



FAKULTET FOR NATURVITENSKAP

Institutt for bioingeniørfag

Norges teknisk- naturvitenskapelige universitet
Norwegian University of Science and Technology (NTNU)

Autofagi sin kontekstavhengige rolle i kreft

**The context dependent role of autophagy in
cancer**

Av / by

Helene Aurstad Bakkenget og Mai Vilde Bakken Nilsen

Trondheim, 2021

Forkortelser

| | |
|----------------|---|
| ALR | Autophagic lysosome reformation / Autofagilyosomreformasjon |
| AMP | Adenosinmonophosphate / Adenosinmonofosfat |
| AMPK | Adenosinmonophosphate activated protein kinase / Adenosinmonofosfat-aktivert proteinkinase |
| ATG | Autophagy related genes / Autofagirelaterte gener |
| ATG | Protein encoded from autophagy-related genes / Proteiner kodet for av autofagirelaterte gener |
| ATP | Adenosintriphosphate / Adenosintrifosfat |
| Bcl-2 | B-cell lymphoma 2 / B-cellelymfom 2 |
| <i>BRAF</i> | <i>B-raf proto-oncogene</i> / <i>B-raf protoonkogen</i> |
| <i>BRCA1</i> | Breast cancer gene 1 / Brystkreftgen 1 |
| CaMKK- β | Ca ²⁺ - activated kinase / Ca ²⁺ -aktivert kinase |
| CQ | Chloroquine / Klorokin |
| DAPK2 | Death-associated protein kinase 2 |
| DFCP1 | Double FYVE domain-containing protein |
| DNA | Deoxyribonucleic acid / Deoksyribonukleinsyre |
| DUB | Deubiquitinating enzymes / Deubiquitinerende enzymer |
| E1 | Ubiquitin activating enzyme / Ubiquitin-aktiverende enzym |
| E2 | Ubiquitin conjugating enzyme / Ubiquitin-konjurerende enzym |
| E3 | Ubiquitin-ligase |
| EGF | Epidermal growth factor / Epidermal vekstfaktor |
| EGFR | Epidermal growth factor receptor / Epidermal vekstfaktorreseptor |
| EMT | Epithelial mesenchymal transition |
| FIP200 | Focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kD |

| | |
|------------------|---|
| GTP | guanosine triphosphate / guanosintrifosfat |
| <i>H-ras</i> | <i>Harvey-rat sarcoma virus</i> |
| HCQ | Hydroxychloroquine / Hydroksyklorokin |
| HOPS-kompleks | Homotypic fusion and protein sorting complex |
| HSH2 | MutS homolog 2, også kalt DNA mismatch repair protein 2 |
| <i>K-ras</i> | <i>Kirsten-rat sarcoma virus</i> |
| LC3 | Microtubule-associated protein 1A / 1B-light chain 3, (MAP1LC3) |
| MiT/TFE familien | Microphthalmia familien |
| mTOR | The mammalian target of rapamycin |
| mTORC1 | mTOR complex 1 / mTOR kompleks 1 |
| mTORC2 | mTOR complex 2 / mTOR kompleks 2 |
| <i>N-ras</i> | <i>Neuroblastoma-rat sarcoma virus</i> |
| PAS | Pre-autophagosomal structure / Pre-autofagosomal struktur |
| PI3K-I | Phosphatidylinositol 3-kinase klasse I / Fosfatidylinositol 3-kinase klasse I |
| PI3K-III | Phosphatidylinositol 3-kinase klasse III / Fosfatidylinositol 3-kinase klasse III |
| PIP2 | Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate / Fosfatidylinositol-4-5-bisfosfat |
| PIP3 | Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate / Fosfatidylinositol 3-4-5-trifosfat |
| pRB | Protein from retinoblastoma gene / Protein fra retinoblastoma-genet |
| <i>Ras</i> | <i>Rat sarcoma virus</i> |
| <i>RB</i> | <i>Retinoblastoma / Retinoblastoma</i> |
| Rheb | Ras homolog enriched in brain |
| ROS | Reactive oxygen species / Reaktive oksygenforbindelser |
| siRNA | Small interfering ribonucleic acid / Små interfererende ribonukleinsyrer |
| SNARE | Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor. |
| SQSTM1 | Sequestosome-1, også kalt p62 |
| STX17 | Syntaxin 17 |

| | |
|------|--|
| TFEB | Transcription factor EB / Transkripsjonsfaktor EB |
| TSC | Tuberous sclerosis complex |
| ULK1 | Unc-51-like kinase 1 |
| UPR | Unfolded protein respons / Ufoldet-protein-respons |
| UPS | Ubiquitin proteasome system |
| VEGF | Vascular endothelial growth factor / Vaskulær endotelvekstfaktor |
| VPS | Vacuolar sorting protein |
| WIPI | WD repeat protein interacting with phosphoinositides |

Forord

Denne bacheloroppgaven ble gitt av Center of Molecular Inflammation Research (CEMIR) i forbindelse med vår bachelorgrad ved Institutt for bioingeniørfag, ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU) i Trondheim. Oppgaven baserer seg på litteratursøk som ble utført i perioden mars-mai våren 2021.

Vi ønsker å rette en stor takk til PhD-student Apsana Lamsal og senioringeniør Sonja Benedikte Andersen som har vært både våre faglige veiledere og prosessveiledere. Vi setter stor pris på den tette oppfølgingen og deres tilgjengelighet gjennom bachelorperioden.

Helene Aurstad Bakkenget

Helene Aurstad Bakkenget
Trondheim, mai 2021

Mai Vilde Bakken Nilsen

Mai Vilde Bakken Nilsen
Trondheim, mai 2021

Sammendrag

Ordet autofagi er sammensatt av de to greske ordene «auto» og «fagi», som direkte oversatt betyr «selvspising». Autofagi er en evolusjonært bevart katabolsk prosess der cytosoliske substrater og eventuelle invaderende bakterier og virus, blir nedbrutt. Prosessen induseres ved cellulært stress som næringsmangel, tilstedeværelse av skadede organeller, feilfoldede proteiner eller ved infeksjoner. Basert på forskjellige mekanismer for å styre cytoplasmisk innhold til lysosomene for proteolytisk nedbrytning, finnes det tre typer autofagi; makroautofagi, mikroautofagi og chaperone-mediert autofagi. I denne oppgaven blir ordet autofagi benyttet om prosessen makroautofagi da dette er den viktigste, og mest kjente prosessen av de tre.

Kreft er en av de hyppigste dødsårsakene globalt, og det er et kontinuerlig behov for nye behandlingsstrategier. Autofagi er nært tilknyttet kreft ved at mekanismen både kan virke som tumorsuppressor og tumorpromotor. Tidlig i kreftutviklingen kan autofagi motvirke at cellen utvikler seg til en kreftcelle ved å hindre akkumulering av onkogener, ødelagte organeller, feilfoldede proteiner og substanser som kan fremme kreftutvikling. I en etablert tumor kan autofagi være til tumorens fordel. Dette kan skje ved at tumoren kan sende signaler til nærliggende friske celler slik at disse initierer autofagi. Da vil deler av de friske cellene brytes ned og gi næring til tumoren så den kan proliferere og utvikle seg ytterligere. Detaljert kunnskap om kontekstavhengig autofagi vil trolig kunne bidra til utvikling av nye medikamenter med autofagi som terapeutisk mål i fremtiden.

Abstract

The word autophagy comes from the two greek words “auto” and “phagy”, which directly translated means “self-eating”. Autophagy is an evolutionarily conserved catabolic process, where cytosolic substrates and any invasive bacteria and viruses are degraded. The process is induced by cellular stress as starvation, the presence of damaged organelles, misfolded proteins or infection. There are three types of autophagy based on different mechanisms that lead degradation material to the lysosomes; macroautophagy, microautophagy and chaperone-mediated autophagy. In this bachelor thesis, the term “autophagy” will be used hereafter for macroautophagy, as this is the most important and best known process of the three.

Cancer is one of the most frequent causes of death globally, and new treatment strategies are constantly needed. Autophagy is closely related to cancer because the mechanism can act both as a tumor suppressor and a tumor promotor. Autophagy can prevent the cell from developing into a cancer cell by preventing accumulation of oncogenes, broken organelles, misfolded proteins and substances that can promote cancer development. In an established tumor, autophagy can be advantageous to the tumor. This happens by allowing the tumor to send signals to nearby healthy and normal cells so they can initiate autophagy. Consequently, parts of the healthy and normal cells will be degraded which provides nutrients to the tumor so it can proliferate and develop. Detailed knowledge about the context dependent role of autophagy in cancer will most likely contribute to the development of new anti-cancer drugs targeting the autophagic process.

Innholdsfortegnelse

| | |
|---|------------|
| Forkortelser | I |
| Forord | IV |
| Sammendrag | V |
| Abstract | VI |
| Innholdsfortegnelse | VII |
| Hensikt | 1 |
| Metode | 2 |
| 1.0 Cellulær homeostase | 4 |
| 1.1 Ubiquitin proteasom-systemet | 4 |
| 1.2 Autofagi | 5 |
| 2.0 Autofagi | 6 |
| 2.1 Autofagiprosessen | 6 |
| 2.1.1 Initierting av autofagi | 7 |
| 2.1.2 Nukleering, forlengelse og modning av fagofor | 8 |
| 2.1.3 Fusjonering mellom autofagosom og lysosom..... | 11 |
| 2.1.4 Degradering | 11 |
| 2.1.5 Autofagi lysosom reformasjon | 11 |
| 2.2 Selektiv og non-selektiv autofagi | 11 |
| 2.3 Regulering av autofagiprosessen | 12 |
| 2.3.1 mTOR | 12 |
| 2.3.2 AMPK | 14 |
| 2.4 Dysregulert autofagi | 15 |
| 3.0 Cellesyklus | 17 |
| 3.1 Cellesykluskontrollsystem og sjekkpunkter | 18 |
| 3.2 Cellesyklusarrest og apoptose..... | 18 |
| 4.0 Kreft | 19 |
| 4.1 Mutasjoner som kan føre til kreft | 19 |
| 4.1.1 Protoonkogener | 21 |
| 4.1.2 Tumorsuppressorgener..... | 21 |
| 4.2 Hallmarks..... | 23 |
| 4.2.1 Opprettholdelse av proliferative signaler | 24 |
| 4.2.2 Angiogenese..... | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 4.2.3 Invadere omkringliggende vev..... | 24 |
| 4.2.4 Unngå apoptose..... | 25 |
| 4.2.5 Ubegrenset replikasjenspotensiale | 25 |
| 4.2.6 Evne til å unngå vekstsuppressorer | 25 |
| 5.0 Kontekstavhengig autofagi i kreft | 26 |
| 5.1 Autofagi som tumorsuppressor..... | 26 |
| 5.2 Autofagi som tumorpromotor | 27 |
| 5.2.1 Batteridrevet tumorvekst..... | 27 |
| 5.2.2 Autofagi kan føre til dvale | 28 |
| 5.2.3 Bryte ned tumorsuppressorer | 29 |
| 5.2.4 Autofagiavhengig kreft | 29 |
| 5.3 Bryteren: fra suppressor til promotor | 29 |
| 5.4 Autofagi som terapeutisk mål i kreftbehandling..... | 30 |
| 6.0 Konklusjon..... | 32 |
| 7.0 Referanser..... | 33 |
| 8.0 Vedlegg..... | 45 |

Hensikt

Hensikten med denne oppgaven er å gjennomgå nyere litteratur for å gi en oppdatert oppsummering og fordypning i form av en reviewartikkel, hvor temaet er hvordan autofagi spiller en kontekst-avhengig rolle i kreft.

Metode

Denne bacheloroppgaven er basert på en systematisk litteraturstudie, en metode som baserer seg på andres forskning og funn. Ved bruk av en slik metode får man ikke egne resultat i form av ny kunnskap, men mulighet til å sette ting i sammenheng på en måte som kanskje ikke er gjort tidligere.

Med utgangspunkt i oppgaveteksten ble det gjort innledende litteratursøk for å få en grov oversikt over tema, nemlig autofagi og kreft. Litteratursøkene ble i hovedsak gjort i *PubMed*, som er den klart viktigste databasen for medisinsk forskning. Søket etter kildene ble gjort på engelsk for å få flest mulig relevante treff, og søkeord som *autophagy* og *cancer* ble ofte brukt. Disse ordene ble også brukt i kombinasjoner med andre ord ved å benytte bindeord i *PubMed*, hovedsakelig «AND». Søkeresultatene ble tilpasset og avgrenset ytterligere ved bruk av filter i databasen. Søkekriteriene som i utgangspunktet ble brukt for å finne kilder, er oppført i Vedlegg 1. Selv om disse artiklene var utgangspunktet for litteratursøket gikk vi også videre med kilder der vi fant det nødvendig.

Autofagi og kreft, og spesielt autofagi sin kontekstavhengige rolle i kreft, er fagområder det forskes mye på. På grunn av den raske utviklingen innenfor feltet vil forskningsresultater fra kun få år tilbake kunne være utdatert og motbevist i dag, og dette er grunnen til at vi i stor grad valgte å filtrere søkene som ble gjort i *PubMed* slik at vi kun fikk artikler som var fra 2016 eller senere. Det ble likevel valgt å inkludere kilder som var eldre enn fem år, enten for å kunne henviser til originalarbeidene som beskriver fundamentale mekanismer eller fordi de var gode, viktige artikler som ga gode beskrivelser av temaene vi var interesserte i.

Ved alle metoder, inkludert litteratursøk, vil det være både styrker og svakheter å ta hensyn til underveis i prosessen. En styrke med litteratursøk er at kildene er lett tilgjengelig, noe som gjør at det kan innhentes mye litteratur og fakta på relativt kort tid. Dette gir oss muligheten til å kunne se flere sider av en sak, og i større grad se en sammenheng sammenlignet med om vi skulle funnet egne resultater. En svakhet med litteraturstudier kan være hvis det er mangel på relevant informasjon, og at det dermed er vanskelig å finne fakta om det aktuelle temaet. Dette var imidlertid ikke noe problem for vår oppgave. Derimot fant vi det utfordrende å vurdere de tilfeller hvor publikasjoner fra ulike forskningsmiljø hadde noe motstridende resultater. Vi har valgt å ikke forsøke å ta stilling til om noen resultater er mer troverdige enn andre, ettersom dette er vanskelig for oss å vurdere. Ulike tidsskrift kan ha ulik Impact Factor, som kan fortelle noe om hvor vanskelig det er å få publisert sine arbeid der og dermed også bør

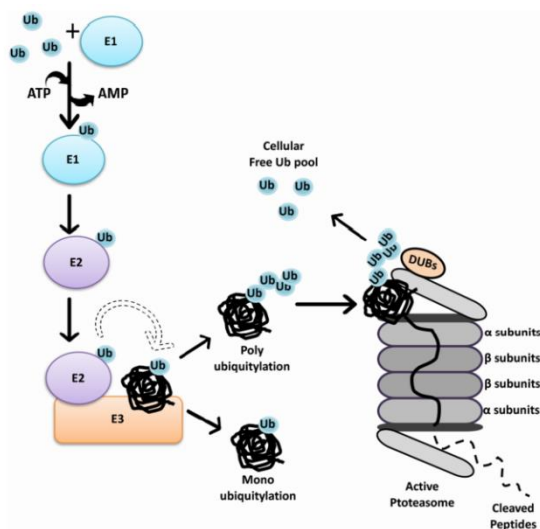
si noe om troverdigheten. I denne oppgaven har vi valgt å forholde oss til at alt som publiseres på *PubMed* er fagfelleurdert og dermed bør være troverdig.

1.0 Cellulær homeostase

Cellulær homeostase innebærer at det indre miljøet i cellene holdes mest mulig konstant, slik at det er et optimalt miljø for ulike cellulære prosesser. Substanser som produseres må etter en stund brytes ned for å holde konsentrasjonene og funksjonene korrekte (oppsummert av: Klaips et al., 2018). Homeostase opprettholdes ved at det er en balanse mellom anabolsk og katabolsk aktivitet i cellen. Denne balansen er strengt regulert og styres via cellenes evne til å registrere næringsstatus, cytokiner, hormoner og vekstfaktorer (oppsummert av: Gomes & Blenis, 2015). Ved liten tilgang på næringsstoffer vil cellen indusere resirkulering av cellulære komponenter ved degenerering av makromolekyler for å opprettholde sine krav til næring. Resirkulering av proteiner er svært viktig ettersom det sørger for gjenbruk av aminosyrer og samtidig fjerning av proteiner som eventuelt ikke fungerer som de skal. Proteiner og andre makromolekyler blir nedbrutt og resirkulert via to hovedveier; ubiquitin proteasom-systemet (UPS) og autofagi (oppsummert av: Beese et al., 2020).

1.1 Ubiquitin proteasom-systemet

UPS bryter ned løselige proteiner med kort levetid eller proteiner som er feilfoldet eller ødelagt på annet vis. I proteasomene blir proteiner hydrolysert til små peptider. Proteiner strekkes ut og klippes til fragmenter som består av 3-25 aminosyrer, og deretter spaltes aminosyrefragmentene til enkeltstående aminosyrer. UPS består av proteinet ubiquitin, ubiquitin-aktiverende enzymer (E1), ubiquitin-konjugerende enzymer (E2), ubiquitin-ligasaser (E3), 26S proteasomer hvor nedbrytingen foregår samt deubiquitinerende enzymer (DUBer). (oppsummert av: Kocaturk & Gozuacik, 2018). En forenklet fremstilling av UPS er vist i figur 1.



Figur 1. Skjematisk fremstilling av ubiquitin proteasom-systemet. Ubiquitin (Ub) festes til målprotein ved hjelp av E1-, E2- og E3-enzymene, og deubiquitinerende enzymer kan frigjøre ubiquitin igjen når målproteinet spaltes i proteasomet (Kocaturk & Gozuacik, 2018).

Ubiquitin er et lite protein på 8.6 kDa bestående av 76 aminosyrer, og ble først beskrevet av Goldstein et al. allerede i 1975 (Goldstein et al., 1975). Det er et lite, regulatorisk protein som er involvert i mange ulike cellulære prosesser ved at det modifierer målproteiner i en prosess kalt ubiquitinerings, som har som hovedfunksjon å merke proteiner for degradering (Glickman & Ciechanover, 2002; Swatek & Komander, 2016). Ubiquitinerings er en posttranslasjonell modifisering hvor et gitt målprotein får minst ett ubiquitin-protein koblet til seg gjennom flere trinn. Et ubiquitin-aktiverende enzym (E1) bruker energi fra adenosintrifosfat (ATP) til å danne en thioesterbinding mellom en cysteinenhet i sitt eget aktive sete og C-terminal ende av ubiquitin. Det aktiverte ubiquitin blir så overført til et E2-enzym hvor det igjen dannes en thioesterbinding. E2-enzymet vil så samarbeide med en E3-ligase for å overføre ubiquitin-proteinet til et målprotein. Ubiquitin inneholder 7 lysinenheter, blant annet i posisjon 11, 48 og 63. Lysinenhetene har en viktig funksjon i UPS fordi ubiquitin-molekyler kan binde seg til hverandre via lysingruppene og på denne måten danne ubiquitin-kjeder av ulik lengde og med ulike forgreninger. K11- og K48-forankrede poly-ubiquitin-kjeder er spesielt sterke signaler for degenerering i proteasomer, mens K63-kjeder er satt i forbindelse med nedbryting ved autofagi (oppsummert av: Kocaturk & Gozuacik, 2018; McKeon et al., 2015; Park et al., 2020). Ubiquitinerings er en reversibel prosess, og deubiquitinerende enzymer kan motvirke E3-ligasene ved å frigjøre ubiquitin fra målproteinene (Kocaturk & Gozuacik, 2018).

1.2 Autofagi

Mens UPS-systemet tar seg av relativt små, løselige proteiner, har cellene også et degraderingsystem som kan bryte ned større komponenter som ødelagte organeller, potensielt skadelige proteinaggregater og intracellulære patogener. Dette skjer i en prosess kalt autofagi, "selvspising" (oppsummert av: Kocaturk & Gozuacik, 2018). Begrepet autofagi ble først brukt av Cristian de Duve i 1963 (oppsummert av: Klionsky, 2008; Z. Yang & Klionsky, 2010). Prosessen bryter ned gamle proteiner og organeller, uløselige protein-aggregater, og intracellulære patogener. Dette skjer ved at det dannes dobbeltmembran, fagofor, som forlenges og modnes til en vesikkel som omslutter substansene som skal degraderes. Denne vesikkelen kalles et autofagosom. Autofagosomet smelter sammen med et lysosom og blir til et autolysosom, og innholdet i autolysosomet brytes ned av lysosomale hydrolaser. På denne måten blir makromolekyler brutt ned og byggesteiner gjort tilgjengelig (Kocaturk & Gozuacik, 2018).

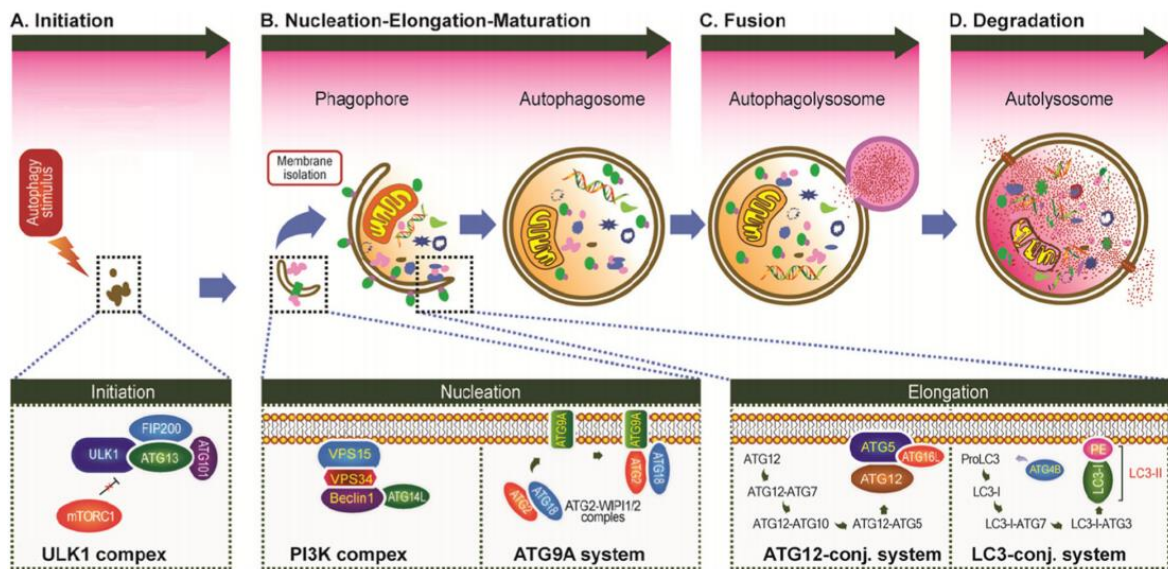
2.0 Autofagi

Autofagiprosessen spiller en sentral rolle i cellulær homeostase, metabolisme og vekstregulering. Prosessen skjer i alle celler til en viss grad, men i tilfeller hvor cellene opplever ekstra- eller intracellulært stress som for eksempel sult, hypoksi, oksidativt stress eller infeksjon kan autofagi skje i større grad (oppsummert av: Li et al., 2020; Parzych & Klionsky, 2014). Autofagi kan bidra med å sikre kvaliteten i cellene og gi økt overlevelse ved at bestanddeler som er ødelagte og gamle brytes ned, samtidig som det frigjøres byggesteiner som cellene selv kan benytte seg av (Parzych & Klionsky, 2014). Under prosessen kan det bli resirkulert byggesteiner som aminosyrer, fettsyrer, nukleotider og karbohydrater som er nødvendig for oppbygging og vedlikehold av cellene (Li et al., 2020).

2.1 Autofagiprosessen

Autofagi er en komplisert prosess som inkluderer mange proteiner og proteinkomplekser. Autofagi blir mediert av proteiner som kodes for av en rekke ulike autofagirelaterte gener (*ATG*) (oppsummert av: Klionsky et al., 2003; Parzych & Klionsky, 2014). Kjerneautofagimaskineriet viser til en subgruppe på omtrent 18 gener som er felles for alle typer autofagi, og de tilsvarende genproduktene som kreves for autofagosomdannelsen. Autofagiprosessen består av flere trinn som omfatter initiering, nukleering, forlengelse og modning av fagofor til autofagosom, fusjonering mellom autofagosom og lysosom til autolysosom, og til slutt nedbrytning av innholdet i autolysosomet som vist i figur 2 (oppsummert av: Li et al., 2020).

Autofagi er en høyt konservert prosess, og de autofagirelaterte genene med tilhørende proteiner ble opprinnelig beskrevet i gjær (oppsummert av: Mizushima et al., 2011; Ohsumi, 2014). Pattedyr har tilsvarende homologe proteiner, og disse har ofte, men ikke alltid, samme navn som dem i gjær. I tilfeller hvor navnene er ulike er det derfor noen ganger her oppgitt navn på protein fra henholdsvis pattedyr/gjær. De ulike trinnene i autofagiprosessen vil nå bli beskrevet i litt mer detalj.

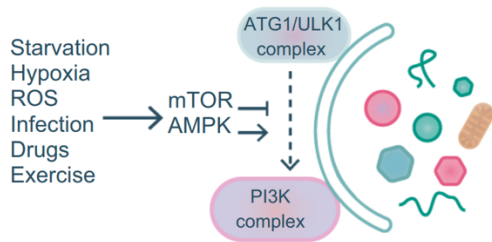


Figur 2. Mekanismer i autofagi; initiering, nukleering, forlengelse, modning, fusjonering og degradering. A) Faktorer som stimulerer autofagi gjør at mTORC1 ikke lengre inhiberer ULK1-komplekset. Aktivt ULK1-kompleks har økt kinaseaktivitet som initierer autofagiprosessen. B) Nukleering rekrutterer proteiner som inngår i fagofordannelsen. Fagoforen forlenges og omslutter cytoplasmakomponenter ved hjelp av to konjugeringssystemer som omfatter ATG5-ATG12 og LC3/ATG8-PE. Det dannes et autophagosom som modnes. C) Modent autophagosom fusjonerer med lysosom. D) Lysosomets hydrolaser bryter ned den innerste membran i autolysosomet og deretter innholdet, som sendes tilbake til cytosol og resirkuleres. For øvrige detaljer se 2.1 Autofagiprosessen (Li et al., 2020).

2.1.1 Initiering av autofagi

Initiering av autofagiprosessen forutsetter en koordinert aktivering og lokalisering av autofagimaskineriet. Hos gjærceller vil initieringen finne sted i en såkalt preautofagosomal struktur (PAS), som er forløperen til fagoforen (oppsummert av: Parzych & Klionsky, 2014). Hos pattedyr er det vist at initieringen kan skje på spesielle områder av endoplasmatisk retikulum (ER), hvor det er anrikt med fosfatidylinositol-3-fosfat (PI3P) (Axe et al., 2008).

Selve initieringen av autofagiprosessen er avhengig av kinaseaktiviteten til unc-51-like kinase 1 (ULK1)-kompleks, som består av ULK1/ATG1, ATG13, focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kD (FIP200)/ATG17 og ATG101, som vist i figur 2A. Det er de to kinasene adenosinmonofosfat (AMP)-aktivert kinase (AMPK) og the mammalian target of rapamycin (mTOR) som hovedsakelig regulerer aktiviteten til ULK1-komplekset, og når ULK1-komplekset er aktivt vil autofagi initieres (oppsummert av: Boya et al., 2018; Li et al., 2020; Zachari & Ganley, 2017). Faktorer som induserer autofagi, for eksempel sult, inhiberer mTOR og aktiverer AMPK slik at ULK1-komplekset blir aktivert som vist i figur 3. Faktorer som taler mot at autofagi skal skje, for eksempel god næringstilgang som resulterer i høye nivå av ATP, vil derimot inaktivere AMPK og aktivere mTOR slik at ULK1-komplekset blir inaktivert (oppsummert av: Parzych & Klionsky, 2014).



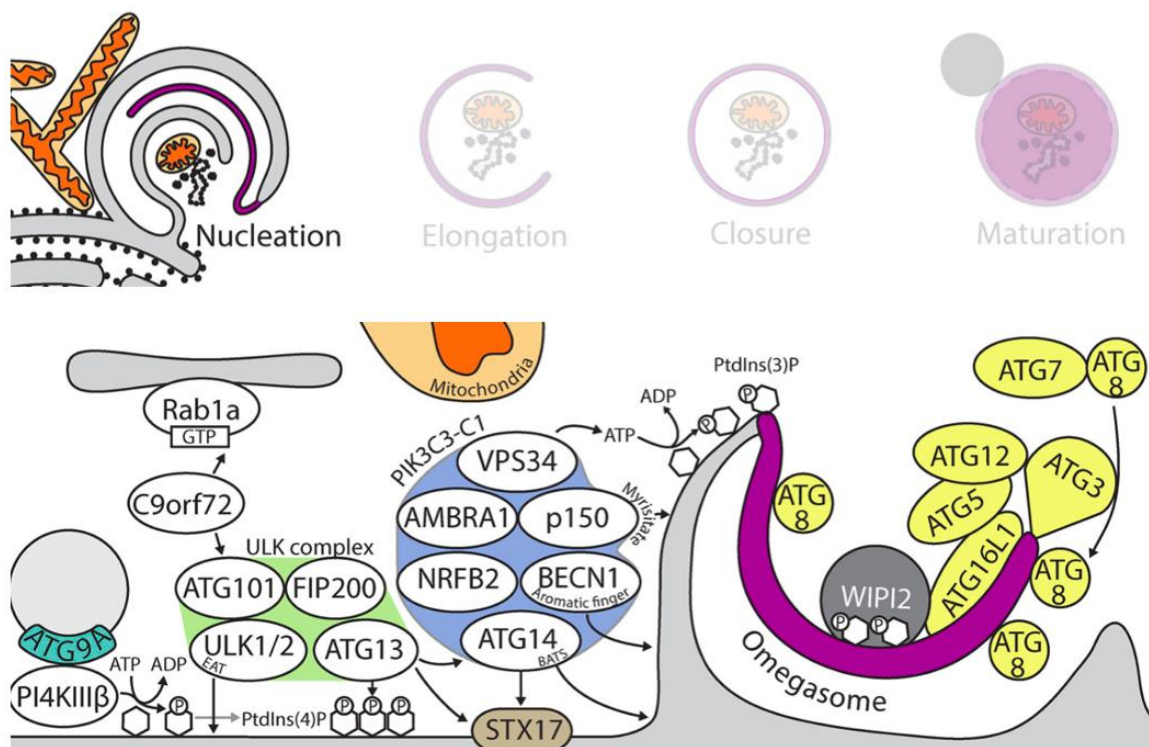
Figur 3. Autofagistimuli. Faktorer som induserer autofagi, for eksempel sult, inhiberer mTOR og aktiverer AMPK. ULK1-komplekset blir aktivt og fagofordannelsen begynner (Boya et al., 2018).

2.1.2 Nukleering, forlengelse og modning av fagofor

Under den delen av autofagiprosessen som kalles nukleering skjer det rekruttering av en rekke ulike proteiner til dannelsesstedet for fagoforen. Aktivert ULK1-kompleks og AMPK vil fosforylere flere proteiner som er sentrale under fagofordannelsen. Nukleeringen er avhengig av at aktivert ULK1-kompleks translokeres til fagoforens dannelsessted. Den bakenforliggende mekanismen for selve translokeringen er ikke fullstendig kjent, men aminosyresult har trolig en sentral rolle. Translokert ULK1-kompleks vil interagere med en rekke komponenter, som vist i figur 4, og det vil fosforylere fosfatidylinositol 3-kinase klasse 3 (PI3K-III)-kompleks på flere seter, se figur 6 for detaljer. Dette er helt sentralt for den videre rekrutteringen av proteiner under fagofordannelsen (oppsummert av: Melia et al., 2020).

Beclin1/ATG6 er et nøkkelprotein under fagofordannelsen. Ved god næringstilgang vil Beclin1 være i et kompleks med proteinet B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) og autofagi vil ikke finne sted (oppsummert av: He & Klionsky, 2009). Når Beclin1 blir aktivert, ved fosforylering eller ubiquitinerings, dissosierer det fra det autofagihemmende komplekset og fungerer som en plattform hvor flere proteiner samles og danner PI3K-III-kompleks. Dette komplekset består blant annet av vacuolar sorting protein (VPS) 34, som er en fosfatidylinositol 3-kinase (PI3K-III), i tillegg til Beclin1, ATG14 og VPS15, også kjent som p150. ATG14 kan bindes til både Beclin1 og ER, på SNARE-proteinet (se forkortelser) Syntaxin-17 (STX17). Disse bindingene, med flere, vil bidra til at PI3K-III-komplekset bindes til ER (oppsummert av: Melia et al., 2020; Palamiuc et al., 2020). PI3K-III-komplekset har evne til å fosforylere fosfatidylinositol-4,5-bisfosfat (PIP2) til fosfatidylinositol-3,4,5-trifosfat (PIP3), og dannelsen av PIP3 er svært viktig for den videre prosessen. Den økte konsentrasjonen av PIP3 rekrutterer ulike proteiner til dannelsesstedet, blant annet double FYVE domain-containing protein 1 (DFCP1), WD repeat protein interacting with phosphoinositides (WIPI)/ATG18 og Akt (oppsummert av: Palamiuc et al., 2020; Parzych & Klionsky, 2014). Disse områdene på ER hvor det er mye DFCP1 og PI3P kalles omegasomer, og det er her forlengelsen og modningen av fagoforen skjer (Palamiuc et al., 2020). Denne delen av prosessen er illustrert i figur 4.

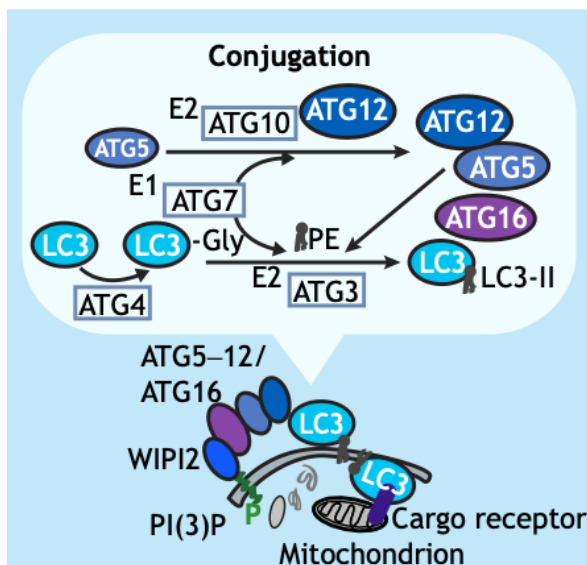
Kilden til fagofor membranen er til tross for mye forskning enda ikke fastslått. Flere ulike studier har antydnet at både ER (Ylä-Anttila et al., 2009), plasmamembranen (Ravikumar, 2010), golgiapparatet (Takahashi et al., 2011) og mitokondrier (Hailey et al., 2010) kan være mulige kilder til membranen (oppsummert av: Mizushima et al., 2011; Parzych & Klionsky, 2014). De siste årene har forskning vist at sete for fagofordannelsen, og kilde til membranen kan variere avhengig av hvilken faktor det er som initierer autofagien. ATG9, det eneste transmembrane proteinet involvert ved autofagosomdannelse, har vist å ha en svært viktig funksjon for transport av membrankomponenter (oppsummert av: Melia et al., 2020).



Figur 4. Viktige komplekser og deres påvirkning i dannelsen av fagofor. Aktivt ULK1-kompleks translokerer og bindes til STX17 på ER og ATG14 i PI3K-III-komplekset. ATG14 i PI3K-III-komplekset bindes også til STX17 og ER. I tillegg bindes Beclin1 i PI3K-III-komplekset til ER. Disse bindingene er med på å danne og rekruttere proteiner til dannelsen av fagofor. De to konjugeringene ATG12-ATG5 og LC3/ATG8-PE forlenger fagoforen (Melia et al., 2020).

Under forlengelsen og modningen av autofagosomet er det spesielt to ubiquitin-lignende proteinkonjugeringer som er sentrale; ATG12-ATG5 og LC3/ATG8-PE, som illustrert i figur 2B, og med mer detaljer i figur 5 (oppsummert av: Mizushima et al., 2011; Suzuki et al., 2007; Walczak & Martens, 2013). LC3 er forkortelsen for MAP1LC3, som står for microtubule-associated protein-1 light chain 3.

I den første konjugeringen fungerer ATG7 som E1-enzym og ATG10 som E2-enzym. ATG7 aktiverer da det ubiquitin-lignende proteinet ATG12 som deretter blir overført til ATG10, etterfulgt av konjugering til ATG5. ATG5-ATG12 danner så et kompleks med ATG16L som blir kalt ATG12-komplekset (oppsummert av: Mizushima et al., 2011). Den andre ubiquitin-lignende proteinkonjugeringen involverer modifisering av LC3, som i likhet med ATG12, er et lite, ubiquitin-lignende protein. Konjugeringen skjer på overflaten til den voksende dobbeltmembranen, ved hjelp av ATG7, ATG4 og ATG12-komplekset. ATG7 fungerer her som E1, ATG3 som E2 og ATG12-komplekset som E3. Før dette kan finne sted, må proteasen ATG4 spalte proLC3 (inaktiv) til løselig LC3-I. Videre blir så LC3-I konvertert til LC3-II ved konjugering til fosfatidylethanolamin (PE), som er en type fosfolipid viktig for cellemembranen (oppsummert av: Bialik et al., 2018; Melia et al., 2020; Mizushima et al., 2011). Under konverteringen fra LC3-I til LC3-II blir dobbeltmembranen forlenget, og dette bidrar i dannelsen av modent autofagosom (oppsummert av: Feng et al., 2014). Ferdig konvertert LC3-II rekrutteres til overflaten på fagofor membran, og etter det er bundet til lamina vil proteinet forbli festet her. Denne bindingen fungerer som en slags merkelapp som forteller at det er en autofagimembran, samt som et bindingssete for en rekke autofagireseptorer, blant annet sequestosome-1 (SQSTM1)/p62, som kan ha med seg degraderingsubstanser (Lamark et al., 2009). Hos pattedyr er ikke disse konjugeringene nødvendige for modningen av membranen slik som de er hos gjærceller, men de øker effektiviteten i prosessen og muliggjør smelting av den innerste membranen av autofagosomet ved fusjonering (Tsuboyama et al., 2016).



Figur 5. Ubiquitin-lignende proteinkonjugeringer, ATG5-ATG12 og LC3/ATG8-PE. Ved hjelp av ATG7 og ATG10 blir ATG5 og ATG12 konjugert sammen. ATG5-ATG12 bindes til ATG16 og danner ATG12-komplekset. ATG4 omdanner LC3 til løselig form, som deretter ved hjelp av ATG7, ATG3 og ATG12-komplekset konjugerer LC3 til PE (Bialik et al., 2018).

2.1.3 Fusjonering mellom autofagosom og lysosom

Når autofagosomet er modent vil det fusjonere med et lysosom via flere proteiner, og danne et autolysosom, som vist i figur 2C. Lokalisasjonen for dette er ofte perifert i cellen (Jahreiss et al., 2008). For at fusjoneringen skal kunne skje må autofagosom og lysosom være nærme nok, og det kreves derfor at autofagosomene fraktes mot lysosomene. Dette skjer ved hjelp av mikrotubuli, som er en del av cytoskjelettet. Når autofagosom og lysosom er nærme hverandre vil “tethering factors” bidra til fusjonering. Kort fortalt vil homotypic fusion and protein sorting (HOPS)-komplekset, som inneholder viktige faktorer for fusjonering, reagere med STX17 og danne et trans-SNARE-kompleks som medierer fusjonering. Under fusjoneringen vil den ytterste fosfolipidmembranen av autofagosomet smelte sammen med lysosomet. Deretter smelter lysosomale hydrolaser den innerste fosfolipidmembranen, og et autolysosom er dannet (oppsummert av: L. Yu et al., 2017).

2.1.4 Degradering

Innholdet i autolysosomet blir degradert av lysosomale hydrolaser som vist i figur 2D. Når det degraderte materialet skal fraktes tilbake til cytoplasma skjer dette via “lysosome efflux transporters” samtidig som innholdet gradvis reduseres. Der kan det degraderte materialet bli gjenbrukt av cellen som næring for opprettholdelse av homeostasen, metabolismen og vekstreguleringen (oppsummert av: Parzych & Klionsky, 2014; L. Yu et al., 2017).

2.1.5 Autofagi lysosom reformasjon

Når autofagiprosessen er ferdig gjendannes det lysosomer under en prosess kalt autofagilysosom-reformasjon (ALR). Dette skjer ved at tubulære strukturer, som består av lysosomale membrankomponenter, dannes ut fra autolysosomene. Videre dannes det små vesikler fra de tubulære strukturene, og disse kalles proto-lysosomer. Proto-lysosomene modnes til funksjonelle lysosomer, muligens ved å utvikle lav pH og lysosomale lumenproteiner (oppsummert av: L. Yu et al., 2010).

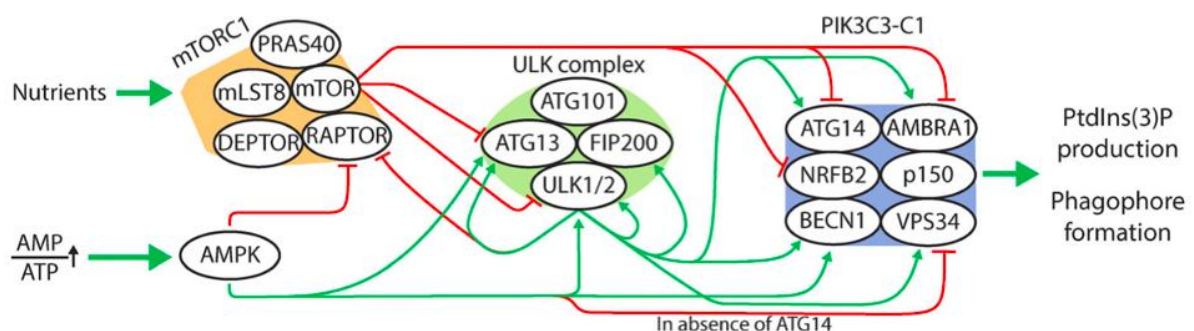
2.2 Selektiv og non-selektiv autofagi

Autofagiprosessen kan være både selektiv- og non-selektiv. Selve prosessen er stort sett den samme, men det er én hovedforskjell; ved selektiv autofagi vil dobbeltmembran binde spesifikke komponenter i cellen, mens ved non-selektiv vil det bindes tilfeldig cytoplasmamateriale. Non-selektiv autofagi skjer typisk når autofagien er mediert av næringsmangel, mens selektiv autofagi ofte blir mediert av invasive mikrober, og ødelagte eller overflødige organeller (oppsummert av: Feng et al., 2014). Ved selektiv autofagi kan spesifikke cellekomponenter gjenkjennes, bindes og elimineres på grunn av at de er merket med ubiquitin. Spesifikke autofagireseptorer, for eksempel p62, gjenkjenner kargo (for eksempel

proteiner, proteinkomplekser, organeller) som er merket med poly-ubiquitin-kjeder eller mono-ubiquitin, og har i tillegg evne til å bindes til LC3 på autofagosommembranen. På denne måten blir ubiquitin-merkede substanser koblet sammen med autofagimaskineriet (Bjørkøy et al., 2005; Pankiv et al., 2007). Den selektive autofagien blir navngitt etter hvilken komponent som blir degradert; for eksempel kalles selektiv autofagi av mitokondrier mitofagi, mens for peroksisomer kalles det peroksifagi (oppsummert av: Feng et al., 2014; Gatica et al., 2018).

2.3 Regulering av autofagiprosessen

Autofagi kan bli akselerert eller inhibert på grunn av forskjellige ekstracellulære- eller intracellulære signaler og stress. Dette kan eksempelvis være mangel på næring og vekstfaktorer, hypoksi, ER-stress eller patogen infeksjon. Reguleringen skjer hovedsakelig ved aktivering og inaktivering av det sentrale ULK1-komplekset, som må være aktivt for at autofagi skal finne sted. mTOR regnes som den viktigste negative regulatoren av autofagiprosessen, og sammen med en rekke andre regulatore, blant annet AMPK, reguleres det strengt i hvilken grad autofagi skal initieres i celler (oppsummert av: Li et al., 2020). På grunn av den komplekse reguleringen vil det her bli fokusert på mTOR, AMPK og deres samspill og påvirkning på ULK1-komplekset. Dette er illustrert i figur 6.



Figur 6. Regulering av autofagi. De to kinasene AMPK og mTOR er de viktigste regulatorne av autofagiprosessen. mTOR inhiberer, mens AMPK aktiverer autofagi etter signal fra cellen. De fungerer begge ved å blant annet, som illustrert her, aktivere/inhibere deler av to sentrale kompleks i autofagiprosessen; ULK1-komplekset og PI3K-III-komplekset. Inhibering er vist med —, mens aktivering er vist med — (Melia et al., 2020).

2.3.1 mTOR

Målproteinet mTOR finnes i to komplekser; mTOR kompleks 1 (mTORC1) og mTOR kompleks 2 (mTORC2), hvorav mTORC1 hovedsakelig tar seg av reguleringen av autofagi (J. Kim et al., 2011).

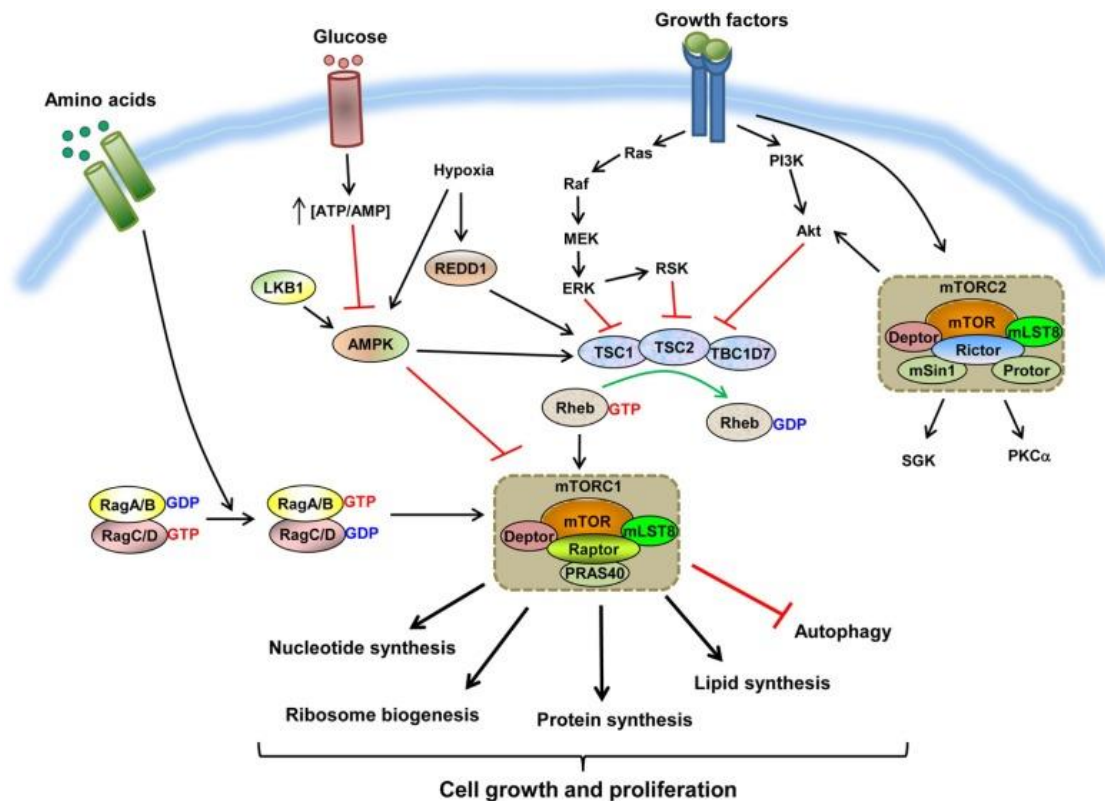
mTORC1 er et næringssensitivt kompleks som registrerer tilgangen på byggesteiner i cellen, og ved tilstrekkelig næringstilgang vil komplekset være aktivt (Hosokawa et al., 2009).

mTORC1 kan bli aktivert gjennom flere signalveier, og når det er aktivert vil det føre til økt cellevekst og proliferasjon, blant annet ved å hemme autofagi og fremme proteinsyntesen, som vist i figur 7 (oppsummert av: S. G. Kim et al., 2013). PI3K/Akt/mTOR og Ras/Raf/MEK/ERK er eksempler på signalveier som aktiverer mTOR. PI3K/Akt/mTOR er viktig for aktivering av mTORC1, og de sentrale bestanddelene i signalveien er PI3K-I, Akt og mTOR. Når PI3K/Akt/mTOR-signalveien er aktivert vil den fungere som en negativ regulator på autofagiprosessen, siden mTOR blir aktivert, og aktiv mTOR kan nedregulere autofagi (se nedenfor). PI3K-I kan aktiveres av vekstfaktorer, og vil videre aktivere Akt ved fosforylering. Deretter vil Akt fosforylere og inhibere tuberous sclerosis kompleks (TSC)1/2 som er et guanosintrifosfat (GTP)ase-aktiverende enzym for Ras homolog enriched in brain (Rheb) GTPase. Når TSC1/2 blir fosforylert dissosierer det fra lysosomet og aktiverer Rheb, som videre kan aktivere mTOR (oppsummert av: Heras-Sandoval et al., 2014; Y. C. Kim & Guan, 2015; Z. Xu et al., 2020). mTOR kan også aktiveres av aminosyrer. Aminosyrer regulerer fire Rag-proteiner (A, B, C, D) som er små Ras-relaterte GTPaser viktige for reguleringen av mTOR. RagA (eller B) danner heterodimer med RagC (eller D), og heterodimeren bindes til lysosomet ved hjelp av lysosomal proteinkompleksregulator. Når disse er bundet bidrar de med rekruttering av mTOR til lysosomene hvor mTOR kan aktiveres av Rheb (oppsummert av: Y. C. Kim & Guan, 2015; Sancak et al., 2008). Selv om god næringstilgang vanligvis betyr at mTORC1 er aktivt, finnes det også tilfeller hvor komplekset er inaktivt til tross for god næringstilgang, for eksempel ved hypoksi (Arsham et al., 2003).

Når mTORC1 er aktivt vil autofagi blir hemmet, noe som er viktig i tilfeller hvor cellen ikke opplever stress, og det ikke er behov for mer degradering og resirkulering enn det som foregår basalt. mTORC1 kan inhibere autofagi på flere måter, noe som er vist i figur 6 (oppsummert av: Li et al., 2020). Blant annet kan mTOR inaktivere ULK1-komplekset ved fosforylering av ULK1 og ATG13 (Hosokawa et al., 2009). Når ULK1-komplekset er inaktivert er kinaseaktiviteten lav, og dette fører til at autofagiprosessen ikke går (Chan et al., 2009; Jung et al., 2009). Når mTORC1 er aktivt kan det også inhibere autofagi ved å virke direkte på PI3K-III-komplekset. Dette skjer blant annet ved fosforylering av ATG14 slik at lipidkinaseaktiviteten til VPS34 inhiberes (oppsummert av: Y. C. Kim & Guan, 2015).

Transkripsjonsfaktor EB (TFEB) er viktig for regulering av autofagi og lysosomal biogenese (oppsummert av: Settembre et al., 2011). mTOR kan fosforylere TFEB når cellen har stor nok næringstilgang (Martina et al., 2012), da vil TFEB vil oppholde seg i cytoplasma og være inaktiv. Ved

inaktivering av mTOR, vil TFEB bli defosforylert. TFEB vil da translokere til cellekjernen og aktivere transkripsjon av sine målgener som omfatter blant annet genene for ATG9, WIPI og andre sentrale proteiner i autofagiprosessen (Settembre et al., 2011).



Figur 7. Oversikt over ulike signaleringsveier som påvirker mTOR. Ulike mekanismer som vekstfaktorer, glukose, og aminosyrer bidrar til regulering av mTOR. For ytterligere forklaring på noen av disse mekanismene se 2.3 Regulering av autofagiprosessen (S. G. Kim et al., 2013).

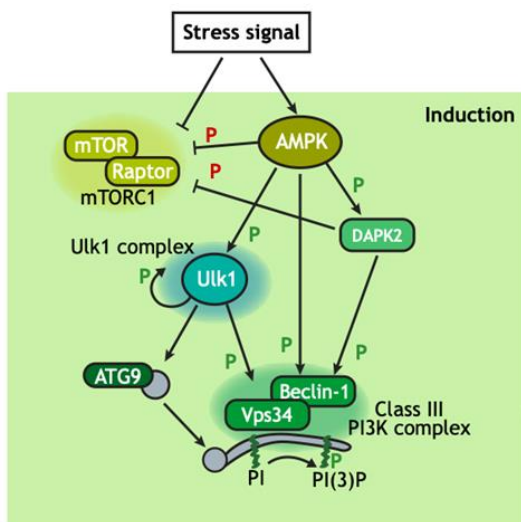
2.3.2 AMPK

AMPK kan aktiveres ved flere mekanismer. Ved lite tilgang på næring vil den intracellulære konsentrasjonen av AMP gå opp og ATP gå ned, slik at AMP-ATP-ratioen øker, se figur 6 og 7. AMP vil i slike tilfeller binde seg til, og aktivere AMPK (oppsummert av: Parzych & Klionsky, 2014). AMPK kan også aktiveres av ER-stress som forårsakes av blant annet oksidativt stress og hypoksi (oppsummert av: He & Klionsky, 2009). Ved slike stresstilstander vil Ca^{2+} fra ER slippes ut i cytosol. Økt Ca^{2+} i cytosol fører til aktivering av Ca^{2+} -aktivert kinase (CaMKK- β) som direkte aktiverer AMPK, og dermed initierer autofagi. Mindre Ca^{2+} i ER vil også føre til akkumulering av ufoldede proteiner i ER. Dette er ugunstig for cellens homeostase, og denne akkumuleringen medierer til ufoldet protein respons (UPR), som også kan initiere autofagi (Høyer-Hansen et al., 2007; Parzych & Klionsky, 2014).

Aktiv AMPK kan påvirke initieringen av autofagiprosessen på flere måter (oppsummert av: Bialik et al., 2018; Galluzzi & Green, 2019), se også figur 6, 7 og 8. Blant annet skjer dette ved å ¹⁾ fosforylere mTORC1 til inaktiv form. Dette skjer ved at AMPK fosforylerer og inhiberer raptor, et protein som er

en del av mTORC1. Inaktivt mTORC1 dissosierer fra ULK1-komplekset slik at det blir defosforylert, og dette fører til økt kinaseaktivitet som initierer autofagi (Chan et al., 2009; Galluzzi & Green, 2019). AMPK kan også ²⁾ direkte fosforylere ULK1-komplekset til aktiv form slik at kinaseaktiviteten øker (Galluzzi & Green, 2019). Aktiv AMPK har også mulighet til å ³⁾ aktivere death-associated protein kinase 2 (DAPK2) ved fosforylering i et aktivt sete. DAPK2 fungerer som en negativ modulator på mTOR ved fosforylering og inhibering av raptor. DAPK2 kan også fosforylere Beclin1, et nøkkelprotein i dannelse av fagoforen (oppsummert av: Shiloh et al., 2018). I tillegg kan aktiv AMPK ⁴⁾ direkte fosforylere flere deler av PI3K-III-komplekset slik at det blir stimulert til fagofordannelse og autofagi (J. Kim et al., 2013).

Når cellen ikke lenger opplever stress eller sult kan AMPK inaktiveres, slik at autofagiprosessen ikke lenger er like aktiv. Dette kan skje på flere måter, blant annet ved endring i AMP-ATP-ratio og ved fosforylering. Når forholdet mellom AMP og ATP forandres slik at AMP-ATP-ratioen minker, vil ikke AMP lenger binde seg til, og aktivere, AMPK. ATP fungerer på denne måten som en inhibitor på AMPK. Aktiv ULK1 kan også bidra med inaktivering av AMPK ved å fosforylere det til inaktiv form (oppsummert av: Bialik et al., 2018; Löffler et al., 2011). Redusert positiv regulering av AMPK kombinert med økt negativ mTOR-mediert regulering fører i sum til redusert autofagi.



Figur 8. AMPK sin virkning på autofagiprosessen. Stressignaler aktiverer AMPK og hemmer mTORC1. Aktiv AMPK påvirker autofagiprosessen på flere måter. Her er aktiverende fosforylering vist med (P), og inaktiverende fosforylering vist med (P̄). For ytterligere forklaring se 2.3.2 AMPK (Bialik et al., 2018).

2.4 Dysregulert autofagi

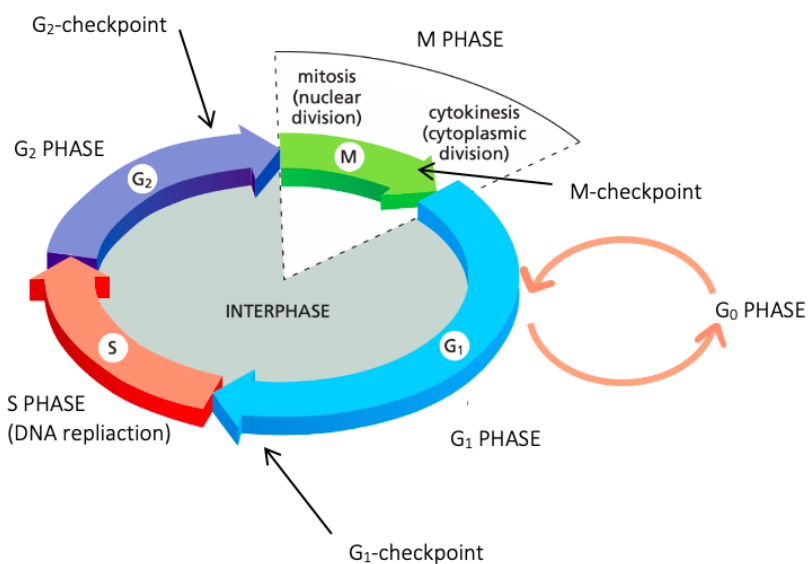
Autofagi er sentralt i opprettholdelsen av cellens homeostase samt celleoverlevelse, derfor er det også naturlig at dysregulert autofagi kan være knyttet til sykdom. Det finnes bevis på sammenheng mellom ATG-dysfunksjon og sykdom (oppsummert av: Levine & Kroemer, 2019). Autofagiprosessen hos

mennesket inkluderer som nevnt en rekke *ATG*, og i likhet med alle andre gener kan også disse genene bli mutert og miste sin funksjon. *ATG* koder for proteiner som er nødvendige i flere trinn i autofagiprosessen, og tap av funksjon i disse genene, slik at de aktuelle proteinene ikke blir dannet, vil kunne inhibere autofagiprosessen (Levine & Kroemer, 2019). Dysregulert autofagi har blitt sett i sammenheng med både nevrodegenerative sykdommer (Hara et al., 2006; Komatsu et al., 2006) og kreft (Kang et al., 2009; Qu et al., 2003), og de siste årene har man klart å koble bestemte mutasjoner i *ATG* opp mot ulike sykdommer hos mennesket (Levine & Kroemer, 2019).

3.0 Cellesyklus

En celle reproducerer seg ved å gjennomgå en rekke hendelser hvor cellen øker i størrelse og deoksyribonukleinsyre (DNA) blir replikert før cellen til slutt deler seg og danner datterceller. Denne rekken av hendelser omtales som cellesyklus og er en viktig grunnleggende mekanisme i alt levende (Alberts et al., 2019).

Cellessyklus hos eukaryote celler blir delt inn i fire faser som vist i figur 9; M-fase, G₁-fase, S-fase og G₂-fase. G₁-, S- og G₂-fase utgjør til sammen det som kalles interfase, hvor cellen forberedes på celledeling. I løpet av G₁-fasen blir cellen større før den beveger cellen seg inn i S-fasen, der alt DNA kopieres. Når cellen har et komplett ekstra sett med genetisk materiale, beveger den seg inn i G₂-fasen hvor DNA blir organisert og kondensert. Under de to G-fasene mottar cellene ulike ekstra- og intracellulære signaler som blir vurdert av et kontrollsystem. Dersom forholdene er gode nok og omgivelsene taler for det vil cellen gå inn i neste fase. Etter G₂-fasen kommer M-fasen som består av mitose og cytokinese, og det er i denne fasen selve celledelingen skjer. Her fordeles DNA-kopiene og cytoplasma seg, og resultatet er to fullverdige og identiske datterceller. Disse dattercellene vil deretter tre inn i en ny runde av cellessyklus. Dersom en celle ikke får signaler om at den skal dele seg, for eksempel på grunn av utilstrekkelig næringstilgang, vil den kunne gå fra G₁-fase og inn i en hvilende tilstand som omtales som G₀. (Alberts et al., 2019).



Figur 9. Skjematisert oversikt over cellessyklus inkludert sjekkpunkt og G₀-fase. Interfasen består av G₁-, G₂- og S-fasen, og M-fasen består av mitose og cytokinese. Sjekkpunktene bidrar med å kontrollere at cellessyklus går riktig for seg. For detaljer, se 3.0 Cellessyklus og 3.1 Cellessykluskontrollsystem og sjekkpunkter. Figuren er hentet fra (Alberts et al., 2019) med noen modifikasjoner.

3.1 Cellesykluskontrollsystem og sjekkpunkter

For å kontrollere at cellesyklus går riktig for seg har eukaryote celler et avansert system av regulatoriske proteiner som kalles cellesykluskontrollsystem. Dette systemet sørger for at de ulike hendelsene i syklusen går i riktig rekkefølge, og at en celle ikke går inn i neste fase før den forrige er fullført. I syklusen er det tre hovedsjekkpunkter; G₁-, G₂- og M-sjekkpunkt, som vist i figur 9. Her kan syklusen både bli fremmet og hemmet. Dette skjer ved hjelp av tilbakekoblingsmekanismer i cellen. Dersom det har oppstått feil, har vært forsinkelser i noen av fasene eller at omgivelsene ikke er egnet for deling, vil syklusen kunne settes på pause. Da blir cellen “arrestert” i den delen av cellesyklus den måtte befinne seg i, og dette omtales som cellesyklusarrest (Alberts et al., 2019).

3.2 Cellesyklusarrest og apoptose

Dersom det blir oppdaget feil i cellen i et av sjekkpunktene i cellesyklus vil cellesyklusarrest kunne inntreffe på signaler fra cellesykluskontrollsystemet. Dersom det for eksempel oppdages DNA-skade i cellen ved G₁-sjekkpunktet og cellen *ikke* havner i cellesyklusarrest, men går inn i S-fasen vil dette kunne medføre etablering av mutasjoner. Skjer dette i gener essensielle for kontroll av cellevekst, vil det kunne bidra til endrede vekstegenskaper og potensielt videre akkumulering av mutasjoner, hvilket over tid vil kunne føre til tumordannelse. Dette er grunnen til at sjekkpunktene i cellesyklus, og cellesyklusarresten er viktig. Når en celle blir satt i cellesyklusarrest på grunn av skade eller feil vil disse bli forsøkt reparert før cellen blir sendt videre i syklusen. I noen tilfeller vil ikke skadene la seg reparere, og da vil cellen få signaler om å gå i apoptose (oppsummert av: Alberts et al., 2019; Pietsenpol & Stewart, 2002).

Apoptose, programmert celledød, er en mekanisme i eukaryote celler hvor cellene tar selvmord på en kontrollert måte. Gjennom apoptose har organismen mulighet til å kvitte seg med uønskede og defekte celler uten at det oppstår en inflammatorisk respons. Dette skjer i celler både ved normaltilstand, for eksempel under cellesyklus, og ved ulike patologiske tilstander (oppsummert av: Pucci et al., 2000). Apoptoseprosessen involverer en familie av proteaser som kalles kaspaser. Kaspaser deles inn i to kategorier: initiator-kaspaser og effektor-kaspaser. I inaktiv form omtales kaspasene som prokaspaser. Når celledskade oppdages, vil prokaspaser aktiveres til aktive kaspaser ved proteolytisk spalting. Initiator-kaspaser kan aktivere effektor-kaspaser, som initierer en kaskade av hendelser som resulterer i spalting av ulike deler av cellen. På denne måten vil cellen “demonteres” raskt og ryddig uten at det oppstår en inflammatorisk respons (oppsummert av: Alberts et al., 2002, 2019; D’Arcy, 2019).

4.0 Kreft

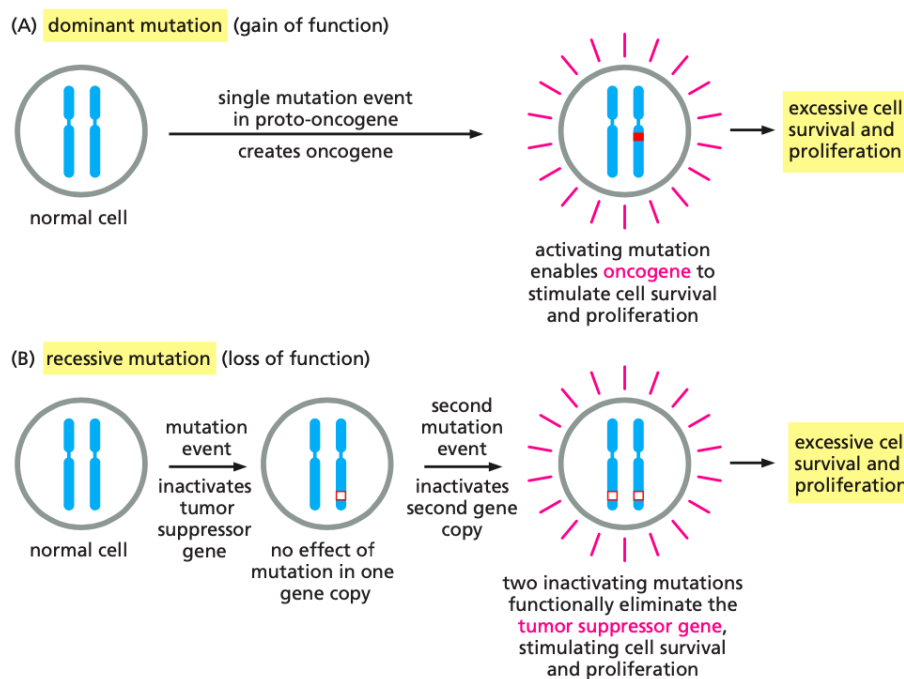
Kreft er en samlebetegnelse på sykdommer som karakteriseres av hurtig og ukontrollert proliferasjon av celler grunnet mutasjoner. Kreft er aggregater av celler, avledet fra en opprinnelig grunnleggercelle med unormal proliferasjon. Kreftceller er forskjellige fra normale celler, og de kan eksempelvis ha rask delingshastighet, redusert evne til å dø, høy metabolsk hastighet, unormal morfologi og evne til å invadere til nytt cellulært område (Cooper, 2000; Griffiths et al., 2000a; National Institutes of Health (US) & Study, 2007). Kreft, uavhengig av type, opptrer relativt hyppig. I 2020 ble det estimert 19,3 millioner nye krefttilfeller, og 10 millioner kreftrelaterte dødsfall på verdensbasis (Sung et al., 2021). I Norge ble det rapportert 34 979 nye krefttilfeller i 2019, og 11 049 kreftrelaterte dødsfall i 2018. De reelle tallene er sannsynligvis høyere på grunn av forsinkelser grunnet COVID19 (Larsen, 2020). Ifølge tall fra kreftregisteret har det vist seg å være hhv. 30 og 36 % sannsynlighet for norske kvinner og menn å bli diagnostisert med kreft før fylte 75, altså vil omtrent en av tre nordmenn få påvist kreft før de er 75 år (Larsen, 2018). Til tross for stadig mer kunnskap om kreft og risikofaktorer, øker antall årlige krefttilfeller og kreftrelaterte dødsfall (Sung et al., 2021). På grunn av dette er det et økende behov for utvikling av nye behandlingsmetoder.

4.1 Mutasjoner som kan føre til kreft

Mutasjoner kan klassifiseres etter hvilken effekt de har, og det skilles ofte mellom mutasjoner som gir "loss-of-function" og "gain-of-function". Mutasjoner som enten reduserer eller eliminerer aktiviteten til proteinet som det muterte genet koder for klassifiseres som "loss-of-function"-mutasjoner, som vist i figur 10B. Mutasjoner som gir overaktive proteiner derimot, klassifiseres som "gain-of-function", som vist i figur 10A. Ved slike mutasjoner vil det enten dannes mer av genproduktet enn normalt, eller det dannes et endret protein med nye egenskaper, noe som kan være ugunstig for cellen (Alberts et al., 2019). Det kan også skilles mellom dominante og recessive mutasjoner. Ved dominante mutasjoner må bare det ene allelet være mutert før mutasjonen kommer til uttrykk, mens ved recessive mutasjoner må begge allelene være mutert. Mutasjoner som gir "gain-of-function", er ofte dominante, hvilket betyr at de nye funksjonene vil overstyre de originale proteinenes funksjoner selv om bare det ene allelet er mutert. Mutasjoner som gir tap av funksjon, "loss-of-function", er derimot ofte recessive da det ene normale allelet ofte produserer nok protein til å dekke cellens behov. I slike tilfeller vil det måtte oppstå en mutasjon også i det gjenværende allelet for at bortfallet/endring av funksjon skal komme til uttrykk og forandre cellens egenskaper. I tilfeller hvor det ene, normale allelet ikke klarer å dekke cellens behov, vil disse "loss-of-function"-mutasjonene være dominante (Griffiths et al., 2000b).

Kreft skyldes i hovedsak somatiske mutasjoner som oppstår i genomet (Alberts et al., 2019). Av mutasjonene som finnes i tumorceller er det likevel kun en liten del som fremmer tumorutvikling, mens de aller fleste er nøytrale mutasjoner (Dietlein et al., 2020; Stratton et al., 2009). De mutasjonene som fremmer tumorutvikling omtales ofte som drivermutasjoner på grunn av deres evne til å drive kreftutviklingen. Dette skjer ved at mutasjonene gir tumorcellene selektive fordeler sammenlignet med normale celler i form av økt celleproliferasjon og celleoverlevelse (Alberts et al., 2019; Stratton et al., 2009).

Det er mutasjoner i to ulike genklasser som hovedsakelig fører til kreftutvikling; protoonkogener og tumorsuppressorgener. Felles for disse to genklassene er at de koder for proteiner som bidrar til cellesykluskontroll. Protoonkogener stimulerer cellevekst, celledeling og celleoverlevelse, mens tumorsuppressorgener hindrer ukontrollert cellevekst og celleproliferasjon (Alberts et al., 2019).



Figur 10. Skjematisk fremstilling av aktivering av onkogener og tumorsuppressorgener. A) En normal celle får en mutasjon i et protoonkogen, og dette aktiveres til et kreftfremkallende gen, et onkogen. Onkogenet stimulerer til celleoverlevelse og proliferasjon, og funksjonen til proteinet fra det muterte allelet dominerer over det gjenværende umuterte genproduktet. B) En normal celle får en mutasjon i et tumorsuppressorgen, dette gir ingen virkning på cellen. Mutasjonen er en recessiv mutasjon, ettersom det andre umuterte allelet fortsatt ivaretar normal funksjon av genproduktet. Hvis deretter dette allelet også blir mutert vil ingen av allelene fungere som de skal, og dermed vil de ikke lengre bremse celleoverlevelse og proliferasjon (Alberts et al., 2019).

4.1.1 Protoonkogener

Protoonkogener bidrar i cellesyklus ved å stimulere til cellevekst, celledeling og celleoverlevelse (oppsummert av: Lee & Muller, 2010). En "gain-of-function"-mutasjon i et protoonokogen fører til overaktivisering av genet, og det er tilstrekkelig at det ene allelet muteres for at mutasjonen kommer til uttrykk. Resultatet av en slik mutasjon er at det stadig sendes signaler som fremmer cellevekst og cellesyklus, og dette kan komme ut av kontroll (Alberts et al., 2019).

Det finnes svært mange ulike onkogener, og det første humane onkogenet som ble identifisert var *Rat sarcoma virus (Ras)* (oppsummert av: Cox & Der, 2010). Hos mennesket omfatter *Ras*-familien tre gener; *Harvey-ras (H-ras)*, *Kirsten-ras (K-ras)* og *Neuroblastoma-ras (N-ras)*. *Ras* koder for små GTPaser som alle er involvert i intracellulære signalveier. De formidler signaler fra reseptorer på celleoverflaten til kjernen, men hvis *Ras* blir muterte vil de kunne være aktive uavhengig av vekstsignaler utenfra. Dette stimulerer til ukontrollert celledeling, og den deregulerte funksjonen til proteinene er en kritisk mekanisme som driver mange kreftceller (Alberts et al., 2019; Cox & Der, 2010; Lodish et al., 2000). Litt over 30% av alle krefttilfeller hos mennesket har aktivisering av *Ras*, hvorav *K-ras* er oftest mutert (21%), etterfulgt av *N-ras* (8%) og *H-ras* (3%) (Bos, 1989; Cox & Der, 2010). I tillegg har mange andre krefttyper mutasjoner i gener som koder for proteiner som deltar i samme signalvei som *Ras* (Alberts et al., 2019). Andre ofte muterte protoonkogener inkluderer for eksempel *B-raf protoonkogen (BRAF)* og *epidermal vekstfaktorreseptor (EGFR)* (oppsummert av: Soh et al., 2009).

Onkogener deles inn i fem hovedgrupper ut fra egenskapene til proteinproduktene til korresponderende protoonkogen. De ulike gruppene er; 1) vekstfaktorer som fungerer som ekstracellulære signaler som stimulerer til proliferasjon, for eksempel epidermal vekstfaktor (EGF) og vaskulær endotelvekstfaktor (VEGF); 2) vekstfaktorreseptorer som er viktige for signalering som fører til celledeling, for eksempel EGFR; 3) signaloverførere som bidrar med å formidle signalene fra vekstfaktorreseptorene til cellekjernen, for eksempel *Ras* og ulike cytoplasmiske tyrosin kinaser; 4) transkripsjonsfaktorer som regulerer genuttrykket; og 5) andre, inkludert programmert-celledød-regulatorer som for eksempel *Bcl-2* (oppsummert av: Chial, 2008; Pierotti et al., 2003).

4.1.2 Tumorsuppressorgener

Tumorsuppressorgener koder for proteiner som er involvert i DNA-reparasjon, inhibering av celledeling, indusering av apoptose og undertrykkelse av metastasering (oppsummert av: Sun & Yang, 2010). Disse mekanismene bidrar til at celler som har feil ikke kan dele seg videre, men opplever cellesyklusarrest eller apoptose. En mutasjon i et tumorsuppressorgen gir gjerne tap av funksjon hos det

proteinet det koder for, “loss-of-function”, slik at den naturlige “bremsen” på cellyklus ikke fungerer som den skal. På grunn av proteinenes normale funksjon i cellyklus vil tap av disse potensielt kunne føre til ukontrollert celledeling og kreftutvikling. Vanligvis er mutasjoner i tumorsuppressorgener recessive slik at begge alleler må muteres for at funksjonen skal gå tapt (Alberts et al., 2019; Lodish et al., 2000).

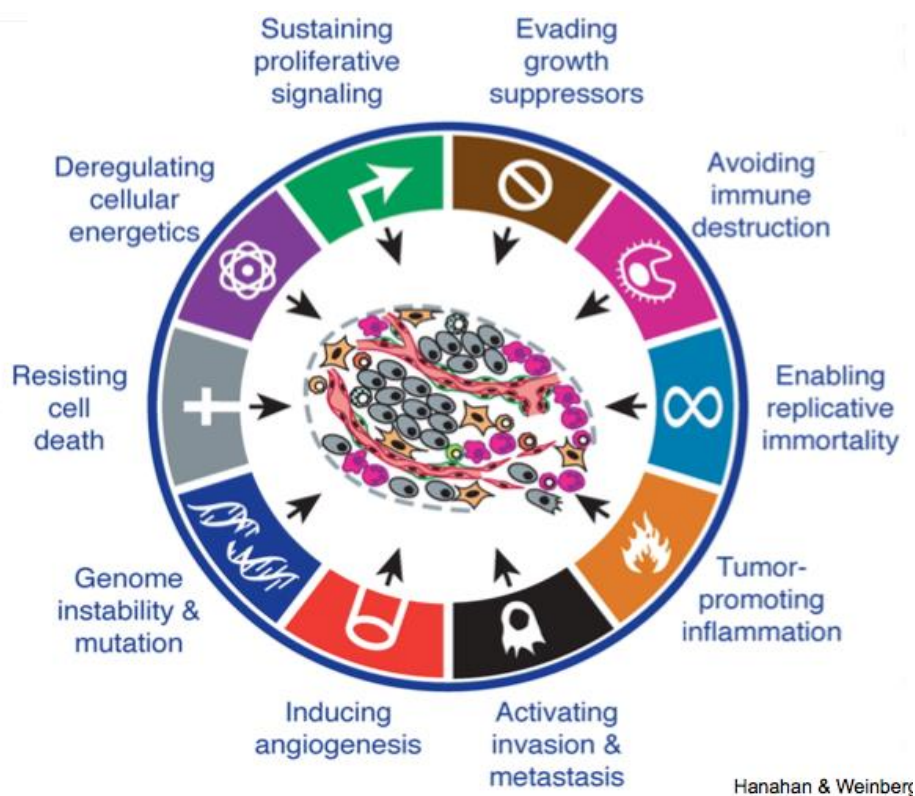
Tumorsuppressorgener deles hovedsakelig inn i fem grupper på bakgrunn av funksjon; 1) gener som koder for intracellulære proteiner som bidrar til å bestemme fremdriften i bestemte stadier i cellyklus, for eksempel *Retinoblastoma (RB)*; 2) gener som koder for reseptorer eller signalforbindelser som inhiberer celleproliferasjon; 3) gener som koder for proteiner sentrale i sjekkpunktene i cellyklus, som trigger cellyklusarrest ved DNA-skade eller defekter på kromosom, for eksempel *Brystkreftgen 1 (BRCA1)*; 4) gener som koder for proteiner som induserer apoptose, for eksempel *p53*; og 5) gener som koder for proteiner som er involvert i DNA-reparasjoner, for eksempel *p53* og DNA mismatch repair protein 2 (*HSH2*, også kjent som *mutS* homolog 2) (oppsummert av: Wang et al., 2018).

Av alle tumorsuppressorgener, er kanskje *p53* det mest omtalte og best beskrevne. I 1993 ble *p53* nominert til “årets molekyl” av journalen Science (Koshland, 1993). *p53* er et gen som normalt er lite uttrykt i celler, men aktiviteten til genet kan øke under stresstilstander som for eksempel ved DNA-skade. Aktivert *p53* kan gi en rekke ulike responser, deriblant cellyklusarrest og apoptose, og fungerer dermed som et tumorsuppressorgen. Mutasjoner i *p53* som gir “loss-of-function” er kritiske da det gir celler som har feil, og som dermed normalt vil gå i cellyklusarrest eller apoptose, mulighet til å vokse og dele seg videre (oppsummert av: Vousden & Lane, 2007). Slike mutasjoner i *p53* er hyppig sett i forbindelse med kreft, og i hele 50% av krefttilfeller hos mennesket har det vist seg at dette genet er mutert (oppsummert av: Alberts et al., 2019; Stein et al., 2019). Det kan sees i sammenheng med at germlinemutasjoner i tumorsuppressorgener står for mest av arvelig kreft, siden mutasjon i ett allel er forenelig med liv og normal utvikling samtidig som det medfører at neste generasjon er ekstra utsatt for spontane endringer i det gjenværende normale allelet (oppsummert av: Wang et al., 2018).

Mutasjoner i både protoonkogener og tumorsuppressorgener kan føre til økt grad av celledeling og cellevekst, og cellene vil kunne ha evne til å unngå apoptose (Alberts et al., 2019). Dette er to av kjennetegnene ved kreft, som ofte omtales som “hallmarks of cancer”.

4.2 Hallmarks

Kreftceller har som nevnt endret aktivitet i forhold til normale celler. Dette kommer av at kreftceller kan reprogrammerer kroppens egne maskinerier for å fremme sin egen vekst og overlevelse. Disse maskineriene ble presentert av Douglas Hanahan og Robert Weinberg og omtales som “hallmarks of cancer”, kjennetegn ved kreft (D. Hanahan & Weinberg, 2000; Douglas Hanahan & Weinberg, 2011). I 2011 ble det presentert ti hallmarks som vist i figur 11, (Douglas Hanahan & Weinberg, 2011), men det er seks av disse, som allerede ble kjent i 2000, som er beskrevet mer i detalj enn de andre. Det er; 1) opprettholdelse av proliferative signaler; 2) angiogenese; 3) mulighet til å invadere annet vev og å gi metastase; 4) evne til å unngå celledød; 5) ubegrenset replikasjonespotensiale; og 6) evne til å unngå vekstsuppressorer. En tumor har ikke nødvendigvis alle disse kjennetegnene, men de fleste vil ha flere (D. Hanahan & Weinberg, 2000). Siden disse kjennetegnene er viktig for en tumors overlevelse og utbredelse kan forståelse av disse mekanismene bidra til å utvikle nye behandlingsstrategier for kreft (oppsummert av: DeBerardinis & Chandel, 2016). De seks mest omtalte kjennetegnene vil bli kommentert i mer detalj nedenfor.



Figur 11. 10 ulike kjennetegn, eller “hallmarks” som fremmer tumorvekst (Douglas Hanahan & Weinberg, 2011).

4.2.1 Opprettholdelse av proliferative signaler

Et av kjennetegnene på kreft er som nevnt opprettholdelse av proliferative signaler. Hvis kreftceller produserer vekstfaktorer selv, og har reseptorer for disse, vil dette føre til autokrin proliferativ stimulering. Kreftcellene kan også sende signaler for å stimulere normale celler i tumormikromiljøet for å tilføre forskjellige vekstfaktorer til kreftcellen (Douglas Hanahan & Weinberg, 2011). Tumormikromiljøet består blant annet av de omkringliggende fibroblastene, blodårene og immuncellene (oppsummert av: Arneth, 2019).

Normale celler vil aktivere ulike signalveier ved tilstedeværelse av vekstfaktorer, for eksempel PI3K/Akt/mTOR-veien. Tumorceller kan inneholde mutasjoner som får PI3K/Akt/mTOR-veien til å være aktiv selv ved minimal stimulering av vekstfaktorer. Mange onkogene og tumorsuppressorer ligger i denne signalveien, og avvikende aktivering her sees hyppig i kreft (oppsummert av: DeBerardinis & Chandel, 2016).

4.2.2 Angiogenese

En annen hallmark er angiogenese, en prosess hvor nye blodårer dannes fra eksisterende blodårer. Dette skjer ved at endotelceller vokser, deler seg og migrerer til nye steder (oppsummert av: Fouad & Aanei, 2017). Kreftceller trenger næringsstoffer og oksygen, samt å kvitte seg med avfallsstoffer som karbondioksid, på lik linje med friske celler. VEGF induserer angiogenese som fremmer tumorprogresjon ved å utvikle seg i takt med kreftsvulsten, slik at den får næring og blir kvitt avfall. I tråd med dette er ofte VEGF oppregulert i kreftsammenheng, siden VEGF kan bli oppregulert av både hypoksi og onkogene signaler (Douglas Hanahan & Weinberg, 2011).

4.2.3 Invadere omkringliggende vev

En annen egenskap kreftceller har for overlevelse er å invadere omkringliggende vev og metastasere. Kort fortalt skjer dette ved at tumoren først invaderer vevet rundt, deretter nærliggende blod- og lymfesystem. Via disse systemene spres det kreftceller, som kan komme seg fra lumen og ut til vevet og slå seg ned ulike steder i kroppen (oppsummert av: Fouad & Aanei, 2017; Douglas Hanahan & Weinberg, 2011). Dette muliggjøres ved at kreftceller gjennomgår Epithelial mesenchymal transition (EMT), som kan gjøre dem mer bevegelige. For eksempel kan polariteten endres og celle-celleforbindelser svekkes. Sistnevnte kan skje ved nedregulering av E-cadherin, som er koblet til celle-celle adhesjon (oppsummert av: Klymkowsky & Savagner, 2009).

4.2.4 Unngå apoptose

Kreftceller skiller seg også fra normale celler ved at de har mulighet til å unngå apoptose. Dette gjøres ved at kreftcellene utvikler ulike mekanismer for å unngå programmert celledød (oppsummert av: Fouad & Aanei, 2017). For eksempel kan mutasjon i p53 gjøre cellene mindre sensitive ovenfor apoptotiske signaler (Clarke et al., 1993). Flere mekanismer for å unngå apoptose er beskrevet under 5.2.1 batteridrevet tumorvekst.

4.2.5 Ubegrenset replikasjonspotensiale

Enda en viktig egenskap ved kreftceller er at de kan dele seg utallige ganger. Dette kan også skje på flere forskjellige måter, men en av de viktigste involverer enzymet telomerase (Douglas Hanahan & Weinberg, 2011). Friske celler kan dele seg et visst antall ganger før de går i apoptose. Grunnen til dette er at telomere på endene av hvert kromosom blir litt forkortet for hver celledeling, og til slutt blir de så korte at de ikke lengre beskytter kromosomet tilstrekkelig (Vaziri & Benchimol, 1998). Kreftceller kan motvirke dette ved å ha aktiv telomerase som kontinuerlig danner og forlenger telomeren, slik at cellen kan dele seg utallige ganger (N. W. Kim et al., 1994).

4.2.6 Evne til å unngå vekstsuppressor

Et annet kjennetegn ved kreftceller er at de kan finne måter å unngå mekanismer som har til hensikt å begrense cellevekst. Mange slike mekanismer involverer tumorsuppressorgener. Tumorsuppressorgener har, som beskrevet tidligere, som hovedfunksjon å holde celleproliferasjonen under kontroll; de bremser celledelingen. Et eksempel hvor et slikt gen er mutert, er ved kreftsykdommen retinoblastom, hvor det har oppstått mutasjoner i *RB*. *RB* mottar ekstra- og intracellulære signaler, og er en veldig viktig vaktpost i cellesyklus ettersom det avgjør om cellene skal fortsette videre i cellesyklus eller ikke. Bortfall av funksjonell *RB* vil således kunne gi ukontrollert cellevekst (D. Hanahan & Weinberg, 2000).

5.0 Kontekstavhengig autofagi i kreft

Autofagiprosessen er, som nevnt tidligere nevnt, sentral i opprettholdelse av cellens homeostase og celleoverlevelse, og derfor kan abnormaliteter i prosessen være knyttet til sykdommer som for eksempel kreft (oppsummert av: Zachari & Ganley, 2017). Den første linken mellom autofagi og kreft ble presentert i 1999 da det ble foreslått at *BECN1*, som koder for Beclin1, var et tumorsuppressorgen (Aita et al., 1999). Fra begynnelsen ble autofagi ansett for å være en tumorsuppressormekanisme, men de senere årene har det blitt klart at autofagi også kan fungere som en promotor for kreft (Degenhardt et al., 2006). Det vil her bli gitt en litt mer detaljert beskrivelse av observasjoner som viser hvordan autofagi både kan opptre som tumorsuppressor og -promotor, alt avhengig av kontekst.

5.1 Autofagi som tumorsuppressor

Autofagiprosessen har evne til å hindre kreftutvikling, og på den måten fungerer som tumorsuppressor. Dette skjer ved at autofagi hindrer utvikling av vevsskader, kroniske infeksjoner, DNA-skader og ustabile genom gjennom å fjerne defekte organeller, ødelagte proteiner og uløselige proteinaggregater. Dette er alle er faktorer som på ulike måter kan føre til kreftutvikling (oppsummert av: Kocaturk & Gozuacik, 2018; White et al., 2015). Koblingen mellom autofagi og kreft ble som nevnt først observert tilbake i 1999 (Aita et al., 1999). Det ble da observert at Beclin1 var tapt i 40-75% av krefttilfeller i bryst, ovarier og prostata (Liang et al., 1999). Det viste seg at genet ikke var et tumorsuppressorgen, men likevel er det klargjort at *BECN1* spiller en viktig rolle når autofagien fungerer som en tumorsuppressormekanisme (oppsummert av: Laddha et al., 2014; White, 2015).

På bakgrunn av tidligere observasjoner gjorde (Qu et al., 2003) forsøk for å vurdere om monoallelik delesjon av *BECN1* ga økt kreftutvikling. Tidligere hadde det blitt observert at maligne celler ofte hadde mutert *BECN1* og dysregulert autofagi. Qu et al. brukte musemodell i forsøket, hvor en gruppe mus var heterozygot (*BECN1*^{+/-}), mens den andre var homozygot for villtypen (*BECN1*^{+/+}). Den heterozygote varianten av genet ga økt celleproliferasjon og redusert autofagi *in vivo*, og de fant at heterozygote mus hadde betydelig større risiko for tumorutvikling sammenlignet med homozygote mus. Dette forsøket var med på å bevise at autofagiprosessen kan fungere som tumorsuppressor, og at mutasjon i *BECN1* kan gi økt risiko for tumorutvikling (Qu et al., 2003). I senere tid har det også vist seg at mutasjoner i andre *ATG*, for eksempel *ATG5* og *ATG9*, kan føre til kreftutvikling (Kang et al., 2009).

Antagelsen om at autofagi kan fungere som tumorsuppressor har blitt underbygget av flere studier. Økt nivå av p62/SQSTM1 ses ofte i sammenheng med dysregulert autofagi. Proteinet er som tidligere nevnt en reseptor og et selektivt substrat for autofagi, og når p62 gir selektiv autofagi vil også proteinet selv bli degradert. På grunn av dette kan p62 brukes som markør for å vurdere om autofagien er oppregulert eller nedregulert; høyt nivå av p62 kan tyde på nedregulert autofagi, mens lavt nivå av p62 kan tyde på oppregulert autofagi (oppsummert av: Bjørkøy et al., 2009; Li et al., 2020). Studier har vist at p62 oftere er overuttrykt i kreftceller sammenlignet med normale celler, for eksempel i prostatakreft og brystkreft (Kitamura et al., 2006; Thompson et al., 2003). Dette kan tyde på at autofagi er nedregulert i en del kreft, og kan være med på å underbygge det at autofagi kan fungere som tumorsuppressor.

5.2 Autofagi som tumorpromotor

Til tross for at autofagi først ble presentert som en tumorsuppressormekanisme har det de siste årene blitt gjort funn som viser at prosessen også kan fungere som en promotor for tumorutvikling. Autofagiprosessen har blant annet, som tidligere nevnt, som funksjon å fremme celleoverlevelse, hvilket er en sentral egenskap hos kreftceller (oppsummert av: White et al., 2015).

5.2.1 Batteridrevet tumorvekst

Kreftceller har høy metabolisme og trenger derfor mye næring for å kunne utvikle seg sammenlignet med normale celler (oppsummert av: Huang et al., 2018). Reviewartikkelen fra (Martinez-Outschoorn et al., 2010) oppsummerer hvordan kreftcellene kan benytte autofagi for å få dekt sitt næringsbehov ved hjelp av omkringliggende celler. Dette skjer ved at kreftcellene induserer oksidativt stress i nærliggende fibroblaster som fører til autofagi i tumormikromiljøet. Det oksidative stresset i fibroblastene har tre konsekvenser for kreftcellene; 1) kreftcellene får tilgang til resirkulerte næringsstoffer; 2) kreftcellene blir beskyttet mot apoptose; og 3) kreftcellene kan få ustabil genom. Alle disse mekanismene kan fremme tumorvekst (Martinez-Outschoorn et al., 2010).

Martinez-Outschoorn et al. beskrev hvordan kreftceller induserer autofagi i nabocellene ved å utsette nærliggende fibroblaster for hypoksi og oksidativt stress. Når fibroblastene blir utsatt for denne typen stress induseres autofagi, nærmere bestemt mitofagi, som fører til færre mitokondrier i fibroblastene. Det tvinger de til å indusere Warburg-effekt (aerob glykolyse), så L-laktat bli dannet til tross for normale nivå av oksygen og pyruvat (Martinez-Outschoorn et al., 2010). Fibroblastene skiller ut laktat og pyruvat som så tas opp av kreftcellene hvor de brukes til ATP-produksjon via oksidativ fosforylering (Martinez-Outschoorn et al., 2010; Pavlides et al., 2009). På denne måten vil kreftcellene og fibroblastene ha et slags parasitt-vert-forhold hvor fibroblastene “mater” kreftcellene. Prosessen hvor

stromaceller frigjør energirike forbindelser ved å kjøre aerob glykolyse som så kreftcellene utnytter for å vokse omtales som "Revers Warburg-effekt". L-laktat stimulerer også til dannelse av flere mitokondrier i kreftcellene (Martinez-Outschoorn et al., 2010). Til sammen har dette stor effekt på kreftcellenes næringstilgang, og dermed den proliferative kapasiteten.

Martinez-Outschoorn et al. fant også ut at oksidativt stress i nærliggende celler kan beskytte kreftcellene mot apoptose, og dermed fremme kreftutvikling. Flere mekanismer bidrar til denne beskyttelsen. Blant annet vil oksidativt stress i fibroblastene oppregulere dannelsen av antioksidanter, som kan beskytte mot apoptose. Oksidativt stress i fibroblastene vil, som nevnt, kunne gi autofagi og økt næringstilgang til kreftcellene. Dette resulterer i bedre/sunnere mitokondrier, som trolig også er med på å forhindre at kreftcellene gjennomgår apoptose (Martinez-Outschoorn et al., 2010).

Martinez-Outschoorn et al. viste også at oksidativt stress i fibroblaster nær tumorceller kan gi ustabil genom. Dette skyldes frigjøring av reaktive oksygenforbindelser (ROS), som igjen kan føre til DNA-skade og unormalt kromosomtall i kreftcellene. Dermed vil oksidativt stress i nærliggende fibroblaster fungere som en katalysator for tilfeldige mutasjoner, som kan drive tumorstroma "co-evolution" videre. Det betyr at hele tumormikromiljøet utvikler seg sammen ("co-evolve"). Dette er til fordel for kreftcellene da det gjør at de kan etterligne andre celler og oppføre seg gunstig slik at de kan metastasere (Martinez-Outschoorn et al., 2010).

5.2.2 Autofagi kan føre til dvale

Det finnes også bevis på at en kreftcelle kan slå seg ned, men ikke klare å utvikle seg videre på grunn av at miljøet rundt motarbeider kreftcellen. I slike tilfeller kan cellen gå inn i en hviletilstand, "dvale", som varer fra måneder opptil flere år. En del studier viser at autofagiprosessen er svært aktiv i disse cellene i hviletilstand i ulike krefttyper, og at autofagi trolig kan fremme denne dvalen ved å tilgjengeliggjøre aminosyrer og andre nødvendige næringsstoffer (oppsummert av: Akkoc et al., 2021; Mowers et al., 2018). Det er også mulig at autofagi i disse cellene bidrar til å fjerne ødelagte mitokondrier og opprettholde redoksbalansen (Mowers et al., 2018).

Kreftceller kan gå ut fra dvalen etter måneder eller år, og dette er grunnen til at kreft kan dukke opp igjen lenge etter primærtumor tilsynelatende er fjernet suksessfullt (oppsummert av: Mowers et al., 2018). Behandling som cellegift og stråling gir stress i cellen som induserer autofagi. Autofagi kan da fungere som en beskyttelsesmekanisme, og motarbeide kreftcelledød ved å muliggjøre dvale. Resistens

kan da utvikles ved at kreftceller som er til stede ikke reagerer på behandlingen siden de er i dvale (oppsummert av: Li et al., 2020).

5.2.3 Bryte ned tumorsuppressorer

En annen måte autofagi kan fungere som tumorpromotor er ved å bryte ned tumorsuppressorer. Det er vist at proteinet kalt programmert celledød 4 (PDCD4), som er en tumorsuppressor, kan brytes ned ved autofagi (Manirujjaman et al., 2020). Gjennom å slå ned uttrykk av p62 ved hjelp av små interfererende ribonukleinsyrer (siRNA), viste de p62-mediert, selektiv nedbrytning av PDCD4. Dette funnet bekreftet at PDCD4 både kan nedbrytes ved UPS, som tidligere kjent, og autofagi. Selektiv autofagi bidrar i denne sammenheng med å nedregulere nivåene av PDCD4, som resulterer i mulig utvikling og progresjon av kreftceller. Det kan samsvare med at nivået av PDCD4 er redusert ved en del krefttyper (Manirujjaman et al., 2020). På denne måten kan autofagi fungere som tumorpromotor ved å fjerne tumorsuppressorer.

5.2.4 Autofagiavhengig kreft

Det har vist at autofagi kan være nødvendig for progresjon av *Ras*-drevet kreft, for eksempel pankreaskreft (oppsummert av: Anderson & Macleod, 2019; S. Yang et al., 2011). I *Ras*-drevet pankreaskreft er det vist at mutert *Ras* fremmer lokalisering av microphthalmia (MiT/TFE)-familien i kjernen (Perera et al., 2015). TFEB er, som tidligere nevnt, en viktig transkripsjonsfaktor for autofagi, og tilhører denne familien. Dette støtter opp om betydningen av autofagi for tumorvekst (oppsummert av: Napolitano & Ballabio, 2016).

5.3 Bryteren: fra suppressor til promotor

Autofagi spiller en kontekstavhengig rolle i kreft. På den ene siden kan prosessen fungere som en tumorsuppressor ved å eliminere onkogene proteinsubstrater, giftige, ufoldede proteiner og skadede organeller. På den andre siden kan prosessen være gunstig for kreftcellene ved å fremme overlevelse i et utfordrende og hardt tumormikromiljø ved autofagimediert resirkulering. I de tidlige stadiene av kreftutviklingen forhindrer autofagi kreftprogresjon, mens når en tumor er etablert kan autofagi gi økt overlevelse ved å gi substrater og næringsstoffer til kreftcellene. Denne delte rollen i tumorutviklingen legger opp til at det på et sted i kreftutviklingen vil være en “bryter” der autofagi går fra å fungere som en suppressor til å fungere som en promotor. Den kontekstavhengige rollen til autofagi er ikke fullstendig kartlagt og trenger ytterligere forskning (oppsummert av: Li et al., 2020; White, 2015).

5.4 Autofagi som terapeutisk mål i kreftbehandling

På bakgrunn av autofagiprosessens sentrale rolle i kreftutvikling, særlig kreftprogresjon, er autofagi et attraktivt mål i kreftbehandling. Likevel, på grunn av den paradoksale rollen til autofagi, er dette noe som har vist seg å være utfordrende. Studier har vist at både inhibering og promotering av autofagi i kreftbehandling kan blokkere kreftutvikling, og dette omtales som “Autophagy paradox” (oppsummert av: Martinez-Outschoorn et al., 2010).

En måte autofagi eventuelt kan benyttes i målrettet behandling er ved inhibering av prosessen. Dette kan blant annet gjøres ved hjelp av medikamentene klorokin (CQ) og hydroksyklorokin (HCQ), som vanligvis brukes som malariamedisin og mot revmatisme (oppsummert av: Y. Yang et al., 2013). Disse medikamentene gir blant annet økt pH i lysosomene som kan føre til at nedbrytningen i autolysosomene ikke skjer som normalt (Poole & Ohkuma, 1981). Det er også et ønske om å utvikle medikamenter som direkte inhiberer ATG, men per 2018 er det ingen kliniske studier som har kommet så langt (oppsummert av: Onorati et al., 2018). Som nevnt tidligere kan autofagi på den ene siden bidra til vekst og progresjon i mange kreftceller (oppsummert av: Martinez-Outschoorn et al., 2010), og dermed kan det å inhibere autofagi være gunstig i en del kreftbehandling. På den andre siden er autofagi nødvendig for å opprettholde cellulær homeostase og unngå kreftutvikling (oppsummert av: White et al., 2015), og dermed kan det å inhibere autofagi være ugunstig for de normale cellene. Dersom man ønsker å benytte inhibering av autofagi som mål i kreftbehandling kreves det derfor stor presisjon, og det er en rekke utfordringer knyttet til dette.

En tenkt utfordring er å inhibere autofagi i kreftceller, uten å påvirke mengden autofagi/autofagi flux i normale celler. En annen utfordring kan være å kjenne til autofagiens rolle i de aktuelle kreftcellene. Som tidligere beskrevet er det på et sted i kreftutviklingen en bryter hvor autofagi går fra å fungere som suppressor, til å fungere som promotor for kreftprogresjonen. Dersom behandling skal basere seg på å hemme autofagi er det nødvendig å vite at kreften har kommet til et stadie hvor autofagi fungerer som en promotor. Dersom autofagi enda har en suppressormekanisme vil slik behandling kunne ha motsatt effekt, og dermed fremme kreftutvikling. Denne overgangen er som tidligere nevnt enda ukjent, og det kreves derfor mer kunnskap før inhibering av autofagi kan benyttes mer målrettet i kreftbehandling (oppsummert av: Li et al., 2020; White, 2015).

Det gjøres en rekke kliniske studier for å vurdere hvordan CQ og HCQ fungerer i kreftbehandling. Resultatene av disse studiene har hittil vært noe motstridende (Cocco et al., 2020; Karasic et al., 2019; Malhotra et al., 2019; Mehnert et al., 2019), og medikamentene er enda ikke godkjent for bruk i

kreftbehandling i Norge per 2021 (Legemiddelhåndboka, 2016). Likevel er det foreslått at å hemme autofagi i kombinasjon med annen type kreftbehandling kan være effektivt (Li et al., 2020). Autofagi kan, som tidligere nevnt, være involvert ved utvikling av resistens mot kreftbehandling. Målet med en slik terapikombinasjon er derfor å behandle kreften med for eksempel cellegift eller stråling, og samtidig hindre at autofagi kan bidra til resistensutvikling. En metaanalyse utført av (R. Xu et al., 2018) viste at inhibering av autofagi ved enten CQ eller HCQ i kombinasjon med annen kreftbehandling sannsynligvis gir gode resultater. Det ble observert ¹⁾ økt respons på behandling, ²⁾ økt ett års overlevelsesrate, og ³⁾ flere gikk 6 måneder uten tumorprogresjon, sammenlignet med kreftbehandling hvor autofagi ikke ble inhibert. Det ble observert at resultatene av behandlingen var avhengig av krefttype og hvilken behandling autofagi-inhibitoren ble kombinert med. Dette underbygger at det trengs mer forskning på området.

På den andre siden har det også blitt foreslått at medikamenter som hemmer mTOR, og dermed promoterer autofagi, kan fungere som medikamenter i kreftbehandling. mTOR er som nevnt et protein som er viktig for cellevekst og progresjon i celledyklus, og hos mange kreftceller er mTOR mer aktiv enn normalt på grunn av mutasjoner i signalveier som aktiverer mTOR. Inhibering av mTOR vil dermed kunne være ugunstig for kreftcellene (oppsummert av: Fingar & Blenis, 2004; Hay & Sonenberg, 2004). Medikamentene som inhiberer mTOR er basert på rapamycin-derivater som omtales som “rapaloger”, og disse inhiberer alle mTOR på samme måte, via en rekke proteiner (oppsummert av: Hare & Harvey, 2017). Everolimus og Temsirolimus er eksempler på slike medikamenter, og de har vist seg å ha god effekt i kreftbehandling (Hudes et al., 2007; Motzer et al., 2008), og er begge i bruk i Norge i dag (Legemiddelhåndboka, 2015, 2017). Det er likevel ikke alle kreftceller som er sensitive mot slike medikamenter, og responsen på medisinene ser ut til å ha sammenheng med ulike faktorer. (K. Yu et al., 2001) antydte at kreftceller som er avhengig av PI3K/Akt/mTOR-signalveien ser ut til å ha større sensitivitet ovenfor medikamenter som inhiberer mTOR sammenlignet med kreftceller som ikke er avhengig av signalveien. Dette er også oppsummert av blant annet (Hare & Harvey, 2017).

Behandlingsstrategier som retter seg mot autofagi har altså hittil hatt noe motstridende og begrensede resultater, noe som trolig kan skyldes at man fortsatt har en noe manglende forståelse av de molekylære mekanismene. Ut fra publisert materiale ser det likevel ut til at autofagi som mål i kreftbehandling har stort potensial, og ved mer forskning er det sannsynlig at det vil utvikles flere effektive behandlingsmetoder som inkluderer autofagiprosessen som terapeutisk mål.

6.0 Konklusjon

Kreft er et økende problem på verdensbasis, og det er derfor et stort behov for utvikling av mer effektive behandlingsmetoder. Autofagi har vist seg å spille en sentral rolle i kreftutviklingen, og derfor er den komplekse prosessen et attraktivt mål i kreftbehandling. Autofagiprosessen har en delt rolle i kreftsammenheng. På den ene siden fungerer autofagi som en tumorsuppressor ved å blant annet holde det indre miljøet i cellen stabilt og fjerne cellulære komponenter som kan bidra til kreftutvikling. På den andre siden fungerer autofagi som en tumorpromotor på allerede etablerte tumorer ved å blant annet fremme celleoverlevelse under stressstilstander.

Identifisering av den kontekstavhengige autofagien i kreft kan være viktig for å utvikle flere og bedre behandlingsmetoder med autofagi som terapeutisk mål. Både det å fremme og hemme autofagi har vist seg å fungere i kreftbehandling. Hvorvidt autofagi skal hemmes eller fremmes kan være avhengig av kreftens stadie og hvilken mutasjon som ga kreftutvikling. Det kreves enda mye forskning før autofagi i større og mer effektiv grad kan benyttes som terapeutisk mål innen kreftbehandling, men det har trolig et stort potensial i fremtiden.

7.0 Referanser

Aita, V. M., Liang, X. H., Murty, V. V., Pincus, D. L., Yu, W., Cayanis, E., Kalachikov, S., Gilliam, T. C., & Levine, B. (1999). Cloning and genomic organization of beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21. *Genomics*, *59*(1), 59–65.

<https://doi.org/10.1006/geno.1999.5851>

Akkoc, Y., Peker, N., Akcay, A., & Gozuacik, D. (2021). Autophagy and Cancer Dormancy. *Frontiers in Oncology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.627023>

Alberts, B., Hopkin, K., Johnson, A., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2019). *Essential cell biology*.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Programmed Cell Death (Apoptosis). *Molecular Biology of the Cell*. 4th Edition.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26873/>

Anderson, C. M., & Macleod, K. F. (2019). Autophagy and cancer cell metabolism. *International Review of Cell and Molecular Biology*, *347*, 145–190. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2019.06.002>

Arneth, B. (2019). Tumor Microenvironment. *Medicina*, *56*(1).

<https://doi.org/10.3390/medicina56010015>

Arsham, A. M., Howell, J. J., & Simon, M. C. (2003). A Novel Hypoxia-inducible Factor-independent Hypoxic Response Regulating Mammalian Target of Rapamycin and Its Targets *. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(32), 29655–29660. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212770200>

Axe, E. L., Walker, S. A., Manifava, M., Chandra, P., Roderick, H. L., Habermann, A., Griffiths, G., & Ktistakis, N. T. (2008). Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *The Journal of Cell Biology*, *182*(4), 685–701. <https://doi.org/10.1083/jcb.200803137>

Beese, C. J., Brynjólfsdóttir, S. H., & Frankel, L. B. (2020). Selective Autophagy of the Protein Homeostasis Machinery: Ribophagy, Proteaphagy and ER-Phagy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00373>

Bialik, S., Dasari, S. K., & Kimchi, A. (2018). Autophagy-dependent cell death—Where, how and why a cell eats itself to death. *Journal of Cell Science*, *131*(18). <https://doi.org/10.1242/jcs.215152>

Bjørkøy, G., Lamark, T., Brech, A., Outzen, H., Perander, M., Øvervatn, A., Stenmark, H., & Johansen, T. (2005). P62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *Journal of Cell Biology*, *171*(4), 603–614.

<https://doi.org/10.1083/jcb.200507002>

- Bjørkøy, G., Lamark, T., Pankiv, S., Øvervatn, A., Brech, A., & Johansen, T. (2009). Chapter 12 Monitoring Autophagic Degradation of p62/SQSTM1. I *Methods in Enzymology* (Bd. 452, s. 181–197). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(08\)03612-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)03612-4)
- Bos, J. L. (1989). ras oncogenes in human cancer: A review. *Cancer Research*, *49*(17), 4682–4689.
- Boya, P., Codogno, P., & Rodriguez-Muela, N. (2018). Autophagy in stem cells: Repair, remodelling and metabolic reprogramming. *Development*, *145*(4). <https://doi.org/10.1242/dev.146506>
- Chan, E. Y. W., Longatti, A., McKnight, N. C., & Tooze, S. A. (2009). Kinase-Inactivated ULK Proteins Inhibit Autophagy via Their Conserved C-Terminal Domains Using an Atg13-Independent Mechanism. *Molecular and Cellular Biology*, *29*(1), 157–171. <https://doi.org/10.1128/MCB.01082-08>
- Chial, H. (2008). *Proto-oncogenes to Oncogenes to Cancer*. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/proto-oncogenes-to-oncogenes-to-cancer-883/>
- Clarke, A. R., Purdie, C. A., Harrison, D. J., Morris, R. G., Bird, C. C., Hooper, M. L., & Wyllie, A. H. (1993). *Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways*. 4.
- Cocco, S., Leone, A., Piezzo, M., Caputo, R., Di Lauro, V., Di Rella, F., Fusco, G., Capozzi, M., Gioia, G. di, Budillon, A., & De Laurentiis, M. (2020). Targeting Autophagy in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(21). <https://doi.org/10.3390/ijms21217836>
- Cooper, G. M. (2000). The Development and Causes of Cancer. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd Edition. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>
- Cox, A. D., & Der, C. J. (2010). Ras history. *Small GTPases*, *1*(1), 2–27. <https://doi.org/10.4161/sgtp.1.1.12178>
- D’Arcy, M. S. (2019). Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International*, *43*(6), 582–592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>
- DeBerardinis, R. J., & Chandel, N. S. (2016). Fundamentals of cancer metabolism. *Science Advances*, *2*(5). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600200>
- Degenhardt, K., Mathew, R., Beaudoin, B., Bray, K., Anderson, D., Chen, G., Mukherjee, C., Shi, Y., Gélinas, C., Fan, Y., Nelson, D. A., Jin, S., & White, E. (2006). Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer cell*, *10*(1), 51–64. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.06.001>
- Dietlein, F., Weghorn, D., Taylor-Weiner, A., Richters, A., Reardon, B., Liu, D., Lander, E. S., Van Allen, E. M., & Sunyaev, S. R. (2020). Identification of cancer driver genes based on nucleotide context. *Nature Genetics*, *52*(2), 208–218. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0572-y>

- Feng, Y., He, D., Yao, Z., & Klionsky, D. J. (2014). The machinery of macroautophagy. *Cell Research*, 24(1), 24–41. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.168>
- Fingar, D. C., & Blenis, J. (2004). Target of rapamycin (TOR): An integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene*, 23(18), 3151–3171. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207542>
- Fouad, Y. A., & Aanei, C. (2017). Revisiting the hallmarks of cancer. *American Journal of Cancer Research*, 7(5), 1016–1036.
- Galluzzi, L., & Green, D. R. (2019). Autophagy-Independent Functions of the Autophagy Machinery. *Cell*, 177(7), 1682–1699. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.026>
- Gatica, D., Lahiri, V., & Klionsky, D. J. (2018). Cargo recognition and degradation by selective autophagy. *Nature Cell Biology*, 20(3), 233–242. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0037-z>
- Glickman, M. H., & Ciechanover, A. (2002). The Ubiquitin-Proteasome Proteolytic Pathway: Destruction for the Sake of Construction. *Physiological Reviews*, 82(2), 373–428. <https://doi.org/10.1152/physrev.00027.2001>
- Goldstein, G., Scheid, M., Hammerling, U., Schlesinger, D. H., Niall, H. D., & Boyse, E. A. (1975). Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(1), 11–15.
- Gomes, A. P., & Blenis, J. (2015). A nexus for cellular homeostasis: The interplay between metabolic and signal transduction pathways. *Current opinion in biotechnology*, 34, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.12.007>
- Griffiths, A. J., Miller, J. H., Suzuki, D. T., Lewontin, R. C., & Gelbart, W. M. (2000a). Cancer: The genetics of aberrant cell control. *An Introduction to Genetic Analysis. 7th Edition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21896/>
- Griffiths, A. J., Miller, J. H., Suzuki, D. T., Lewontin, R. C., & Gelbart, W. M. (2000b). Mutant types. *An Introduction to Genetic Analysis. 7th Edition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22011/>
- Hailey, D. W., Kim, P. K., Satpute-Krishnan, P., Rambold, A. S., Mitra, K., Sougrat, R., & Lippincott-Schwartz, J. (2010). Mitochondria supply membranes for autophagosome biogenesis during starvation. *Cell*, 141(4), 656–667. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.04.009>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9)

- Hanahan, Douglas, & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, *144*(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hara, T., Nakamura, K., Matsui, M., Yamamoto, A., Nakahara, Y., Suzuki-Migishima, R., Yokoyama, M., Mishima, K., Saito, I., Okano, H., & Mizushima, N. (2006). Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature*, *441*(7095), 885–889. <https://doi.org/10.1038/nature04724>
- Hare, S. H., & Harvey, A. J. (2017). MTOR function and therapeutic targeting in breast cancer. *American Journal of Cancer Research*, *7*(3), 383–404.
- Hay, N., & Sonenberg, N. (2004). Upstream and downstream of mTOR. *Genes & Development*, *18*(16), 1926–1945. <https://doi.org/10.1101/gad.1212704>
- He, C., & Klionsky, D. J. (2009). Regulation Mechanisms and Signaling Pathways of Autophagy. *Annual review of genetics*, *43*, 67–93. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102808-114910>
- Heras-Sandoval, D., Pérez-Rojas, J. M., Hernández-Damián, J., & Pedraza-Chaverri, J. (2014). The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration. *Cellular Signalling*, *26*(12), 2694–2701. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.08.019>
- Hosokawa, N., Hara, T., Kaizuka, T., Kishi, C., Takamura, A., Miura, Y., Iemura, S., Natsume, T., Takehana, K., Yamada, N., Guan, J.-L., Oshiro, N., & Mizushima, N. (2009). Nutrient-dependent mTORC1 Association with the ULK1–Atg13–FIP200 Complex Required for Autophagy. *Molecular Biology of the Cell*, *20*(7), 1981–1991. <https://doi.org/10.1091/mbc.E08-12-1248>
- Huang, T., Song, X., Yang, Y., Wan, X., Alvarez, A. A., Sastry, N., Feng, H., Hu, B., & Cheng, S.-Y. (2018). Autophagy and Hallmarks of Cancer. *Critical Reviews in Oncogenesis*, *23*(5–6), 247–267. <https://doi.org/10.1615/CritRevOncog.2018027913>
- Hudes, G., Carducci, M., Tomczak, P., Dutcher, J., Figlin, R., Kapoor, A., Staroslawska, E., Sosman, J., McDermott, D., Bodrogi, I., Kovacevic, Z., Lesovoy, V., Schmidt-Wolf, I. G. H., Barbarash, O., Gokmen, E., O’Toole, T., Lustgarten, S., Moore, L., Motzer, R. J., & Global ARCC Trial. (2007). Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, *356*(22), 2271–2281. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa066838>
- Høyer-Hansen, M., Bastholm, L., Szyniarowski, P., Campanella, M., Szabadkai, G., Farkas, T., Bianchi, K., Fehrenbacher, N., Elling, F., Rizzuto, R., Mathiasen, I. S., & Jäättelä, M. (2007). Control of Macroautophagy by Calcium, Calmodulin-Dependent Kinase Kinase- β , and Bcl-2. *Molecular Cell*, *25*(2), 193–205. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.12.009>

- Jahreiss, L., Menzies, F. M., & Rubinsztein, D. C. (2008). The Itinerary of Autophagosomes: From Peripheral Formation to Kiss-and-Run Fusion with Lysosomes. *Traffic*, *9*(4), 574–587. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2008.00701.x>
- Jung, C. H., Jun, C. B., Ro, S.-H., Kim, Y.-M., Otto, N. M., Cao, J., Kundu, M., & Kim, D.-H. (2009). ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery. *Molecular Biology of the Cell*, *20*(7), 1992–2003. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-12-1249>
- Kang, M. R., Kim, M. S., Oh, J. E., Kim, Y. R., Song, S. Y., Kim, S. S., Ahn, C. H., Yoo, N. J., & Lee, S. H. (2009). Frameshift mutations of autophagy-related genes ATG2B, ATG5, ATG9B and ATG12 in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability. *The Journal of Pathology*, *217*(5), 702–706. <https://doi.org/10.1002/path.2509>
- Karasic, T. B., O'Hara, M. H., Loaiza-Bonilla, A., Reiss, K. A., Teitelbaum, U. R., Borazanci, E., De Jesus-Acosta, A., Redlinger, C., Burrell, J. A., Laheru, D. A., Von Hoff, D. D., Amaravadi, R. K., Drebin, J. A., & O'Dwyer, P. J. (2019). Effect of Gemcitabine and nab-Paclitaxel With or Without Hydroxychloroquine on Patients With Advanced Pancreatic Cancer: A Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology*, *5*(7), 993–998. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.0684>
- Kim, J., Kim, Y. C., Fang, C., Russell, R. C., Kim, J. H., Fan, W., Liu, R., Zhong, Q., & Guan, K.-L. (2013). Differential Regulation of Distinct Vps34 Complexes by AMPK in Nutrient Stress and Autophagy. *Cell*, *152*(1), 290–303. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.12.016>
- Kim, J., Kundu, M., Viollet, B., & Guan, K.-L. (2011). AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nature Cell Biology*, *13*(2), 132–141. <https://doi.org/10.1038/ncb2152>
- Kim, N. W., Piatyszek, M. A., Prowse, K. R., Harley, C. B., West, M. D., Ho, P. L., Coviello, G. M., Wright, W. E., Weinrich, S. L., & Shay, J. W. (1994). Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, *266*(5193), 2011–2015. <https://doi.org/10.1126/science.7605428>
- Kim, S. G., Buel, G. R., & Blenis, J. (2013). Nutrient regulation of the mTOR complex 1 signaling pathway. *Molecules and Cells*, *35*(6), 463–473. <https://doi.org/10.1007/s10059-013-0138-2>
- Kim, Y. C., & Guan, K.-L. (2015). mTOR: A pharmacologic target for autophagy regulation. *The Journal of Clinical Investigation*, *125*(1), 25–32. <https://doi.org/10.1172/JCI73939>
- Kitamura, H., Torigoe, T., Asanuma, H., Hisasue, S.-I., Suzuki, K., Tsukamoto, T., Satoh, M., & Sato, N. (2006). Cytosolic overexpression of p62 sequestosome 1 in neoplastic prostate tissue. *Histopathology*, *48*(2), 157–161. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2005.02313.x>

- Klaips, C. L., Jayaraj, G. G., & Hartl, F. U. (2018). Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. *The Journal of Cell Biology*, 217(1), 51–63. <https://doi.org/10.1083/jcb.201709072>
- Klionsky, D. J. (2008). *Autophagy revisited: A conversation with Christian de Duve*. 4(6), 5.
- Klionsky, D. J., Cregg, J. M., Dunn, W. A., Emr, S. D., Sakai, Y., Sandoval, I. V., Sibirny, A., Subramani, S., Thumm, M., Veenhuis, M., & Ohsumi, Y. (2003). A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Developmental Cell*, 5(4), 539–545. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(03\)00296-x](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00296-x)
- Klymkowsky, M. W., & Savagner, P. (2009). Epithelial-Mesenchymal Transition. *The American Journal of Pathology*, 174(5), 1588–1593. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080545>
- Kocaturk, N. M., & Gozuacik, D. (2018). Crosstalk Between Mammalian Autophagy and the Ubiquitin-Proteasome System. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00128>
- Komatsu, M., Waguri, S., Chiba, T., Murata, S., Iwata, J., Tanida, I., Ueno, T., Koike, M., Uchiyama, Y., Kominami, E., & Tanaka, K. (2006). Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature*, 441(7095), 880–884. <https://doi.org/10.1038/nature04723>
- Koshland, D. E. (1993). Molecule of the year. *Science (New York, N.Y.)*, 262(5142), 1953. <https://doi.org/10.1126/science.8266084>
- Laddha, S. V., Ganesan, S., Chan, C. S., & White, E. (2014). Mutational Landscape of the Essential Autophagy Gene BECN1 in Human Cancers. *Molecular cancer research : MCR*, 12(4), 485–490. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-13-0614>
- Lamark, T., Kirkin, V., Dikic, I., & Johansen, T. (2009). NBR1 and p62 as cargo receptors for selective autophagy of ubiquitinated targets. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 8(13), 1986–1990. <https://doi.org/10.4161/cc.8.13.8892>
- Larsen, I. K. (2018). *Cancer in Norway 2017*. <https://www.kreftregisteret.no/globalassets/cancer-in-norway/2017/cin-2017.pdf>
- Larsen, I. K. (2020). *Cancer in Norway 2019*. https://www.kreftregisteret.no/globalassets/cancer-in-norway/2019/cin_report.pdf
- Lee, E. Y. H. P., & Muller, W. J. (2010). Oncogenes and Tumor Suppressor Genes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(10). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003236>
- Legemiddelhåndboka. (2015, desember 8). *Temsirolimus*. Legemiddelhåndboka. <https://www.legemiddelhandboka.no/L2.2.1.21/Temsirolimus>

- Legemiddelhåndboka. (2016, november 16). *Klorokin/hydroksyklorokin* [Legemiddelhåndboka].
<https://www.legemiddelhandboka.no/L1.5.1.1/Klorokin/hydroksyklorokin>
- Legemiddelhåndboka. (2017, mars 3). *Everolimus*. Legemiddelhåndboka.
<https://www.legemiddelhandboka.no/L18.3.1/Everolimus>
- Levine, B., & Kroemer, G. (2019). Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective. *Cell*, 176(1–2), 11–42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.048>
- Li, X., He, S., & Ma, B. (2020). Autophagy and autophagy-related proteins in cancer. *Molecular Cancer*, 19. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-1138-4>
- Liang, X. H., Jackson, S., Seaman, M., Brown, K., Kempkes, B., Hibshoosh, H., & Levine, B. (1999). Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 402(6762), 672–676.
<https://doi.org/10.1038/45257>
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). Proto-Oncogenes and Tumor-Suppressor Genes. *Molecular Cell Biology*. 4th Edition.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21662/>
- Löffler, A. S., Alers, S., Dieterle, A. M., Keppeler, H., Franz-Wachtel, M., Kundu, M., Campbell, D. G., Wesselborg, S., Alessi, D. R., & Stork, B. (2011). Ulk1-mediated phosphorylation of AMPK constitutes a negative regulatory feedback loop. *Autophagy*, 7(7), 696–706.
<https://doi.org/10.4161/auto.7.7.15451>
- Malhotra, J., Jabbour, S., Orlick, M., Riedlinger, G., Guo, Y., White, E., & Aisner, J. (2019). Phase Ib/II study of hydroxychloroquine in combination with chemotherapy in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer Treatment and Research Communications*, 21, 100158.
<https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2019.100158>
- Manirujjaman, M., Ozaki, I., Murata, Y., Guo, J., Xia, J., Nishioka, K., Perveen, R., Takahashi, H., Anzai, K., & Matsuhashi, S. (2020). Degradation of the Tumor Suppressor PDCD4 Is Impaired by the Suppression of p62/SQSTM1 and Autophagy. *Cells*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/cells9010218>
- Martina, J. A., Chen, Y., Gucek, M., & Puertollano, R. (2012). MTORC1 functions as a transcriptional regulator of autophagy by preventing nuclear transport of TFEB. *Autophagy*, 8(6), 903–914. <https://doi.org/10.4161/auto.19653>
- Martinez-Outschoorn, U. E., Whitaker-Menezes, D., Pavlides, S., Chiavarina, B., Bonuccelli, G., Trimmer, C., Tsirogas, A., Migneco, G., Witkiewicz, A. K., Balliet, R., Mercier, I., Wang, C., Flomenberg, N., Howell, A., Lin, Z., Caro, J., Pestell, R. G., Sotgia, F., & Lisanti, M. P. (2010). The autophagic tumor stroma model of cancer or “battery-operated tumor growth”. *Cell Cycle*, 9(21),

4297–4306. <https://doi.org/10.4161/cc.9.21.13817>

McKeon, J. E., Sha, D., Li, L., & Chin, L.-S. (2015). Parkin-mediated K63-polyubiquitination targets ubiquitin C-terminal hydrolase L1 for degradation by the autophagy-lysosome system. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 72(9), 1811–1824. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1781-2>

Mehnert, J. M., Kaveney, A. D., Malhotra, J., Spencer, K., Portal, D., Goodin, S., Tan, A. R., Aisner, J., Moss, R. A., Lin, H., Bertino, J. R., Gibbon, D., Doyle, L. A., White, E. P., & Stein, M. N. (2019). A phase I trial of MK-2206 and hydroxychloroquine in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 84(4), 899–907. <https://doi.org/10.1007/s00280-019-03919-x>

Melia, T. J., Lystad, A. H., & Simonsen, A. (2020). Autophagosome biogenesis: From membrane growth to closure. *The Journal of Cell Biology*, 219(6). <https://doi.org/10.1083/jcb.202002085>

Mizushima, N., Yoshimori, T., & Ohsumi, Y. (2011). The Role of Atg Proteins in Autophagosome Formation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27(1), 107–132. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154005>

Motzer, R. J., Escudier, B., Oudard, S., Hutson, T. E., Porta, C., Bracarda, S., Grünwald, V., Thompson, J. A., Figlin, R. A., Hollaender, N., Urbanowitz, G., Berg, W. J., Kay, A., Lebwohl, D., Ravaud, A., & RECORD-1 Study Group. (2008). Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: A double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet (London, England)*, 372(9637), 449–456. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61039-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61039-9)

Mowers, E. E., Sharifi, M. N., & Macleod, K. F. (2018). Functions of autophagy in the tumor microenvironment and cancer metastasis. *The FEBS journal*, 285(10), 1751–1766. <https://doi.org/10.1111/febs.14388>

Napolitano, G., & Ballabio, A. (2016). TFEB at a glance. *Journal of Cell Science*, 129(13), 2475–2481. <https://doi.org/10.1242/jcs.146365>

National Institutes of Health (US), & Study, B. S. C. (2007). Understanding Cancer. I *NIH Curriculum Supplement Series [Internet]*. National Institutes of Health (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20362/>

Ohsumi, Y. (2014). Historical landmarks of autophagy research. *Cell Research*, 24(1), 9–23. <https://doi.org/10.1038/cr.2013.169>

Onorati, A., Dyczynski, M., Ojha, R., & Amaravadi, R. K. (2018). Targeting autophagy in cancer. *Cancer*, 124(16), 3307–3318. <https://doi.org/10.1002/cncr.31335>

Palamiuc, L., Ravi, A., & Emerling, B. M. (2020). Phosphoinositides in autophagy: Current roles and future insights. *The FEBS Journal*, 287(2), 222–238. <https://doi.org/10.1111/febs.15127>

- Pankiv, S., Clausen, T. H., Lamark, T., Brech, A., Bruun, J.-A., Outzen, H., Øvervatn, A., Bjørkøy, G., & Johansen, T. (2007). P62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(33), 24131–24145. <https://doi.org/10.1074/jbc.M702824200>
- Park, J., Cho, J., & Song, E. J. (2020). Ubiquitin–proteasome system (UPS) as a target for anticancer treatment. *Archives of Pharmacal Research*, 1–18. <https://doi.org/10.1007/s12272-020-01281-8>
- Parzych, K. R., & Klionsky, D. J. (2014). An overview of autophagy: Morphology, mechanism, and regulation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(3), 460–473. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5371>
- Pavlidis, S., Whitaker-Menezes, D., Castello-Cros, R., Witkiewicz, A. K., Frank, P. G., Casimiro, M. C., Wang, C., Fortina, P., Addya, S., Pestell, R. G., Sotgia, F., & Lisanti, M. P. (2009). The reverse Warburg effect: Aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle*, 8(23), 19.
- Perera, R. M., Stoykova, S., Nicolay, B. N., Ross, K. N., Fitamant, J., Boukhali, M., Lengrand, J., Deshpande, V., Selig, M. K., Ferrone, C. R., Settleman, J., Stephanopoulos, G., Dyson, N. J., Zoncu, R., Ramaswamy, S., Haas, W., & Bardeesy, N. (2015). Transcriptional control of the autophagy-lysosome system in pancreatic cancer. *Nature*, 524(7565), 361–365. <https://doi.org/10.1038/nature14587>
- Pierotti, M. A., Sozzi, G., & Croce, C. M. (2003). Discovery and identification of oncogenes. *Holland-Frei Cancer Medicine. 6th Edition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13714/>
- Pietenpol, J. A., & Stewart, Z. A. (2002). Cell cycle checkpoint signaling: Cell cycle arrest versus apoptosis. *Toxicology*, 181–182, 475–481. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00460-2](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00460-2)
- Poole, B., & Ohkuma, S. (1981). Effect of weak bases on the intralysosomal pH in mouse peritoneal macrophages. *The Journal of Cell Biology*, 90(3), 665–669. <https://doi.org/10.1083/jcb.90.3.665>
- Pucci, B., Kasten, M., & Giordano, A. (2000). Cell Cycle and Apoptosis. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2(4), 291–299.
- Qu, X., Yu, J., Bhagat, G., Furuya, N., Hibshoosh, H., Troxel, A., Rosen, J., Eskelinen, E.-L., Mizushima, N., Ohsumi, Y., Cattoretti, G., & Levine, B. (2003). Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1809–1820. <https://doi.org/10.1172/JCI20039>
- Ravikumar, B. (2010). *Plasma membrane contributes to the formation of pre-autophagosomal structures*. 12(8), 23.
- Sancak, Y., Peterson, T. R., Shaul, Y. D., Lindquist, R. A., Thoreen, C. C., Bar-Peled, L., & Sabatini, D. M. (2007). A complex of Bcl-2 and Beclin-1 inhibits Vps34-dependent autophagy and is disrupted by Bcl-2 phosphorylation. *Journal of Cell Biology*, 177(1), 129–142. <https://doi.org/10.1083/jcb.200610142>

- D. M. (2008). The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science (New York, N.Y.)*, 320(5882), 1496–1501. <https://doi.org/10.1126/science.1157535>
- Settembre, C., Di Malta, C., Polito, V. A., Arcencibia, M. G., Vetrini, F., Erdin, S., Erdin, S. U., Huynh, T., Medina, D., Colella, P., Sardiello, M., Rubinsztein, D. C., & Ballabio, A. (2011). TFEB Links Autophagy to Lysosomal Biogenesis. *Science (New York, N.Y.)*, 332(6036), 1429–1433. <https://doi.org/10.1126/science.1204592>
- Shiloh, R., Gilad, Y., Ber, Y., Eisenstein, M., Aweida, D., Bialik, S., Cohen, S., & Kimchi, A. (2018). Non-canonical activation of DAPK2 by AMPK constitutes a new pathway linking metabolic stress to autophagy. *Nature Communications*, 9(1), 1759. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03907-4>
- Soh, J., Okumura, N., Lockwood, W. W., Yamamoto, H., Shigematsu, H., Zhang, W., Chari, R., Shames, D. S., Tang, X., MacAulay, C., Varella-Garcia, M., Vooder, T., Wistuba, I. I., Lam, S., Brekken, R., Toyooka, S., Minna, J. D., Lam, W. L., & Gazdar, A. F. (2009). Oncogene Mutations, Copy Number Gains and Mutant Allele Specific Imbalance (MASI) Frequently Occur Together in Tumor Cells. *PLoS ONE*, 4(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007464>
- Stein, Y., Rotter, V., & Aloni-Grinstein, R. (2019). Gain-of-Function Mutant p53: All the Roads Lead to Tumorigenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24). <https://doi.org/10.3390/ijms20246197>
- Stratton, M. R., Campbell, P. J., & Futreal, P. A. (2009). The cancer genome. *Nature*, 458(7239), 719–724. <https://doi.org/10.1038/nature07943>
- Sun, W., & Yang, J. (2010). Functional Mechanisms for Human Tumor Suppressors. *Journal of Cancer*, 1, 136–140.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Suzuki, K., Kubota, Y., Sekito, T., & Ohsumi, Y. (2007). Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization. *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, 12(2), 209–218. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2007.01050.x>
- Swatek, K. N., & Komander, D. (2016). Ubiquitin modifications. *Cell Research*, 26(4), 399–422. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.39>
- Takahashi, Y., Meyerkord, C. L., Hori, T., Runkle, K., Fox, T. E., Kester, M., Loughran, T. P., & Wang, H.-G. (2011). Bif-1 regulates Atg9 trafficking by mediating the fission of Golgi membranes

- during autophagy. *Autophagy*, 7(1), 61–73. <https://doi.org/10.4161/autophagy.7.1.14015>
- Thompson, H. G. R., Harris, J. W., Wold, B. J., Lin, F., & Brody, J. P. (2003). P62 overexpression in breast tumors and regulation by prostate-derived Ets factor in breast cancer cells. *Oncogene*, 22(15), 2322–2333. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206325>
- Tsuboyama, K., Koyama-Honda, I., Sakamaki, Y., Koike, M., Morishita, H., & Mizushima, N. (2016). The ATG conjugation systems are important for degradation of the inner autophagosomal membrane. *Science (New York, N.Y.)*, 354(6315), 1036–1041. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6136>
- Vaziri, H., & Benchimol, S. (1998). Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Current Biology*, 8(5), 279–282. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(98\)70109-5](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(98)70109-5)
- Vousden, K. H., & Lane, D. P. (2007). P53 in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(4), 275–283. <https://doi.org/10.1038/nrm2147>
- Walczak, M., & Martens, S. (2013). Dissecting the role of the Atg12–Atg5–Atg16 complex during autophagosome formation. *Autophagy*, 9(3), 424–425. <https://doi.org/10.4161/autophagy.22931>
- Wang, L.-H., Wu, C.-F., Rajasekaran, N., & Shin, Y. K. (2018). *Loss of Tumor Suppressor Gene Function in Human Cancer: An Overview*. 47.
- White, E. (2015). The role for autophagy in cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(1), 42–46. <https://doi.org/10.1172/JCI73941>
- White, E., Mehnert, J. M., & Chan, C. S. (2015). Autophagy, Metabolism, and Cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 21(22), 5037–5046. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-0490>
- Xu, R., Ji, Z., Xu, C., & Zhu, J. (2018). The clinical value of using chloroquine or hydroxychloroquine as autophagy inhibitors in the treatment of cancers: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 97(46), e12912. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012912>
- Xu, Z., Han, X., Ou, D., Liu, T., Li, Z., Jiang, G., Liu, J., & Zhang, J. (2020). Targeting PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy for tumor therapy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(2), 575–587. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10257-8>
- Yang, S., Wang, X., Contino, G., Liesa, M., Sahin, E., Ying, H., Bause, A., Li, Y., Stommel, J. M., Dell’Antonio, G., Mautner, J., Tonon, G., Haigis, M., Shirihai, O. S., Doglioni, C., Bardeesy, N., & Kimmelman, A. C. (2011). Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth. *Genes & Development*, 25(7), 717–729. <https://doi.org/10.1101/gad.2016111>

- Yang, Y., Hu, L., Zheng, H., Mao, C., Hu, W., Xiong, K., Wang, F., & Liu, C. (2013). Application and interpretation of current autophagy inhibitors and activators. *Acta Pharmacologica Sinica*, *34*(5), 625–635. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.5>
- Yang, Z., & Klionsky, D. J. (2010). Eaten alive: A history of macroautophagy. *Nature Cell Biology*, *12*(9), 814–822. <https://doi.org/10.1038/ncb0910-814>
- Ylä-Anttila, P., Vihinen, H., Jokitalo, E., & Eskelinen, E.-L. (2009). 3D tomography reveals connections between the phagophore and endoplasmic reticulum. *Autophagy*, *5*(8), 1180–1185. <https://doi.org/10.4161/auto.5.8.10274>
- Yu, K., Toral-Barza, L., Discafani, C., Zhang, W. G., Skotnicki, J., Frost, P., & Gibbons, J. J. (2001). mTOR, a novel target in breast cancer: The effect of CCI-779, an mTOR inhibitor, in preclinical models of breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*, *8*(3), 249–258. <https://doi.org/10.1677/erc.0.0080249>
- Yu, L., Chen, Y., & Tooze, S. A. (2017). Autophagy pathway: Cellular and molecular mechanisms. *Autophagy*, *14*(2), 207–215. <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1378838>
- Yu, L., McPhee, C. K., Zheng, L., Mardones, G. A., Rong, Y., Peng, J., Mi, N., Zhao, Y., Liu, Z., Wan, F., Hailey, D. W., Oorschot, V., Klumperman, J., Baehrecke, E. H., & Lenardo, M. J. (2010). Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature*, *465*(7300), 942–946. <https://doi.org/10.1038/nature09076>
- Zachari, M., & Ganley, I. G. (2017). The mammalian ULK1 complex and autophagy initiation. *Essays in Biochemistry*, *61*(6), 585–596. <https://doi.org/10.1042/EBC20170021>

8.0 Vedlegg

Tabell 1. Litteratursøk. Viser hvilke søkeord og søkekriterier som ble benyttet til å finne referanser til oppgaven, og antall treff på Pubmed. Referanselistene i disse artiklene ble også brukt for finne ytterlige referanser.

| Kilde/link | Søkeord (inkl. AND, OR osv.) | Antall treff | Søkekriterier |
|---|---|---------------------|--|
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29671878/ | Autophagy | 17 827 | 2017-2021, Free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30626110/ | Ubiquitin proteasome system | 2029 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32039200/ | Homeostasis protein | 5087 | 2020-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30649893/ | Homeostasis | 33497 | 2018-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23725295/ | Autophagy AND process | 5 189 | review-artikler, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33628386/ | Autophagy AND cancer AND regulation | 342 | 2020-2021, review-artikler, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28743182/ | Ubiquitin proteasome system AND autophagy | 871 | free full text, sortert etter beste match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29127110/ | Proteostasis | 3016 | 2016-2021, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31969156/ | Autophagy AND cancer | 7346 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30237248/ | Autophagy AND description | 86 | 2016-2021, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30311559/ | Autophagy AND mechanism | 15 765 | 2016-2021, sortert etter best match |

| | | | |
|---|--------------------------|-------|--|
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28467923/ | Autophagy AND process | 5 497 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31969156/ | Autophagy AND cancer | 7 349 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28933638/ | Autophagy mechanism | 9366 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31199916/ | Autophagy mechanism | 9366 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28686223/ | Autophagy AND regulation | 9783 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30167079/ | DAPK2 | 151 | 2016-2021, f ree full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30501132/ | Autophagy regulation | 9771 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29233870/ | Autophagy AND initiation | 1 641 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30311559/ | Cancer hallmarks | 1980 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27386546/ | Hallmarks of Cancer | 5059 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |

| | | | |
|---|---|-------|---|
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26771115/ | The emerging hallmarks of cancer metabolism | 303 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28560055/ | Cancer hallmarks review | 779 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29495398/ | Replicative immortality | 264 | 2016-2021, free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33255983/ | Autophagy | 4 560 | 2020-2021 Free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21376230/ | Hallmark AND cancer | 2 407 | Review, free full text, stortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30633901/ | Autophagy AND human AND disease | 5 452 | 2016-2021 Free full text, Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31160394/ | Autophagy AND human AND disease | 5 452 | 2016-2021 Free full text, Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29476151/ | Autophagy AND selective | 2 166 | 2016-2021 Free full text, Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28621712/ | Autophagy AND cancer | 13 | 2016-2021, free full text, systematic review |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31434711/ | autophagy in cancer | 7361 | 2016-2021 Free full text, Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33165832/ | UPS | 7490 | 2016-2021 Free full text, Sortert etter best match |

| | | | |
|---|--|--------|--|
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30333975/ | ubiquitin proteasome system autophagy | 436 | 2016-2021 Free full text, Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28743182/ | UPS AND autophagy | 312 | 2016-2021 Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23725295/ | autophagy AND regulation | 15662 | 2010-2021 Free full text, Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21460630/ | Inactivation AND ULK1 AND mTOR | 28 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26876603/ | autophagy AND selective AND starvation | 319 | free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28371052/ | autophagic lysosome reformation | 29 | free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21617040/ | TFEB | 762 | free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27252382/ | TFEB | 762 | free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21617040/ | TFEB | 762 | free full text, sortert etter best match, |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30562755/ | tumor suppressor AND proto-oncogene | 12 968 | 2016-2021 Free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32357219/ | autophagy AND membran AND autophagosome AND biogenesis | 314 | free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20719876/ | proto oncogene tumor-Suppressor | 27 052 | sortert etter best match |

| | | | |
|---|---|---------|---|
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25654549/ | cancer AND autophagy AND tumor suppressor | 1 772 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18191218/ | Autophagy AND disease | 12 240 | free full text, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31451213/ | Autophagy AND cancer | 11 968 | 2016-2021, sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29356327/ | autophagy and metastasis | 750 | 2016-2021 free full text Sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33816262/ | autophagy AND metastasis | 750 | 2016-2021 free full text sortert etter best match |
| https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4189854/ | autophagy AND suppressor OR suppression OR suppress | 632 995 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7676462/ | Ras AND proto-oncogene | 29 674 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26573797/ | cell cycle AND p53 OR TP53 | 48 050 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28550454/ | PI3K AND akt AND mTOR AND autophagy AND cancer | 713 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30431566/ | chloroquine AND autophagy | 2 487 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28400999/ | Everolimus AND cancer AND autophagy | 95 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30981885/ | Everolimus AND cancer AND autophagy | 95 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17380161/ | P53 AND function | 92 756 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25654547/ | Autophagy AND regulation | 18 685 | sortert etter best match |
| https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33105796/ | Chloroquine AND cancer NOT covid | 256 | 2020-2021, sortert etter best match |