

Syövän genetiikka ja uudet hoitomuodot

25.8.2016

Veera Timonen

Luonnontieteen kandidaatin tutkielma

Oulun Yliopisto, Luonnontieteellinen tiedekunta, Biologian tutkinto-ohjelma

Avainsanat: syöpä, geenihoito, immunoterapia, syöpäalttiusgeenit, periytyvät mutaatiot, epigenetiikka

Sisällysluettelo

1. Johdanto - Syöpä on geneettinen tauti

2. Syövälle altistavat geenit

2.1. Caretaker-geenit

2.1.1. *BRCA1, BRCA2, MCPH1*

2.1.2. *XPA-XPG*

2.1.3. *MLH1 ja MSH2*

2.2. Gatekeeper-geenit

2.2.1. *APC*

2.2.2. *p53-geeni*

2.2.3. *RB*

3. Epigeneettiset muutokset syövän synnyssä

3.1. DNA:n metylaatio

3.2. Histonimuutokset

3.3. Mikro-RNA-modifikaatiot

4. Geeni- ja immunoterapia syövän uusina hoitomuotoina

4.1. Onkolyttinen virushoito

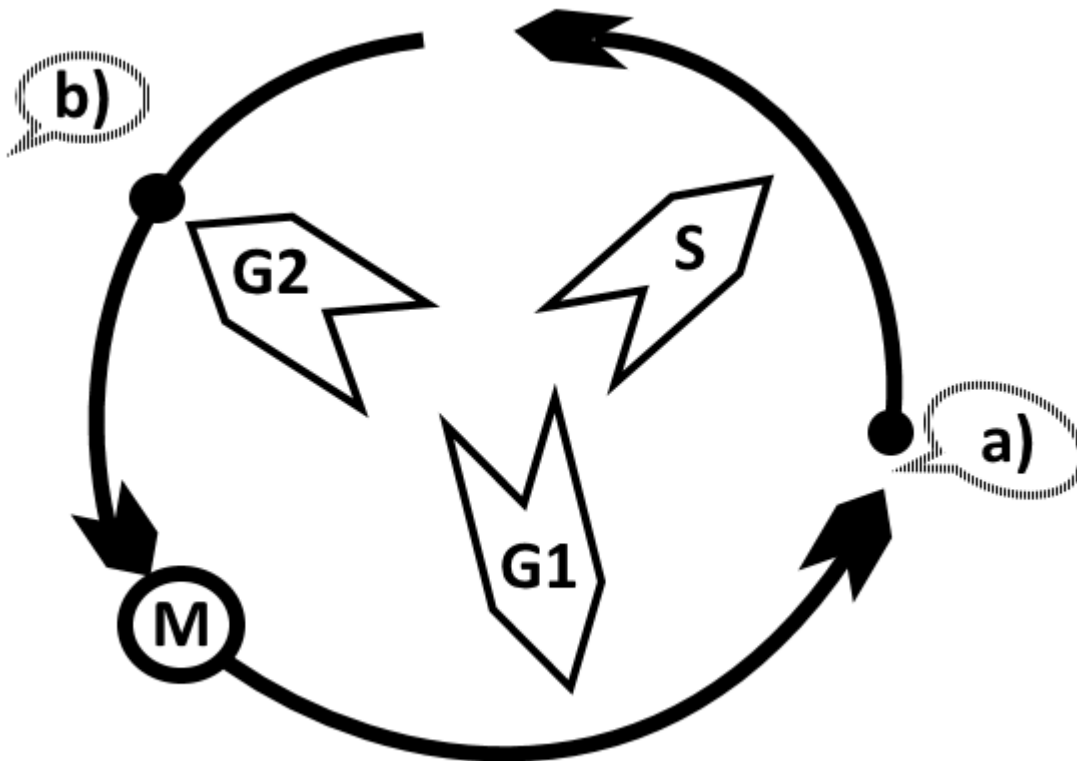
4.2. Immunoterapia

5. Viitteet

1. Johdanto - Syöpä on geneettinen tauti

Syöpä on pohjimmiltaan geneettinen tauti, sillä sen puhkeamiseen liittyy aina epigeneettinen muutos tai mutaatio geeneissä. Tehokkaiisiin hoitoihin johtavaan tutkimukseen tulee siksi sisällyttää syövän biologian lisäksi myös sen geneettisten prosessien tarkastelu. Syöpään johtava solumuutos ei yleensä johdu perinnöllisestä alttiudesta, vaan sen voi aiheuttaa ympäristö; muun muassa tietyt säteilytyypit ja tupakka aiheuttavat deoksiribonukleiinihapon eli DNA:n vahingoittumista. Ihmisen vanhetessa mutaatioiden kasaantumisen yhteisvaikutus johtaa usein syövän puhkeamiseen riskin kasvaessa - on harvinaisempaa, että yksittäinen mutaatio solussa aloittaisi syöpään johtavan ketjureaktion, mutta jo yksittäinen muuntunut solu voi muodostaa kasvaimen. Syöpä voi periytyä alttiutena vanhemmalta lapselle, jos muutos tapahtuu ituradan soluissa.

Syöväksi kutsutaan solukasaumaa, joka on alkanut jakautumaan hallitsemattomasti. Mikä tahansa epiteelisolu voi muuttua karsinoomaksi epäsuopien mutaatioiden johdosta. Normaalisti replikoivat solut jakautuvat 50-60 kertaa, kunnes niiden apoptoosi eli solukuolema käynnistetään. Hyvänlaatuiset kasvaimet eivät siis ole syöpää, sillä ne eivät metastasoi eli lähetä etäpesäkkeitä. Pahanlaatuiset kasvaimet kasvattavat itselleen verisuonia saadakseen ravintoa ja lähettävät irrallisia syöpäsoluja veren mukana muihin osiin kehoa, joihin kiinnittyessään ne muodostavat uusia kasvaimia. Yleisin paikka etäpesäkkeelle on maksa (Weinberg 2014).



Kuva 1. *p53*-geenin mutatoitumisen vaikutukset solusykliissä. Normaalisti *p53*-proteiini inhiboisi välillisesti CDK-sykliinikompleksia jos DNA:ssa tunnistettaisiin mutaatio G1-tarkistuspisteessä (a). *P53* kontrolloi siirtymää G1-vaiheesta replikaatioon. Jos mutaatio havaitaan, se aloittaa DNA:n korjausprosessin. Jos korjaus ei onnistu, *p53* aktivoi apoptoosin. Jos *p53*-geeni on mutatoitunut, solusykliä ei pysäytetä mutaation sattuessa, ja mutaatiot jäävät DNA:han ja johtavat mahdollisesti syöpäsolun syntyyn. (Agarwal ym. 1995) Toinen tarkistuspiste b) löytyy G2-vaiheesta ennen mitoosia.

Solun tarkistuspistesysteemi (**Kuva 1.**) yleensä pysäyttää solusyklin ja ajaa solun apoptoosiin, jos replikaatiossa tapahtuu virhe. Tällaisia solusyklin pysäyttäjiä voivat olla kromosomivaurio tai muu DNA:n vahingoittuminen. Syöpäsoluun puolestaan kohdistuu mutaatioita tai sen epigenetiikka muuttuu niin, että se menettää solusyklin tarkistuspistesysteemin ja pystyy jakautumaan hallitsemattomasti. Kun syöpäsolukon kasvua ei enää rajoiteta eikä DNA:n laatua tarkasteta, siihen kertyvien mutaatioiden määrä kasvaa solujen jakautuessa ja nämä solut muodostavat lopulta syöpäkasvaimen. Telomeerit eli kromosomien päissä olevat toistojaksot lyhenevät

kaikissa muissa kuin kantasoluissa jokaisen replikaation aikana. Telomeraasientsyymi kykenee säilyttämään telomeerien pituutta ja proteiinipäiden rakennetta, mutta sitä löytyy yleensä vain kantasoluista (Alberts ym. 2007). Useat syöpäsolut, jotka ovat ohittaneet normaalin tarkistuspistesysteemin, myös aktivoivat telomeraasientsyymien toiminnan ja täten välttävät solun luonnollisen vanhenemisen. Syöpäkantasolut (CIC, CSC) ovatkin hankalimpia hävitettäviä syöpäsoluja hoidoissa ja voivat laukaista syövän kasvun uudelleen, jos niitä ei ole onnistuttu kokonaisuudessaan poistamaan tai tuhoamaan. Syöpäkasvaimesta löytyy hitaammin jakautuvia, muuntuneita kantasoluja, ja rajallisen eliniän omaavia, nopeammin jakautuvia soluja. Muuntuneet kantasolut ovat vastuussa kasvaimen koon ylläpidosta. Syöpien hoito olisi paljon tehokkaampaa, jos löydettäisiin varma keino hävittää kasvaimen ylläpidosta vastaava kantasolurykelmä - nykyisellään ne vaikuttavat sietävän syöpähoitoja paremmin kuin vaarattomammat, nopeammin jakautuvat syöpäsolut. Jos kasvaimesta jää osa kantasoluista jäljelle hoitojen jälkeen, on todennäköistä, että syöpä uusiutuu. On havaittu, että kantasoluilla on kyky jakaa alkuperäinen DNA:n templaattijuoste niille tytärsoluille, joista tulee uusia kantasoluja - tämä tekee niistä erityisen vahvoja hoitoja vastaan. Epäillään, että kyseiset syöpäkantasolut ovatkin usein epigeneettisen muutoksen seurausta. Perinteisiä hoitoja tarkemmat geeni- ja immunoterapia tarjoavat nykyaikana uusia ja lupaavia mahdollisuuksia tämän ongelman ratkaisemiseen (Cripe ym. 2009).

Syöpää on mahdollista hoitaa kohdennetuilla geeniterapiamuodoilla, joissa isäntäsoluun esitellään vektorin avulla hoidolle hyödyllinen geeni, joka voi esimerkiksi herkistää ympäröivän solukon muille lääkehoidoille. Vektorina voi toimia esimerkiksi liposomi tai virus, jonka DNA:ta on muokattu. Geeniterapiaa käytetään useimmiten viimeisenä keinona syövän hoidossa sen kalleuden ja invasiivisuuden vuoksi. Hoidoissa on myös riskinsä - muun muassa kehon omat onkogeeneit voivat aktivoitua. Siirtogeenin tulee päätyä kohdesolun tumaan, jossa se alkaa tuottaa proteiinia normaalin geenin tapaan proteiinisynteesin aikana (Sariola ym. 1993). Myös immunoterapian kiinnostavin ominaisuus on tarkemmin kohdennettu hoitava vaikutus, jolla pystytään välttämään laajemman kehon alueen vahingoittuminen.

2. Syövälle altistavat geenit eli onkogeenit

Hankituksi syöväksi kutsutaan sellaista syöpää, joka on alkanut satunnaisena mutaationa jossain kohdassa kehoa, ja joka ei vaikuta jälkeläisten alttiuteen saada syöpä. Perinnölliseksi syöväksi kutsutaan syöpää, joka on lähtenyt liikkeelle vanhempien ituradan soluissa alkaneesta mutaatiosta, ja jonka mutaatiot ovat läsnä jälkeläisen kehon jokaisessa solussa. Joissain tapauksissa alttius saada perinnöllinen syöpä on 100 % (complete penetrance). Peritty syöpäalttius on usein huonompiennusteinen kuin hankittu syöpä, sillä periessä tietty mutaatio se ilmenee kehon jokaisessa solussa, kun taas hankittu mutaatio saattaa löytyä vain yhdestä kohdasta kehoa. Periytyvät syöpäalttiusgeenit voidaan jakaa kahteen ryhmään: Laihon (2002) artikkelissa suomalaisittain huoltojoukkoihin (caretaker-geenit) ja portinvartijoihin (gatekeeper-geenit). Gatekeeper-geenit rajoittavat solukon kasvua ja ehkäisevät mutatoituneiden solujen lisääntymisen. Caretaker-geenit huolehtivat DNA:n korjaamisesta esimerkiksi säteilyn aiheuttamien mutaatioiden jälkeen (Kleinsmith 2014).

Onkogeenien lisäksi myös proto-onkogeenien tiedetään aiheuttavan syöpää. Proto-onkogeenit ovat normaaleja genejä, joiden tuottamat proteiinit voivat olla solulle välttämättömiä, mutta jotka syystä tai toisesta läpikäyvät mutaation, joka saa ne edesauttamaan syövän muodostumista. Proto-onkogeenit siis muuttuvat onkogeeneiksi esimerkiksi geenin promoottorialueeseen kohdistuneen pistemutaation johdosta. Proto-onkogeeneihin kuuluvat muun muassa *RAS*- ja *RET*-geenit. Solun jakautumista edistävän *RAS* (rat sarcoma)-geeniperheen on havaittu olevan somaattisesti mutatoitunut suuressa osassa syöpiä, ja näiden geenien mekanismien selvittäminen oli suuri läpimurto geneettiselle syöpätutkimukselle. *RAS*-geenien tuottamat proteiinit ovat signaloijia, jotka vaikuttavat solun jakautumiseen ja erilaistumiseen kiihdyttävästi sitoutumalla GTP:hen eli guanosiinitrifosfaattiin, ja mutaation johdosta nämä proteiinit voivat jäädä jatkuvasti aktiivisiksi ja aiheuttaa solujen liiallisen jakautumisen ja siten kasvaimen muodostumisen. *RAS*-geneistä *HRAS*, *KRAS* ja *NRAS* on yhdistetty ihmisellä tavattavaan syöpään, joista *KRAS* on yleisin – *KRAS4B*:n mutaatio esiintyy jopa 21% kaikista syövistä (Zhang & Cheong 2016). Useimmat syövät johtuvat sarjasta mutaatioita, eivätkä niinkään yksittäisestä viallisesta

geenistä. Tietyt geenimutaatiot kuitenkin kasvattavat syöpäriskiä merkittävästi. Gatekeeper-geenien tuotteet kontrolloivat solujen kasvua, ja kun geeniparin kummassakin osapuolella on vikaa, kasvua hillitsevää proteiinia ei enää muodostu. Tämä johtaa hallitsemattomaan kasvuun ja kasvaimen muodostumiseen. Caretaker-geenit ovat osallisina solujen DNA:n korjaamisessa heti vahingon synnyttyä. Jos esimerkiksi väärin yhdistyneiden emästen korjaukseen (mismatch repair) liittyvä geeni on viallinen, haitallisia mutaatioita ei korjata ja niiden lukumäärä jatkaa kasvamistaan. Lopputuloksena on epämuodostunut syöpäsolukko, joka tunkeutuu ympäröivään kudokseen (Deininger 1999).

2.1. Caretaker-geenit

2.1.1. *BRCA1, BRCA2, MCPH1*

BRCA-geenit ovat yksi laajalti tunnettu esimerkki caretaker-geeneistä. *BRCA*-nimitys rintasyöpägeneille tulee sanoista 'breast cancer'. Kaikista rintasyöpätapauksista perinnöllisiä on yhteensä vain noin 10 %, mutta riski syövän muodostumiselle on alttiuden perijöille korkea. Rinta- ja munasarjakudosta saatetaan jopa poistaa etukäteen, jos ennuste syövän puhkeamiselle on huono. *BRCA*-geenit pitävät huolta erityisesti kaksoisjuosteen katkeamisten korjaamisesta. Ne on yhdistetty myös muun muassa munasarjasyöpäalttiuteen (Kleinsmith 2014).

MCPH1-geenin tuottaman proteiinin alhaisen tuotannon on havaittu vaikuttavan *BRCA*-geenien ohella rintasyövän kehittymiseen. *MCPH1*-proteiini eli microcephalin saa nimensä sen aiheuttamasta pienipäisyydestä vauvoilla, jos geenissä on tapahtunut homotsygoottinen mutaatio. *MCPH1* hallinnoi *BRCA*-geenien vahingoittumisvastetta (damage response) ja käyttäytyy gatekeeper-geenien tapaan kasvaimen kasvun vaimentajana. Microcephalinin määrän korrelointi kasvainkoon kanssa antaa mahdollisuuden käyttää sitä syövän ja erityisesti tiehyekarsinooman biomarkerina (Richardson ym. 2011). Sama havaittiin muun muassa pohjoissuomalaisilla tehdyssä tutkimuksessa (Mantere ym. 2016). Next generation sequencing-

eli rinnakkaissekvensointitekniikan avulla huomattiin sekä perinnöllisissä että sporadisissa rintasyöpänäyhteissä toistuva heterotsygoottinen mutaatio, joka korreloi vahvasti rintasyöpäalttiuden kanssa. Rinnakkaissekvensoinnissa pystytään sekvensoimaan suuria määriä DNA:ta samaan aikaan edullisemmin kuin perinteisessä Sanger-sekvensoinnissa. Löydetty mutaatio on deleetio, MCPH1 c.904_916del, ja se aiheuttaa MCPH1-proteiinin tuotannon lakkaamisen. Tämä puolestaan johtaa kromatiinin vialliseen löystymiseen ja DNA:n korjaamiseen osallistuvien proteiinien kulun estymiseen. *BRCA1* ja *BRCA2* ovat yhdessä *PALB2*-geenin kanssa parhaiten tunnettuja perinnöllisen rintasyövän aiheuttajia, mutta uusia syöpäalttiusgeenejä etsitään ja löydetään jatkuvasti. Vain 30% perinnöllisistä rintasyöivistä selittyy tällä hetkellä tunnetuilla geenimutaatioilla, joten uusien syöpään johtavien geenimutaatioiden ja –mekanismien löytäminen on ehdottoman tärkeää.

Toinen *BRCA1*:n kanssa vuorovaikuttava geeni on *Abraxas*. *BRCA* toimii kasvaimen vaimentajana vain, jos sen C-terminuksen proteiineihin sitoutuvat BRCT-domainit ovat toiminnassa. *Abraxas*-proteiini vuorovaikuttaa juuri tämän BRCT-domainin kanssa ja mahdollistaa *BRCA1*:n kasvainta vaimentavan vaikutuksen (Castillo ym. 2014).

BRCA2-geenin Stop-kodoni K3326X liittyy myös rinta-, eturauhas- ja munasarjasyöpien kohonneeseen riskiin. Sen tapauksessa *BRCA2*-geenin koodaava juoste on mutatoitunut siten, että sen tuottamasta proteiinista puuttuu 93 toiminnalle tärkeää aminohappoa (Meeks ym. 2015).

2.1.2. XPA-XPG

Xeroderma pigmentosumiksi kutsutaan perittyä resessiivisistä alleeleista johtuvaa vakavaa alttiutta auringonvalosta johtuvalle ihosyövälle, josta vastuussa on mutatoitunut *XP*-geeni. *XP*-taudilla on useita alalajeja: *XPA*, *XPB*, *XPC*, *XPD*, *XPE*, *XPF*, *XPG* ja *XPV*. Jokaisen niistä aiheuttaa eri geeni, joka normaalisti vastaisi UV-säteilyn aiheuttamien vaurioiden korjaamisesta DNA:ssa. Sairaudessa DNA:n korjausmekanismit ovat vialliset. Auringosta saatava UV-valo aiheuttaa pyrimidiini-dimeerien mutaatioita ihosoluissa, ja normaalisti tämä korjattaisiin poistamalla virheellinen emäs (excision repair), joka xeroderma pigmentosumia sairastavilla ei toimi. Sen

seurauksena jo vähäinen altistuminen auringonvalolle voi aiheuttaa haitallisia ja peruuttamattomia mutaatioita, jotka johtavat ihomuutosten kautta ihosyövän, kuten tyvisolusyöpä, muodostumiseen (Kleinsmith 2014).

Xeroderma pigmentosum on ollut avuksi syövän alkuvaiheiden tutkimisessa. Proteiini, jota *XP*-geenit normaalisti tuottaisivat, pitäisi yllä katalaasitasoja, mutta taudista kärsijöillä se toimii epänormaalisti tuottaen liian vähän tai ei lainkaan katalaasia. Katalaasi suojelee soluja oksidatiiviselta stressiltä, jota ROS (reactive oxygen species)-molekyylit aiheuttavat. Se siis toimii antioksidanttina ja pelkistäjänä. Tutkimuksissa on huomattu, että xeroderma-potilaiden katalaasintuottoa lisätessä myös auringonpolttamat ja -vauriot vähenevät. Katalaasin yliekspressointi voidaan saada aikaan käyttämällä lentivirusta *XPC*-geenin tuotannon uudelleenaktivoimiseen, minkä johdosta valoherkkyys etenkin monogeenisessä tyyppin C xeroderma pigmentosumissa on saatu vähenemään (Rezvani ym. 2010).

2.1.3. MLH1- ja MSH2-geenit

MLH1- ja *MSH2*-geenit ovat mukana solun mismatch-korjauksessa tilanteissa, joissa emäsparit ovat yhdistyneet väärin. Näitä kahta geeniä on tutkittu runsaasti (Deininger 1999), ja *MLH1* yhdistetään periytyvään Lynchin tautiin, jossa potilaalle kehittyy paksusuolen alueelle syöpä. Epigeneettiset muutokset molempien geenien mismatch-korjauksessa voivat johtaa mutaatioiden kerääntymiseen mikrosatelliitteihin. Mikrosatelliiteista tulee epävakaista ja lopulta muutokset johtavat syöpään. Näin kehittynyttä syöpää kutsutaan mikrosatelliitti-instabiiliksi paksu- tai peräsuolensyöväksi (Sammalkorpi 2008). Tällainen epigeneettinen muutos voi olla geenin promoottorialueen metylaatio, kun normaalitilanteessa promoottorialueen tulisi olla metyloimaton. *MSH2*-geeni on puolestaan liitetty erääseen Lynchin oireyhtymän alalajiin eli Muir-Torren syndroomaan (Zhu ym. 2016).

2.2. Gatekeeper-geenit

2.2.1. APC

Kromosomissa 5q21-q22 sijaitseva APC (Adenomatous Polyposis Coli)-geeni kuuluu kasvua hillitseviin portinvartijageeneihin ja väärin toimiessaan aiheuttaa suvuttain esiintyvää familiaalista adenomatoosia eli paksusuolen polyypitautia, johon liittyy kohonnut syöpäriski. Hoitamattomana tauti johtaa lopulta paksusuolen alueen syöpään kaikissa tapauksissa, sillä sen penetranssi on 100%. APC-geenin tuottaman proteiinin puuttuminen yhdistetään muun muassa rintasyöpään sekä paksusuolensyöpään. APC-geenin vioittumiseen johtavat mutaatiot voivat olla esimerkiksi nonsense- tai missense-mutaatioita, tai deleetioita, kuten Liu ym. (2006) tutkimuksessa havaittiin. Normaalitilanteessa geenin tuotteena olisi proteiini, joka inhiboi Wnt-signaalipolkua. Wnt-signaalipolku hallinnoi solun jakautumista ja erilaistumista. APC-proteiini muodostaa aksiinin ja glykogeenisynteesikinaasi 3 β :n kanssa kompleksin, joka estää β -kateniinin muodostumisen. Kun APC-proteiinin tuotto on estynyt geenimutaation vuoksi, β -kateniini aktivoi useiden onkogeenien transkriptiofaktoria tumaan päätyessään, ja potentiaali syövän synnylle on valmis.

2.2.2. p53

Kasvaimen vaimentaja p53-geenin tuottaman p53-proteiinin puuttuminen liitetään useaan syöpätyyppiin. Li-Fraumenin syndroomassa mutaation perineet jälkeläiset perivät myös alttiuden sairastua useanlaiseen syöpään samaan aikaan. P53-proteiini aiheuttaa apoptoosin tai korjauksen käynnistymisen vioittunutta DNA:ta sisältävissä soluissa, joiden haitalliset mutaatiot voisivat johtaa syöpäkasvaimen syntyyn. Sen puuttuessa solusykliä ei pysäytetä (**Kuva 1.**) ja mutaatiot alkavat kasautua. P53-mutaatio on löydetty lähes puolesta kaikista syöpätapauksista (Kleinsmith 2014). Normaalitapauksessa p53-proteiinin läsnäolo aikaansaa solusyklin pysähtymisen aina, kun DNA:ssa havaitaan virheitä; G2-tarkistuspisteessä p53 sitoutuu E2F-geeniin ja estää proto-onkogeenien transkription aloittamisen. P53-proteiini myös indusoi p21-proteiinin tuoton eri geenissä, joka puolestaan inhiboi solusyklin jatkumiselle tärkeää CDK:ta.

CDK4/6 yhdistyy sykliini D:n kanssa muodostaen cyclin-CDK-kompleksin G1-tarkistuspisteen jälkeen, jos DNA:ssa ei havaita vahinkoa (Weinberg 2014). Kun p21-proteiinin tuotto estyy p53-proteiinin poissaolon vuoksi, solusykliä ei säädellä ja mahdolliset mutaatiot saavat tilaisuuden monistua (**Kuva 1**).

2.2.3. RB

Aiheuttamansa retinoblastooma-sairauden mukaan nimetty *RB*-geeni toimisi normaalitilanteessa solukon portinvartijana erityisesti silmän verkkokalvolla eli retinassa pysäyttäen mutatoituneen solun tai solukon kasvun. Viallinen tai puuttuva ituradan *RB*-geeni puolestaan johtaa solun tarkistuspistesysteemin ohittamiseen, jolloin mutatoitunut solu pystyy jakautumaan hallitsemattomasti. Yhden viallisen *RB*-geenin omistaja saattaa siis olla täysin terve, kunnes parin toinen osapuoli käy läpi taudin puhkeamiseen tarvittavan mutaation. *RB*-geenin on havaittu liittyvän muihinkin syöpätyyppeihin, kuten leukemiaan ja osteosarkoomaan (Kleinsmith 2014).

3. Epigeneettiset muutokset syövän synnyssä

Epigenetiikka on DNA-sekvenssin ulkopuolista informaatiota, jota käytetään geenien ekspresion säätelyyn. Epigeneettiset muutokset voivat olla periytyviä jos ne tapahtuvat sukusoluissa, mutta ne voidaan myös "ohjelmoida" uudelleen – muutosten pohjalta suunnitelluilla lääkkeillä voidaan esimerkiksi aktivoida kasvunrajoitegeenin toiminta uudelleen, kun epigeneettinen muutos on ensin hiljentänyt sen. Demetyloivia lääkkeitä käytetään jo muun muassa leukemian hoidossa, ja histonien modifikaation pohjalta on kehitelty histonideasetylaasien estäjiä esimerkiksi epilepsian hoitoon. Epigenetiikalla on osansa syövän synnyssä, sillä epigeneettisistä säätelymekanismeista normaalisti toimivaan soluun vaaditaan onnistuneet DNA:n hypo- ja hypermetylaatiot, siihen sitoutuvien proteiinien modifikaatiot sekä mikro-RNA-välitteisen säätelyn toimiminen. Nämä kolme aihealuetta ovat epigenetiikan ja syövän yhteyden tutkimisessa tärkeimpiä. Esimerkiksi syövän synnyssä DNA:n metylaatio voi johtaa kasvunrajoitegeenin promoottorialueen vaimenemiseen, eli metylaatio itsessään voi toimia onkogeeninä. Syöpä voi myös alkaa geneettisen leimautumisen häiriintyessä. DNA:n metylaatio on parhaiten tunnettu epigeneettinen muutos, ja sen pohjalta on kehitelty genomilaajuisia analysointimenetelmiä - genomilaajuinen hypometylaatio liitetään vahvasti syöpään. Toinen epigenetiikkaan liittyvä syövän syntytaapa on epäonnistunut histonien modifikaatio, jonka tutkiminen on osoittautunut haasteelliseksi. Kolmas tunnettu keino syövälle syntyä epigeneettisesti on mikro-RNA:n toimiminen kasvunrajoitegeenin vaimentajana, jonka tunnistamiseksi on kehitelty miRNA-mikrosiruanalyysi (Tieva ja Peltomäki 2012).

Geneettisessä leimautumisessa peritty geeni on enemmän tai vähemmän aktiivinen riippuen siitä, kummalta vanhemmalta se on peritty. Sen ajatellaan olevan evolutiivinen hyöty eri sukupuolille. Geenit voivat leimautua paternaalisesti tai maternaalisesti, ja kloonatuilta eläimiltä puuttuu tämä ominaisuus. Epigeneettinen erilaisuus normaaliin hedelmöitykseen verrattuna voi aiheuttaa ennustamattomia vaikutuksia kloonatun eläimen kasvaessa. Poikkeuksena ovat identtiset kaksoset – kummankin yksilön geenit ovat samat, minkä ansiosta pelkkiä epigeneettisiä muutoksia on helppo tarkastella. Tämä avaa mielenkiintoisia mahdollisuuksia epigenetiikan

tutkimukselle. Esimerkiksi elämäntyylin ja ruokavalion vaikutus ihmisen geeneihin voi osoittautua yllättäväksi (Taipale 2006).

3.1. DNA:n metylaatio

DNA:n metylaatioissa metyyliryhmä sitoutuu sytosiininukleotidiin ja on vastuussa useasta kehitykselle tärkeästä tapahtumasta, kuten X-kromosomin vaimentamisesta ja kromatiinin rakenteen säätelystä ja muokkauksesta. Metyloitava kohta DNA:ta sijaitsee guaniinin vieressä (3'-CpG-5'), ja metyloidut alueet ovat yleensä geenien välissä niiden normaalien säätelyalueiden sijaan. Epigeneettisesti mutatoituneessa syöpäsolussa metylaatioprofiili on täysin päinvastainen - promoottorialueet saattavat olla hypermetyloituneita ja geenien väliset alueet puolestaan hypometyloituneita, mikä pystytään huomaamaan paksusuolisyövän tapauksessa jo taudin varhaisessa vaiheessa. Geeni voi vaimentua, jos sen promoottorialue metyloidaan, ja tämä voi johtaa ongelmiin, jos geeni sattuu olemaan vaikkapa kasvua rajoittava. Promoottorialueen hypermetylaatio liitetään erityisesti muun muassa solusyklin säätelyn vääristymiseen ja DNA:n korjauksen vioittumiseen. Esimerkiksi Lynchin tautiin liittyvä MLH1-geenin epigeneettinen muutos kahdentumisvirheiden korjauksessa on juurikin hypermetylaatio. Hypometylaatio voi olla genomilaajuinen ja voimistua syövän edetessä ja lähettäessä etäpesäkkeitä, ja sitä havaitaan lähes kaikissa ihmisen yleisimmissä syövässä (Tieva ja Peltomäki 2012).

3.2. Histonimodifikaatiot

DNA kiertyy solussa histoniproteiinien ympärille kromatiiniksi ja histoneille muodostuu 20-30 aminohapon pituisia histonihäntiä kemiallisten reaktioiden kautta (muun muassa metylaatio tai asetylaatio ja muut kovalenttiset muokkaukset). Nämä histonihänniksi kutsutut aminohappoketjut vaikuttavat kromatiinin rakenteeseen ja voivat joko aktivoida tai inaktivoida

sitä. Eukromatiinissa histonien toiminta on transkription onnistumiselle usein välttämätöntä, jotta RNA-polymeraasi pystyisi kulkemaan esteettä DNA-rihmaa pitkin (Taipale 2006). Syövässä vääränlainen histonihäntien muokkaaminen johtaa kasvunrajoitegeenin hiljenemiseen. Sikiön kantasoluissa histoneiden modifikaatioon liittyvät aktivoivat ja repressoivat merkit, jotka ohjaavat solun kehitystä. Jo alkiovaiheessa tapahtuvat epigeneettiset muutokset voivat johtaa syöpään (Tieva ja Peltomäki 2012).

Adaptoriproteiinit kuten kromatiinia pakkaava HP1 ja kromatiinia avaava WDR5 liittyvät vahvasti histonien toimintaan. Ne sitoutuvat histoniin tuoden mukanaan esimerkiksi transkriptiotekijöitä tai repressoriproteiineja, ja vaikuttavat kromatiinin rakenteeseen. Kromatiinin avautuminen tai pakkautuminen johtaa geenin ekspressioon tai hiljenemiseen.

3.3. Mikro-RNA-muutokset

Mikro-RNA:t ovat lyhyitä RNA-pätkiä, jotka osallistuvat replikaatioon, apoptoosiin ja solujen erilaistumiseen reagoimalla lähetti-RNA:n kanssa. Edellämainitut epigeneettiset muutokset voivat olla syynä mikro-RNA:n epänormaaliin ilmentymiseen. Epänormaali ilmentyminen ja viat mikro-RNA:n pariutumisessa lähetti-RNA:n kanssa johtavat solulle epäsuotuisiin muutoksiin, kuten translaation epäonnistumiseen (Tieva ja Peltomäki 2012).

4. Geeni- ja immunoterapia syövän uusina hoitomuotoina

Syöpää on perinteisesti hoidettu kemoterapian lisäksi muilla menetelmillä, jotka tappavat syöpäsolut, mutta vahingoittavat ohessa myös terveitä soluja. Tästä johtuu esimerkiksi potilaan hiusten putoaminen ja yleisterveyden heikentyminen sytostaattihoidon ohessa. Nykyaikana tieteen ottaessa harppauksia syövän ymmärtämisessä, on alettu kehittää paljon tarkempia hoitomuotoja, jotka säästävät kehon terveitä soluja. Näistä kaksi tunnetuinta esimerkkiä ovat onkolyttinen virushoito ja immunoterapia.

4.1. Onkolyttinen virushoito

Onkolyttinen virushoito on erityisen lupaava syövän geenihoidon muoto, sillä sen avulla syöpäsoluja tuhoava vaikutus saadaan kohdennettua tehokkaasti haluttuun solukkaan viereisten solujen minimaalisella vahingoittumisella. Lisätyt muunnellut virukset kiertävät kehoa veren ja nesteiden mukana, kunnes löytävät kohdesolun samoilla reseptoriosilla, jolloin ne kiinnittyvät ja alkavat monistua solun sisällä. Kemoterapiassa syöpäsolujen lisäksi kaikki nopeasti jakautuvat solut kuten hiusten ja kynsien solut kärsivät, kun taas geenihoidoissa kyetään tunnistamaan kasvaimet ja ottamaan ainoastaan niiden solut kohteeksi. Vektorina käytettävän viruksen perimä pystytään siis muokkaamaan niin, että se tunnistaa sairaan solun ja ottaa sen kohteeksi jättäen normaalit solut rauhaan. Tunnistaminen tapahtuu muuntuneen solun ympäristön, solun signaalintipokujen tai syöpäsolulle tyypillisten reseptorien avulla. Syövän hoidossa käytetään yleensä RNA-virusvektoreita, mutta ne eivät toimi jakautumattomissa soluissa. Geeni voidaan myös ruiskuttaa DNA:na suoraan kohdekudokseen. Onkolyttisissä hoidoissa käytettävät virukset jaetaan kahteen luokkaan: DNA- ja RNA-viruksiin. Tällainen jaottelu tehdään sen vuoksi, että

DNA-virukset replikoivat tumassa, ja RNA-virukset solulimassa, ja tämä voi vaikuttaa niiden tehokkuuteen ja tapaan tappa kohdesoluja.

Solun pinnalla on reseptoreita, joihin viruksen proteiini-kuoren lisäkkeet sopivat. Näin solu saadaan vastaanottavaiseksi viruksen sisällä olevalle DNA:lle, joka muodostuu osaksi kohdesolun perimää. Virus ottaa kohdesolun haltuunsa ja saa sen monistamaan uusia virusten osia, jotka kootaan valmiiksi viruksiksi, ja lopulta uudet virukset hajottavat solun ja suuntaavat kohti uusia soluja. Geeniterapiassa uudet kohdesolut ovat aina syöpäsoluja.

Onkolyttisessä virushoidossa viruksen perimää on muokattu siten, että se pystyy jakautumaan ainoastaan syöpäsoluissa. Useimmiten käytössä on DNA-viruksiin kuuluva adenovirus. CSC-teorian mukaan syöpäkantasolut ovat isoin ongelma uusiutuviissa syövässä, sillä ylijääviä syöpäsoluja ei perinteisillä keinoilla aina pystytä varmasti eliminoimaan. Lyhenne CSC (cancer stem cell) tarkoittaa pluripotentteja syöpäkantasoluja, joilla on kyky aloittaa uuden kasvaimen muodostus tehokkaasti niiden muovautumiskyvyn ja lääkeresistanssin vuoksi – ne pystyvät jossain määrin vastustamaan kemoterapiaa ja säteilyhoitoja (Cripe ym. 2009).

Herpes simplex on DNA-virus, jota on käytetty onnistuneesti vektorina muun muassa aivokasvainten geenihoidossa, ja se on tarkoitukseen sopiva jo senkin vuoksi, että se normaalistikin aiheuttaisi apoptoosia. Aivoissa sijaitsevista kasvaimista on löydetty usein leikkauksen jälkeen CIC-soluja, mikä on aivosyövän herkän paikan vuoksi luonnollisesti ongelmallista. Injektioina annetut muunnellut herpesvirukset ovat osoittautuneet turvallisiksi myös melanooman ja tiettyntyyppisen karsinooman hoidossa (squamous cell carcinoma). Vaikutus perustuu *ICP34.5*-geeniin, jossa tapahtunut deleetio häiritsee isäntäsolun mekanismia proteiinisynteesin pysäyttämiseen, ja täten antaa virukselle mahdollisuuden monistua tehokkaasti solun sisällä. Tutkimuksissa on myös todettu, että nestiini-proteiini on kytköksissä hermokudoksen tuumorigeneesiin eli kasvaimen muodostumiseen, ja rQnestin34.5-virusmutanttia on käytetty onnistuneesti Otsuki ym. (2008) toimesta gliomasolujen ollessa kohteena (Cripe ym. 2009). Erityisesti gliomalla eli keskushermoston kasvaimella on perinteisesti ollut uhkaava ennuste, joka on kuitenkin parantunut uusien hoitomuotojen ja ymmärryksen kasvamisen myötä. Gliomasolut ovat hermotukisolujen kasvainten soluja, ja

pahin gliooman muoto on glioblastooma, jossa elinajanodote on korkeintaan muutama vuosi. Glioomia on nykyisellään hoidettu leikkaus- solunsalpaaja- ja sädehoidolla, mutta tulevaisuudessa onkolyttisistä virushoidosta saattaa olla enemmän apua syövän uusimisen ehkäisemisessä ja viimeistenkin syöpäkantasolujen hävittämisessä, jollaiseen tarkkuuteen perinteinen leikkaus ei yllä. Erityisesti erilaistumisasteen 4 astrozytomaassa mahdollisimman täydellisestä tuloksesta olisi hyötyä, sillä glioomasolut vaeltavat koko aivostossa. Suomessa on kehitelty menetelmää adenoviruksen ja insertoidun tymiinikinaasigeenin kanssa, joka johtaisi tiettyä viruslääkettä annettaessa syöpäsolujen selektiiviseen tuhoutumiseen (Mäenpää 2010).

Synteettisiä DNA:n pätkiä eli antisense-oligonukleotideja on tutkittu vaihtoehtona perinteiselle syöpähoidolle. Ne koodaavat RNAasi-entsyymiä, ottavat kohteekseen ennalta määrätyn RNA:n ja estävät haitallisen proteiinin muodostumisen rikkomalla sen. Tässä menetelmässä syövän genetiikan tulee olla täysin selvillä, joka voi valitettavasti olla hankala asia selvittää monimutkaisempien syöpien tapauksessa (Sariola ym. 1993).

4.2. Immunoterapia

Immunoterapia on geenihoidon ohella uusi ja lupaava menetelmä syövän hoitoon. Siinä valjastetaan kehon oma, luonnollinen immuunipuolustus syöpäsolujen hävittämiseen. Voidaan esimerkiksi stimuloida immuunipuolustusta työskentelemään aktiivisemmin, tai lisätä kehoon keinotekoisia immuunipuolustuksen komponentteja, kuten immuunipuolustusproteiineja – kaikessa yksinkertaisuudessaan tavoitteena on saada komponentit tunnistamaan syöpäsolut spesifisesti, kuten geeniterapiassakin. Kehoon lisätyt komponentit kiertävät verenkierron tai imunesteen mukana kunnes löytävät kohteensa ja kiinnittyvät siihen. Kiinnittynyt vasta-aine voi kutsua lisää apujoukkoja tuhoamaan kasvainta.

Immunoterapia jaetaan neljään alalajiin: epäspesifiseen immuunijärjestelmän stimulaatioon, lisättyihin monoklonaalisiin vasta-aineisiin, immuunijärjestelmän tarkastuspisteiden tukkimiseen

(tarkistuspisteinhibiittorihoito) ja rokotusstrategiointiin. Epäspesifisessä immuunijärjestelmän stimulaatiossa voidaan injektoida esimerkiksi sytokiinejä tehostamaan vastetta muihin hoitoihin. Paras hoitotulos saadaan, kun yhdistellään eri menetelmiä, esimerkiksi sytokiinihoito kemoterapian sekä leikkaushoidon kanssa (American Cancer Society 2015). Monoklonaaliset vasta-aineet ottavat syöpäsolun pinnalla olevat antigeenit kohteeksi ja kutsuvat muita immuunijärjestelmän komponentteja tuhoamaan niitä. Monoklonaalisia vasta-aineita valmistetaan laboratoriossa vastaamaan tiettyä antigeenia syöpäsoluissa. 90-luvun alussa TAA:t eli kasvainten omat antigeenit löydettiin ja tämän myötä voitiin alkaa suunnitella syöpä-antigeeneille spesifisiä, sytotoksisia T-lymfosyyttejä eli tappaja-T-soluja. Näiden T-lymfosyyttien luontaisen aktivoinnin havaittiin olevan osalla potilaista heikkoa. Mahdollinen syy tälle voi olla esimerkiksi kasvainta suojeleva mikroympäristö. Immunoterapiaa käytetään mm. ruoansulatuselimistön syöpien hoidossa, ja hoidon kohteena voi olla esimerkiksi neoantigeeni, joka on lähtöisin geenistä, joka koodaa kasvaimeen liittyviä somaattisia mutaatioita. Kasvaimet, joiden ongelmana on DNA:n mismatch-korjauksen viallisuus, vaikuttavat vastaavan tarkistuspisteinhibiittorihoitoon parhaiten (Moehler ym. 2016).

Rokotushoidoissa keskitytään tiettyjen T-solujen aktivointiin – tämä tapahtuu siten, että syöpäsolut alkavat mutatoituaan tuottaa antigeeniä eli peptidi/MHC-1-kompleksia, jonka T-lymfosyytit tunnistavat, ja tuhoamisreaktio syöpäsoluja vastaan alkaa. Myös dendriittisolut osallistuvat prosessiin. Syöpäsolun pinnalla voi olla esimerkiksi proteiini tai reseptori, jonka lymfosyytit tunnistavat. Syöpähoitona käytettävä rokote saattaa sisältää esimerkiksi inaktivoituja syöpäsoluja tai antigeenejä, joille keho kehittää suojan. Tietty syöpätyypit voidaan jopa estää rokotteella, sillä jotkin syövät johtuvat viruksista. Esimerkiksi ihmisen papilloomavirus voi aiheuttaa kohdunkaulan syöpää (Hussein ym. 2016) ja on ehkäistävissä. Uudenlaisten, biologisten syöpähoitojen tulevaisuus vaikuttaa lupaavalta: tulevaisuudessa syövän voittaminen on entistä tarkempaa ja tehokkaampaa.

5. Viitteet

- Agarwal, M. L., Agarwal, A., Taylor, W. R., & Stark, G. R. (1995). **p53 controls both the G2/M and the G1 cell cycle checkpoints and mediates reversible growth arrest in human fibroblasts**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(18), 8493–8497.
- Alberts, B. (2007) **Molecular Biology of the Cell**. New York: Garland Science.
- American Cancer Society (2015) **Cancer Immunotherapy**.
<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003013-pdf.pdf> Luettu 04/2016.
- Castillo A, Paul A, Sun B, Huang TH, Wang Y, Yazinski SA, Tyler J, Li L, James You M, Zou L, Yao J & Wang B (2014) **The BRCA1-interacting protein Abraxas is required for genomic stability and tumor suppression**. *Cell Rep* 8(3): 807-817.
- Cripe TP, Wang P-, Marcato P, Mahller YY & Lee PWK (2009) **Targeting cancer-initiating cells with oncolytic viruses**. *Mol Ther* 17(10): 1677-1682.
- Deininger, P. (1999). **Genetic Instability in Cancer: Caretaker and Gatekeeper Genes**. *The Ochsner Journal*, 1(4), 206–209.
- Kleinsmith Lewis J. (2014) **Principles of Cancer Biology**. 1. painos, 139-159.
- Laiho M (2002) **Understanding carcinogenesis**. *Duodecim* 118(17): 1751-1758.
- Liu Q, Li X, Li S, Qu S, Wang Y, Tang Q, Ma H & Luo Y (2016) **Three novel mutations of APC gene in Chinese patients with familial adenomatous polyposis**. *Tumor Biol* : 1-7.
- Mäenpää HO (2010) **The treatment of adult glioma is multiphasic**. *Duodecim* 126(14): 1669-1675.
- Mantere T, Winqvist R, Kauppila S, Grip M, Jukkola-Vuorinen A, Tervasmäki A, Rapakko K & Pylkäs K (2016) **Targeted Next-Generation Sequencing Identifies a Recurrent Mutation in MCPH1 Associating with Hereditary Breast Cancer Susceptibility**. *PLoS Genet* 12(1).

- Meeks HD, Song H, Michailidou K, Bolla MK, Dennis J, Wang Q, Barrowdale D. ym. (2016) **BRCA2 Polymorphic Stop Codon K3326X and the Risk of Breast, Prostate, and Ovarian Cancers.** J Natl Cancer Inst 108(2).
- Moehler M, Delic M, Goepfert K, Aust D, Grabsch HI, Halama N, Heinrich B, Julie C, Lordick F, Lutz MP, Mauer M, Alsina Maqueda M, Schild H, Schimanski CC, Wagner A-, Roth A & Ducreux M (2016) **Immunotherapy in gastrointestinal cancer: Recent results, current studies and future perspectives.** Eur J Cancer 59: 160-170.
- Mäenpää H. (2010) **Gliooma kuriin.** Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim; 126(14):1669-75
- Otsuki A, Patel A, Kasai K, Suzuki M, Kurozumi K, Chiocca EA & Saeki Y (2008) **Histone deacetylase inhibitors augment antitumor efficacy of herpes-based oncolytic viruses.** Mol Ther 16(9): 1546-1555.
- Otsuki A, Patel A, Kasai K, Suzuki M, Kurozumi K, Chiocca EA & Saeki Y (2008) **Histone deacetylase inhibitors augment antitumor efficacy of herpes-based oncolytic viruses.** Mol Ther 16(9): 1546-1555.
- Rezvani HR, Mazurier F, Morice-Picard F, Jouary T, Cario-André M, Ged C, De Verneuil H & Taëeb A (2010) **Xeroderma pigmentosum: Clues to understanding cancer initiation.** Dermatol Sin 28(3): 93-101.
- Richardson J, Shaaban AM, Kamal M, Alisary R, Walker C, Ellis IO, Speirs V, Green AR & Bell SM (2011) **Microcephalin is a new novel prognostic indicator in breast cancer associated with BRCA1 inactivation.** Breast Cancer Res Treat 127(3): 639-648.
- Sammalkorpi H (2008) **Geneettiset muutokset mikrosatelliitti-instabiilissa paksu- ja peräsuolisövässä.** Väitöskirja, Helsingin Yliopisto. Laitos.
- Sariola H.& Ulmanen I. (1993) **Syövän geenihoido.** *Duodecim*, 10, 109(10):842
- Sultan H, Fesenkova VI, Addis D, Fan AE, Kumai T, Wu J, Salazar AM & Celis E (2016) **Designing therapeutic cancer vaccines by mimicking viral infections.** Cancer Immunol Immunother volyyymi : 1-11.
- Taipale M. (2006) **Epigenetiikka, geeninsäätely ja syöpä.** *Duodecim* 122:2611-8
- Tieva A & Peltomäki P (2012) **[Epigenetic modifications in cancer].** *Duodecim* 128(1): 62-71.
- Ulmanen I & Sariola H (1993) **Cancer gene therapy.** *Duodecim* 109(10): 842-848.

Weinberg R. (2014) **The Biology of Cancer**. 2nd edition, 31-71, 331-391

Zhang F & Cheong JK (2016) **The renewed battle against RAS-mutant cancers**. Cell Mol Life Sci 73(9): 1845-1858.

Zhu H, Li X, Zhang X, Chen D, Li D, Ren J, Gu H, Shu Y & Wang D (2016) **Polymorphisms in mismatch repair genes are associated with risk and microsatellite instability of gastric cancer, and interact with life exposures**. Gene 579(1): 52-57.