BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

Suomen Gynekologiyhdistyksen koulutuspäivät 8.–9.5.2014

Miten näkemyksemme steroidihormonien vaikutuksesta on vuosien saatossa jalostunut ?

Olli A. Jänne
Helsingin yliopisto, Biomedicum Helsinki

BIOMEDICUM HELSINKI

Sidonnaisuudet

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

LKT, kliinisen kemian erikoislääkäri

Päätoimet (joista emeritus)

- lääketieteen professori, Helsingin yliopisto
- johtaja, Biomedicum Helsinki

Sivutoimet

- ylilääkäri, kliininen kemia, HUS (emeritus)
- asiamies, Biomedicum Helsinki -säätiö

Luottamustoimet terveydenhuollon alalla

Oslo University Hospital, tieteellisen neuvoston jäsen

Toiminta terveydenhuollon ohjaukseen pyrkivissä hankkeissa

Muut sidonnaisuudet

BIOMEDICUM HELSINKI

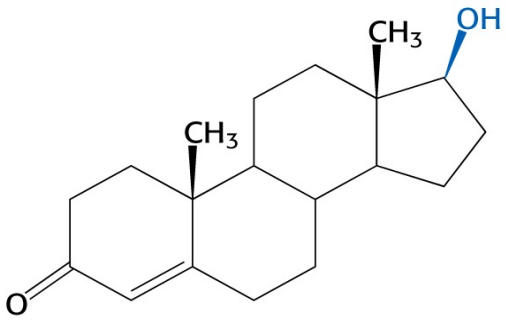
UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

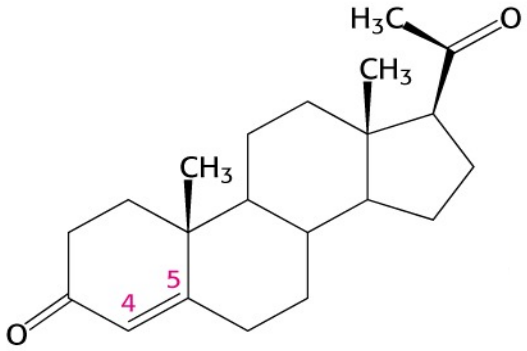
Onko näkemyksemme steroidihormonien vaikutuksesta todella jalostunut tai selkeytynyt vuosien saatossa ?

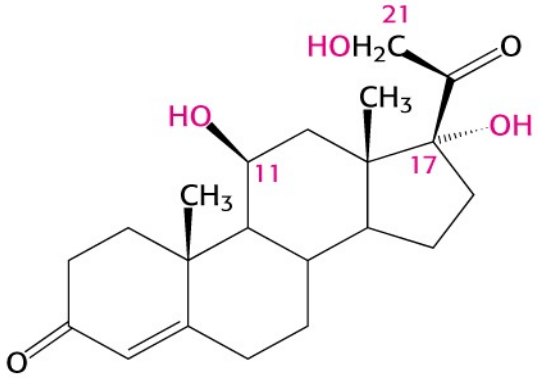
BIOMEDICUM HELSINKI

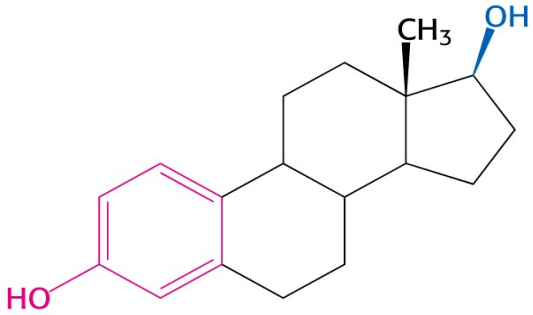
Steroidihormonit

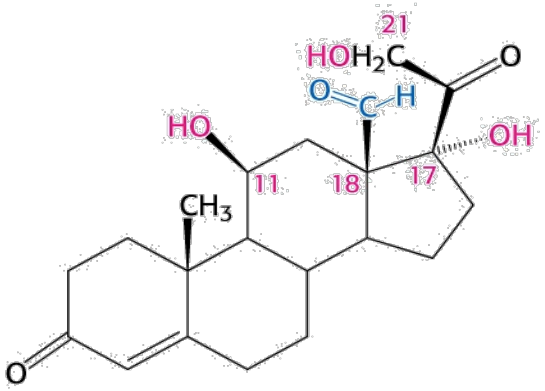
UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE







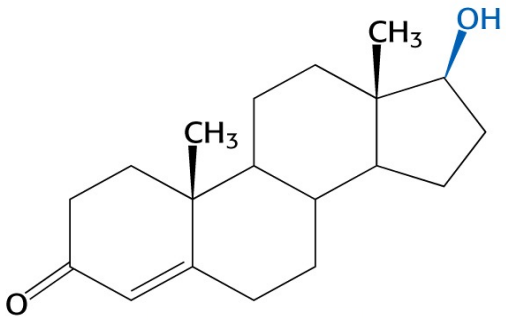




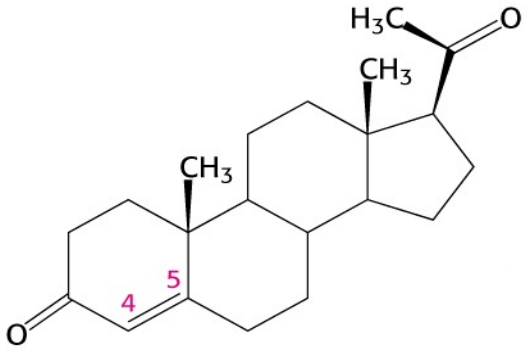
BIOMEDICUM HELSINKI

Steroidihormonit

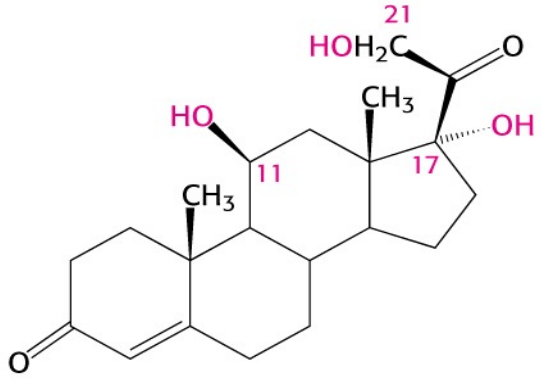
UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE



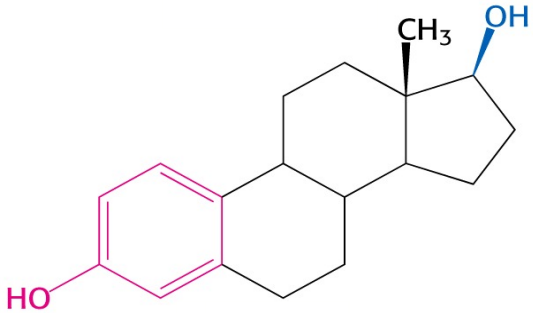
Testosteroni



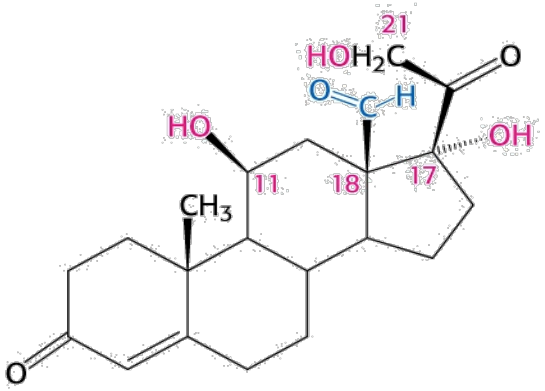
Progesteroni



Kortisoli



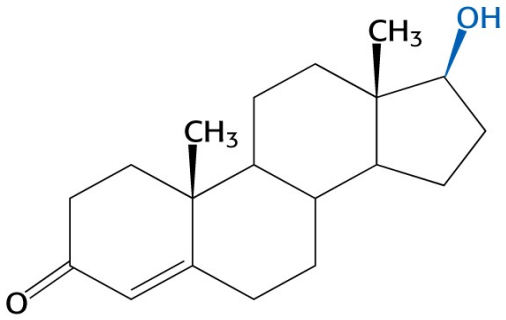
Estradioli



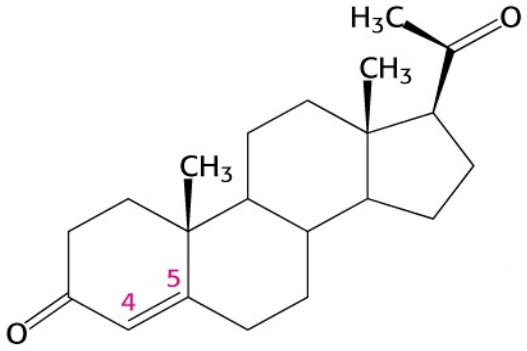
Aldosteroni

- Keskeisiä kasvun, erilaistumisen ja homeostaasin säätelijöitä
- Käytössä lääkkeinä jo kymmeniä vuosia
- Vaikuttavat tumareseptorien kautta

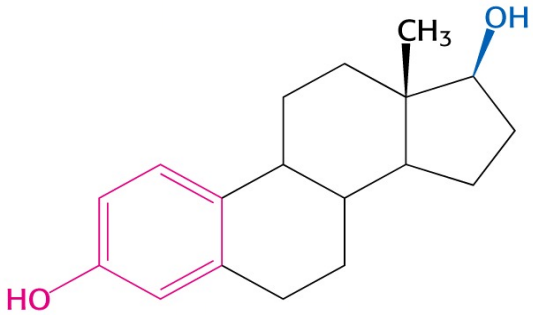
Steroidihormonit



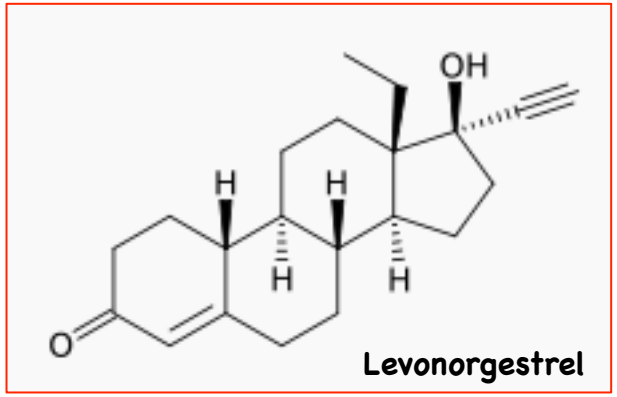
Testosteroni



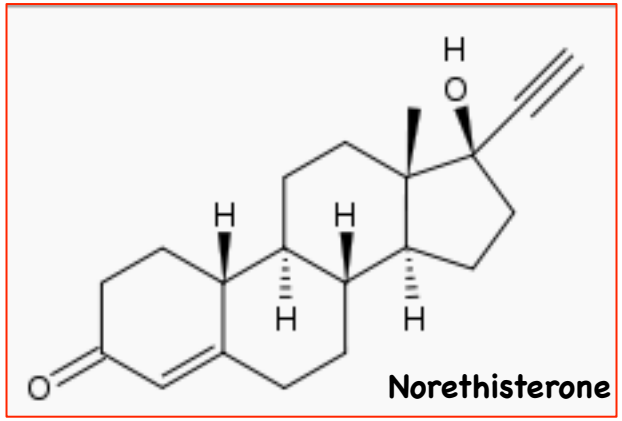
Progesteroni



Estradioli



Levonorgestrel



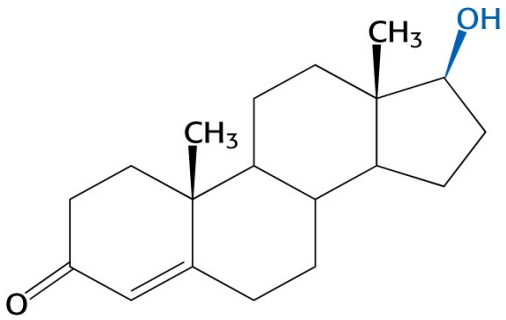
Norethisterone

- Keskeisiä kasvun, erilaistumisen ja homeostaasin säätelijöitä
- Käytössä lääkkeinä jo kymmeniä vuosia
- Vaikuttavat tumareseptorien kautta

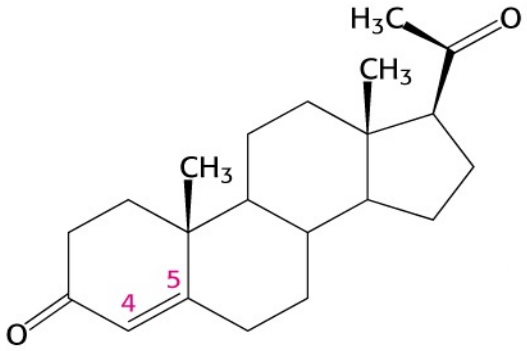
BIOMEDICUM HELSINKI

Steroidihormonit

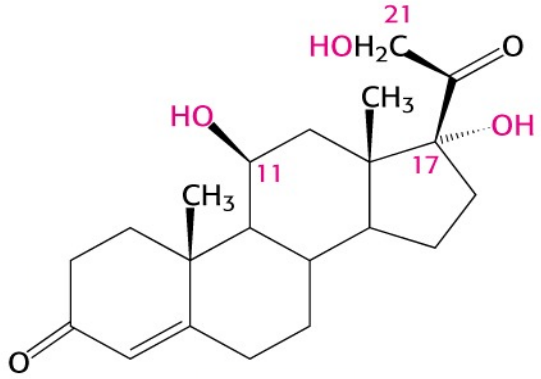
UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE



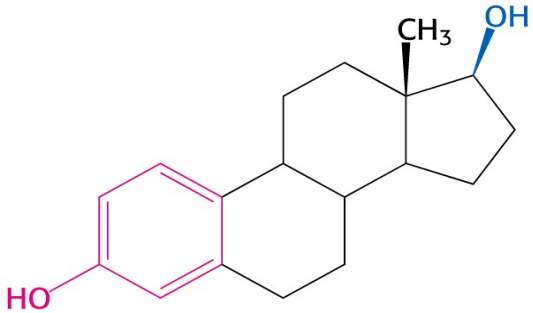
Testosteroni



Progesteroni

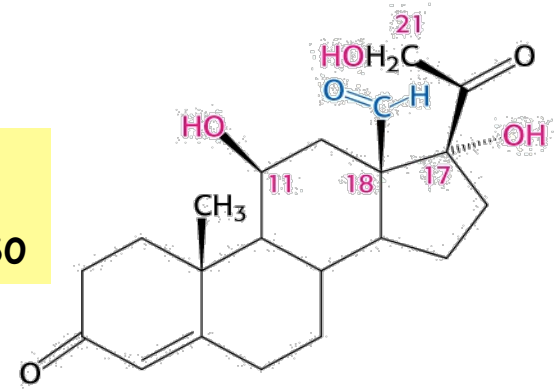


Kortisoli



Estradioli

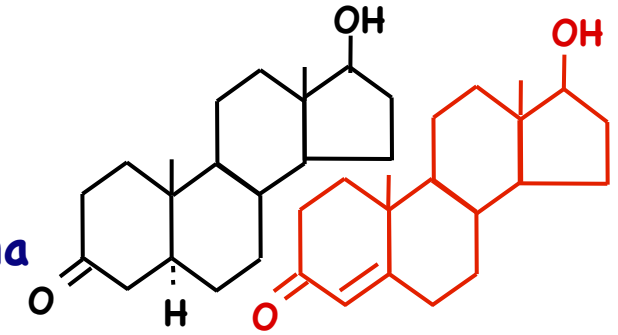
Nobelistit
Butenandt & Ruzicka, 1939
Kendall, Reichstein & Hench, 1950



Aldosteroni

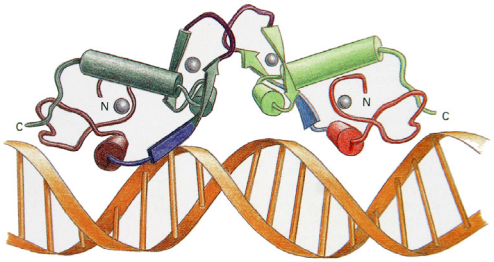
- Keskeisiä kasvun, erilaistumisen ja homeostaasin säätelijöitä
- Käytössä lääkkeinä jo kymmeniä vuosia
- Vaikuttavat tumareseptorien kautta

Steroidihormonivaikutuksen eri tasot



- **HORMONI/RESEPTORI**
  - Ligandin sidonta -- ehkä steroidivaikutuksen kaikkein spesifisin tapahtuma
  - Synteettiset ligandit -- useat reseptorit mukana

- **DNA:N EMÄSJÄRJESTYS**
  - Hormonien vaste-elementit geenien säätely-alueilla -- voivat sijaita kaukanakin transkription aloituskohdasta



- **MUUT SÄÄTELEVÄT PROTEIINIT**
  - Proteiinit, jotka muokkaavat reseptorin vaikutuksia (koaktivaattorit, korepressorit)
  - Rekrytoivat katalyyttisesti aktiivisia proteiineja → muokkavat histoneita
  - Eivät kaikki osallistu suoraan transkription säätelyyn (> 200 proteiinia)

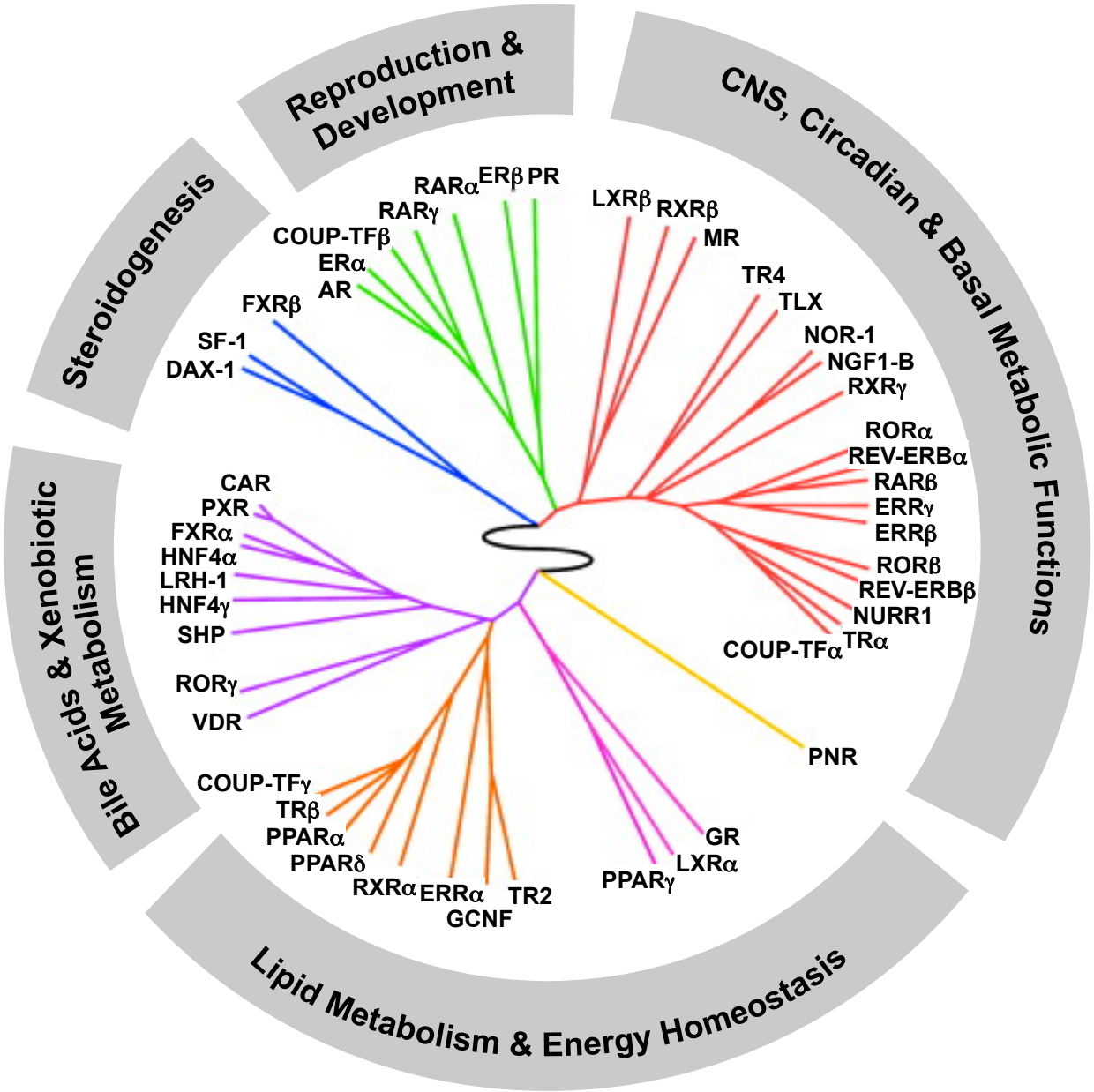
- **KROMATIININ SAATAVUUTTA MUOKKAAVAT PROTEIINIT**
  - Pitävät kromatiinin rakenteen "avoimena"
  - Ohjaavat reseptorin sitoutumaan oikeisiin paikkoihin oikeaan aikaan

Tumareseptorien suurperhe

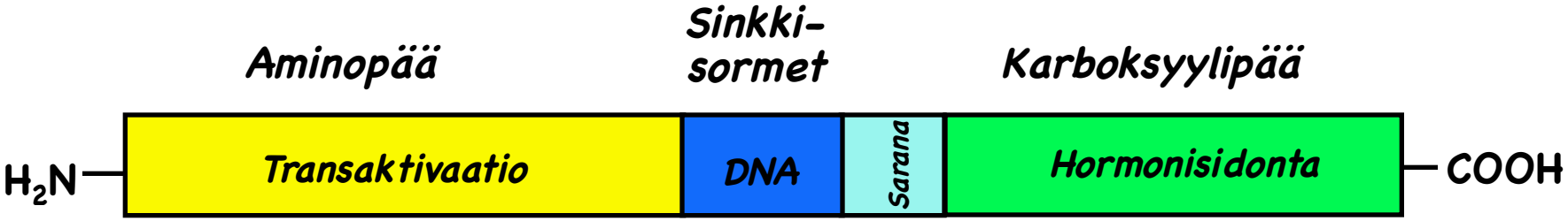
- **STEROIDIHORMONIT** – kuusi alaryhmää (androgeenit, estrogeenit, progestiinit, glukokortikoidit, mineralokortikoidit ja D-vitamiini)
  - kaikki eri geenien tuotteita; kaksi estrogeenireseptorigeeniä
- **KILPIRAUHASHORMONIT** – ainakin kolme (neljä?) alaryhmää
  - kaksi eri geeniä (TR-α ja TR-β)
  - kaikki reseptorialatyypit eivät sido hormonia
- **RETINOIDI- eli A-VITAMIINIRESEPTORIT** – lähes parikymmentä erilaista reseptoriproteiinia tai niiden varianttia
  - ainakin yhdeksän erilaista geeniä
- **"ORVOT RESEPTORIT"** – tumareseptorien sukulaisproteiineja, joita aktivoiva yhdiste (ligandi tai hormoni) tai tapahtuma ei ole vielä tunnettu
  - useita alaperheitä ja jäseniä – jopa 100 erilaista proteiinia
  - useimmat orvoista reseptoreista ovat eri geenien tuotteita

→ *Perheen jäseniä koodittaa yhteensä 48 eri geeniä*

Tumareseptorien suurperhe; ilmentyminen



Tumareseptorien rakenneominaisuudet

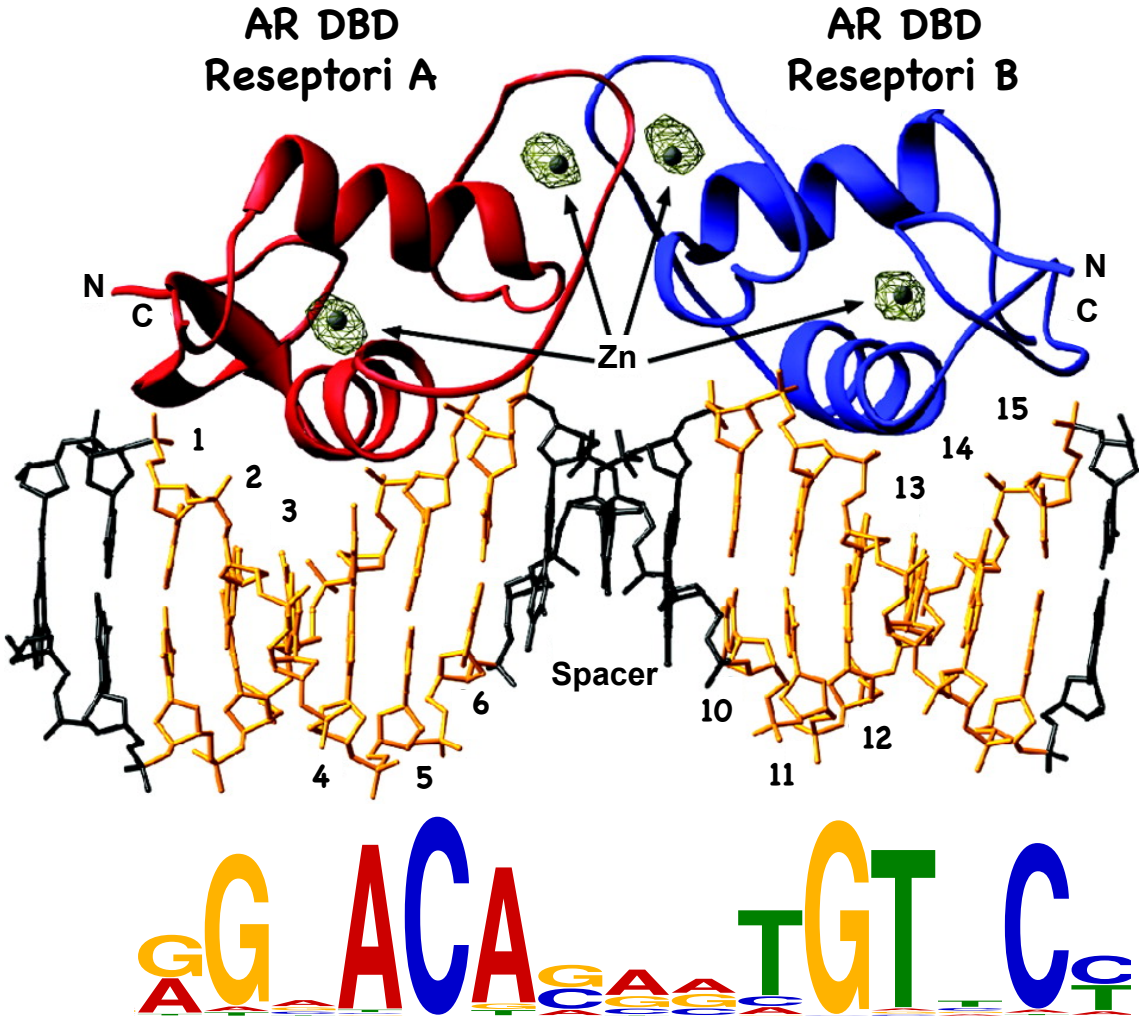


Geenien aktivaatio Transkriptiotekijöiden tunnistus	DNA:n tunnistus Tumaan siirtyminen Dimerisaatio	Hormonin sidonta Geenien aktivaatio Tumaan siirtyminen Dimerisaatio Hsp90:n sitominen

Endokriiniset reseptorit	Adoptoidut orporeseptorit	Orporeseptorit
Ligandi: Hormonaalinen lipidi [affinitetti: K_D 0.1–10 nM]	**Ravinnon lipidi** [affinitetti: K_D 0.1–1 μM]	**Tuntematon**
PR, AR, GR, MR ER α, β TR α, β VDR RAR α, β, γ	PPAR α, β, γ RXR α, β, γ LXR α, β FXR, PXR/SXR CAR	SF-1, LRH-1, DAX-1 NGFI-B α, β, γ ROR α, β, γ ERR α, β, γ RVR α, β, γ HNF-1, GCNF

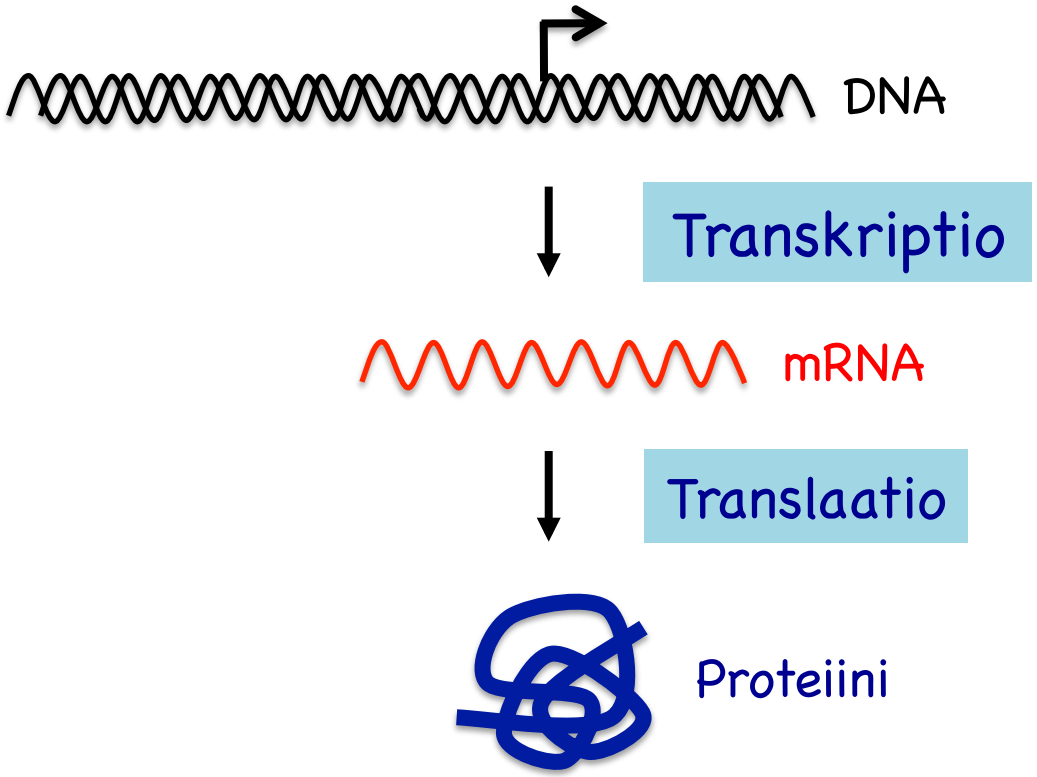
Tumareseptorit tunnistavat vaste-elementin

Pariutuneet reseptorit sitoutuneena DNA:han

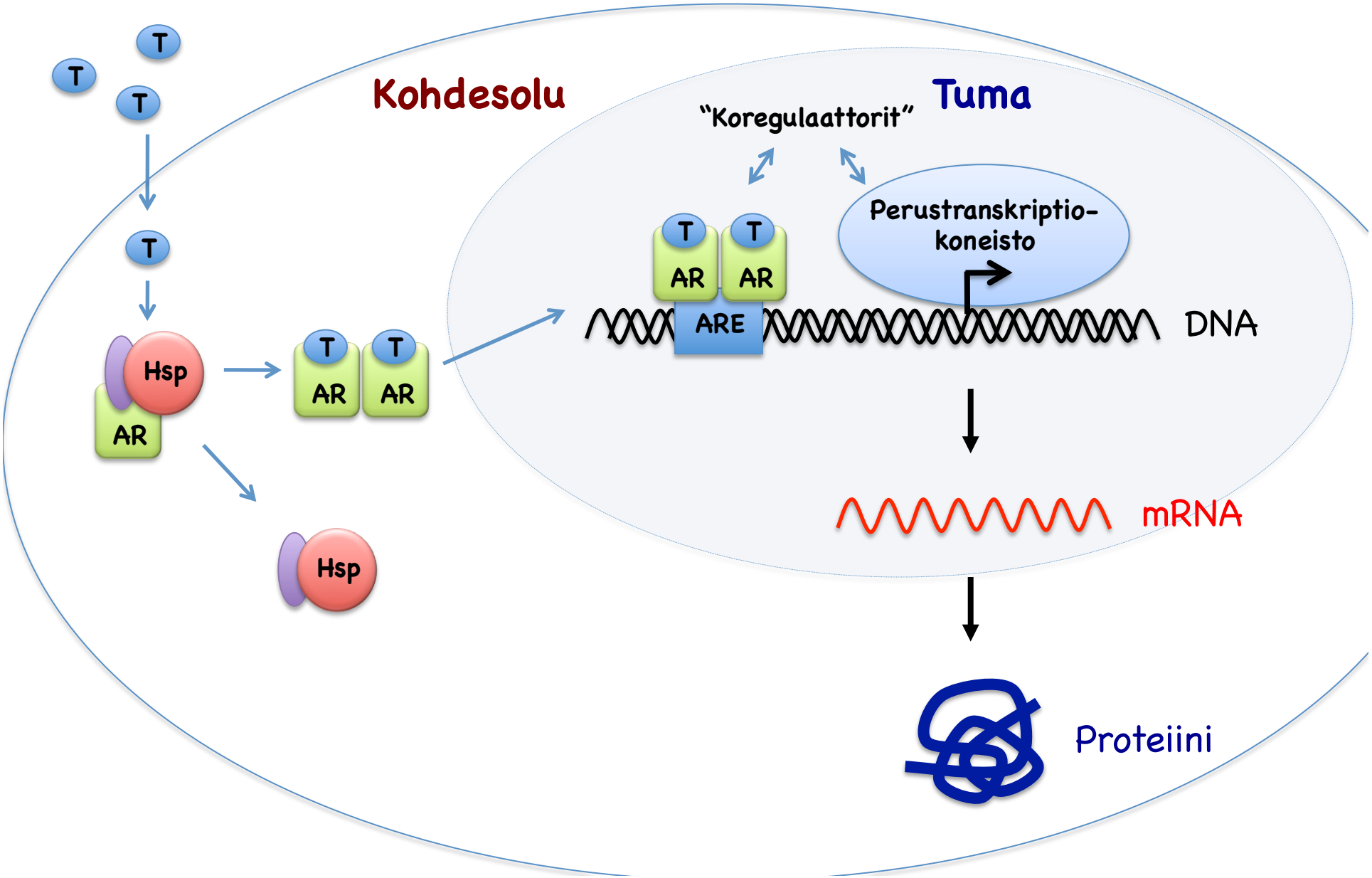


Steroidit; geeni-ilmentymisen säätely

Geeni-ilmentymisen periaate



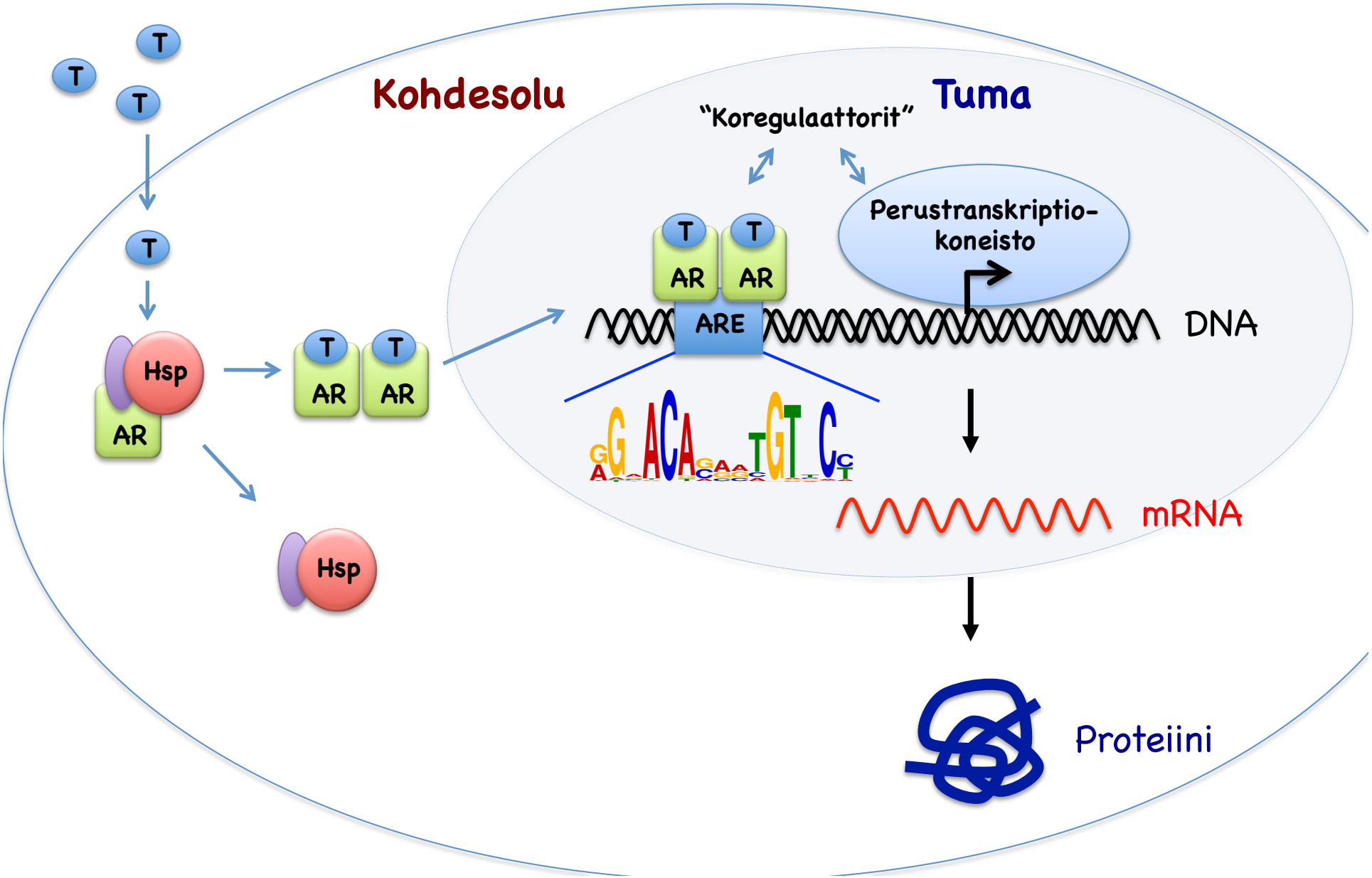
Steroidit; geeni-ilmentymisen säätely



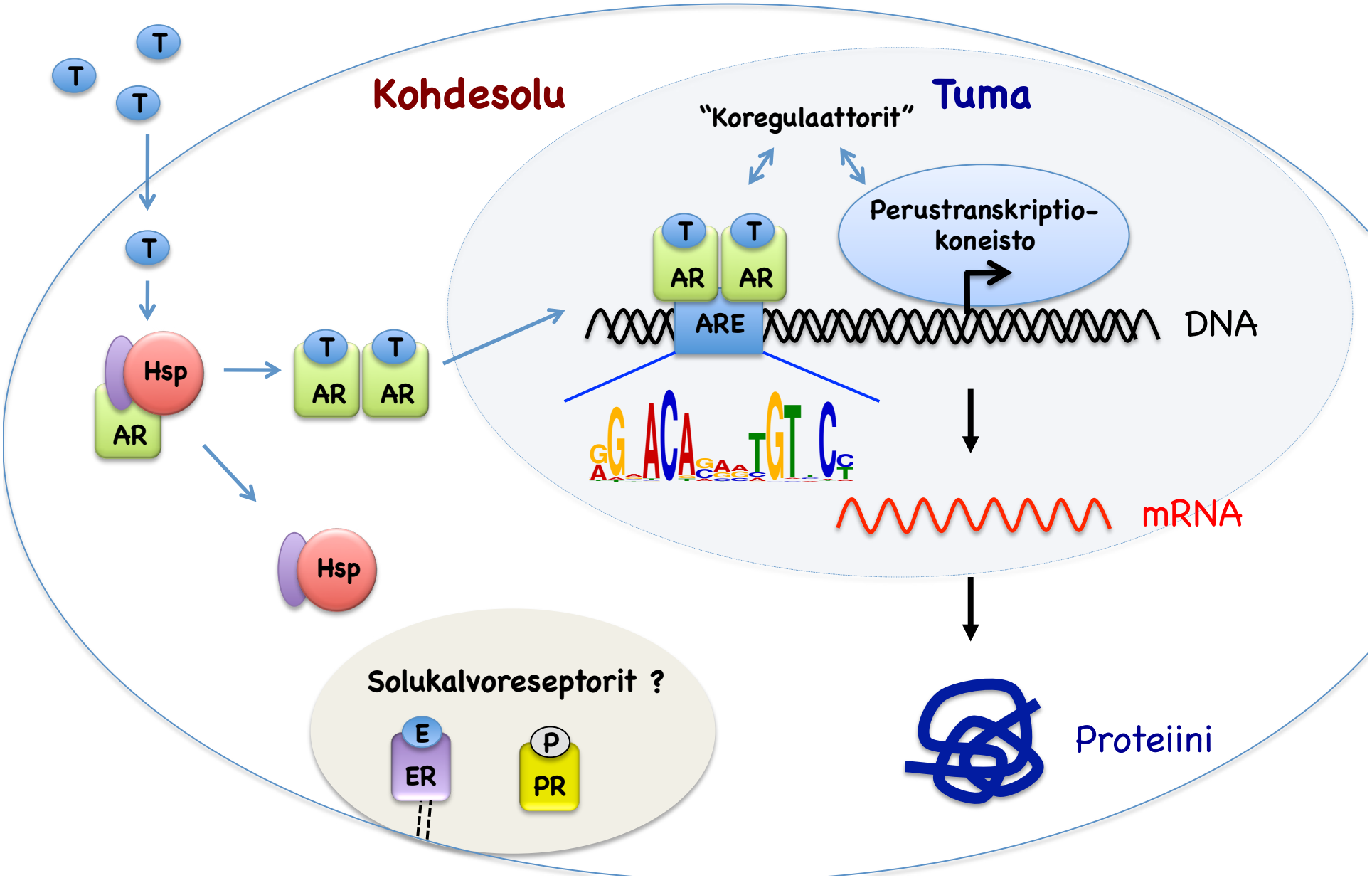
BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

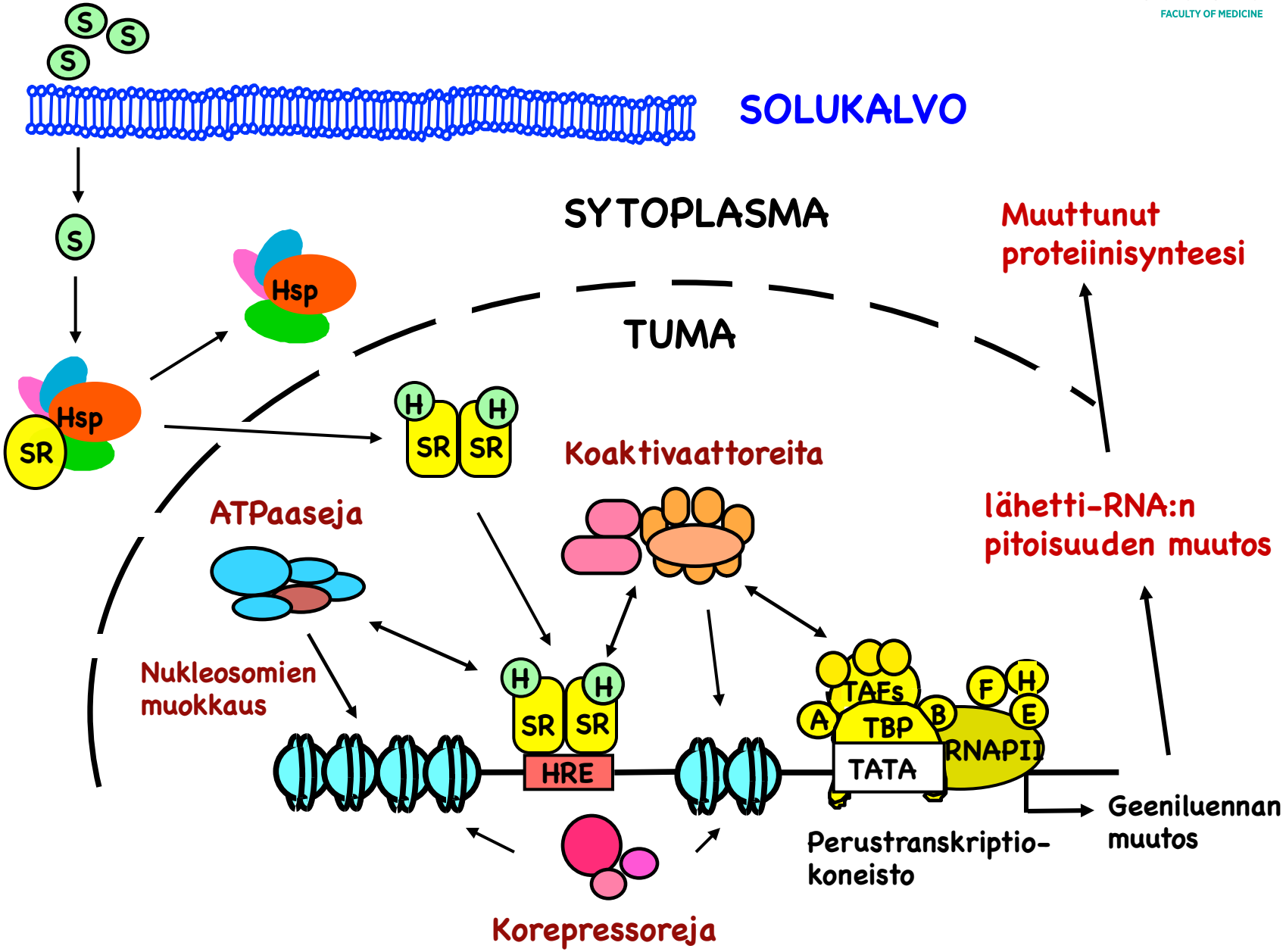
Steroidit; geeni-ilmentymisen säätely



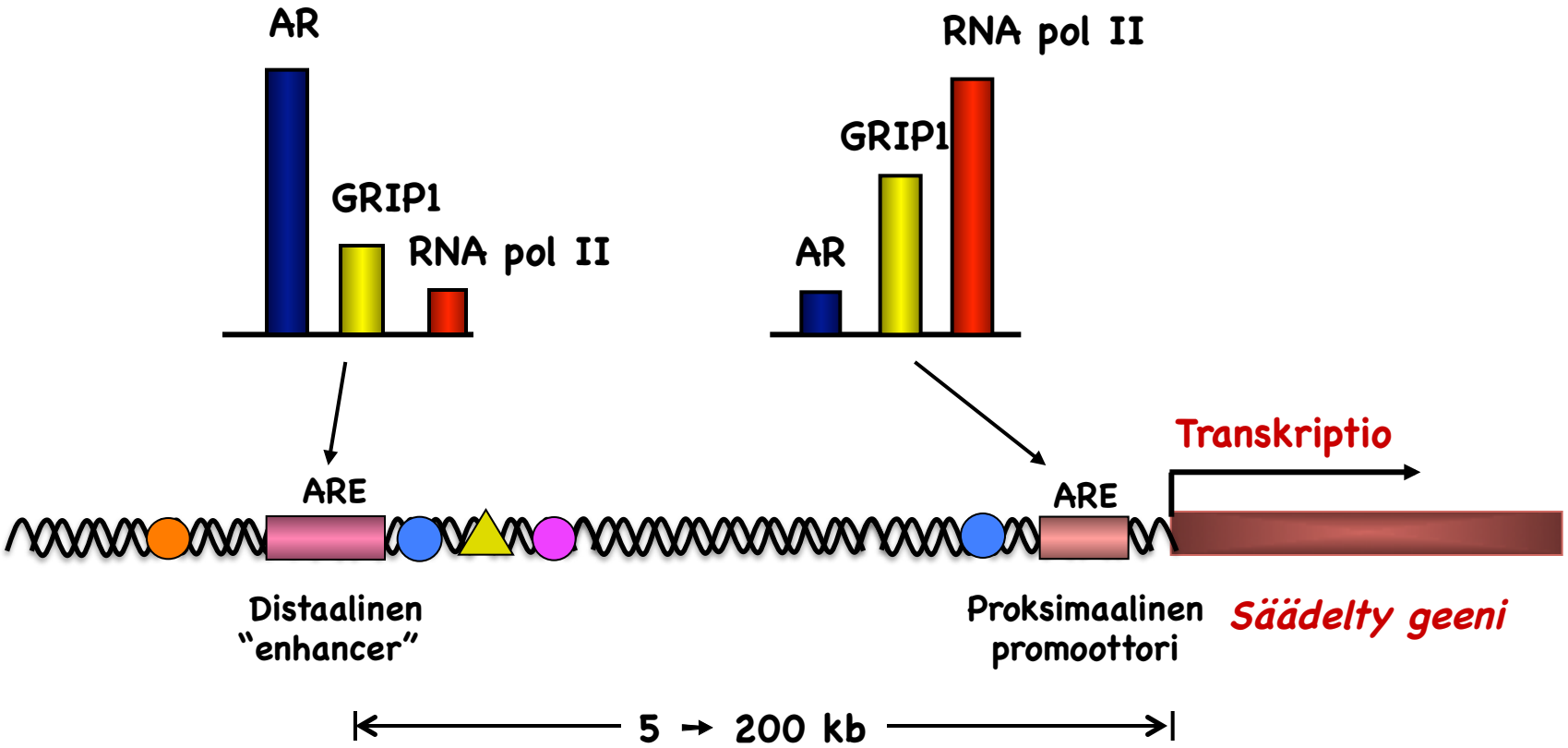
Steroidit; geeni-ilmentymisen säätely



Steroidihormonien vaikutusmekanismia

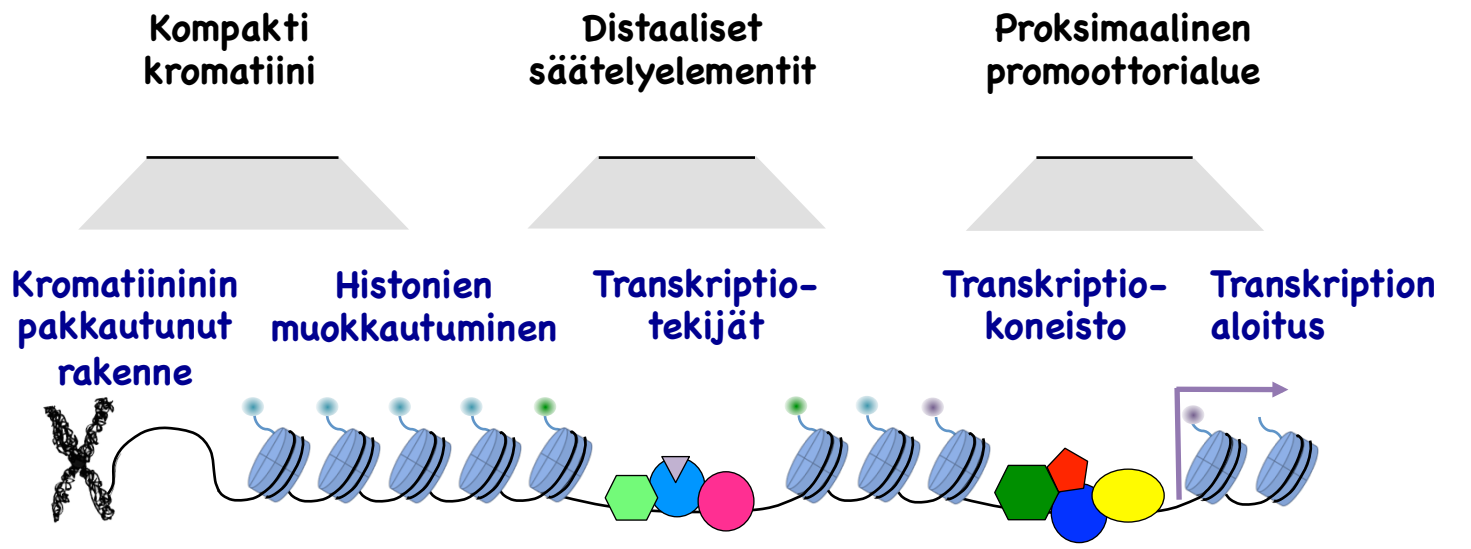


Steroidireseptorit; transkription säätely



- Distaaliset säätelyelementit – reseptorisidonnan primaarinen kohde
- Kromatiinin silmukoituminen tärkeä säätelytapahtuma

Steroidireseptorit; transkription säätely

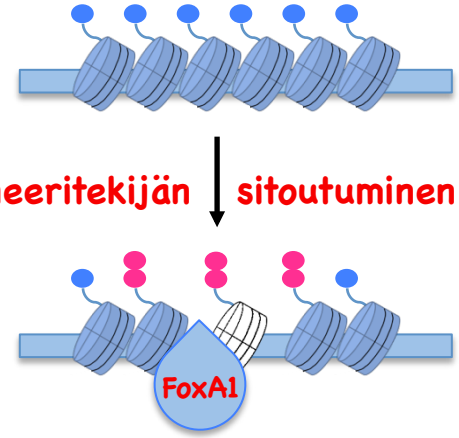


Kromatiinit silmukoituminen; etäiset vuorovaikutukset	Nukleosomien järjestäytyminen	Nukleosomien puuttuminen	Transkriptiotekijöiden sidonta; kovalentit muokkaukset	Transkriptien (RNA:n) kertyminen
ChIA-PET Hi-C	MNase-seq	DNaseI-seq FAIRE-seq	ChIP-seq	Microarray RNA-seq

Steroidireseptorit; transkription säätely

Vaste-elementti (ARE) "haudattu" kromatiiniin

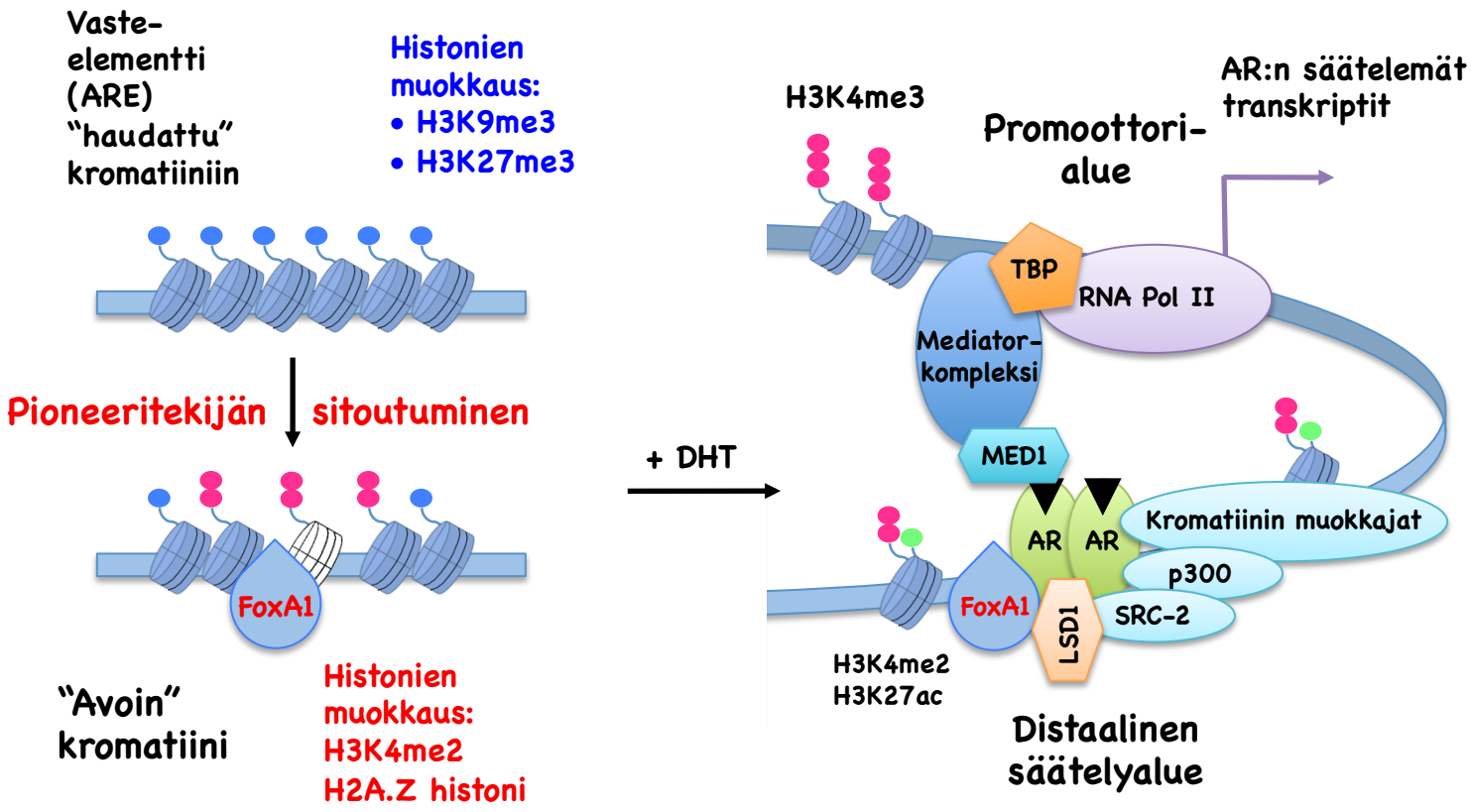
Histonien muokkaus:
- H3K9me3
- H3K27me3



"Avoin" kromatiini

Histonien muokkaus:
H3K4me2
H2A.Z histoni

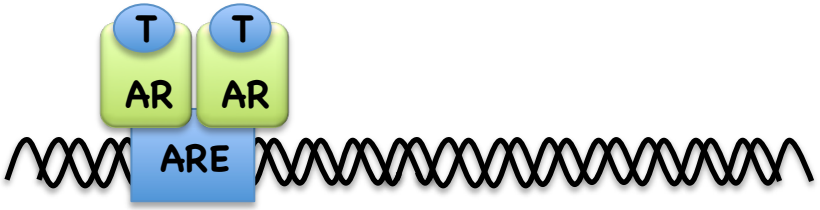
Steroidireseptorit; transkription säätely



Steroidireseptorit kromatiinilla

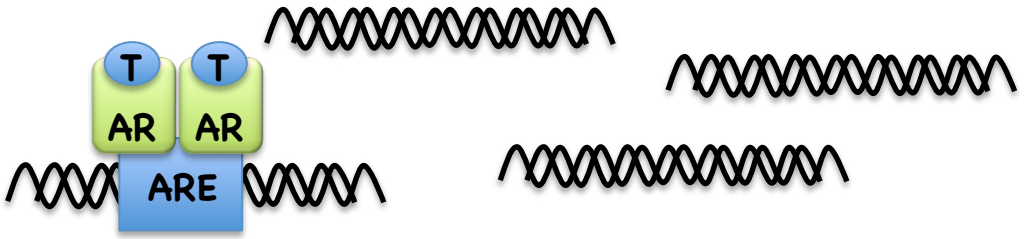
Miten löydetään oikeat paikat ja kuinka pitoisuus määritetään ?

DNA-proteiini-kompleksin sidonta

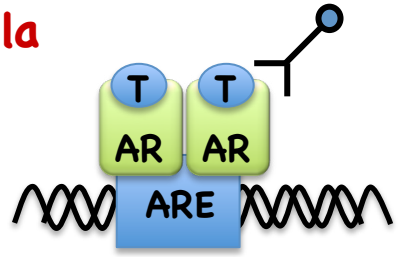


Genominen DNA

Kromatiinin pilkkominen



DNA-proteiinikompleksien "pyydystys" vasta-aineilla



DNA-fragmenttien analysointi PCR:llä tai massiivisella sekvensoinnilla

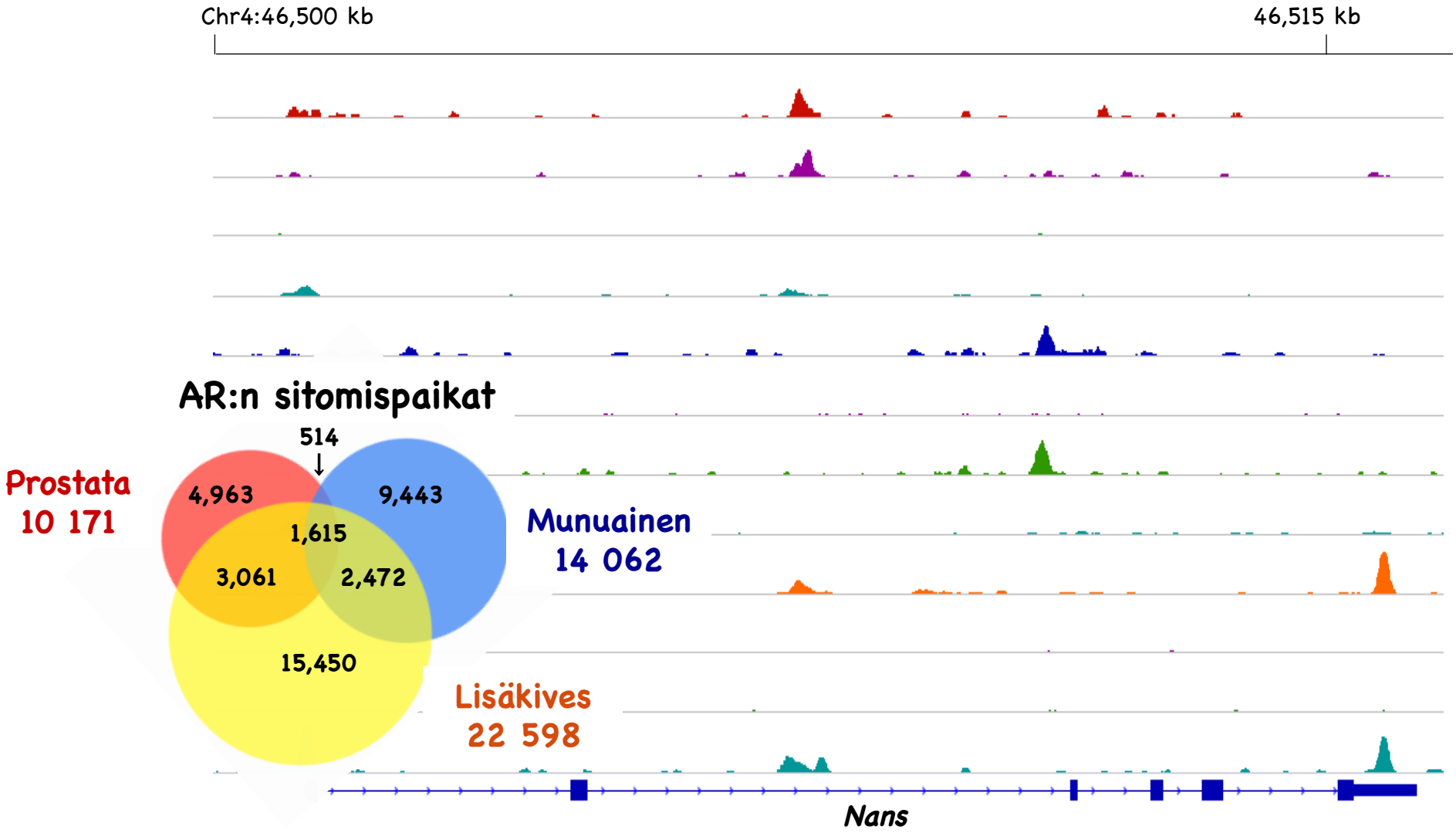


BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

Steroidireseptorit kromatiinilla

Miten säädellään kudosspesifistä reseptorisidontaa/hormonivastetta?

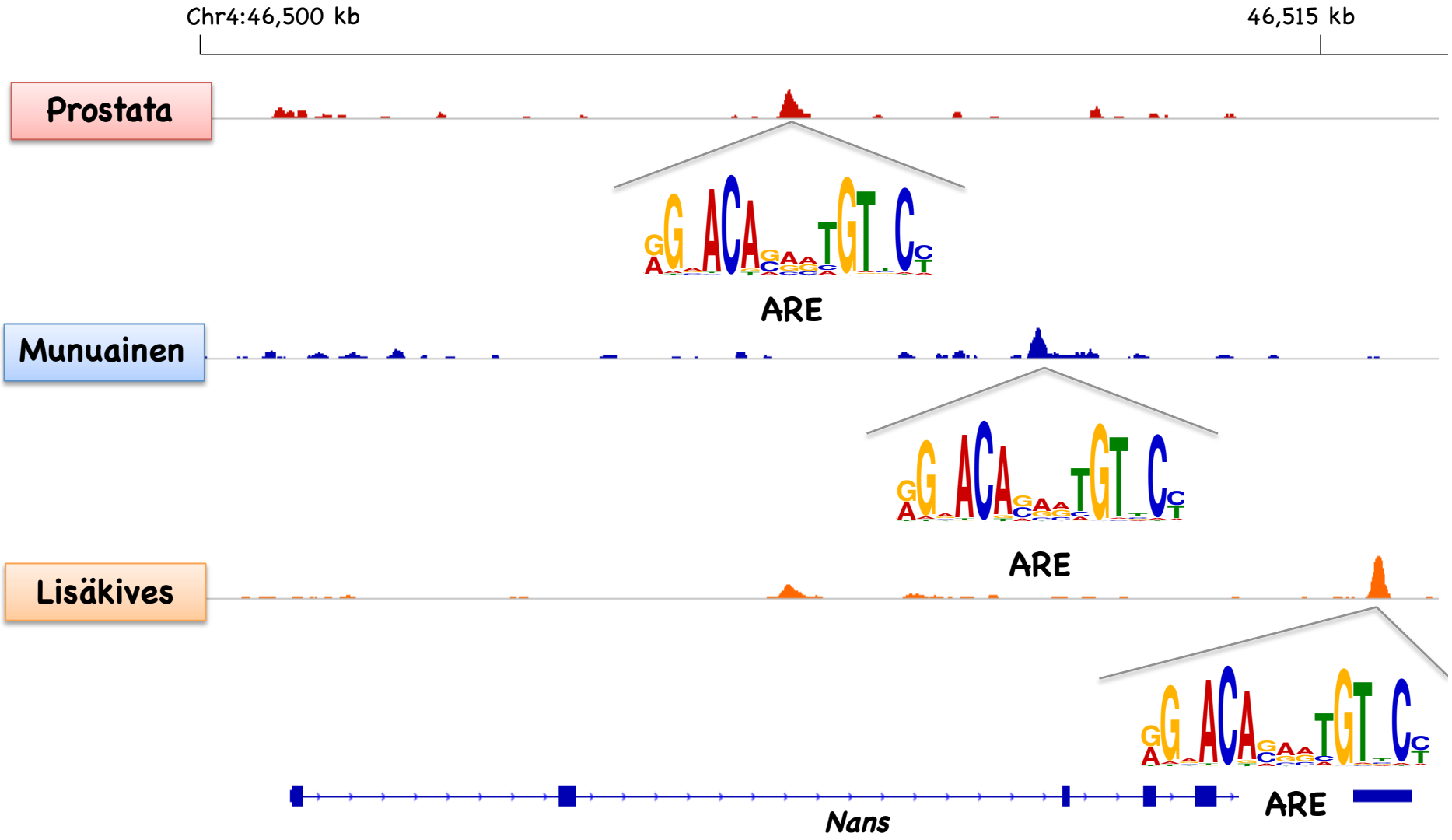


BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

Steroidireseptorit kromatiinilla

Miten säädellään kudosspesifistä reseptorisidontaa/hormonivastetta?

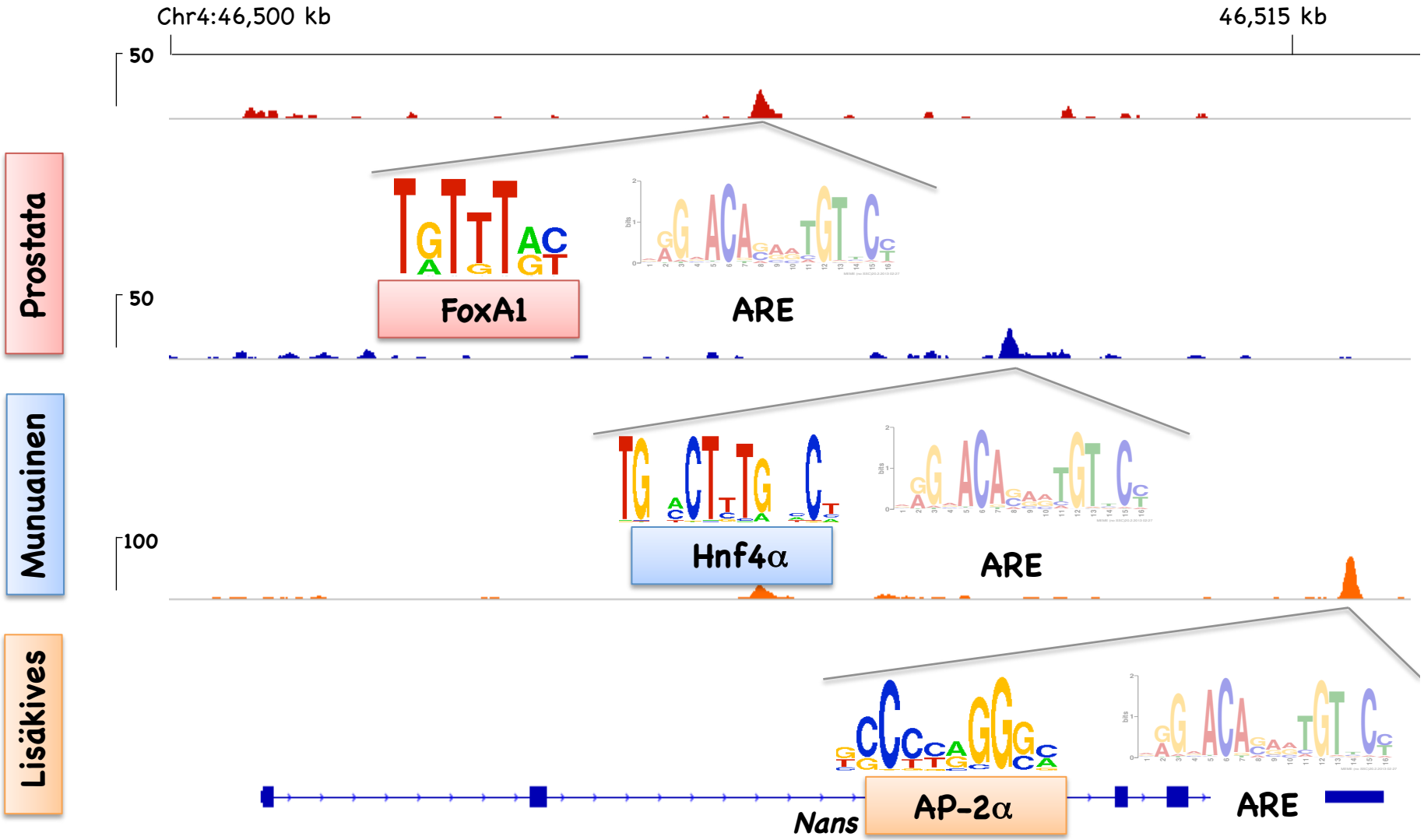


BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

Steroidireseptorit kromatiinilla

Miten säädellään kudosspesifistä reseptorisidontaa/hormonivastetta?

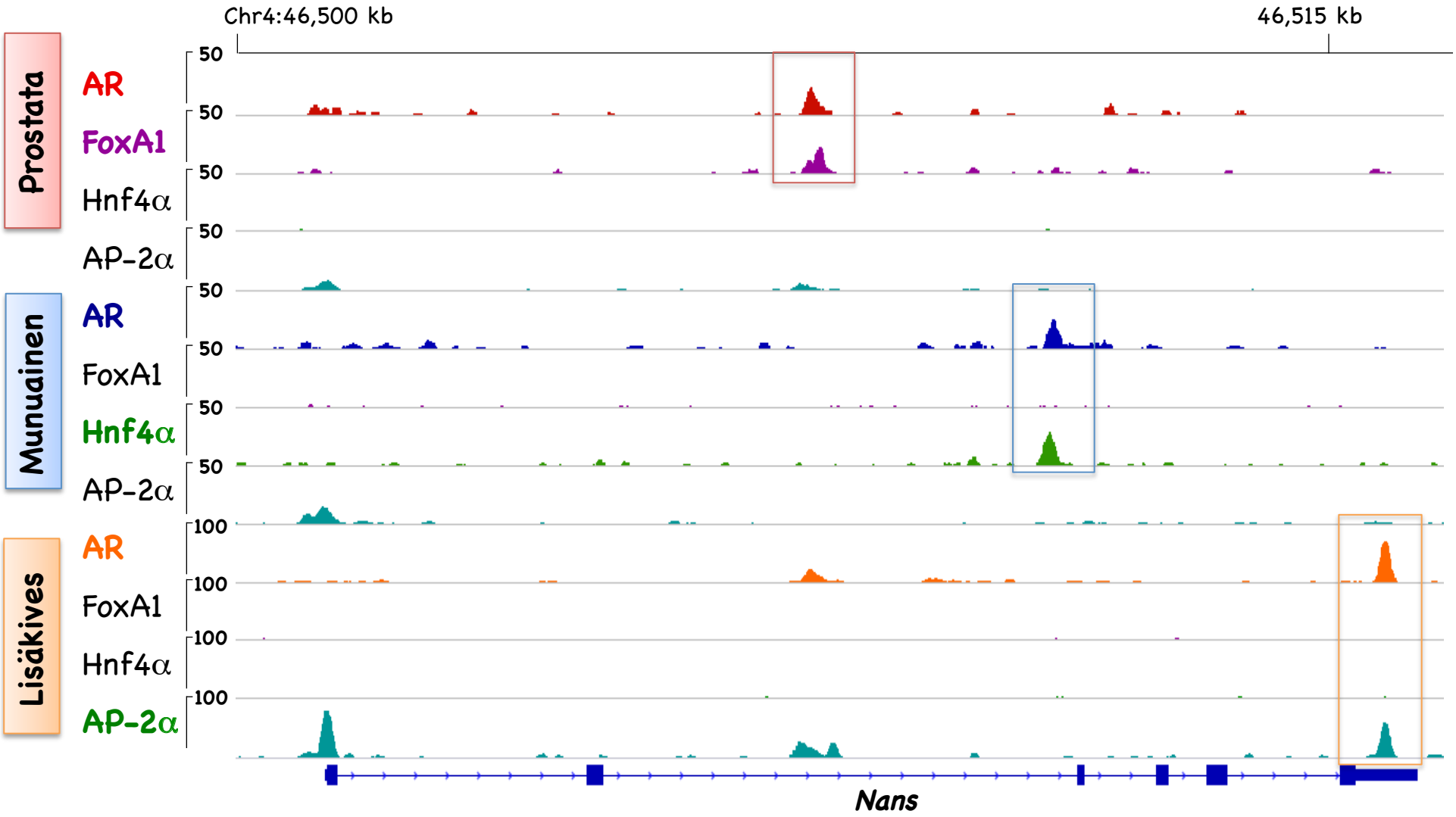


BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

Steroidireseptorit kromatiinilla

Miten säädellään kudosspesifistä reseptorisidontaa/hormonivastetta?

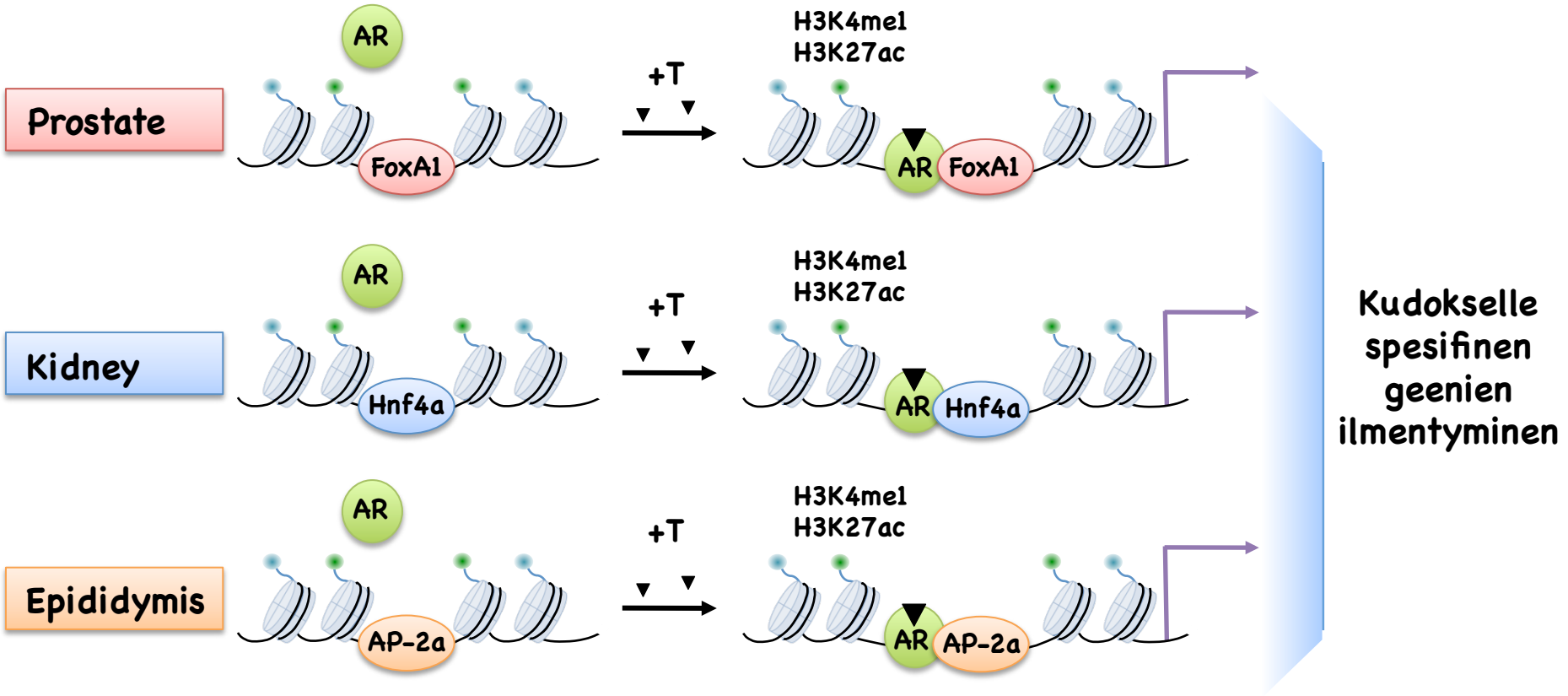


BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

Steroidireseptorit kromatiinilla

Miten säädellään kudosspesifistä reseptorisidontaa/hormonivastetta?



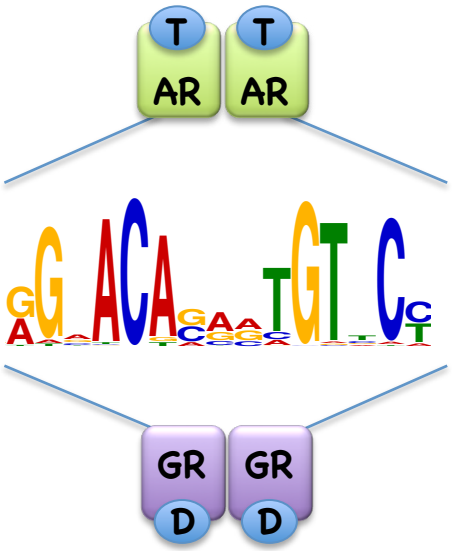
BIOMEDICUM HELSINKI

UNIVERSITY OF HELSINKI
FACULTY OF MEDICINE

Steroidireseptorit kromatiinilla

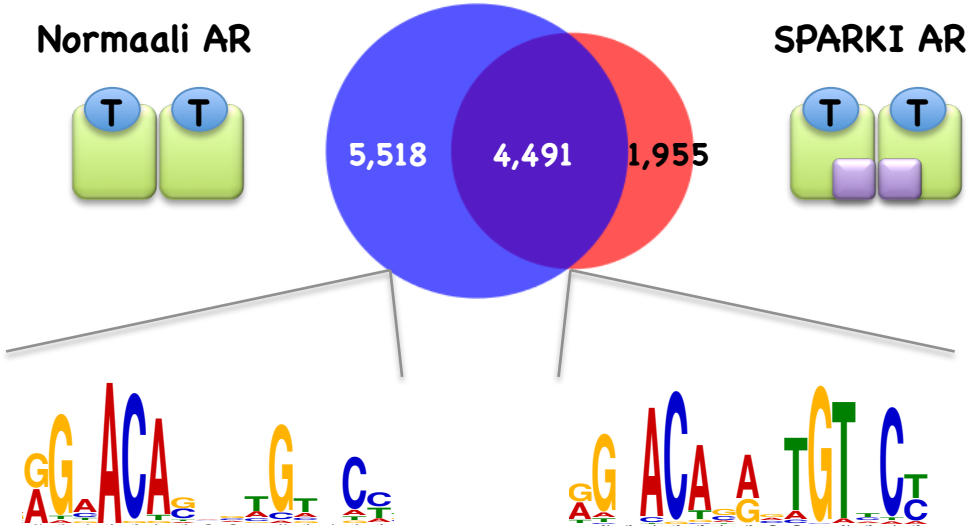
Miten säädellään reseptorispesifistä sidontaa DNA:han?

Androgeeni- ja glukokortikoidi-reseptorit tunnistavat saman vaste-elementin *in vitro*



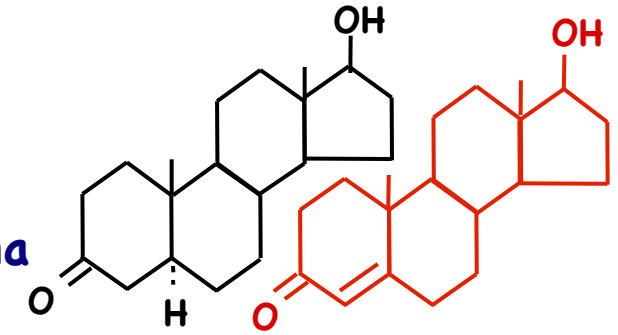
In vivo AR ChIP-seq analyysi villityypin ja SPARKI-hiiren prostatasta ja lisäkiveksestä

AR:n sitomispaikat lisäkiveksessä



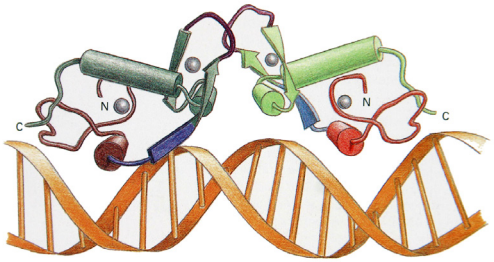
Relaksoitu vaste-elementin emäsjakso määrittää AR:lle spesifisen DNA-sidonnan

Steroidihormonivaikutuksen eri tasot



- **HORMONI/RESEPTORI**
  - Ligandin sidonta -- ehkä steroidivaikutuksen kaikkein spesifisin tapahtuma
  - Synteettiset ligandit -- useat reseptorit mukana

- **DNA:N EMÄSJÄRJESTYS**
  - Hormonien vaste-elementit geenien säätely-alueilla -- voivat sijaita kaukanakin transkription aloituskohdasta



- **MUUT SÄÄTELEVÄT PROTEIINIT**
  - Proteiinit, jotka muokkaavat reseptorin vaikutuksia (koaktivaattorit, korepressorit)
  - Rekrytoivat katalyyttisesti aktiivisia proteiineja → muokkavat histoneita
  - Eivät kaikki osallistu suoraan transkription säätelyyn (> 200 proteiinia)

- **KROMATIININ SAATAVUUTTA MUOKKAAVAT PROTEIINIT**
  - Pitävät kromatiinin rakenteen "avoimena"
  - Ohjaavat reseptorin sitoutumaan oikeisiin paikkoihin oikeaan aikaan