia glykaaniketjuja (Tan ym., 2011) pilkkovan ChABC-entsyymillä on todettu parantavan rottien raajojen toimintakykyä selkäytimen hermovaurion jälkeen (Zhao ym., 2013). Täten aggrekaani mahdollisesti inhiboi aksoniregeneraatiota integriinivälitteisesti myös keskushermostossa.

## 4 SYTOSKELETONI AKSONIREGENERAATIOSSA

### 4.1 Kasvukartion sytoskeletoni

Aksonin sytoskeletoni alkaa AIS-alueesta ja jatkuu aksonin distaalsiin osiin. Se muodostuu mikrotubuluksista, aktiini- ja neurofilamenteista sekä spektriinistä. Sytoskeletonin on ehdotettu muodostavan aksoneissa jaksottaisen solukalvoa tukevan rengasrakenteen aktiinifilamenteista ja spektriinistä. Näitten proteiinien havaittiin muodostavan jäntevän, mutta taipuisan rakenteen rotan hippokampuksen hermosoluissa (Xu ym., 2013.) Nämä ominaisuudet ovat tärkeitä kasvukartion liikkeelle soluväliaineessa. Vastaava rengasrakenne on havaittu *Drosophila* -suvun kärpäsissä, joissa rengasrakenteen on edotettu säätelevän mikrotubulusten polymerisaatiota (Qu ym., 2017). Mikrotubulukset kuljettavat aksoneissa kasvuun tarvittavia raakamateriaaleja sisältäviä vesikkeleitä, joten aksonin sytoskeletonin aktiinin säätely voisi selkärankaisillakin vaikuttaa myös mikrotubulusvälitteiseen materiaalikuljetukseen ja siten aksonien kasvuun. Tätä prosessia säätelevät todennäköisesti aktiinifilamenteja säätelevät integriinit (Chacón ym., 2012; Chastney ym., 2021; Rico ym., 2004; Sekine ym., 2022).

Kasvukartion sytoskeletonin rakenne eroaa muusta aksonista. Kasvavan aksonin kasvukartio jaetaan rakenteellisesti kolmeen alueeseen: P-, T- ja C-alueeseen, jotka on esitetty kuvassa 2.



**Kuva 2. Kasvukartion sytoskeletoni.** (Muokattu Mechanobiology institute, 2023).

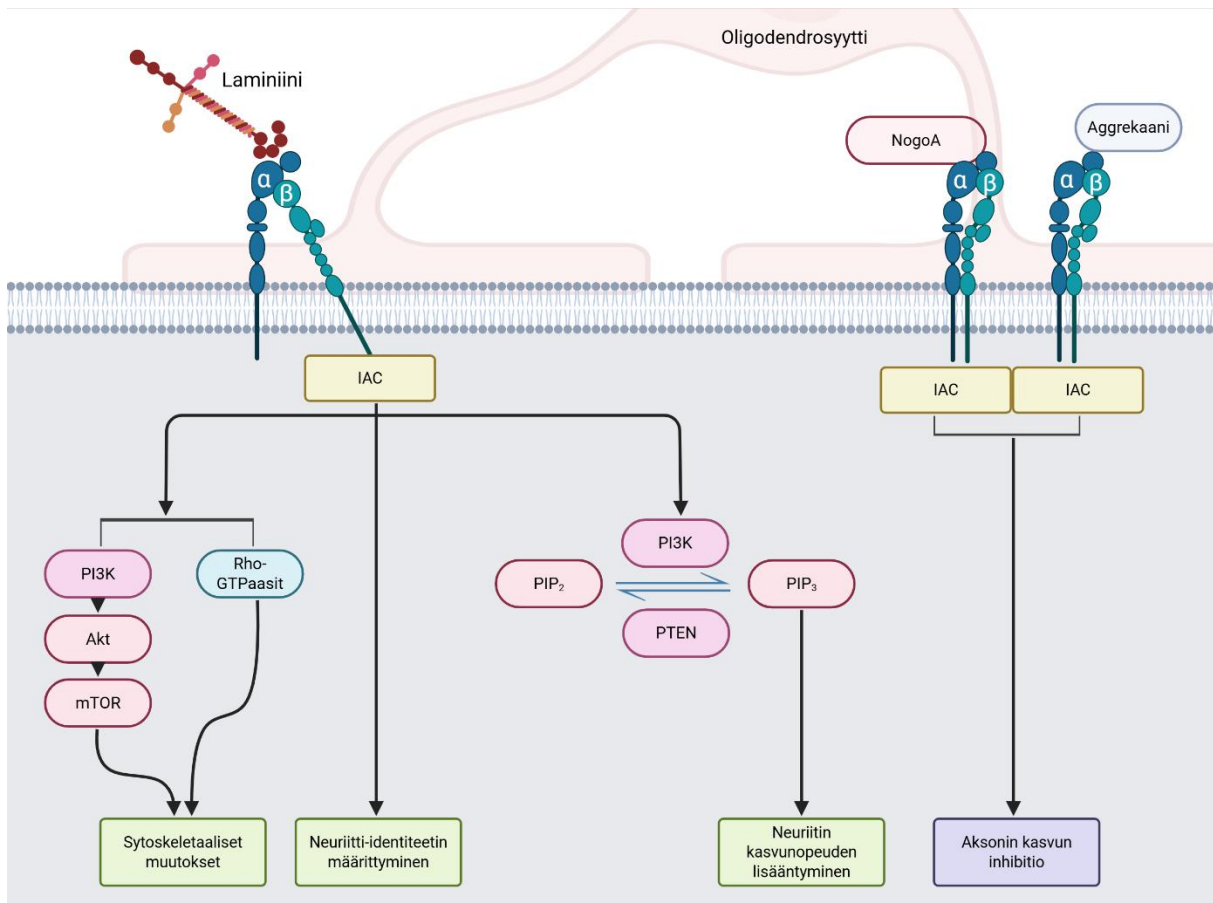
Soluväliaineeseen nähden etummaisessa P-alueessa ovat F- ja G-aktiinifilamentit, aktiinisäiekimput, filopodit ja lamellipodit. F-aktiinilla (engl. Filamentous actin) tarkoitetaan polymerisoitunutta aktiinia eli aktiinifilamentteja ja G-aktiinilla (engl. Globular actin) tarkoitetaan aktiinin monomeerimuotoa. Aktiini P-alueella polymerisoituu ja depolymerisoituu jatkuvasti. Lamellipodit ovat solukalvon ulkonemia ja filopodit ovat lamellipodien jatkerakenteita. T-alueen suuntaan. T-alueella on P-alueen aktiiniverkkoon rajoittuvia mikrotubuluksia, sekä aktiiniverkon toimintaa säätelevä myosiinimoottori. Soluväliaineeseen nähden taaimmaisessa C-domeenissa on jatkuvasti polymerisoituvia ja depolymerisoituvia mikrotubuluksia, jotka kuljettavat raakamateriaaleja sisältäviä vesikkeleitä soomasta kasvukartioon. Rakenteelliset MAP-proteiinit puolestaan muodostavat aksonissa mikrotubuluskimppuja ja stabiloivat niitä. Molekyylien sitoutuminen reseptoreihin, kuten

integrointiin laukaisee solunsisäisiä signaalintapahtumia, jotka aiheuttavat sytoskeletaalisia muutoksia aktiinifilamenteissa. Muutokset P-alueen aktiinifilamenttien polymerisaatioasteessa aiheuttavat kasvukartion liikkeen soluväliaineessa. Kokonaisuudessaan integriinisignaloinnin aktivaation ja inhibition vaikutusten voidaan katsoa yhdistyvän keskushermoston hermosoluissa sytoskeletonissa. (Chacón ym., 2012; Gupton & Gertler, 2010; Iobbi ym., 2017; Rico ym., 2004; Robles & Gomez, 2006; Zou ym., 2018). Kemiallisten signaalien lisäksi aksonien kasvua ohjaavat ympäristön mekaaniset signaalit, kuten paine (Chastney et al., 2021). Kytös integriinien ja aksoniregeneraatiota edistävien signaalintapahtumien välille muodostuu IAC-kompleksin välityksellä. Se on 156 proteiinista muodostuva proteiinikompleksi, jonka osat liittyvät olennaisesti proteiinien aktivaatioon ja inaktivaatioon, sytoskeletonin uudelleenjärjestymiseen ja soluadheesion muodostamiseen (Zaidel-Bar ym., 2007). IAC jakautuu kolmeen toiminnalliseen kerrokseen vertikaalisesti (Chastney ym., 2021). Uloimman integriinisignalointikerroksen keskeisin osa on aksoniregeneraation kannalta FAK, joka ohjaa kasvukartioita säätelemällä aktiinifilamentteja P-alueen aktiinifilamentteja (Chacón ym., 2012; Rico ym., 2004; Sekine ym., 2022). Keksimmäisessä voimansiirtokerroksessa (engl. force-transduction layer) taas toimii taliini, jonka on myös näytetty edistävän aksoniregeneraatiota (Tan ym., 2015). Alimmassa aktiininsäätelykerroksessa on aktiiniin assosioituvia proteiineja (Chastney ym., 2021.) IAC:n osat kuten FAK ja taliini siis edistävät aksoniregeneraatiota. Tämä mukailee esitystä siitä, että integriinisignaloinnin aktivaatio esimerkiksi integriinikuljetusta edistämällä voisi palauttaa regeneraatiokapasiteetin keskushermostossa (Franssen ym., 2015; Koseki ym., 2017).

#### *4.2 Integriinivälitteiset sytoskeletaaliset muutokset aksoneissa*

Kasvukartiossa tensio eli sytoskeletoniin kohdistuvat mekaaniset voimat kuten paine ja kierteisyys määrittävät sen liikkeen. Tensioon vaikuttavat erilaiset sytoskeletonia muokkaavat signaalintapahtumat. Sytoskeletaalisten muutosten indusoimalle kasvukartion liikkeelle on esitetty erilaisia malleja. Craig (2018) esitti, että kasvukartion P-alueen F-aktiinin ja C-alueen mikrotubulusten väliset vuorovaikutukset johtavat filopodien pidentymiseen, ja että aksonin sytoskeletonin aktiinin polymerisaatio edistää tätä prosessia. Mallin mukaan kasvukartion liike perustuu positiiviseen takaisinkytkentään, jossa soluväliaineen substraatti heikentää mikrotubulusten kytkentymistä aktiinin retrogradiseen virtaukseen kasvukartiossa. Tällöin mikrotubulukset tunkeutuvat kasvukartion keskiosista sen raja-alueille, jossa ne edistävät aktiinin adheesiota substraattiin. Mikrotubulusten jakauma kasvukartiossa on epätasainen, mikä

johtaa erivahvuisiin adheesioihin solukalvolla. Kasvukartion kääntyy vahvemman adheesion suuntaan. DRG-soluihin perustuvassa tutkimuksessa ollaan ehdotettu vastaavanlaista adhesiivisiin vuorovaikutuksiin perustuvaa kasvukartion ohjausmekanismia (Schmidt ym., 1995). Tässä mallissa  $\beta$ 1-integriini säätelee kasvukartion sytoskeletonia. Mallin mukaan integriinejä kuljetetaan kasvukartion rajapintaan, jossa ne muodostavat väliaikaisesti adheesioita, jotka liittävät soluväliaineen molekyylin sytoskeletoniin. Liitoksen muodostuminen mahdollistaa sytoskeletoniin kohdistuvan vetovoiman generoimisen, joka liikuttaa kasvukartiota eteenpäin tai kääntää sitä. Keskushermostossa *ARF6*-reaktiotie (Franssen ym., 2015; Nieuwenhuis ym., 2020) ja Rab11 endosomit (Koseki ym., 2017) säätelevät integriinikuljetusta kasvukartioon, joista integriinit menetetään yksilönkehityksen aikana (Franssen ym., 2015). Koska valtaosa proteiinisynteesistä tapahtuu soomasta, vähäinen integriinikuljetus voi estää kasvukartiota ohjaavien adheesioiden muodostumisen.  $\beta$ 1-integriinin tiedetään esiintyvän keskushermostossa ainakin yksilönkehityksen aikana (Campos ym., 2004; Graus-Porta ym., 2001) ja integriinisignaloinnin tiedetään laukaisevan neuritogeneesiä edistäviä (Gupton & Gertler, 2010) ja ohjaavia (Witte ym., 2008) sytoskeletaalisia muutoksia. Lisäksi  $\beta$ 1-integriinien on näytetty stabiloivan keskushermostossa mikrotubuluksia ja säätelevän aksonien muodostumista laminiinisubtraatilla (Lei ym., 2012). On mahdollista, että kasvukartion sytoskeletaalisia muutoksia säädellään  $\beta$ 1-integriineillä ja IAC-kompleksien välityksellä myös keskushermostossa.



**Kuva 3. Integriinisignalointi aksoniregeneraatiossa.** IAC-kompleksien rakenneosat aktivoivat PI3K:n ja säätelevät Rho GTPaasien toimintaa. Aktivaatio- ja säätelyprosesseista aiheutuu sytoskeletaalisia muutoksia sekä neuritiin kasvunopeuden lisääntyminen neuritogeneesissä (LÄHDE). Integriinien vuorovaikutus laminiinin kanssa vaikuttaa mahdollisesti neuritti-identiteetin määrittymiseen aksoniksi Integriinisignaloinnin inaktivaatio soluväliaineen molekyyleillä johtaa aksonin kasvun inhibitioon. Kuva tehty Biorenderillä. (Graus-Porta ym., 2001; Gupton & Gertler, 2010; Chastney ym., 2021; Ménager ym., 2004; Nieuwenhuis ym., 2022; Oertle ym., 2003; Rico ym., 2004; Schmidt ym., 1995; Tan ym., 2011; Tan ym., 2015)

FAK on yksi tärkeimmistä integriinien alavirran signalointimolekyyleistä (Chastney ym., 2021) ja aksoniregeneraatiossa se ohjaa kasvukartion liikkeitä (Robles & Gomez, 2006). Sen signalointi sytoskeletoniin on välttämätöntä kasvukartioiden edistymiselle (Rico ym., 2004). FAK säätelee soluissa aktiinin polymerisaation ensimmäistä vaihetta eli aktiininukleaatiota (Chacón ym., 2012), sekä Rho-GTPaaseja, jotka muokkaavat sytoskeletonin aktiinifilamenttien polymerisaatioastetta (Rico ym., 2004). Kasvukartion kääntymisen voidaan olettaa olevan integriinisäädelyä, sillä FAK liittyy adheesion hermosolun sytoskeletoniin (Robles & Gomez, 2006). FAK:in toiminta mukaillee hyvin aktiinipolymerisaatioon ja adhesiivisiin vuorovaikutuksiin perustuvaa aksonin kasvua. Integriinejä inaktivoiva aggregaani kumoaa kehittyvässä hermosolussa taliinin vaikutukset sytoskeletoniin, vähentää aktiinin

kokonaisfilamenttien määrää kasvukartioissa sekä aiheuttaa aktiinifilamenttien uudelleenjärjestymistä. Tämä taas indusoi kasvukartion kääntymistä ja inhiboi aksonien haaroittumista (Zou ym. 2018.) Integriinisignaloinnin aktivaatio ja inaktivaatio toimivat siis kasvukartioissa dynaamisina prosesseina, jotka ohjaavat aksoniregeneraatiota kasvukartioiden välityksellä. Aggrekaanin lisäksi NogoA:n on havaittu muokkaavan solujen sytoskeletonia. Keskushermostossa se destabiloi aktiinisytoskeletonia ROCK2 (engl. Rho associated coiled-coil containing protein kinase 2) -välitteisesti (Iobbi ym., 2017). Fibroblasteissa NogoA indusoi aktiinifilamenttien uudelleenjärjestymistä mahdollisesti Rho GTPaasien välityksellä (Deng ym., 2010), jotka ovat integriinien alavirran signaalintimolekyylejä (Chastney ym., 2021) ja vuorovaikuttavat esimerkiksi sytoskeletonia muokkaavan FAK:in kanssa (Rico ym., 2004). Aktiinifilamenttien uudelleenjärjestyminen taas muokkaa kasvukartion morfologiaa ja adhesiivisia vuorovaikutuksia. ILK eli integriinikinaasi (engl. integrin linked kinase, ILK) sitoutuu integriinien  $\beta$ 1- ja  $\beta$ 3-alayksiköihin. Fibroblasteissa ILK aktivoi PI3K/Akt-signaalointia (kuva 3), joka indusoi aktiinifilamenttien uudelleenjärjestymistä (Qian ym., 2005). DRG-soluissa PI3K:n on puolestaan havaittu säätelevän hermosolun aktiinisytoskeletonia ja filopodien muodostumista. Useat integriinisignalointitapahtumat siis muokkaavat solun sytoskeletonia eli vaikuttavat sen tensioon. Näin ne ohjaavat kasvukartion liikettä ja aksoniregeneraatiota.

## 5 YHTEENVETO

Integriinit välittävät erilaisia migroituvia soluja ohjaavia adhesiivisia vuorovaikutuksia muodostamalla fyysisen liitoksen soluväliaineen molekyylin ja solun aktiinisytoskeletonin välille (Chastney ym., 2021). Keskushermostossa integriinisignalointi kohdistuu hermosolun liikkeitä ohjaavan kasvukartion sytoskeletoniin, jossa aiheutuvat muutokset aktiinin polymerisaatioasteessa vaikuttavat kasvukartion liikkeisiin soluväliaineessa (Chacón ym., 2012; Gupton & Gertler, 2010; Rico ym., 2004; Robles & Gomez, 2006). Yksilönkehityksen aikana hermosolujen integriinireseptorit ohjaavat ja edistävät aksonien kasvua (Chacón ym., 2012; Gupton & Gertler, 2010; Robles & Gomez, 2006). Aikuisuudessa valtaosa integriinireseptoreista menetetään aksoneista, jolloin myös aksonien regeneraatiokapasiteetti menetetään. Tähän liittyvät erilaiset integriinien anterogradista kuljetusta suppressoivat mekanismit, joilla integriinireseptorien ekspressio solukalvolla estetään (Franssen ym., 2015.) Integriinisignaloinnin aktivaatio edistää aksoniregeneraatiota keskushermostossa erilaisin

mekanismein (Cheah ym., 2023; Sekine ym., 2022). PI3K on eräs integriinien alavirran signalointimolekyyleistä, joka aktivoi aksoniregeneraatiota edistävää Akt/mTOR signalointia (Nieuwenhuis ym., 2020; Nieuwenhuis & Eva, 2022). Lisäksi sen PIP<sub>2</sub>:sta fosforyloima PIP<sub>3</sub> edistää aksonien kasvua yksilönkehityksen aikana (Ménager ym., 2004). Integriinien muodostamien integriiniadheesiokompleksien keskeinen rakenneosaa (Chastney ym., 2021) sekä integriinien alavirran signalointimolekyylillä FAK puolestaan ohjaa aksonien kasvua keskushermostossa ja säätelee aktiinien polymerisaatiota muokkaavia Rho-GTPaaseja, säädellen siten kasvukartion liikkeitä (Rico ym., 2004). Integriinisisignaaloinnin merkitystä aksonien kasvussa ja regeneraatiossa korostaa myös integriinisisignaaloinnin inhibition vaikutus aksoniregeneraatioon. Solunulkoiset molekyylit kuten oligodendrosyyttien solukalvolla ekspressoitava NogoA ja soluväliaineen perineuronaalisissa verkoissa esiintyvä aggregaani inaktivoivat integriinejä ja inhiboivat aksoniregeneraatiota (Huo ym., 2015; Tan ym., 2011; Zhao ym., 2013).

## 6 LÄHTEET

Andrews, M.R., Soleman, S., Cheah, M., Tumbarello, D.A., Mason, M.R.J., Moloney, E., Verhaagen, J., Bensadoun, J.-C., Schneider, B., Aebischer, P., Fawcett, J.W., 2016. Axonal Localization of Integrins in the CNS Is Neuronal Type and Age Dependent. *eNeuro* 3. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0029-16.2016>

Balasanyan, V., Watanabe, K., Dempsey, W.P., Lewis, T.L., Trinh, L.A., Arnold, D.B., 2017. Structure and Function of an Actin-Based Filter in the Proximal Axon. *Cell Rep.* 21, 2696–2705. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.11.046>

Brückner, G., Szeöke, S., Pavlica, S., Grosche, J., Kacza, J., 2006. Axon initial segment ensheathed by extracellular matrix in perineuronal nets. *Neuroscience* 138, 365–375. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.11.068>

Campos, L.S., Leone, D.P., Relvas, J.B., Brakebusch, C., Fässler, R., Suter, U., ffrench-Constant, C., 2004.  $\beta$ 1 integrins activate a MAPK signalling pathway in neural stem cells that contributes to their maintenance. *Development* 131, 3433–3444. <https://doi.org/10.1242/dev.01199>

Chacón, M.R., Navarro, A.I., Cuesto, G., del Pino, I., Scott, R., Morales, M., Rico, B., 2012. Focal adhesion kinase regulates actin nucleation and neuronal filopodia formation during axonal growth. *Development* 139, 3200–3210. <https://doi.org/10.1242/dev.080564>

Chastney, M.R., Conway, J.R.W., Ivaska, J., 2021. Integrin adhesion complexes. *Curr. Biol.* 31, R536–R542. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.038>

Cheah, M., Cheng, Y., Petrova, V., Cimpean, A., Jendelova, P., Swarup, V., Woolf, C.J., Geschwind, D.H., Fawcett, J.W., 2023. Integrin-Driven Axon Regeneration in the Spinal Cord Activates a Distinctive CNS Regeneration Program. *J. Neurosci.* 43, 4775–4794. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2076-22.2023>

Costa, C., Tortosa, R., Domènech, A., Vidal, E., Pumarola, M., Bassols, A., 2007. Mapping of aggrecan, hyaluronic acid, heparan sulphate proteoglycans and aquaporin 4 in the central nervous system of the mouse. *J. Chem. Neuroanat.* 33, 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2007.01.006>

Craig, E.M., 2018. Model for Coordination of Microtubule and Actin Dynamics in Growth Cone Turning. *Front. Cell. Neurosci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00394>

Deng, K., Gao, Y., Cao, Z., Graziani, E.I., Wood, A., Doherty, P., Walsh, F.S., 2010. Overcoming Amino-Nogo-induced Inhibition of Cell Spreading and Neurite Outgrowth by 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate-type Tumor Promoters. *J. Biol. Chem.* 285, 6425–6433. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.071548>

- Devreotes, P., Horwitz, A.R., 2015. Signaling Networks that Regulate Cell Migration. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, a005959. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005959>
- Fournier, A.E., GrandPre, T., Strittmatter, S.M., 2001. Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration. *Nature* 409, 341–346. <https://doi.org/10.1038/35053072>
- Franssen, E.H.P., Zhao, R.-R., Koseki, H., Kanamarlapudi, V., Hoogenraad, C.C., Eva, R., Fawcett, J.W., 2015. Exclusion of Integrins from CNS Axons Is Regulated by Arf6 Activation and the AIS. *J. Neurosci.* 35, 8359–8375. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2850-14.2015>
- Gary, D.S., Milhavet, O., Camandola, S., Mattson, M.P., 2003. Essential role for integrin linked kinase in Akt-mediated integrin survival signaling in hippocampal neurons. *J. Neurochem.* 84, 878–890. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01579.x>
- Gonzenbach, R.R., Gasser, P., Zörner, B., Hochreutener, E., Dietz, V., Schwab, M.E., 2010. Nogo-A antibodies and training reduce muscle spasms in spinal cord-injured rats. *Ann. Neurol.* 68, 48–57. <https://doi.org/10.1002/ana.22009>
- Graus-Porta, D., Blaess, S., Senften, M., Littlewood-Evans, A., Damsky, C., Huang, Z., Orban, P., Klein, R., Schittny, J.C., Müller, U., 2001.  $\beta$ 1-Class Integrins Regulate the Development of Laminae and Folia in the Cerebral and Cerebellar Cortex. *Neuron* 31, 367–379. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00374-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00374-9)
- Gupton, S.L., Gertler, F.B., 2010. Integrin Signaling Switches the Cytoskeletal and Exocytic Machinery that Drives Neuritogenesis. *Dev. Cell* 18, 725–736. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.02.017>
- Hedstrom, K.L., Ogawa, Y., Rasband, M.N., 2008. AnkyrinG is required for maintenance of the axon initial segment and neuronal polarity. *J. Cell Biol.* 183, 635–640. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806112>
- Henle, S.J., Carlstrom, L.P., Cheever, T.R., Henley, J.R., 2013. Differential Role of PTEN Phosphatase in Chemotactic Growth Cone Guidance. *J. Biol. Chem.* 288, 20837–20842. <https://doi.org/10.1074/jbc.C113.487066>
- Henle, S.J., Wang, G., Liang, E., Wu, M., Poo, M., Henley, J.R., 2011. Asymmetric PI(3,4,5)P<sub>3</sub> and Akt Signaling Mediates Chemotaxis of Axonal Growth Cones. *J. Neurosci.* 31, 7016–7027. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0216-11.2011>
- Hu, F., Strittmatter, S.M., 2008. The N-Terminal Domain of Nogo-A Inhibits Cell Adhesion and Axonal Outgrowth by an Integrin-Specific Mechanism. *J. Neurosci.* 28, 1262–1269. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1068-07.2008>

- Huang, H., Miao, L., Yang, L., Liang, F., Wang, Q., Zhuang, P., Sun, Y., Hu, Y., 2019. AKT-dependent and -independent pathways mediate PTEN deletion-induced CNS axon regeneration. *Cell Death Dis.* 10, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1289-z>
- Huo, Y., Yin, X.-L., Ji, S.-X., Zou, H., Lang, M., Zheng, Z., Cai, X.-F., Liu, W., Chen, C.-L., Zhou, Y.-G., Yuan, R.-D., Ye, J., 2015. Amino-Nogo inhibits optic nerve regeneration and functional recovery via the integrin  $\alpha$ v signaling pathway in rats. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 35, 616–626. <https://doi.org/10.1159/000369723>
- Iobbi, C., Korte, M., Zagrebelsky, M., 2017. Nogo-66 Restricts Synaptic Strengthening via Lingo1 and the ROCK2–Cofilin Pathway to Control Actin Dynamics. *Cereb. Cortex* 27, 2779–2792. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw122>
- Karova, K., Polcanova, Z., Knight, L., Suchankova, S., Nieuwenhuis, B., Holota, R., Herynek, V., Machova Urdzikova, L., Turecek, R., Kwok, J.C., van den Herik, J., Verhaagen, J., Eva, R., Fawcett, J.W., Jendelova, P., 2025. Hyperactive delta isoform of PI3 kinase enables long-distance regeneration of adult rat corticospinal tract. *Mol. Ther.* 33, 752–770. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2024.12.040>
- Koseki, H., Donegá, M., Lam, B.Y., Petrova, V., van Erp, S., Yeo, G.S., Kwok, J.C., Ffrench-Constant, C., Eva, R., Fawcett, J.W., 2017. Selective rab11 transport and the intrinsic regenerative ability of CNS axons. *eLife* 6, e26956. <https://doi.org/10.7554/eLife.26956>
- Lei, W.-L., Xing, S.-G., Deng, C.-Y., Ju, X.-C., Jiang, X.-Y., Luo, Z.-G., 2012. Laminin/ $\beta$ 1 integrin signal triggers axon formation by promoting microtubule assembly and stabilization. *Cell Res.* 22, 954–972. <https://doi.org/10.1038/cr.2012.40>
- Ménager, C., Arimura, N., Fukata, Y., Kaibuchi, K., 2004. PIP3 is involved in neuronal polarization and axon formation. *J. Neurochem.* 89, 109–118. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2004.02302.x>
- Nieuwenhuis, B., Barber, A.C., Evans, R.S., Pearson, C.S., Fuchs, J., MacQueen, A.R., van Erp, S., Haenzi, B., Hulshof, L.A., Osborne, A., Conceicao, R., Khatib, T.Z., Deshpande, S.S., Cave, J., Ffrench-Constant, C., Smith, P.D., Okkenhaug, K., Eickholt, B.J., Martin, K.R., Fawcett, J.W., Eva, R., 2020. PI 3-kinase delta enhances axonal PIP3 to support axon regeneration in the adult CNS. *EMBO Mol. Med.* 12, e11674. <https://doi.org/10.15252/emmm.201911674>
- Nieuwenhuis, B., Eva, R., 2022. Promoting axon regeneration in the central nervous system by increasing PI3-kinase signaling. *Neural Regen. Res.* 17, 1172. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.327324>
- Oertle, T., van der Haar, M.E., Bandtlow, C.E., Robeva, A., Burfeind, P., Buss, A., Huber, A.B., Simonen, M., Schnell, L., Brösamle, C., Kaupmann, K., Vallon, R., Schwab, M.E., 2003. Nogo-A inhibits neurite outgrowth and cell spreading with three discrete regions. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 5393–5406. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-13-05393.2003>

- Park, K.K., Liu, K., Hu, Y., Smith, P.D., Wang, C., Cai, B., Xu, B., Connolly, L., Kramvis, I., Sahin, M., He, Z., 2008. Promoting Axon Regeneration in the Adult CNS by Modulation of the PTEN/mTOR Pathway. *Science* 322, 963–966. <https://doi.org/10.1126/science.1161566>
- Popp, S., Andersen, J.S., Maurel, P., Margolis, R.U., 2003. Localization of aggrecan and versican in the developing rat central nervous system. *Dev. Dyn.* 227, 143–149. <https://doi.org/10.1002/dvdy.10282>
- Qian, Y., Zhong, X., Flynn, D.C., Zheng, J.Z., Qiao, M., Wu, C., Dedhar, S., Shi, X., Jiang, B.-H., 2005. ILK mediates actin filament rearrangements and cell migration and invasion through PI3K/Akt/Rac1 signaling. *Oncogene* 24, 3154–3165. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208525>
- Qu, Y., Hahn, I., Webb, S.E.D., Pearce, S.P., Prokop, A., 2017. Periodic actin structures in neuronal axons are required to maintain microtubules. *Mol. Biol. Cell* 28, 296–308. <https://doi.org/10.1091/mbc.E16-10-0727>
- Rico, B., Beggs, H.E., Schahin-Reed, D., Kimes, N., Schmidt, A., Reichardt, L.F., 2004. Control of axonal branching and synapse formation by focal adhesion kinase. *Nat. Neurosci.* 7, 1059–1069. <https://doi.org/10.1038/nn1317>
- Robles, E., Gomez, T.M., 2006. Focal adhesion kinase signaling at sites of integrin-mediated adhesion controls axon pathfinding - PubMed.
- Salminen, M., 2015. Keskushermosto, in: *Kehitysbiologia - Solusta yksilöksi*. Duodecim, pp. 165–186.
- Schmidt, C.E., Dai, J., Lauffenburger, D.A., Sheetz, M.P., Horwitz, A.F., 1995. Integrin-cytoskeletal interactions in neuronal growth cones. *J. Neurosci.* 15, 3400–3407. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-05-03400.1995>
- Sekine, Y., Kannan, R., Wang, X., Strittmatter, S.M., 2022. Rabphilin3A reduces integrin-dependent growth cone signaling to restrict axon regeneration after trauma. *Exp. Neurol.* 353, 114070. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2022.114070>
- Stutchbury, B., Atherton, P., Tsang, R., Wang, D.-Y., Ballestrem, C., 2017. Distinct focal adhesion protein modules control different aspects of mechanotransduction. *J. Cell Sci.* 130, 1612–1624. <https://doi.org/10.1242/jcs.195362>
- Tan, C.L., Kwok, J.C.F., Heller, J.P.D., Zhao, R., Eva, R., Fawcett, J.W., 2015. Full length talin stimulates integrin activation and axon regeneration. *Mol. Cell. Neurosci.* 68, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.03.011>
- Tan, C.L., Kwok, J.C.F., Patani, R., French-Constant, C., Chandran, S., Fawcett, J.W., 2011. Integrin Activation Promotes Axon Growth on Inhibitory Chondroitin Sulfate Proteoglycans by Enhancing Integrin Signaling. *J. Neurosci.* 31, 6289–6295. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0008-11.2011>

- Teliska, L.H., Costa, I.D., Sert, O., Twiss, J.L., Rasband, M.N., 2022. Axon Initial Segments Are Required for Efficient Motor Neuron Axon Regeneration and Functional Recovery of Synapses. *J. Neurosci.* 42, 8054–8065. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1261-22.2022>
- Wang, X., Chun, S.-J., Treloar, H., Vartanian, T., Greer, C.A., Strittmatter, S.M., 2002. Localization of Nogo-A and Nogo-66 Receptor Proteins at Sites of Axon–Myelin and Synaptic Contact. *J. Neurosci.* 22, 5505–5515. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-13-05505.2002>
- Witte, H., Neukirchen, D., Bradke, F., 2008. Microtubule stabilization specifies initial neuronal polarization. *J. Cell Biol.* 180, 619–632. <https://doi.org/10.1083/jcb.200707042>
- Xu, K., Zhong, G., Zhuang, X., 2013. Actin, spectrin and associated proteins form a periodic cytoskeletal structure in axons. *Science* 339, 10.1126/science.1232251. <https://doi.org/10.1126/science.1232251>
- Zhao, R.-R., Andrews, M.R., Wang, D., Warren, P., Gullo, M., Schnell, L., Schwab, M.E., Fawcett, J.W., 2013. Combination treatment with anti-Nogo-A and chondroitinase ABC is more effective than single treatments at enhancing functional recovery after spinal cord injury. *Eur. J. Neurosci.* 38, 2946–2961. <https://doi.org/10.1111/ejn.12276>
- Zou, J.-L., Sun, J.-H., Qiu, S., Chen, S.-H., He, F.-L., Li, J.-C., Mao, H.-Q., Liu, X.-L., Quan, D.-P., Zeng, Y.-S., Zhu, Q.-T., 2018. Spatial distribution affects the role of CSPGs in nerve regeneration via the actin filament-mediated pathway. *Exp. Neurol.* 307, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2018.05.023>