
L-tyypin aminohappokuljetinproteiini 1:n esiintyminen ja sen vaikutukset lääkeaineiden farmakokinetiikalle haimassa

Janne Tampio *

FaT, tutkijatohtori
Itä-Suomen yliopisto, Farmasian laitos
janne.tampio@uef.fi

Tampio J: L-tyypin aminohappokuljetinproteiini 1:n esiintyminen ja sen vaikutukset lääkeaineiden farmakokinetiikalle haimassa. *Dosis* 2026;42(2):222–38.

Tiivistelmä

Janne Tampion lääketutkimuksen tohtoriohjelmaan kuulunut väitöskirja Enhancing drug delivery into the pancreas via L-type amino acid transporter 1 tarkastettiin Itä-Suomen yliopistossa terveystieteiden tiedekunnassa 23.5.2025. Vastaväittäjänä toimi tutkimusjohtaja Christoffer Bundgaard (H. Lundbeck A/S, Kööpenhamina, Tanska) ja kustoksena apulaisprofessori Kristiina M. Huttunen (Itä-Suomen yliopisto). Väitöskirja kuuluu Itä-Suomen yliopiston kirjaston kokoelmaan: Publications of the University of Eastern Finland, Dissertations in health sciences, ISSN 1798-5706; 895. 2025.

Väitöskirja perustuu seuraaviin osajulkaisuihin:

- I. Tampio J, Markowicz-Piasecka M, Montaser A, Rysä J, Kauppinen A, Huttunen KM. L-type Amino Acid Transporter 1 Utilizing Ferulic Acid Derivatives Show Increased Drug Delivery in the Mouse Pancreas Along with Decreased Lipid Peroxidation and Prostaglandin Production. *Mol. Pharm.* 2022, 19 (11): 3806–3819. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.2c00328.
- II. Tampio J, Montaser AB, Järvinen J, Lehtonen M, Jalkanen AJ, Reinisalo M, Kokkola T, Terasaki T, Laakso M, Rysä J, Kauppinen A, Huttunen KM. The L-type amino acid transporter 1 enhances drug delivery to the mouse pancreatic beta cell line (MIN6). *Eur. J. Pharm. Sci.* 2024, 203: 106937. DOI: 10.1016/j.ejps.2024.
- III. Tampio J, Králová A, Riihioja S, Pitkänen S, Markowicz-Piasecka M, Ihämäki O, Savolainen K, Torunoglu ST, Jalkanen AJ, Lehtonen M, Kauppinen A, Rysä J, Huttunen KM. Amino acid-derived capsaicin prodrug improves its pharmacokinetic properties in the mouse brain and pancreas. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2025, 214: 114797, DOI: 10.1016/j.ejpb.2025.114797.

Johdanto

Yksi lupaavista tavoista kohdentaa lääkkeitä haluttuun vaikutuspaikkaan on kuljetinproteiinivälitteinen lääkeainekuljetus, jossa hyödynnetään kohdesoluissa runsaasti esiintyviä kalvoproteiineja. Nämä proteiinit voivat usein kuljettaa luonnollisten substraattien ohella myös lääkeaineita. Esimerkiksi L-tyypin aminohappokuljetinproteiini 1 (LAT1) kuljettaa suuria ja neutraaleja L-muodon aminohappoja, mutta myös sopivia lääkeaineita solukalvojen läpi. LAT1 on yli-ilmentynyt syövässä, minkä vuoksi sitä on tutkittu syöpälääkkeiden kohdentamisessa. LAT1:tä ilmenee myös huomattavissa määrin veriaivoesteessä, mikä on kannustanut tutkimaan sen roolia lääkeaineiden keskuhermostoon kulkeutumisessa. Toisaalta LAT1:llä on myös tehtäviä muissa kudoksissa, kuten haimassa. Haima tuottaa laajasti erilaisia ruoansulatusentsyymejä ja hormoneja, mitä varten se vaatii paljon aminohappoja. Lisäksi haimalla on tärkeä rooli sokeritasapainon ylläpidossa, jonka häiriöt on yhdistetty useaan pitkäaikaissairauteen, kuten diabetekseen. Täten se on mielenkiintoinen lääkinnän kohde pitkäaikaissairauksien osalta.

Aineisto ja menetelmät

Väitöskirjan osatutkimuksissa selvitettiin LAT1:n esiintymistä hiiren haimassa sekä hiiren haiman beetasolulinjassa (MIN6). Kuljetinproteiinin aktiivisuus MIN6-solulinjassa varmistettiin radioleimattun [¹⁴C]-L-leusiinin soluunotolla. Tämän jälkeen tutkittiin LAT1:tä hyödyntävien lääkeainejohdosten kulkeutumista haimaan sekä solu- että eläinkokein. Tutkittaviksi lääkeaineiksi valittiin useita antioksidantteihin (ferulahappo sekä kapsaisiini) ja tulehduskipulääkkeisiin (flurbiprofeeni, ibuprofeeni, ketoprofeeni, naprokseeni ja salisyylihappo) pohjautuvia lääkeainejohdoksia, joissa alkuperäiseen lääkeaineeseen oli liitetty aminohappo-osa lisäämään lääkeaineiden vuorovai- kutuksia LAT1:n kanssa.

Tulokset

LAT1:tä todettiin esiintyvän huomattavissa määrin MIN6-solulinjassa sekä villityypin hiiriltä kerätyissä haimoissa. Vaikka tyyppillisen LAT1:n heterodimeerisen muodon esiintyminen jäi väitöskirjatutkimuksessa vahvistamatta, [¹⁴C]-L-leusiini sekä LAT1:tä hyödyntävät lääkeainejohdokset kulkeutuivat tehokkaasti hiiren haimaan ja beetasoluihin. Soluun kulkeutumisessa havaittiin jopa 300-kertaista kasvua verrattuna alkuperäisiin lääkeaineisiin. Tämä korreloiti myös kudostasolle useamman kertaluokan kasvuna lääkkeiden kertymisessä haimaan.

Johtopäätökset

LAT1:tä hyödyntämällä voidaan lisätä lukuisten erilaisten lääkeaineiden kulkeutumista haimaan ja korostaa alkuperäisten lääkeaineiden terapeuttisia vaikutuksia siellä. Kun nämä löydökset yhdistetään aikaisempaan tietoon lääkeaineiden tehokkaasta LAT1-välitteisestä kulkeutumisesta aivoihin, voidaan kuljetinproteiinia pitää merkittävänä kohteena tehostaa lääkeaineiden kulkeutumista useaan kiinteään kudokseen. On kuitenkin huomionarvoista muistaa, että mikäli haima ei ole lääkehoidon kohteena, LAT1-välitteinen lääkeainekuljetus voi aiheuttaa tahattomia haittavaikutuksia korostuneen haimakulkeutumisen myötä.

Avainsanat: Aihiolääkkeet, Aminohappokuljetusjärjestelmät, Farmakokinetiikka, Haima, Kuljetinproteiinivälitteinen lääkeainekuljetus, Lääkkeen kohdentamisjärjestelmät, Membraanikuljetusproteiinit

Johdanto

Kehittyvien teknologioiden sekä kasvavan solubiologian, genetiikan, tautien patologian ymmärryksen myötä lääkekehityksellä on paremmat edellytykset kohdespesifisille hoidoille (1). Tästä kehityksestä huolimatta uusi halutulla farmakologisella tavalla vaikuttava lääkemolekyylillä ei välttämättä pääse tehokkaasti perille. Lääkeaineiden heikko kulkeutuminen selittääkin usein myös lääkeainetutkimuksien epäonnistumisia. Esimerkiksi vuosina 2010–2017 jopa 90 % kliinisiin tutkimuksiin edenneistä lääkeainekandidaateista hylättiin (2). Yleisimmät syyt kokeiden päättymisille olivat lääkityksen tehon puute, kohtuuttomat haittavaikutukset ja lääkeaineen heikko biologinen hyötyosuus. Kaikkien näiden ongelmien potentiaalinen ratkaisu voisi olla kohdennettu lääkeainekuljetus. Tällöin vaikutukseltaan lupaavan yhdisteen kulkeutuminen haluttuun vaikutuspaikkaan tehostuu ja muiden kudosten systeeminen altistuminen lääkeaineelle vähenee.

Solujen kaksoislipidikalvo estää suurimmalla osalla yhdisteistä niiden vapaan kulkeutumisen solun sisälle ja sieltä ulos. Solukalvoilla ilmentyy kuitenkin paljon eri kuljettajaproteiineja, jotka kykenevät avustamaan substraatteja sisään ja poistamaan ei-toivottuja yhdisteitä solusta (3,4). Ne mahdollistavat yhdisteiden kuljetuksen tehokkaammin ja selektiivisemmin verrattuna passiiviseen diffuusion. Endogeenisten yhdisteiden ohella kuljetinproteiinit osallistuvat myös vierasaineiden kuljetukseen elimistössä (5). Toistaiseksi yli 494 erilaista kuljetinproteiinia on tunnistettu. Niitä ilmentyy eri määrinä kudoksesta ja solutyypistä riippuen, pitkälti kohteen tarpeiden ja kuljettamien substraattien mukaan. Substraattien joukkoon lukeutuvat myös lääkeaineet. Moni kliinisesti käytössä oleva lääkeaine hyödyntää kuljetinproteiineja, vaikkakaan niitä ei välttämättä ole suunniteltu tietyn kuljettimen substraateiksi. Esimerkiksi veriaivoesteessä ilmentyvä L-tyypin aminohappokuljetinproteiini 1 (LAT1) voi kuljettaa aminohappoja muistuttavia lääkeaineita, kuten Parkinsonin taudin hoidossa käytettyä L-DOPA:a tai pregabaliinia aivoihin (6).

LAT1 on solujen aminohappotasapainosta huolehtiva kuljetinproteiini, jota koodaa geeni SLC7A5 (7). Se kuljettaa pH:sta ja natriumis-

ta riippumattomasti neutraaleja, aromaattisia ja haaraketjuisia aminohappoja (BCAA), kuten L-isoleusiinia, L-leusiinia, L-metioniinia, L-fenyylialaniinia, L-tryptofaania, L-tyrosiinia ja L-valiinia, mutta myös aminohappojen kaltaisia endogeenisiä ja vierasperäisiä yhdisteitä. LAT1 on kiteytetty ja karakterisoitu heterodimeerisessä muodossa, jolloin se on kovalenttisesti liittynyt 4F2hc (SLC3A2) proteiinin kanssa (7). 4F2hc:n on esitetty säätelevän LAT1:n päättymistä sekä kiinnittymistä solukalvolle (8,9). Lisäksi se osallistuu todennäköisesti myös substraattien ohjaukseen LAT1:n läpi, sillä LAT1-välitteinen aminohappojen kuljetus muuttuu solumalleissa, joissa 4F2hc on poistettu. Toisaalta LAT1:n osalta on myös tutkittu kahden LAT1:n muodostamaa homodimeeriä ja irrallaan olevaa monomeerimuotoa, sillä näitäkin muotoja on havaittu solukalvojen proteomia tutkittaessa (10).

Yhdisteiden kuljettamisen lisäksi LAT1:llä on rooli myös solujen aineenvaihdunnan säätelyssä. Sen kuljettamien välttämättömien aminohappojen saatavuus on yhdistetty muun muassa rapamysiinin mekanistisen kohteen proteiini-kompleksi 1:n (mTORC1) säätelyyn (8). Tämä kompleksi ohjaa solujen metabolista homeostaasia solukasvun, selviytymisen ja proliferaation kautta (11). Useat kasvutekijät, kuten insuliini, sekä aminohappojen saatavuus säätelevät mTORC1:n aktiivisuutta. Esimerkiksi lisääntynyt L-leusiinin soluunotto aktivoi mTORC1:tä, mikä edistää solujen anabolisia prosesseja ja sitä kautta syöpäsolujen jakautumista. Korostuneen mTORC1:n aktiivisuuden ohella LAT1:n onkin havaittu olevan yli-ilmentynyt monissa syövässä (12,13). Toisaalta diabeetikoilla havaitut muutokset plasman BCAA-tasapainossa sekä insuliinin rooli mTORC1:n säätelyssä ovat nostaneet LAT1:n mielenkiintoiseksi tutkimuskohteeksi diabeteksessä (11,14).

LAT1:n on raportoitu ilmentyvän eri kudoksista vaihtelevin tuloksin. Alun perin terveissä ihmisen kudoksissa LAT1:tä havaittiin erityisesti aivoissa veriaivoesteessä, istukas- sa, munasarjoissa, kiveksissä, pernassa, paksusuolella ja maksassa (15). Sittenkin LAT1:n ilmentymistä on kuitenkin raportoitu ihmisillä lähes kaikissa kudoksissa transkription tasolla ja proteiinien vasta-ainepohjaisilla määrittämisillä (16). Toisaalta LAT1:n ilmentyminen kuitenkin

kin vaihtelee osassa kudoksista ihmisen kehitysvaiheen mukaan (17). Aikuisilla LAT1:n on osoitettu olevan voimakkaimmin ilmentynyt muun muassa eristetyissä kudoksissa, kuten aivoissa ja sukusoluissa, joissa ravintoaineiden kulkeutumista kontrolloidaan tarkemmin, sekä endokriinisissä kudoksissa, jotka tarvitsevat proteiinien tuotantoonsa runsaasti aminohappoja. Esimerkiksi haimassa tuotetun insuliinin esiasteen, preproinsuliinin aminohapoista jopa 35 % on LAT1:n substraatteja, joista leusiini muodostaa merkittävän osuuden (20/110 aminohaposta) (18).

Koska LAT1 yli-ilmentyy useissa syövässä ja sen on osoitettu auttavan lääkeaineita pääsemään veriaivoesteeseen läpi aivoihin, se on nousut yhdeksi lupaavista kohdeproteiineista parantamaan lääkeaineiden pääsyä juuri näihin kohdekudoksiin aihiolääketekniikkaa hyödyntämällä (19,20). Tässä tapauksessa alkupe- räiseen lääkeaineeseen liitetään aminohappoa muistuttava aihio-osa, joka ohjaa yhdisteen hyödyntämään kuljetinproteiinia solukalvon läpäisyyn. Aihiolääkkeet ovat itsessään pääosin inaktiivisia, jolloin lääkeaineen vaikutus aktivoituu vasta, kun alkuperäinen lääkeaine vapautuu aihio-osasta. Tämä tapahtuu esimerkiksi entsymaattisella reaktiolla tavoitellussa vaikutuspaikassa. Näin ollen lääkkeiden vaikutuksia voidaan korostaa juuri niissä kudoksissa ja soluissa, jonne aihiolääke kertyy tehokkaasti sekä vapautuu ja aktivoituu. Mikäli aihio-osassa kiinni olevalla lääkkeellä on aktiivisuutta sellaisenaan, se luokitellaan lääkeainejohdannaiseksi. Kuljetinproteiinivälitteisessä lääkeainekohdennuksessa tulee kuitenkin huomioida, että yhdisteet voivat hyödyntää myös muita kuljetusreittejä. Esimerkiksi joidenkin LAT1:stä hyödyntävien aihiolääkkeiden on osoitettu kulkeutuvan myös orgaanisten anionien kuljettajaproteiinien (OATP) sekä natriumriippuvaisen neutraalien aminohappojen kuljettajien (SNAT) välityksellä, jolloin lääkkeiden kohdenus heikkenee (21,22).

Aiemmat tutkimukset osoittavat, että LAT1:ä hyödyntämällä voidaan tehostaa lääkkeiden kulkeutumista syöpäsoluihin ja aivoihin (19). LAT1 ilmentyy kuitenkin myös muissa terveissä kudoksissa, joten lisätietoa sen vaikutuksista lääkeaineiden jakautumisessa myös muualla elimistössä tarvitaan jo tunnistettujen

kohteiden ohella. Väitöstutkimuksen tavoitteena oli selvittää LAT1:n ilmentymistä haimassa sekä arvioida sen soveltuvuutta lääkekuljetuksen tehostamiseksi lääkeainejohdannaisia ja aihiolääkkeitä hyödyntämällä. Kolmen osatyön aikana määritettiin kvantitatiivisesti LAT1:n ilmentyminen hiiren haimassa sekä haiman beetasolulinjassa (MIN6), arvioitiin MIN6-solulinjan soveltuvuus mallintaa LAT1-välitteistä lääkeainekuljetusta haimaan, sekä osoitettiin LAT1:tä hyödyntävien lääkeainejohdannaisien tehostunut lääkeainekuljetus hiiren haimaan.

Aineisto ja menetelmät

Väitöskirjatutkimus koostui kolmesta osatyöstä, joissa tutkittiin yhteisenä tekijänä LAT1-kuljetinproteiinia sekä sitä hyödyntäviä lääkeaineita. Teknisesti osatyöt yhdisti analytiikkamenetelmät, joissa solu- ja kudossanalyysiin käytettiin pääasiassa korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa, kytkettynä joko diodirividetektoriin (LC-DAD) tai massaspektrometriin (LC-MS). Tutkimusmenetelmänä käytettiin täysin uusia tai aiemmin kehitettyjä mutta väitöskirjatutkimuksissa päivitettyjä/optimoituja menetelmiä kaikkiin lääkeaineiden ja biologisten merkkiaineiden määrittämiseen. Tiivistelmä tässä katsauksessa kuvatuista väitöskirjatutkimuksen menetelmistä on koottu **Taulukkoon 1**.

Ensimmäisessä osatyössä tutkittiin LAT1:n ilmentymistä hiiriltä kerätyissä haimoissa kudostasolla, sekä tutkittiin ferulahaposta johdettujen LAT1-aihiolääkkeiden haimafarmakokinetiikkaa. Toisessa osatyössä selvitettiin LAT1:n ilmentymistä ja aktiivisuutta hiiren haiman beetasolulinjassa (MIN6). Samalla tutkittiin yhteensä 12:ta tulehduskipulääkkeistä johdettua aihiolääkettä sekä niitä vastaavaa alkupe- räistä lääkeainetta (flurbiprofeeni, ibuprofeeni, ketoprofeeni, naprokseeni ja salisyylihappo), ja vertailtiin niiden kulkeutumista beetasoluihin. Lisäksi tutkittiin lääkeaineiden ja niiden johdannaisien farmakokinetiikkaa haimassa. Kolmannessa osatyössä tutkittavana oli uusi kapsaisiinista johdettu aihiolääke, jonka kohdalla tutkittavana oli kaksoiskohdennus sekä aivoihin että haimaan sekä solu- että eläinmalleissa.

Kaikki tutkitut aihiolääkkeet oli suunniteltu ja syntetisoitu Itä-Suomen yliopistolla far-

Taulukko 1. Tiivistelmä käytetyistä tutkimusmenetelmistä väitöskirjan osatyöissä. LAT1, L-tyypin aminohappokuljetinproteiini 1; LC-MS, nestekromatografiaan kytketty massaspektrometri; MIN6, hiiren haiman beetasolulinja.

Tehty tutkimus	Menetelmä	Osatyö
Proteiinin ilmentymisen kvantifiointi hiiren haiman kokonaiskalvostosta ja haiman beetasolulinjan solukalvosta (Kuva 1A)	Kohdennettu LC-MS analyysi, jossa käytettiin isotooppileimattuja peptidejä proteiinien pitoisuuden määrittämiseen	I ja II
LAT1 proteiinin kuvantaminen MIN6-soluista	Soluille tehtiin LAT1-proteiinin vasta-ainevärväys ja solut kuvattiin immunofluoresenssimikroskooppilla	II
LAT1:n luonnollisen substraatin kuljetusaktiivisuus MIN6-soluissa (Kuva 1B)	Soluja inkuboitiin radioleimattun [¹⁴ C]-L-leusiinin kanssa eri pitoisuuksissa, aikapisteillä, kylmässä ja LAT1-inhibiittorin kanssa. L-leusiinin kulkeutumismäärä soluista määritettiin kokeen jälkeen nestetuikelaskurin avulla	II
Aihiolääkkeiden ja alkuperäisten lääkeaineiden soluunotto MIN6-soluihin (Kuva 2)	MIN6-soluja inkuboitiin tutkittujen lääkeaineiden kanssa eri lääkeainepitoisuuksilla ja LAT1-inhibiittorin kanssa. Kokeen päättymisen jälkeen solut kerättiin ja niiden sisältämä lääkeainemäärä tutkittiin kohdennettujen LC-MS analyysien avulla	II ja III
Kudostason lääkeainekulkeutuminen haimaan ja farmakokineettisten ominaisuuksien määrittäminen (Taulukko 2)	Kudostason farmakokinetiikka tutkittiin annostelemalla lääkeaineita hiirille vatsakalvonsisäisenä injektiona. Eri aikapisteissä kerätyistä kudossäilytteistä määritettiin lääkeainepitoisuudet kohdennettuja LC-MS analyysijä hyödyntämällä	I–III

masian laitoksella, Apulaisprofessori Kristiina M. Huttusen johtamassa tutkimusryhmässä. Aihiolääkkeet oli johdettu yllä kuvatuista alkuperäisistä lääkeaineista liittämällä niihin aminohappo-osa joko ester- tai amidisidoksella aiemmin kuvattujen mukaisesti (23–25). Lisäksi tutkimuksissa käytetty LAT1-inhibiittori, KMH-233, oli syntetisoitu farmasian laitoksella Itä-Suomen yliopistossa.

Kaikki eläintoimenpiteet suoritettiin 7–8 viikon ikäisillä uroshiirillä (C57BL/6JOLA-Hsd). Ne toteutettiin Euroopan parlamentin koe-eläinhoidon ohjeiden ja periaatteiden mukaisesti (direktiivi 2010/63/EU, ohje 2007/526/EY). Kokeilla oli Etelä-Suomen aluehallintoviraston hankelupalautakunnan myöntämät hankeluvat: ESAVI-2015-003347 (osatyöt I ja II) ja ESAVI-2020-025070 (Osatyöt II ja III).

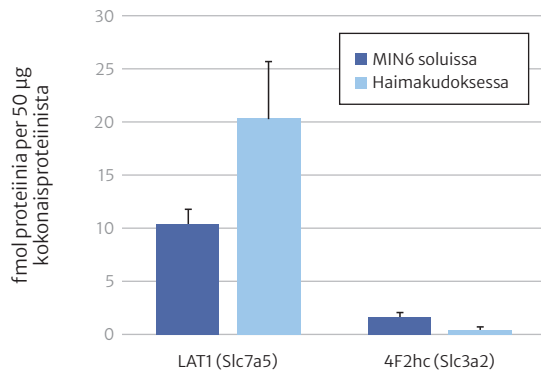
Tulokset

Hyödyntämällä LC-MS pohjaista kohdennettua proteomiikkaa, LAT1:n (Slc7a5) havaittiin olevan voimakkaasti ilmentynyt hiiren haimassa ja haiman beetasoluissa (**Kuva 1A**). Kalvopro-

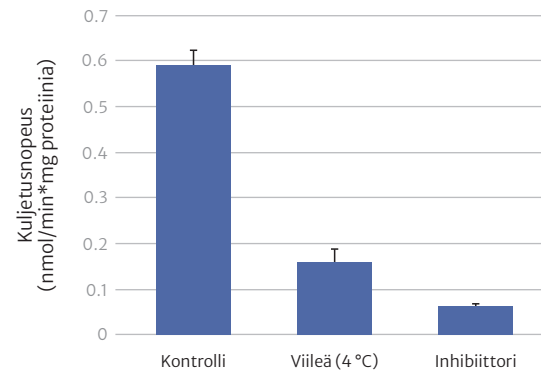
teiinien määrittäminen tehtiin hiiren haimasta eristetystä kokonaiskalvosta (mukaan lukien solukalvot ja solulimakalvostot, osatyössä I) sekä haiman beetasolulinjasta eristetystä solukalvosta (osatyössä II). LAT1:n ohella eristetyistä kalvoista määritettiin samanaikaisesti myös muita kalvoproteiineja. Yksi näistä oli 4F2hc (Slc3a2), joka ilmentyy tyypillisesti LAT1:n kanssa heterodimeerisesti. Voimakkaasta LAT1:n ilmentymisestä poiketen 4F2hc-proteiinin määrä kalvoilla oli selvästi pienempi, sillä LAT1:tä havaittiin 47-kertainen määrä haiman kalvoistoissa ja kuusinkertainen määrä beetasolujen plasmakalvostossa. Massaspektrometrin määrittämisen ohella LAT1:n korkea ilmentyminen beetasoluissa varmistettiin myös immunofluoresenssivärjäyksellä (osatyö II).

Kuljetinproteiinin ilmentymisen lisäksi LAT1:n aktiivisuutta tutkittiin haiman beetasolulinjassa radioleimattun luonnollisen substraatin, [¹⁴C]-L-leusiinin soluunotolla. L-leusiinin kuljetusnopeuden havaittiin olevan inkubaatiopitoisuudesta riippuvaista. Kuljetus mukaili Michaelis-Menten-kinetiikkaa, jossa L-leusiinilla oli hyvä affiniteetti ja kapasiteetti beeta-

A) Kuljetinproteiinien ilmeneminen

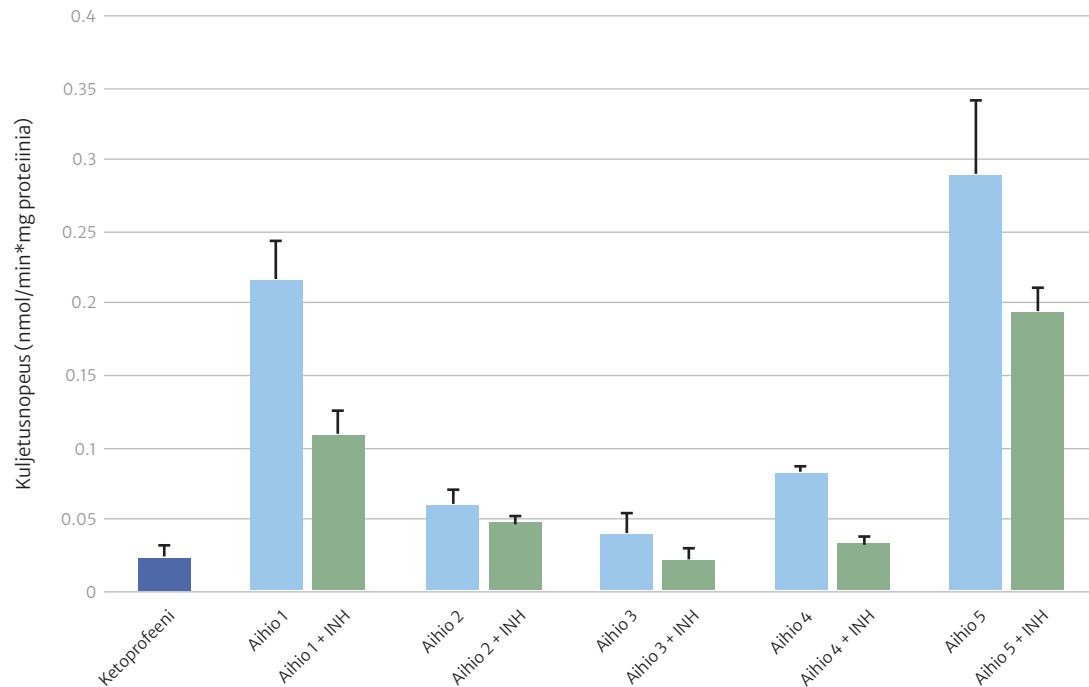


B) L-leusiinin kulkeutuminen beetasoluun



Kuva 1. A) LAT1:n ja 4F2hc:n ilmentyminen haiman beetasolulinjassa (MIN6) sekä hiiren haimakudoksesta eristetyssä solukalvostossa. **B)** L-leusiinin kulkeutuminen MIN6-solulinjaan huoneenlämmössä, viilennetyssä lämpötilassa ja LAT1-selektiivisen inhibiittorin läsnä ollessa. Tulokset on kuvattu keskiarvona ± keskihajontana (n = 3).

Lääkkeiden kulkeutuminen haiman beetasolulinjaan



Kuva 2. Ketoprofeenin sekä siitä johdettujen aihiolääkkeiden kulkeutuminen haiman beetasolulinjaan (MIN6) 50 µM:n lääkeainepitoisuudessa. Aihiolääkkeiden kulkeutuminen tutkittiin lisäksi LAT1-selektiivisen inhibiittorin läsnä ollessa (INH, 100 µM KMH-233). Kuljetusnopeuksien tulokset on kuvattu keskiarvona ± keskihajontana (n = 3).

soluihin kulkeutumisessa ($K_m = 52,6 \pm 10,7 \mu\text{M}$; $V_{max} = 623 \pm 61 \text{ pmol/min*mg proteiiniä}$). Lisäksi L-leusiinin aktiivinen kuljetus vahvistettiin tutkimalla soluunottoa viilennetyssä lämpötilassa (+4 °C) sekä LAT1-selektiivisen inhibiittorin läsnä ollessa (KMH-233, 100 µM). Viilennys ja inhibiittori vähensivät L-leusiinin kulkeutumista beetasoluihin merkittävästi, 73 % lämpötilan vaikutuksesta ja 89 % LAT1-inhibiittorin toimesta (**Kuva 1B**). Siten L-leusiinin todettiin kulkeutuvan haiman beetasoluihin kuljetinproteiinivälitteisesti, erityisesti LAT1:tä hyödyntäen. Soluunotossa oli kuitenkin poikkeamia aiemmin LAT1:lle tunnetuista ominaisuuksista, sillä L-leusiinin kulkeutuminen jopa kaksinkertaistui matalassa pH:ssa (4,5–5,5) sekä natriumin poiston jälkeen, vaikka LAT1-välitteisen kuljetuksen on aiemmin raportoitu olevan riippumaton pH:sta tai natriumista (7).

Osatöissä II ja III havaittiin, että lääkkeiden soluihin kulkeutuminen lisääntyi kaikilla LAT1:tä hyödyntäviksi suunnitelluilla lääkeainejohdoksilla. Kulkeutumistehossa oli vaihtelua lääkeaineiden välillä, sillä LAT1:tä hyödyntävät johdokset lisäsivät soluunottoa 2–300 kertaisesti vastaaviin alkuperäisiin lääkkeisiin verrattuna tutkitulla pitoisuusalueella (5–200 µM). Osalla lääkeainejohdoksista kulkeutumisenopeus kasvoi koko tutkitulla pitoisuusalueella ilman saturaatioita, eikä tulokset näin ollen noudattaneet Michaelis–Menten-kinetiikkaa. Toisaalta monella yhdisteistä soluunotto mukaili hyvin L-leusiinin kulkeutumista, jopa aminohappoa paremmalla affiniteetilla. Esimerkiksi ketoprofeenin aihiolääkkeellä 4 ($K_m = 34,7 \pm 7,7 \mu\text{M}$) sekä salisyylihapon LAT1-aihiolla ($K_m = 8,7 \pm 2,7 \mu\text{M}$) affiniteetti kuljetinproteiiniin oli erinomainen.

Lääkeainejohdosten kuljetusmekanismin vahvistamiseksi niiden kulkeutuminen beeta-

soluihin tutkittiin myös LAT1-selektiivisen inhibiittorin kanssa (KMH-233, 100 µM). Useimmilla lääkeainejohdannaisilla kuljetusvauhti hidastui inhibiittorin vaikutuksesta, mikä tuki niiden LAT1-välitteistä soluunottoa. Toisaalta kahden lääkeainejohdanneksen kohdalla inhibiittorilla ei ollut vaikutusta kulkeutumiseen, ja yhden flurbiprofeenin johdetun aihiolääkkeen kohdalla kulkeutuminen jopa kiihtyi inhibiittorin kanssa 3,5-kertaiseksi.

Jokaisessa osatyössä tutkittiin lääkkeiden jakautumista haimaan kudostasolla hiirillä. Koska esteripohjaiset lääkeainejohdokset oli havaittu epästabileiksi in vitro kokeissa, eläinkokeisiin valittiin ainoastaan amidijohdannaisia, pois lukien osatyön III kapsaisiin aihiolääke, josta oli syntetisoitavissa ainoastaan esteripohjainen johdos. Tutkituista yhdisteistä amidirakenteisten LAT1-johdannaisien kohdalla haima-altistuminen kasvoi aina verrattuna vastaaviin alkuperäisiin lääkeaineisiin (**Taulukko 2**). Sekä lääkkeiden huippupitoisuudet (C_{max}) että kokonaisaltistukset (AUC) kasvoivat moninkertaisiksi. Amidisidoksella liitetyillä yhdisteillä lähtölääkkeen vapautuminen haimassa oli kuitenkin vähäistä tai alle havaitsemisrajan, yleensä pienempää kuin alkuperäisen lääkkeen kulkeutuminen haimaan. Poikkeuksena aihiolääke 2 vapautti tehokkaasti ketoprofeenia, kasvatuen haiman AUC:n alkuperäistä ketoprofeenia suuremmaksi. Esterisidoksella liitetty aihiolääke 15 taas vapautti kapsaisiinia nopeasti jo verenkierrassa. Tämä johti siihen, että kokonaisaltistus haimassa oli verrannollinen kapsaisiinille. Aihiolääkkeen 15 eduksi havaittiin kuitenkin madaltunut huippupitoisuus, jolloin esteripohjainen aihiolääke tasoitti lääkeainealtistusta haimassa alkuperäiseen kapsaisiiniin verrattuna.

Taulukko 2. Tutkittujen lääkeaineiden farmakokineettiset ominaisuudet hiiren haimassa vatsaontelon-sisäisen annostelun jälkeen kokonaisaltistumisen (AUC), huippupitoisuuden (C_{max}) ja -aikapisteen (t_{max}) mukaan. Vapautuneen lääkeaineen tulokset on ilmoitettu suluisissa, mikäli sitä havaittiin. Jokainen yhdiste tutkittiin vähintään viidellä aikapisteellä, $n = 3$ kussakin aikapisteessä.

Lääkeaine	AUC (nmol/g * min)	C_{max} (nmol/g)	t_{max} (min)
Ketoprofeeni	265	3,17	10
Aihiolääke 1	1 346 (19,0)	9,42 (0,11)	30 (360)
Aihiolääke 2	2 789 (905)	27,8 (3,17)	30 (240)
Aihiolääke 3	1 003 (41,0)	24,8 (0,80)	15 (30)
Aihiolääke 4	1 601 (54,9)	37,3 (0,23)	10 (120)
Ferulahappo	40,1	5,4	10
Aihiolääke 6	5 182	168	10
Aihiolääke 7	8 172	253	30
Flurbiprofeeni	1 833	12,0	10
Aihiolääke 8	6 067	25,9	120
Ibuprofeeni	2 589	27,9	10
Aihiolääke 10	4 892	25,5	30
Naprokseeni	1 167	13,3	30
Aihiolääke 12	10 537	66,8	30
Salisyylihappo	496	11,6	10
Aihiolääke 14	4 552 (43,3)	104 (0,22)	10 (10)
Kapsaisiini	184	18,3	5
Aihiolääke 15	179 (192)	5,29 (6,94)	5 (10)

Pohdinta

LAT1:tä on aiemmin tutkittu lääkkeiden kuljetuksen lisäämiseksi syöpäsoluihin sekä veriaivoesteen läpi aivoihin (19). Aivoissa potentiaalisena terapeuttisena kohteena ovat olleet neurodegeneratiiviset sairaudet, joihin liittyy krooninen tulehdustila. Vastaavasti esimerkiksi tyypin 2 diabetes on yleistynyt viime aikoina (26). Se on yhdistetty neurodegeneratiivisiin sairauksiin sekä epidemiologisissa tutkimuksissa että patologisissa mekanismeissa (27). Täten sama lääkeaine voisi vaikuttaa useisiin kroo-

nisiin sairauksiin samanaikaisesti, kunhan se pääsee molempiin vaikutuspaikkoihin tehokkaasti. Muun muassa tulehduskipulääkkeillä ja antioksidanteilla voisi olla tautien patologiaa hillitseviä vaikutuksia. Näistä on aiemmin johdettu LAT1:tä hyödyntäviä aihiolääkkeitä, joilla on osoitettu jo tehokkaampi kulkeutuminen ja tulehdusta lievittävä teho aivoissa (23–25).

Osatyöt I ja II osoittavat LAT1:n runsaan ilmentymisen hiiren haimassa sekä hiiren haiman beetasolulinjassa (MIN6). Ilmentyminen oli jopa voimakkaampaa kuin aiemmin tutkituilla hiiren aivosoluilla (28). Molemmissa hai-

manäytetyypeissä 4F2hc:n ilmentyminen oli kuitenkin huomattavasti vähäisempää suhteessa LAT1:een, kun tyypillisesti näiden monomeerien ilmenemisen suhde on lähes samalla tasolla. Aikaisempien rakennetutkimusten perusteella 4F2hc:n puute voi heikentää LAT1:n vakautta solujen kalvoilla tai vähentää kuljetustehoa (29). Haima ei ole kuitenkaan poikkeuksellinen esiintyvyyksien suhteen, sillä kudospoteomikassa havaittiin samankaltainen epätasapaino LAT1:n ja 4F2hc:n välillä myös munuaisessa (osatyö I). Vastaavaa on raportoitu myös useissa ihmiskudoksissa, kuten munuaisessa, ohutsuolessa ja verkkokalvossa (10). Tämän perusteella on esitetty, että LAT1 voi joissakin kudoksissa esiintyä myös monomeerinä tai homodimeerinä, joita on havaittu massaspektrometrian avulla kokonaisia proteiineja mitattaessa. Täten vaihtoehtoisia proteiiniinikonformaatioita tulee tutkia vielä lisää haimankin osalta.

Kohdennettu massaspektrometria proteiinien analyysimenetelmänä on herkkä ja selektiivinen, sillä proteiinien pitoisuuksien määrittäminen pohjautuu peptideihin, jotka ovat uniikkeja tutkittaville proteiineille. Näiden peptidien pilkkominen kokonaisista proteiineista vaatii kuitenkin monivaiheisen näytteenkäsittelyn, joka voi heikolla saannolla aliarvioida proteiinin ilmentymistä. Täten osa LAT1:n ja 4F2hc:n välisestä ilmentymiserosta voi olla ylikorostunut näytteenkäsittelyn takia. Toisaalta käytetyllä mitausmenetelmällä menetetään myös tietoa kokonaisen proteiinin konformaatiosta, jolloin esiintymistä joko homo- tai heterodimeerinä ei voida varmistaa. Jatkossa olisikin tärkeää tutkia lisää LAT1:n toimintaa haimassa. Samalla LAT1:n tutkimusta olisi tärkeää laajentaa myös ihmisen haimaan. Toistaiseksi LAT1:n yli-ilmentyminen on tunnistettu huonoksi ennusteeksi haiman adenokarsinoomassa (12), mikä nostaa sen arvoa potentiaalisena terapeuttisena kohteena ihmisissä. Koska LAT1:een liitetyt BCAA aminohapot ja mTORC1 signaali on yhdistetty diabetekseen, LAT1 ilmentymisen tutkimuksen laajentaminen diabeteslaimissa sekä sen toiminnan selvittäminen sokeritasapainon häiriöissä voisi avata uusia mielenkiintoisia terapeuttisia näkökulmia. Esimerkiksi diabetesta mallintavien hiirten (Akita C57BL/6J) haimassa on havaittu alentunut LAT1:n ilmentyminen terveisiin hiiriin (C57BL/6J) verrattuna (30).

Vaikka sekä kudosis- että solutasolla LAT1:n ja 4F2hc:n ilmentyminen poikkesi tyypillisestä esiintymisestä, L-leusiini kulkeutui aktiivisesti MIN6-soluihin. Sen kuljetuskapasiteetti oli verrannollinen aiemmin tutkittuihin hiiren astrozyytteihin ja mikroglioihin, mutta se hakeutui beetasoluihin jopa hieman paremmalla affiniteetilla (28). LAT1:n toimintaa haiman beetasoluissa tulisi kuitenkin tutkia tarkemmin, sillä L-leusiinin soluunotto poikkesi aiemmista havainnoista pH- ja natriumriippuvaisessa soluunotossa. Tämä voi selittyä erilaisella proteiinin konformaatiolla, joka johtuu epätasaisesta suhteesta LAT1:n ja 4F2hc:n ilmentymisessä. Toisaalta MIN6-soluissa voi olla myös muita kuljetinproteiineja, jotka tukevat L-leusiinin kuljetusta. Esimerkiksi muilla SLC7-perheen kuljetinproteiineilla on myös kapasiteettia kuljettaa L-leusiinia, mutta heikommalla affiniteetilla (15). LAT1:n osuus L-leusiinin beetasoluihin kulkeutumisessa kuitenkin vahvistui tehdyssä tutkimuksessa, kun LAT1:n inhibiointi vähensi L-leusiinin soluunottoa merkittävästi.

Tehokkaasti L-leusiinin kulkeutumisen mukaisesti myös kaikki väitöskirjassa tutkitut LAT1:tä hyödyntävät aihiolääkkeet kertyivät MIN6-solulinjaan selvästi alkuperäisiä lääkkeitä enemmän. Soluunoton tehokkuus vaihteli kuitenkin huomattavasti. Tämä johtuu todennäköisesti rakenne-eroista, sillä lääkkeitä liitetyn aminohappo-osan ohjaamana kokonaisen lääkeaineen täytyy pystyä kulkeutumaan LAT1:n läpi. Pelkkä hakeutuminen kuljetinproteiiniin ei siis riitä tehokkaan kulkeutumiseen. Toisaalta myös esimerkiksi OATP- ja SNAT-kuljettajien on osoitettu avustavan LAT1:stä hyödyntävien yhdisteiden kulkeutumista pienemmällä affiniteetilla, ja siten vaikuttavan lääkkeiden farmakokinetiikkaan LAT1:n lisäksi (21,22). Kokonaisten aihiolääkkeiden rakenne-erot ja sekundääriset kuljetinproteiinit voivat selittää soluunottojen eroja aihiolääkkeiden väleillä. Tämä havaittiin myös LAT1-inhibiittorin kanssa tehdyissä solukokeissa, kun osa aihiolääkkeistä ei reagoi LAT1:n estämiseen. Toisaalta suurin osa aihiolääkkeistä, kuten kaikki ketoprofeenin aihiolääkkeet, reagoivat LAT1:n inhibiitioon, joten sillä oli selvä rooli lääkeaineiden kuljetuksessa. Tätä tukee myös salisyyliliposta johdetun ai-

hiolääkkeen affiniteetti solunotossa, joka oli selvästi L-leusiinia korkeampi.

LAT1:tä hyödyntävien aihiolääkkeiden kertyminen haimaan lisääntyi myös kudostasolla, kun amidisidoksisilla johdannaisilla altistuminen vähintään kaksinkertaistui alkuperäisiin lääkeaineisiin verrattuna. Tämä ylittää aiemmin havaitut tulokset kohdennuksessa aivoihin, jossa soluissa havaittu tehostunut kuljetus ei aina siirtynyt kudostasolle (23,24). Toisaalta lääkkeiden vapautuminen haimassa oli heikkoa, mikä teki suurimmasta osasta lääkkeitä enemmänkin lääkeainejohdoksia kuin varsinaisia aihiolääkkeitä. Poikkeuksellisesti aihiolääke 2 lisäsi vapautuneen ketoprofeenin määrää haimassa, mikä osoittaa, että LAT1:tä hyödyntävä aihiolääke toimii myös haimassa. Kudostasolla ainoa tutkittu esteripohjainen aihiolääke, yhdiste 15, ei saavuttanut yhtä merkittävää parannusta haimakulkeutumisessa. Tämä selittyy aihiolääkkeen nopealla metaboliolla, jolloin LAT1:een hakeutuvaa aihiolääkettä ei ole pitkään verenkierrossa. Toisaalta myös sen kohdalla aihiolääkemuoto tasoitti kudostasoa pienentäen huippupitoisuutta haimassa. Tämä voi olla merkittävä parannus lääkkeitä, joilla on kapea terapeuttinen alue.

Väitöskirjatutkimuksien löydösten perusteella LAT1:n avulla tehostettu lääkeaineiden haimakulkeutuminen voi korostaa myös lääkeaineiden vaikutuksia haimassa. Tämä voi avata tehokkaan reitin kohdentaa lääkeaineita tulehdusellisten haimasairauksien tai diabeteksen hoidossa. Lisäksi LAT1 on monien muiden syöpien tavoin yli-ilmentynyt ihmisen haiman adenokarsinoomassa (13), jolloin sitä voidaan pitää lupaavana tapana voimistaa haimasyövän hoitoja esimerkiksi inhiboimalla syöpäsolujen ravinnonsaantia tai kasvattamalla syöpälääkkeen kertymistä soluihin LAT1-välitteisellä kuljetuksella. Toisaalta haimassa voi esiintyä odottamattomia haittavaikutuksia LAT1:n kasvattaman lääkeainealtistuksen vuoksi. Esimerkiksi LAT1:n eston on raportoitu vähentävän insuliinin eritystä (30), mikä tarkoittaa, että LAT1 kohdennetut (aihiolääkkeet) voivat tahattomasti vaikuttaa sokeritasapainoon, vaikka tämä ei olisikaan varsinaisen terapian kohde. Tämä on tärkeä huomioida silloin, kun LAT1:een kohdennettua lääkekuljetusta tavoitellaan muissa kudoksissa. Tuolloin

lääkkeet voivat aiheuttaa odottamattomia sivuvaikutuksia haimassa. Koska LAT1-kohdennetuilla yhdisteillä on osoitettu aiemmin olevan myös parempi aivokulkeutuminen, LAT1 voi samanaikaisesti tehostaa lääkkeiden vaikutuksia useammassa kudoksessa. Tämä on otollinen taktiikka hoitaa aivoissa ja haimassa olevia liitännäissairauksia, mutta vain yhteen kudokseen kohdennuksessa täytyy olla tietoinen myös muiden kudosten altistumisesta.

Johtopäätökset

Väitöskirjan osatöiden I ja II perusteella voidaan todeta, että LAT1 ilmentyi runsaasti hiiren haiman beetasolulinjassa (MIN6) ja hiiren haimassa. Huomionarvoista oli se, että tyypillisesti LAT1:n toimintaan tarvittava 4F2hc-proteiini oli selvästi vähemmän ilmentynyt kuin LAT1. Tämä osoittaa jatkotutkimusten tarvetta, joissa LAT1:n konformaatiota ja säätelyä tutkitaan erilaisissa ympäristöissä aiemmin tutkittujen syöpä- ja aivosolujen ohella. Lisäksi on huomioitava, että väitöskirjan tulokset pohjautuvat hiiren haimaan ja haimasoluihin, eli jatkotutkimuksia tarvitaan myös ihmisen haiman osalta mahdollisten lajierojen selvittämiseksi.

Kaikki kolme väitöskirjan osatyötä osoittavat, että LAT1:een kohdennetut yhdisteet kulkeutuvat tehokkaasti haimaan ja haimasoluihin. Tämän lisäksi solukokeissa pystyttiin osoittamaan LAT1-välitteinen kulkeutuminen estämällä kuljetinproteiinia inhibiittorin avulla. Tutkittujen aihiolääkkeiden välillä oli kuitenkin eroja inhibiittorin vaikutuksessa, joka johtui todennäköisimmin tutkittujen yhdisteiden selektiivisyydestä LAT1:tä kohtaan. Kaikki aminohappojohdetut aihiolääkkeet kuitenkin paransivat kulkeutumista beetasoluihin verrattuna alkuperäisiin lääkeaineisiin, kertyen samalla isompina määrinä haimaan.

Lisääntynyt lääkeaineiden haima-altistuminen oletetusti myös korostaa lääkeaineiden vaikutuksia haimassa. Näin ollen LAT1-välitteinen lääkeainekuljetus voi tehostaa hoitovastetta haimasairauksissa, kuten diabeteksessa, mutta se voi myös tahattomasti vaikuttaa sokeritasapainoon. Tämä tulee huomioida myös silloin, kun LAT1:tä hyödynnetään terapeuttisena kohteena tai lääkekuljetuksessa muihin indikaatioihin, kuten syöpään ja aivokohdennukseen.

Summary

Expression of L-type amino acid transporter 1 in the pancreas and its effects on pharmacokinetics

Janne Tampio *

PhD (Pharm), Postdoctoral researcher
University of Eastern Finland, School of Pharmacy
janne.tampio@uef.fi

The doctoral dissertation of Janne Tampio, entitled “Enhancing drug delivery into the pancreas via L-type amino acid transporter 1”, was examined at the Faculty of Health Sciences at the University of Eastern Finland on May 23, 2025. The Opponent in the public examination was Research Director Christoffer Bundgaard (H. Lundbeck A/S, Copenhagen, Denmark), and the Custos was Associate Professor Kristiina M. Huttunen (University of Eastern Finland). The Doctoral Thesis is part of the dissertation series of the University of Eastern Finland: Publications of the University of Eastern Finland, Dissertations in health sciences, ISSN 1798-5706; 895. 2025.

Introduction

One promising way to improve drug delivery in biological systems is the utilization of transporter proteins that are highly expressed in the target tissues and cell types. Often, besides the endogenous substrates, they can also deliver suitable drugs. For instance, L-type amino acid transporter 1 (LAT1) carries large, neutral L-configured amino acids and appropriate amino acid-mimicking drugs across cell membranes. Due to its overexpression in cancer, LAT1 has been studied to target drugs into malignant cells. Moreover, its high expression on the blood-brain barrier has driven research on its role in brain drug delivery. Yet, LAT1 plays a role in other tissues as well, such as the pancreas. The pancreas produces a variety of digestive enzymes and hormones, for which it requires a sufficient amount of amino acids. Additionally, the pancreas plays an important role in maintaining glucose balance, disturbances of which have been linked to several chronic diseases such as diabetes.

Materials and Methods

In the experimental part of the dissertation, the expression of LAT1 was quantified in the mouse pancreas and the mouse pancreatic β -cell line (MIN6). Radiolabeled [14 C]-L-leucine uptake was used to characterize the LAT1 function in MIN6. Subsequently, the pancreatic delivery of LAT1-utilizing compounds was studied both in vitro and in vivo. The studied compounds included antioxidants (ferulic acid and capsaicin) and anti-inflammatory drugs (flurbiprofen, ibuprofen, ketoprofen, naproxen, and salicylic acid), which were conjugated with an amino acid moiety to improve drug affinity towards LAT1.

Results

LAT1 was found to be significantly expressed in MIN6 cells and the wild-type mouse pancreas. Although the typical heterodimeric expression of LAT1 was not confirmed in the dissertation studies, substantial uptake of [14 C]-L-leucine and LAT1-utilizing compounds was seen in the mouse pancreas and pancreatic β -cells. The cellular uptake was improved up to 300-fold compared to the parent drugs. The improvement translated also to in vivo, as improvements of several fold were detected in the pancreas.

Conclusions

As a summary, LAT1 was found to be a capable transporter that can increase pancreatic drug delivery and amplify their therapeutic effects. Combining this aspect with previously shown improved brain drug delivery, LAT1 should be regarded as a multitargeting transporter in several solid tissues. Then again, the undesired pancreatic drug accumulation and the possibility of adverse effects should be considered with LAT1-utilizing drugs when the pancreas is not the therapeutic target.

Keywords: Amino acid transport systems, Drug delivery systems, Membrane transport proteins, Pancreas, Pharmacokinetics, Prodrugs, Transporter-mediated drug delivery

Sidonnaisuudet

Ei sidonnaisuuksia.

Kiitokset

Sydämelliset kiitokset väitöskirjatyöni ohjaajille apulaisprofessori Kristiina Huttuselle, professori Jaana Rysälle ja professori Anu Kauppiselle. Suuret kiitokset myös osatöihin osallistuneille kanssakirjoittajille sekä tutkimusvuosien aikana minua tukeneille ja mentoroineille työkavereille. Haluan lisäksi kiittää väitöskirjätutkimustani rahoittaneita tahoja: Itä-Suomen yliopiston terveystieteiden tiedekunnan tohtorikoulua, Emil Aaltosen säätiötä, Suomen Akatemiaa, Päivikki ja Sakari Sohlbergin säätiötä, Magnus Ehrnroothin säätiötä sekä Sigrid Juseliuksen säätiötä.

Viitteet

1. Trajanoska K, Bhérer C, Taliun D, Zhou S, Richards JB, Mooser V. From target discovery to clinical drug development with human genetics. *Nature*. 2023 Aug 24;620(7975):737–45. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06388-8>
2. Sun D, Gao W, Hu H, Zhou S. Why 90 % of clinical drug development fails and how to improve it? *Acta Pharm Sin B*. 2022 Jul;12(7):3049–62. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.02.002>
3. Cocucci E, Kim JY, Bai Y, Pabla N. Role of Passive Diffusion, Transporters, and Membrane Trafficking-Mediated Processes in Cellular Drug Transport. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. Nature Publishing Group; 2017. p. 121–9. <https://doi.org/10.1002/cpt.545> *PubMed PMID: 27804130*.
4. Stieger B, Steiger J, Locher KP. Membrane lipids and transporter function. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V.; 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2021.166079> *PubMed PMID: 33476785*.
5. Pizzagalli MD, Bensimon A, Superti-Furga G. A guide to plasma membrane solute carrier proteins. *FEBS J*. 2021 May 18;288(9):2784–835. <https://doi.org/10.1111/febs.15531>
6. del Amo EM, Urtti A, Yliperttula M. Pharmacokinetic role of L-type amino acid transporters LAT1 and LAT2. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008 Oct;35(3):161–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.06.015>
7. Kanai Y, Segawa H, Miyamoto KI, Uchino H, Takeda E, Endou H. Expression cloning and characterization of a transporter for large neutral amino acids activated by the heavy chain of 4F2 antigen (CD98). *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(37):23629–32. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.37.23629> *PubMed PMID: 9726963*.
8. Kahlhofer J, Teis D. The human LAT1–4F2hc (SLC7A5–SLC3A2) transporter complex: Physiological and pathophysiological implications. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2023 Nov 13;133(5):459–72. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13821>
9. Nakamura E, Sato M, Yang H, Miyagawa F, Harasaki M, Tomita K, ym. 4F2 (CD98) Heavy Chain Is Associated Covalently with an Amino Acid Transporter and Controls Intracellular Trafficking and Membrane Topology of 4F2 Heterodimer. *Journal of Biological Chemistry*. 1999 Jan;274(5):3009–16. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.5.3009>

10. Wu D, Yan R, Song S, Swansiger AK, Li Y, Prell JS, ym. The complete assembly of human LAT1-4F2hc complex provides insights into its regulation, function and localisation. *Nat Commun.* 2024 Dec 1;15(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-47948-4> PubMed PMID: 38697966.
11. Szwed A, Kim E, Jacinto E. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. *Physiol Rev.* 2021 Jul 1;101(3):1371–426. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2020>
12. Norrsell R, Bauden M, Andersson R, Ansari D. L-type Amino Acid Transporter 1 as a Therapeutic Target in Pancreatic Cancer. *Cancer Control.* 2024 Jan 29;31. <https://doi.org/10.1177/10732748241251583>
13. Yanagisawa N, Ichinoe M, Mikami T, Nakada N, Hana K, Koizumi W, ym. High expression of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) predicts poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinomas. *J Clin Pathol.* 2012 Nov;65(11):1019–23. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2012-200826>
14. Lynch CJ, Adams SH. Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Dec 7;10(12):723–36. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.171>
15. Fotiadis D, Kanai Y, Palacín M. The SLC3 and SLC7 families of amino acid transporters. *Molecular Aspects of Medicine.* 2013. p. 139–58. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.007> PubMed PMID: 23506863.
16. Fagerberg L, Hallstrom BM, Oksvold P, Kampf C, Djureinovic D, Odeberg J, ym. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Molecular and Cellular Proteomics.* 2014 Feb;13(2):397–406. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.035600> PubMed PMID: 24309898.
17. Nakada N, Mikami T, Hana K, Ichinoe M, Yanagisawa N, Yoshida T, ym. Unique and selective expression of L-amino acid transporter 1 in human tissue as well as being an aspect of oncofetal protein. *Histol Histopathol.* 2014 Feb;29(2):217–27. <https://doi.org/10.14670/HH-29.217> PubMed PMID: 23824658.
18. Liu M, Weiss MA, Arunagiri A, Yong J, Rege N, Sun J, ym. Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein. *Diabetes Obes Metab.* 2018 Sep 19;20(S2):28–50. <https://doi.org/10.1111/dom.13378>
19. Puris E, Gynther M, Auriola S, Huttunen KM. L-Type amino acid transporter 1 as a target for drug delivery. *Pharmaceutical Research.* Springer; 2020. p. 88–104. <https://doi.org/10.1007/s11095-020-02826-8> PubMed PMID: 32377929.
20. Rautio J, Meanwell NA, Di L, Hageman MJ. The expanding role of prodrugs in contemporary drug design and development. *Nature Reviews Drug Discovery.* Nature Publishing Group; 2018. p. 559–87. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.46> PubMed PMID: 29700501.
21. Huttunen J, Gynther M, Vellonen KS, Huttunen KM. L-Type amino acid transporter 1 (LAT1)-utilizing prodrugs are carrier-selective despite having low affinity for organic anion transporting polypeptides (OATPs). *Int J Pharm.* 2019;571(May):118714. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118714> PubMed PMID: 31610281.
22. Huttunen J, Kronenberger T, Montaser AB, Králová A, Terasaki T, Poso A, ym. Sodium-Dependent Neutral Amino Acid Transporter 2 Can Serve as a Tertiary Carrier for L-Type Amino Acid Transporter 1-Utilizing Prodrugs. *Mol Pharm.* 2023 Feb 6;20(2):1331–46. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00948> PubMed PMID: 36688491.
23. Montaser AB, Järvinen J, Löffler S, Huttunen J, Auriola S, Lehtonen M, ym. L-Type Amino Acid Transporter 1 Enables the Efficient Brain Delivery of Small-Sized Prodrug across the Blood-Brain Barrier and into Human and Mouse Brain Parenchymal Cells. *ACS Chem Neurosci.* 2020 Dec 16;11(24):4301–15. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00564> PubMed PMID: 33228353.
24. Puris E, Gynther M, Huttunen J, Petsalo A, Huttunen KM. L-type amino acid transporter 1 utilizing prodrugs: How to achieve effective brain delivery and low systemic exposure of drugs. *Journal of Controlled Release.* 2017 Sep 10;261:93–104. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.06.023> PubMed PMID: 28662899.
25. Tampio J, Löffler S, Guillon M, Hügele A, Huttunen J, Huttunen KM. Improved L-Type amino acid transporter 1 (LAT1)-mediated delivery of anti-inflammatory drugs into astrocytes and microglia with reduced prostaglandin production. *Int J Pharm.* 2021 May 15;601. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120565> PubMed PMID: 33812973.
26. Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L, ym. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes.* American Diabetes Association Inc.; 2017. p. 241–55. <https://doi.org/10.2337/db16-0806> PubMed PMID: 27980006.
27. Zhang XX, Tian Y, Wang ZT, Ma YH, Tan L, Yu JT. The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. *J Prev Alzheimers Dis.* 2021;1–9. <https://doi.org/10.14283/jpad.2021.15>
28. Huttunen J, Peltokangas S, Gynther M, Natunen T, Hiltunen M, Auriola S, ym. L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT1/Lat1)-Utilizing Prodrugs Can Improve the Delivery of Drugs into Neurons, Astrocytes and Microglia. *Sci Rep.* 2019 Dec 1;9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49009-z> PubMed PMID: 31492955.

29. Kantipudi S, Jeckelmann JM, Ucurum Z, Bosshart PD, Fotiadis D. The heavy chain 4F2hc modulates the substrate affinity and specificity of the light chains LAT1 and LAT2. *Int J Mol Sci.* 2020 Oct 2;21(20):1–11.

<https://doi.org/10.3390/ijms21207573>
PubMed PMID: 33066406.

30. Kobayashi N, Okazaki S, Sampetean O, Irie J, Itoh H, Saya H. CD44 variant inhibits insulin secretion in pancreatic β cells by attenuating LAT1-mediated amino acid uptake. *Sci Rep.* 2018 Feb 12;8(1):2785.

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-20973-2>

Tampio J: L-tyypin aminohappokuljetinproteiini 1:n esiintyminen ja sen vaikutukset lääkeaineiden farmakokinetiikalle haimassa. *Dosis* 2026;42(2):222–38.