

# mRNA-rokotteet ja syövän hoito

Helmiina Järvi

LuK- tutkielma  
Biologian tutkinto-ohjelma  
Oulun yliopisto  
Tammikuu 2022

## Sisällysluettelo

1. Johdanto .....	4
2. mRNA-rokotteiden molekyylibiologia .....	5
2.1. mRNA-rokotteiden rakenne ja luokittelu .....	6
2.1.1. Self-amplifying RNA.....	6
2.1.2. Ei-replikoiva mRNA.....	6
2.2. mRNA:n tuottaminen.....	7
2.3. Covid-19 mRNA-rokotteet .....	8
3. Immunogeenisuuden eliminointi ja mRNA translaatiotehokkuuden parantaminen.....	9
3.1. mRNA:n immunogeenisuus.....	9
3.2. Strategiat mRNA:n translaatiotehokkuuden parantamiseen ja immunogeenisuuden ylipääsyyn .....	10
4. mRNA:n kuljetustekniikat .....	11
5. Syöpärokotteet .....	12
5.1. mRNA-syöpärokotteet.....	13
5.1.1. mRNA-syöpärokotteiden toimintaperiaate .....	13
5.1.2. mRNA-syöpärokotteiden kuljetusreitit.....	14
5.2. mRNA-syöpärokotteiden prekliiniset edistysaskeleet ja kliniset tulokset.....	14
5.2.1. DC mRNA-syöpärokotteet .....	15
5.2.2. IVT mRNA ja saRNA-syöpärokotteet.....	16
6. Rokotteet syövän estäjinä .....	16
6.1. HPV .....	17
6.2. Hepatiitti B.....	17
7. Tulevaisuus .....	18
8. Lähdeluettelo .....	20

## Tiivistelmä

Lähetti-RNA eli mRNA-rokotteet ovat erityisesti koronaviruspandemian aikana tutuksi tullut nukleiinihapporokotteiden alatyyppejä, jossa yhdistyy molekyylibiologia sekä immunologia. Niiden hyötyjä perinteisiin rokotealustoihin nähden ovat muun muassa nopea valmistus sekä matalat kustannukset turvallisuus ja muiden tekijöiden ohella. mRNA-rokotteet jaetaan ei-replikoivaan mRNA:han sekä saRNA:han (self-amplifying RNA) ja syntetisointiprosessissa käytetään tavallisesti *in vitro* -transkriptiota.

mRNA-rokotteiden tehoa on testattu kliinisissä kokeissa sekä infektoivia patogeenejä että syöpätauteja vastaan. Lupaavia tuloksia virustauteja koskevissa tutkimuksissa on saatu esimerkiksi HIV-1 ja SARS-CoV-2 kohdalla. Viime vuosikymmenten aikana prekliinisistä sekä kliinisistä tutkimuksista saadut tulokset ovat osoittaneet, että mRNA-rokotteet saavat aikaan myös syöpäsoluja eliminoivia immuunivasteita ja läpimurto on tehty esimerkiksi glioblastooman hoidossa.

Hyötyjen ohella raketeknologiaan liittyy myös erityisesti IVT prosessista aiheutuvia ongelmia. Eksogeenisen mRNA:n on huomattu vaikuttavan negatiivisesti antigeeniekspressioon ja tätä kautta immuunivasteeseen. Ongelmia on pyritty ratkaisemaan esimerkiksi optimoimalla sekvenssejä sekä erilaisilla puhdistusmenetelmillä. Optimointistrategioiden ohella mRNA:n kuljetustekniikalla ja reitillä on vaikutusta sen tehokkuuteen esimerkiksi RNA-molekyylin hajoamisen eston kautta. Yleisiä kuljetustapoja ovat lipidinanopartikkelit sekä dendriittiset solut (DC), joita hyödynnetään laajalti syövän hoidossa.

Syövän hoidon saralla mRNA-rokotteita on hyödynnetty terapeuttisissa tarkoituksissa ja ensimmäiset kokeilut ovat lähtöisin jo 1990-luvulta. mRNA-syöpärokotteiden toimintaperiaate perustuu kasvaimissa ekspressoituun tai kasvainspesifisiä antigeenejä koodaavaan transkriptiin, joka kuljetetaan antigeenejä esittelevän solun sytoplasmaan, mikä taas saa aikaan esimerkiksi T-soluvasteen kasvaimesta johdettuja antigeenejä vastaan. Suurin osa mRNA-syöpärokotteista ovat DC-pohjaisia, mutta lisäksi IVT mRNA ja saRNA pohjaisia rokotteita on tutkittu terapeuttisiin tarkoituksiin. mRNA-rokotteiden tulevaisuus keskittyy teknologian kehittämiseen sekä esimerkiksi immunogeenisuuteen ja turvallisuuteen liittyvien kysymysten ratkomiseen.

## 1. Johdanto

Rokotteet pelastavat miljoonia henkiä virusten ja bakteerien aiheuttamilta taudeilta. Rokotteiden avulla on pystytty estämään tautien leviämistä, hyvänä esimerkkinä 1980-luvulla isorokon hävittäminen kokonaan. Lisäksi esimerkiksi polio, tuhkarokko ja muut lastentautien tapaukset ovat vähentyneet huomattavasti ympäri maailman (Pardi ym., 2018).

Rokotteet stimuloivat immuunijärjestelmän immuunivasteita käynnistäen vasta-ainetuotannon. Perinteiset rokotteet sisältävät yleensä heikennettyjä tai inaktivoituja taudinaiheuttajan osia eli antigeenejä. Antigeeni on molekyyli, joka laukaisee immuunivasteen. Immuunijärjestelmä alkaa näin tuottamaan esimerkiksi vasta-aineita taudinaiheuttajaa vastaan (Wang ym., 2021).

Perinteiset rokotteet ovat saaneet rinnalleen lähetti-RNA eli mRNA (messenger RNA) -rokotteet. mRNA-rokotteet eivät sisällä antigeeniä, vaan mRNA:ta, joka koodaa taudinaiheuttajan tiettyä antigeeniä. Antigeeni voi olla esimerkiksi viruksen proteiini. Pistoksen jälkeen solut alkavat syntetisoida antigeeniä mRNA:n ohjeen mukaan. Immuunijärjestelmä alkaa tuottamaan vasta-aineita esimerkiksi tiettyjä viruksen proteiineja vastaan ja tunnistaa ne tulevaisuudessa. mRNA valmistetaan synteettisesti laboratoriossa (MRNA-Rokotteet Ja Koronavirus - THL, n.d.).

mRNA-rokotteet ovat lupaava ja nopeasti kehittyvä vaihtoehto perinteisille rokotteille johtuen muun muassa niiden turvallisuudesta ja matalista valmistuskustannuksista (Pardi ym., 2018). Rokotteita on käytetty muuan muassa Covid-19 pandemian aikana. Lisäksi niistä on tullut lupaava alusta syövän immunoterapialle eli syövän hoidon muodolle, jossa immuunipuolustusta pyritään vahvistamaan syöpää vastaan. mRNA-rokotteiden käyttöä ovat kuitenkin hidastaneet muun muassa ongelmat immunogeenisuuden ja in vivo kuljetuksen kanssa. Ongelmien ylipääsemiseksi on tutkittu esimerkiksi mRNA:n rakenteen muokkaamista (Miao ym., 2021).

Syöpärokotteita on kehitetty niin ennaltaehkäiseviin kuin terapeuttisiin tarkoituksiin. Vuonna 2006 FDA eli Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto hyväksyi ensimmäisen ennaltaehkäisevän syöpärokotteen kohdunkaulasyöpää vastaan. Rokote toimii ihmisen papilloomavirusta (HPV) vastaan (Wang ym., 2021). Viime aikoina julkaistut tulokset ovat osoittaneet, että mRNA rokotteet toimivat tehokkaasti monia eri syöpätyyppejä ja infektoivia patogeenejä vastaan, siinä missä perinteiset rokotealustat eivät välttämättä saa aikaan yhtä suojaavia immuunivasteita (Pardi ym., 2020).

Tämä Luk-tutkielma käsittelee yleisesti mRNA-rokotteita sekä niiden mahdollisuuksia ja sovelluksia syövän hoidossa. Lisäksi käsitellään syöpärokotteita yleisesti.

## 2. mRNA-rokotteiden molekyylibiologia

mRNA on yksijuosteinen makromolekyyli, joka sisältää geneettistä informaatiota ja ohjaa proteiinien muodostumista. mRNA-rokote on nukleiinihapporokotteiden alatyyppejä ja vastikään kehitetty teknologia, jossa yhdistyy molekyylibiologia ja immunologia. Sen teknologia perustuu läheisesti geeniterapiaan (Wang ym., 2021).

Nukleiinihapporokotteissa (DNA ja RNA) käytetään synteettisiä sekvenssejä antigeenisten peptidien tai proteiinien ilmentämiseen. Geneettinen immunisaatio tukee hankittua immunitettiin aktivoimalla sekä humoraalisen eli vasta-ainevälitteisen immuunivasteen, että soluvälitteisen immuunivasteen, jossa aktivoituneet T-solut esimerkiksi tappavat infektoituneita soluja (Kutzler & Weiner, 2008). DNA-rokotteiden kehittämiseen keskityttiin aikaisemmin huomattavasti enemmän kuin RNA-rokotteiden, johtuen muun muassa RNAasi eli ribonukleasiin aiheuttamista stabiliteettiongelmista. RNAasi on entsyymi, joka hajottaa yksijuosteista RNA:ta. DNA-rokotteiden kliiniset kokeet eivät kuitenkaan tuottaneet haluttuja tuloksia (Hobernik & Bros, 2018), jolloin mielenkiinto RNA-rokotteisiin heräsi uudelleen. Kiinnostusta herättivät muun muassa RNA:n lyhytikäisyys ja sen sytosolinen sijainti, jotka lisäävät rokotteen turvallisuutta (Bloom ym., 2020). Toisin kuin DNA pohjaisissa terapioissa, mRNA:n ei tarvitse kulkeutua tumaan asti. mRNA ei myöskään integroidu isännän genomiin eikä siihen liity insertioriskiä, sillä mRNA hajoaa luonnollisesti antigeeniekspression aikana (Zarghampoor ym., 2019).

Viimeisten kahden vuosikymmenen aikana mRNA rokotteiden tehoa on tutkittu niin infektoivia patogeenejä kuin syöpätauteja vastaan. Näyttöjä mRNA rokotteiden tehosta on saatu sekä eläimillä että ihmisillä (Pardi ym., 2018). Kliinisissä kokeissa suurin osa mRNA-syöpärokotteista on keskittynyt melanoomaan, glioblastoomaan, eturauhassyöpään ja leukemiaan. Virusten aiheuttamista taudeista kliiniset kokeet ovat keskittyneet muun muassa SARS-CoV-2 ja HIV-1, mutta lisäksi esimerkiksi influenssaviruksia, ebolaa ja rabiasta koskevissa tutkimuksissa on saatu lupaavia tuloksia. Suurta huomiota mRNA-rokotteet ovat saavuttaneet juuri koronaviruspandemian aikana (Xu ym., 2020).

## 2.1. mRNA-rokotteiden rakenne ja luokittelu

mRNA-rokotteet jaetaan kahteen pääryhmään: self-amplifying RNA (saRNA, SAM) ja ei-replikoiva mRNA tai perinteinen mRNA (non-replicating mRNA, conventional mRNA). Molempien mRNA tyyppien perusrakenne koostuu mRNA:lle tyypillisistä elementeistä (Bloom ym., 2020).

### 2.1.1. Self-amplifying RNA

saRNA-rokotteet on johdettu alfaviruksen genomista, joihin lukeutuu esimerkiksi Sindbis virus (Bloom ym., 2020). Alfaviruksen viruspartikkelien muodostumisen mahdollistavat geenit on korvattu haluttuja antigeenejä koodaavalla geenillä (Miao ym., 2021). Viruksen rakenneproteiinien poistaminen tekee mRNA:lle mahdolliseksi tuottaa infektoivaa virusta. Rokote siis sisältää yhden geenin, joka on vastuussa viruksen RNA replikaatiosta ja transgeenin, joka koodaa terapeutista antigeeniä (Wang ym., 2021). Virus-replikaatiokoneisto mahdollistaa solusisäisen RNA amplifikaation eli lisääntymisen ja runsaan proteiiniekspression (Pardi ym., 2018). saRNA jaetaan vielä eri luokkiin kuljetustavan mukaan ja sen, miten ne saavuttavat antigeeniekspression (Wang ym., 2021).

saRNA-rokotteet ovat osoittaneet lupaavia tuloksia muun muassa HIV-1 infektiota ja rabiasta vastaan. Lisäksi saRNA-syöpärokotteiden tehoa on tutkittu kliinisissä kokeissa, mutta se on toistaiseksi rajoittunutta (Blakney ym., 2021).

### 2.1.2. Ei-replikoiva mRNA

Ei-replikoivasta mRNA:sta eli perinteisestä mRNA:sta koostuvat rokotteet koodaavat vain haluttua antigeeniä. Siinä missä molempia mRNA tyyppiä käytetään infektoivia tauteja vastaan, hyödynnetään ei-replikoivaa mRNA:ta myös syöpärokotteissa (Heine ym., 2021).

Ei-replikoivan mRNA:n hyötyjä ovat sen yksinkertaisuus ja RNA molekyylin pieni koko. Lisäksi siihen ei liity riskiä vektorin vastaisesta immuniteetistä. Sen antigeeniekspressio on verrannollista siihen, miten sen transkriptejä on onnistuneesti saatu kuljetettua rokotuksen aikana. Tehokkaan ekspression aikaansaamiseksi rokotetta pitää antaa suurempina tai toistuvina annoksina. Tätä ongelmaa taas saRNA:lla ei ole johtuen sen itsereplikoivasta aktiivisuudesta ja mahdollisuudesta kuljettaa sitä viruksen replikaatiopartikkeleissa, jolloin sitä voidaan kuljettaa matalampina pitoisuuksina verrattuna ei-replikoivaan mRNA:han (Maruggi ym., 2019).

Tähän asti enimmäkseen ei-replikoivaa mRNA:ta on tutkittu kliinisissä kokeissa syövän hoitoa varten. saRNA:t ovat kuitenkin saavuttaneet suurta huomiota, ja niiden potentiaalia sekä syöpää, että infektoivia tauteja vastaan arvioidaan muun muassa niiden pitkäkestoisen tehokkuuden ja vähäisempien annosmäärien tarpeen takia (Miao ym., 2021).

## 2.2. mRNA:n tuottaminen

IVT:tä eli in vitro transkriptiota käytetään tavallisesti ei-replikoivan mRNA:n ja saRNA:n syntetisoimiseen. In vitro transkriptoitu mRNA tuotetaan halutun antigeenisekvenssin sisältävästä lineaarisesta DNA-templaattista käyttämällä tiettyä RNA-polymeraasia. mRNA:n tuotto IVT:llä on turvallisempaa verrattuna esimerkiksi proteiini- tai soluvälitteisiin rokotteisiin, sillä IVT mRNA ei sisällä patogeenisia viruskomponentteja eli siihen ei liity infektoriskiä. Esimerkiksi IVT:llä tuotettuja synteettisiä saRNA:ita voidaan käyttää suoraan RNA-pohjaisissa rokotteissa turvallisesti, sillä pelkoa viruksen rakennusosista ei ole (Miao ym., 2021).

Ensimmäinen onnistunut IVT mRNA:n käyttö eläimissä raportoitiin vuonna 1990, kun sitä injektoidiin hiiriin ja havaittiin proteiinituotantoa (Wolff ym., 1990). Viime vuosina on kehitetty uusia IVT mRNA teknologioita ja niiden avulla on esimerkiksi saatu aikaan haluttujen proteiinien de novo synteesi muuttamatta kohdesolun fysiologista toimintaa (Zheng ym., 2021). Monet ongelmat ovat kuitenkin hidastaneet IVT mRNA:n hyödyntämistä kuten mRNA:n in vivo epästabiilisuus, joka aiheutuu RNasin läsnäolosta ja IVT mRNA:n immunogeenisuudesta (Knezevic ym., 2021). Immunogeenisuudella tarkoitetaan rokotteen kykyä vaikuttaa elimistön immuunijärjestelmään. Tehokkaat immunogeenit käynnistävät esimerkiksi vasta-aine tuotannon (Rokotetutkimuksen Sanastoa - Rokotetutkimuskeskus, n.d.).

In vitro transkriptoituja mRNA:ita, jotka koodaavat viruksen antigeenejä, on tutkittu rokotteina, kun taas ne, jotka koodaavat terapeuttisia proteiineja, kuten vasta-aineita tai immuunimodulaattoreita, on harkittu käytettäväksi immunoterapiassa (Bloom ym., 2020). Immunomodulaattorit ovat immuunisyhteimiä stimuloivia tai tehostavia aineita. IVT mRNA pohjaisten rrokotusten käyttökokeiluihin syövän hoidossa palataan myöhemmin.

### 2.3. Covid-19 mRNA-rokotteet

Viimeisen kahdenkymmenen vuoden aikana koronaviruksen aiheuttamia infektioita on ollut kolme. Vuonna 2019 alkanut SARS-CoV-2 viruksen aiheuttama koronaviruspandemia on tuonut mRNA-rokotusten tärkeyden esiin.

Prekliiniset ja kliiniset tutkimukset ovat todistaneet antigeeniä koodaavan mRNA-rokotteen olevan tehokas virusta vastaan. Hiirillä tehdyssä kokeessa mRNA:n koodaamat virusmaiset partikkelit saivat aikaan vahvan immuunivasteen. Zhang ym. tekemässä tutkimuksessa viruksen reseptoria sitovaa domainia (RBD) koodaava mRNA pakattiin lipidinanopartikkeliin ja rokotetta injektoidiin hiirten ja kädellisten lihaksiin. Rokote sai aikaan neutraloivia vasta-aineita (Wang ym., 2021).

Yksi ensimmäisistä kliiniset kokeet aloittavista rokotteista oli ei-replikoiva mRNA-rokote. Tämän jälkeen yksi tunnetuimmista mRNA-koronarokotteista, BNT1612b2, oli ensimmäinen rokote, jonka tehon todettiin olevan 95 % (Blakney ym., 2021). BNT1612b2 sisältää viruksen piikkiproteiinin valmistusohjeen. Tämä modifikaatio auttaa jäljittelemään oikeaa virusta ja tähtää saamaan aikaan vasta-ainevasteen. mRNA on pakattu lipidinanopartikkeleihin, kuten lähes kaikissa käytetyissä koronarokotteissa. Viruksen vasta-aineiden on todettu lisääntyvän toisen rokoteannoksen jälkeen. Rokotteen kliiniset tutkimukset vaativat vajaat 30 000 osallistujaa (Wang ym., 2021).

Siihen, miksi mRNA-koronarokotteet ovat syrjäyttäneet muut rokotealustat kuten inaktivoidut rokotteet tai DNA-rokotteet, löytyy monia syitä. Kuten aikaisemmin mainittiin, mRNA-rokotteiden ei tarvitse kulkeutua tumaan, toisin kuin DNA-rokotteiden, minkä vuoksi antigeeniekspressio mekanismi on yksinkertaisempi ja turvallisempi. mRNA-rokotteiden suunnitteluun ei tarvita viruksen osia, kuten perinteisissä rokotteissa, vaan pelkästään viruksen geenisekvenssejä. mRNA-rokotteiden tuotannossa ei tarvita myöskään soluviljelmää, mikä tekee tuotantoprosessista yksinkertaisemman ja halvemmän. Lisäksi mRNA hajoaa luonnollisesti ja mRNA sekvenssejä on helpompi muokata verrattuna proteiimirakenteisiin, jos viruksesta ilmenee mutaatioita (Wang ym., 2021).



### 3. Immunogeenisuuden eliminointi ja mRNA translaatiotehokkuuden parantaminen

#### 3.1. mRNA:n immunogeenisuus

Eksogeenisen IVT mRNA:n suurin haaste on sen immunogeenisuus riippuen sen terapeuttisesta käytöstä. Immunogeenisuuden on toisaalta todettu olevan hyödyllistä rokotuksissa, sillä se esimerkiksi tehostaa dendriittisten solujen (DC) maturaation aktivaatiota, mikä on tärkeää mRNA-pohjaisten rokotusten tehon kannalta, sillä se saa aikaan T- ja B-solujen immuunivasteet. Dendriittiset solut ovat immuunisysteemin yksiä tärkeimpiä antigeenejä esitteleviä soluja. Ne pystyvät käynnistämään soluvälitteisen immunitetin esittelemällä prosessoituja antigeenejä CD4+ ja CD8+ T-soluille MHC (major histocompatibility complex) molekyylien kautta (Pardi ym., 2018). Solut sijaitsevat esimerkiksi ihossa, ja aktivoituttuaan siirtyvät imusolmukkeisiin, missä ne yhdessä T- ja B-solujen kanssa aktivoivat adaptiiviset immuunivasteet (Tanne & Bhardwaj, 2017). Immunogeenisuus on toisaalta liitetty myös esimerkiksi antigeeniekspression estymiseen, mikä saattaa vaikuttaa negatiivisesti immuunivasteeseen (Pardi ym., 2018).

Eksogeeninen IVT mRNA on luonnostaan immunostimulaarinen eli se kasvattaa immuunisysteemin kykyä taistella infektioita ja tauteja vastaan. IVT mRNA:n tunnistaa esimerkiksi endosomaaliset ja sytosoliset sisäiset immuunireseptorit, PRR:t (pattern recognition receptors). Synnynnäinen immuunivaste aktivoituu yleensä isännän immuunisysteemin toimesta, kun se havaitsee eksogeenisiä aiheita eli tunnistettavia proteiinirakenteen alueita, joita kutsutaan PAMP:eiksi (pathogen-associated molecular patterns). Tunnistaminen tapahtuu immuunireseptorien kautta. Nämä reseptorit ovat erityisen ekspressoituja antigeenejä esittelevissä soluissa, APC:issä, jotka ovat mRNA-syöpärokotteiden merkittävin kohdesolupopulaatio. (Miao ym., 2021).

IVT mRNA on immunostimulaarinen, sillä immuunireseptorit tunnistavat sen (Miao ym., 2021). Esimerkiksi endosomeissa IVT mRNA:n tunnistaa Tollin-kaltaiset reseptorit, jotka käynnistävät sisäiset immuunivasteet. Sytosolissa mRNA:n tunnistavat useat muut immuunireseptorit, kuten PKR (Proteiini Kinaasi R) ja RIG-I (Retionic Acid-Inducible Gene I) (Knezevic ym., 2021). Nämä reseptorit voivat havaita erityyppistä RNA:ta kuten yksi- ja kaksijuosteista RNA:ta, estäen mRNA translaation (Miao ym., 2021).

Tollin-kaltaisista reseptoreista TLR-7 ja -8 aktivoivat interferoni (IFN) reitit, joilla on kriittinen rooli ihmisen immuunivasteessa. Interferonit muun muassa estävät viruksen

replikaatiota. Lisäksi erittyy tulehduksen välittäjäaineita. Tämä stimuloi T ja B immuunivasteita, mutta saattaa samalla vaikuttaa negatiivisesti antigeeniekspressioon (Zhang ym., 2019). Lisäksi liiallinen Tollin-kaltaisten reseptorien stimulaatio voi johtaa tulehduksiin tai verenmyrkytykseen (Lai & Gallo, 2008).

Ymmärrys RNA:n biologiasta on kuitenkin kehittynyt, minkä ansiosta mRNA-rokotteiden ongelmia on pystytty ratkomaan esimerkiksi optimoimalla sekvenssejä, käyttämällä modifioituja nukleotidejä ja puhdistamalla IVT mRNA:ta (Zhang ym., 2019).

### 3.2. Strategiat mRNA:n translaatiotehokkuuden parantamiseen ja immunogeenisuuden ylipääsyyn

mRNA:n stabiilisuus ja translaatiotehokkuus ovat välttämättömiä RNA-rokotteen tehon kannalta. Immunogeenisuuden tuomia ongelmia voidaan ratkaista muun muassa IVT mRNA:n puhdistuksella sekä modifioimalla nukleotidejä kemiallisesti ja optimoimalla sekvenssejä muun muassa kodonien avulla (Wang ym., 2021).

Nukleosidi-pohjan modifikaatiota on käytetty tuottamaan niin kutsuttua modifioitua mRNA:ta. Nukleosidi on nukleiinihapon rakenneosia, joka muodostuu sokerista ja emäksestä. Kun fosfaattiryhmän liittyy nukleosidiin syntyy nukleotidi. Nukleosidi-modifikaatiossa kemiallisesti modifioidut nukleosidit sisällytetään mRNA transkriptiin, mikä ehkäisee immuunireseptorien aktivoitumista (Pardi ym., 2018). Kun esimerkiksi uridiini korvattiin pseudouridiinilla, se vähensi IVT mRNA:n immunogeenisuutta ja kasvatti sen translaatiotehokkuutta (Pardi ym., 2013). Yleisesti perinteisiä mRNA-rokotteita voidaan modifioida, jolloin puhutaan modifioidusta mRNA:sta. saRNA-rokotteiden kohdalla modifikaatiota ei ole todettu hyödylliseksi, sillä nukleosidien vaikutus menetettäisiin ensimmäisen amplifikaation aikana (Maruggi ym., 2019).

Kaksijuosteisen RNA:n (dsRNA) poisto lisää translaatiotehokkuutta huomattavasti. IVT reaktion sivutuotteena syntyvä dsRNA on tehokas PAMP:i, minkä takia useat reseptorit tunnistavat sen, mikä johtaa translaation estymiseen ja ribosomaalisen RNA:n hajoamiseen. Karikó ym. (2011) demonstroivat, että kontaminoiva dsRNA voidaan poistaa tehokkaasti IVT mRNA:sta kromatografisilla menetelmillä kuten FPLC (fast protein liquid chromatography) tai korkean erotuskyvyn nestekromatografialla (HPLC). IVT mRNA:n puhdistuksella vältetään ei-toivottu sisäisen immuunisysteemin aktivoituminen (Pardi ym., 2018).

Myös monia kodoni-optimointi strategioita ja G:C pitoisuuden rikastusta on käytetty optimoimaan translaatioprosessia. Kodonin optimointi strategiat perustuvat siihen, että suurinta osaa aminohapoista koodaa usea kodoni (Heine ym., 2021). Esimerkiksi korvaamalla harvinaisia kodoneita enemmän käytetyillä synonyymisilla kodoneilla saadaan translaatiotasoa nostettua. Sekvenssin optimointimuodoista G:C pitoisuuden rikastuksen on todettu kasvattavan mRNA tasojen stabiilisuutta in vitro ja proteiiniekspressiota in vivo (Pardi ym., 2018).

Vaikka sekvenssien optimointi esimerkiksi nukleosidien tai kodonien avulla saattaa vaikuttaa positiivisesti proteiiniekspressioon, nämä sekvenssin optimointimuodot saattavat myös vaikuttaa mRNA:n sekundäärirakenteeseen, translaation virheettömyyteen ja proteiinien laskostumiseen (Pardi ym., 2018). Nämä muutokset vaikuttavat jatkossa muun muassa immuunivasteiden intensiteettiin ja spesifisyyteen (Heine ym., 2021).

Nukleosidien modifikaatio ja kodonien optimointi voivat siis auttaa välttämään tunnistautumista sisäisten immuunisensoreiden toimesta ja näin parantaa translaatiotehokkuutta (Zhang ym., 2019). Erilaisten modifikaatioiden lisäksi rokotteen kuljetustavalla ja reitillä on vaikutusta sen tehokkuuteen.

#### 4. mRNA:n kuljetustekniikat

RNA:n koko ja negatiivinen varaus estävät sitä siirtymästä passiivisesti solukalvon läpi, minkä vuoksi se tarvitsee kuljettajan. Kuljetustavalla on merkittävä vaikutus mRNA-rokotteiden tehokkuuteen in vivo. Kuljettajan tulee suojata RNA:ta muun muassa hajoamiselta. Kuljettaja ei myöskään saa olla toksinen tai immunostimulaarinen eli se ei saa vaikuttaa immuunijärjestelmän kykyyn puolustautua infektioita ja tauteja vastaan (Zhang ym., 2019). Kuljetustapoja löytyy monia. mRNA molekyylit voidaan kuljettaa esimerkiksi virusvektorien, peptidien, partikkelien tai polymeerien avulla, sekä lisäksi ”alastomana” (naked mRNA) ja dendriittisten solujen avulla (Chakraborty ym., 2021).

Lipidinanopartikkelit eli LNP:t ovat lupaavin ja käytetyin ei-virusperäinen kuljettaja. LNP:tä on käytetty modifioitujen mRNA-pohjaisten rokotteiden kuljettajana esimerkiksi tutkimuksissa HIV-1 ja Zika virusta vastaan (Pardi ym., 2018). Molemmassa tapauksissa on saatu aikaan korkeita vasta-ainepitoisuuksia. Tulokset ovat lupaavia, sillä yksikään rokote ei kykene estämään kyseisten virusten aiheuttamia tauteja. LNP:t ovat suosittu kuljettaja myös saRNA rokotteille. Monet tutkimukset ovat osoittaneet, että LNP:llä kuljetetut

influenssaviruksen antigeenejä koodaavat saRNA:t saivat aikaan vahvan T- ja B-solu immuunivasteen (Zhang ym., 2019).

Syöpärokotteiden kuljetusta varten LNP tulisi suunnitella siten, että se suojaisi mRNA:ta hajoamiselta ja kuljettaisi antigeenin antigeenejä esitteleviin soluihin, jotta saadaan aikaan tehokas antigeeniekspressio (Miao ym., 2021). LNP:tä on käytetty muun muassa syövän immunoterapiassa melanoomatyyppejä B16F0 vastaan. LNP formulaatio, joka sisälsi kasvaimiin liitettyjä antigeenejä koodaavaa mRNA:ta, johti muun muassa kasvaimen koon pienenemiseen (Tan & Sun, 2018).

Myös dendriittisiä soluja voidaan käyttää mRNA:n kuljettajina. Yleisin tapa käyttää dendriittisiä soluja mRNA:n kuljettajana on transfektoida peptidejä, proteiineja tai muita antigeenejä koodaavia mRNA:ita dendriittisiin soluihin in vitro, ja sen jälkeen siirtää prosessoidut DC:t takaisin elimistöön aloittamaan antigeeni spesifiset immuunivasteet (Xu ym., 2020). In vitrolla tarkoitetaan, että antigeenien transfektio tapahtuu koeolosuhteissa esimerkiksi elimistön ulkopuolella. DC:itä hyödynnetään laajalti syövän hoidossa, ja tästä kerrotaan lisää myöhemmissä kappaleissa.

## 5. Syöpärokotteet

Syöpärokotteiden antaminen perustuu sekä ennaltaehkäisyyn että terapeuttisuuteen. Ennaltaehkäiseviin syöpärokotteisiin lukeutuu esimerkiksi HPV ja hepatiitti B -rokotteet. Suurin osa tämänhetkisistä syöpärokotteista on terapeuttisia, ja ne pyrkivät stimuloimaan soluvälitteisiä vasteita kuten sytotoksisten T-lymfosyyttien aikaansaamia, jotka pystyvät tappamaan syöpä ja muita vaurioituneita soluja ja näin vähentämään kasvainkuormaa (Miao ym., 2021). Syöpärokotteita on neljää eri tyyppiä: kasvain- tai immuunisolupohjaiset rokotteen, peptidipohjaiset rokotteen, virusvektoripohjaiset rokotteen ja nukleiinihappopohjaiset rokotteen. Ensimmäinen terapeuttisuuteen perustuva syöpärokote hyväksyttiin vuonna 2010, kun immuunisolupohjaista rokotetta käytettiin hoitamaan eturauhassyöpätyyppejä (Miao ym., 2021).

## 5.1. mRNA-syöpärokotteet

Vuonna 1995 Conry ym. kuvailivat ensimmäisinä, että mRNA-rokotteita voitaisiin käyttää hoitona kasvaimia vastaan. He rakensivat mRNA transkriptejä, jotka koodasivat lusiferaasia ja CEA:ta (humam carcinoembryonic antigen). Samanaikaisesti demonstroitiin hiirten avulla, että dendriittisiin soluihin voidaan transfektoida mRNA:ta, joka koodaa kasvaimissa ekspressoituja antigeenejä (Boczkowski ym., 1996). Näin saadaan aikaan immuunivaste kasvaimia vastaan. Sen jälkeen useat prekliiniset ja kliiniset kokeet ovat todistaneet, että mRNA-rokotteet voivat saada aikaan immuunivasteita, jotka eliminoivat syöpäsoluja (Heine ym., 2021).

Tällä hetkellä kolmea eri RNA tyyppiä tutkitaan syöpärokotteina. Näihin lukeutuu modifioimaton ei-replikoiva mRNA, modifioitu mRNA ja virusperäinen saRNA (Miao ym., 2021).

### 5.1.1. mRNA-syöpärokotteiden toimintaperiaate

mRNA:n tavoite syöpärokotteena on kuljettaa haluttuja kasvaimissa ekspressoituja antigeenejä (tumor associated antigens, TAA) tai kasvainspesifisiä antigeenejä (tumor specific antigens, TSA) koodaava transkripti yleensä jonkin antigeenejä esittelevän solun sytoplasmaan (Miao ym., 2021). mRNA-syöpärokotteet pyrkivät lopettamaan kasvaimen kasvun tai vähentämään sitä saamalla aikaan tehokkaan CD4+ ja CD8+ T-soluvasteen kasvaimesta johdettuja antigeenejä vastaan (Heine ym., 2021). CD8+ T-soluilla on tärkeä rooli esimerkiksi kasvainten tukahduttamisessa. Ne voivat tappaa kasvainsoluja sytotoksisten molekyylien kuten granssyymien ja perforiinien avulla aiheuttamalla kohdesolun apoptoosin (Tsukumo & Yasutomo, 2018). Lisäksi mRNA-rokotteet saavat aikaan vasta-aine ja B-solu välitteisiä humoraalisia vasteita (Miao ym., 2021).

Syöpärokotteet voidaan kohdistaa jo aikaisemmin mainittuihin TAA:ihin eli syöpäsoluissa ekspressoituihin antigeeneihin kuten kasvutekijöihin. TAA:t ovat kuitenkin läsnä myös normaalissa kudoksessa, mikä on nähty ongelmallisena (Miao ym., 2021). Tällä hetkellä mRNA-rokotteiden pääkohteena ovat kasvainspesifiset neoepitootit/neoantigeenit, eli somaattisista mutaatioista johdetut peptidit, jotka T-solut tunnistavat syöpäsolujen pinnalta (Xu ym., 2020).

### 5.1.2. mRNA-syöpärokotteiden kuljetusreitit

Myös rokotteen kuljetusreitillä on merkitystä riippuen sen käyttötarkoituksesta. Lokaalit injektiot, joihin kuuluu lihaksensisäinen injektio, ihonalainen injektio ja intradermaalinen eli ihonsisäinen injektio, ovat käytetyimpiä injektioiteitä mRNA-syöpärokotteille (Miao ym., 2021). Rokotetta voidaan injektoida myös esimerkiksi suoraan kasvaimen tai imusolmukkeisiin, mikä on koettu tehokkaaksi, mutta on silti vähemmän hyödynnettyä (Pardi ym., 2018).

Esimerkiksi lihaksen kautta injektointi suositaan muun muassa annostelun helppouden ja turvallisuuden takia, sillä haitallisten reaktioiden riski on injektiokohdassa pieni (Miao ym., 2021). Intradermaalinen injektioite on myös laajalti käytetty mRNA-syöpärokotteiden kohdalla, sillä monet antigeenejä esittelevät solut sijaitsevat ihossa (Pardi ym., 2018).

Intranodaalinen injektio eli imusolmukkeisiin kohdistunut injektio ei ole yleistä mutta tehokasta. Suora mRNA:n injektointi sekundääriseen imukudokseen on hyödyllistä muun muassa siksi, että kohdeantigeeni kulkeutuu antigeenejä esitteleviin soluihin, missä T-solut aktivoituvat, jolloin dendriittisten solujen ei tarvitse kulkeutua muista kudoksista imusolmukkeisiin. Kasvaimiin injektointi on myös hyödyllinen injektointitapa, sillä kasvainten T-solut aktivoituvat näin nopeasti (Pardi ym., 2018).

Tähän asti lihaksensisäinen injektio ja ihonalainen injektio ovat olleet kaksi pääasiallista injektioiteitä mRNA-syöpärokotteille kliinisissä kokeissa johtuen niiden vähemmän invasiivisesta luonteesta, mutta myös muita reittejä, kuten intranodaalista injektioiteitä, on tutkittu laajalti mRNA-syöpärokotteiden kuljetuksessa (Miao ym., 2021).

### 5.2. mRNA-syöpärokotteiden prekliiniset edistysaskeleet ja kliiniset tulokset

mRNA-syöpärokotteet ovat siis terapeuttisuuteen perustuva, uusi ja lupaava lähestymistapa syövän immunoterapiaan. Tähänastiset tutkimukset ovat paljastaneet, että mRNA-rokotteet ovat sekä turvallisia että tehokkaita, minkä takia niitä on voitu hyödyntää syöpähoidoissa. Läpimurto on tehty esimerkiksi glioblastooman eli aivokasvaimen hoidossa (Zheng ym., 2021). Rokotteita on myös käytetty NSCLC:n (non-small cell lung cancer), kolorektaalisen karsinooman ja melanooman hoitoon. Suurimassa osin kliinisistä testeistä syöpärokotteita on yhdistetty sytokiinien kanssa lisäämään tehokkuutta kasvaimia vastaan (Miao ym., 2021).

mRNA:n transfektio dendriittisiin soluihin oli ensimmäinen mRNA-pohjainen terapeutinen syöpärokote, joka pääsi klinisiin kokeisiin (Kowalski ym., 2019). Myös IVT mRNA pohjaiset syöpärokotteet ovat herättäneet mielenkiintoa, ja lisäksi saRNA:ita tutkitaan terapeutisiin tarkoituksiin niiden rajallisuudesta huolimatta.

### 5.2.1. DC mRNA-syöpärokotteet

Dendriittiset solut ovat immuunijärjestelmän tärkeimpiä antigeenejä esitteleviä soluja, minkä takia myös niiden hyödyntäminen syövän immunoterapiassa on tuntunut loogiselta. Ne ovat ideaaleja kohteita rokotteille, sillä ne esittelevät antigeenejä immuunisoluille, mikä käynnistää hankitun immunitetin (Wang ym., 2021).

mRNA:lla ladatut DC:t toimivat lupaavana alustana T-soluvasteiden aikaansaamisessa ja niiden on todettu olevan myös turvallisia syöpäpotilaiden hoidossa (van Driessche ym., 2009). Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että dendriittisten solujen elektroporaatio mRNA:illa, jotka koodaavat immuunivasteen signaloinnista vastuussa olevia molekyylejä, tai muita immunitettia sääteleviä proteiineja, paransi DC-pohjaisten rokotteiden tehokkuutta (Pardi ym., 2018). Esimerkiksi ovalbumiinia koodaavalla mRNA:lla ladatut DC:t saivat aikaan vahvoja kasvainspesifisiä immuunivasteita hiirissä tehdyissä melanoomamalleissa ja rokotekokeissa (Boczkowski ym., 1996).

Dendriittisiä soluja voidaan moduloida käyttämällä mRNA:ta, joka koodaa proinflammatorisia sytokiinejä eli tulehduksen välittäjäaineita. Antigeenejä koodaavaa mRNA:ta on yhdistetty myös TriMix nimisen yhdisteen kanssa, joka koostuu kolmesta immunomodulaattori molekyylisestä. Tämä yhdistelmä on prekliinisissä kokeissa tehostanut CD8+ T soluvasteiden käynnistymistä (Heine ym., 2021). Lisäksi melanoomaa sairastavista syöpäpotilaista 27 %:lla kasvain siirtyi regressiovaiheeseen eli pieneni tai hävisi kokonaan, kun melanoomaspesifisiä antigeenejä koodaavaa mRNA:ta yhdistettiin TriMixin kanssa (Pardi ym., 2018).

Kliinisissä kokeissa DC-rokotteita on käytetty monia syöpätyyppejä vastaan kuten metastaattista eturauhassyöpää ja keuhkosityöpää, aivosyöpiä, melanoomaa ja haimasyöpää (Pardi ym., 2018).

### 5.2.2. IVT mRNA ja saRNA-syöpärokotteet

Suurin osa kliinisistä kokeista on perustunut DC-pohjaisiin mRNA-syöpärokotteisiin. Silti myös virusperäisesti kuljetettuja IVT mRNA-pohjaisia immunoterapioita tutkitaan tällä hetkellä paljon, sillä ne ovat osoittaneet lupaavia kasvainten vastaisia tuloksia prekliinisissä kokeissa. Kliinisissä kokeissa taas on tutkittu immunostimulantteja koodaavia mRNA:ita, jotka injektoidaan esimerkiksi suoraan kasvainten sisään (Miao ym., 2021). Immunostimulantit eivät ole syöpärokotteita, mutta niitä käytetään esimerkiksi syöpärokotteiden kanssa, ja ne toimivat adjuvantteina eli tehosteaineina kasvattamaan humoraalisia- ja soluvasteita. Useita IVT mRNA-pohjaisia syöpärokotteita, jotka koodaavat joko personalisoituja neoantigenejä tai sekoitusta kasvaimiin liitetystä antigeeneistä, testataan tällä hetkellä kliinisissä kokeissa (Miao ym., 2021).

Vaikka saRNA:t ovatkin hyvin lupaavia mRNA-pohjaisia rokotteita esimerkiksi infektiivien tautien ehkäisyssä muun muassa niiden itsevahvistuvan ominaisuutensa ansiosta, kliiniset tutkimukset syövän hoidossa ovat rajautuneet viruksen replikaatiopartikkeleihin (Miao ym., 2021). Yksi syy tähän on PAMP:it, joiden takia esimerkiksi saRNA:iden reaktogeenisuutta on vaikea moduloida (Pardi ym., 2018). Silti muun muassa Li ym. (2020) suorittamissa kokeissa LNP formuloidut saRNA:t tuhosivat suuria kasvaimia. Lisäksi Gritstone Oncology Inc. käynnissä olevissa kokeissa saRNA personalisoitujen neoantigeeni-rokotteiden tehoa tutkitaan muun muassa ruokatorven ja paksusuolen syöpää vastaan, mutta prekliinisten kokeiden tuloksia ei ole vielä julkaistu (Blakney ym., 2021).

Viruksen replikaatiopartikkeleita on hyödynnetty enemmän syöpärokotteiden saralla ja kliiniset tulokset ovat olleet rohkaisevia. Nämä tutkimukset yhdessä lupaavat saRNA-rokotteiden hyödyntämistä tulevaisuudessa syövän hoidossa ja myös kuljetustapojen oletetaan vaihtuvan ei- virusperäisiksi (Blakney ym., 2021).

## 6. Rokotteet syövän estäjänä

Ennaltaehkäisevät syöpärokotteet pystyvät vähentämään syövän esiintymistä ja parantamaan ennustetta saamalla aikaan tiettyjen syöpien kehittymistä estäviä immuunivasteita. Tällä hetkellä käytössä on rokotteita, jotka suojaavat syöpää aiheuttavilta virusinfektioilta; hepatiitti B (HBV) ja ihmisen papilloomavirus (HPV) (Crews ym., 2021).



## 6.1. HPV

Ihmisen papilloomaviruksen (HPV) on todettu aiheuttavan muun muassa kohdunkaulan, peniksen, peräaukon sekä pään ja kaulan alueen syöpiä. Papilloomavirusta on löydetty yli 130 genotyyppiä. Noin 40 virustyyppiä pystyy aiheuttamaan genitaalialueen infektoita sekä miehillä että naisilla. Virukset viihtyvät ihon ja limakalvojen epiteelillä ja ne jaetaan edelleen kahteen virustyyppiin. Matalan riskin tyypit aiheuttavat pääasiassa hyvänlaatuisia syyliä ja kondyloomia, ja korkean riskin tyypit taas muun muassa syöpää. Kaksi onkogeenistä korkean riskin papilloomavirustyyppiä (HPV 16 ja 18) aiheuttavat 70 % kohdunkaulan syöpätapauksista maailmanlaajuisesti (Stanley, 2008).

Korkean riskin papilloomavirusten aiheuttamien syöpätautien ehkäisemiseksi on kansainvälisesti käytössä kolme eri rokotetta. Tehokas ennaltaehkäisevä HPV-rokote, HPV L1 virusmainen partikkeli -rokote (VLP). L1 on papilloomaviruksen kapsidiproteiini eli kuoren proteiini. Rokote annetaan pistoksena lihakseen, missä strooman dendriittiset solut siirtyvät VLP:n tuoman rokotesekoksen kanssa imusolmukkeeseen aiheuttaen immuunikaskadin. Immuunikaskadi taas saa aikaan tehokkaan T-solu riippuvaisen B-soluvasteen, mikä aiheuttaa L1 spesifisiä neutraloivia vasta-aineita ja luo immunologisen muistin (Stanley, 2008).

Vaikka HPV rokotusten antaminen on aikaisemmin rajoittunut tyttöihin, tutkimuksissa saadut tulokset ovat osoittaneet, että myös poikien rokottaminen ennaltaehkäisee tyttöjen HPV-tartuntoja (Vänskä ym., 2020).

## 6.2. Hepatiitti B

B-hepatiittivirus (HBV) on yhdistetty heptosellulaariseen karsinoomaan (HCC) eli maksasyövän syntyyn (Chang & Chen, 2015). HCC:n tavallisin syy on kyseisen viruksen aiheuttama krooninen maksatulehdus. Lisäksi virus voi aiheuttaa esimerkiksi maksakirroosin. Virus tarttuu joko horisontaalisesti tai äidiltä vastasyntyneelle, mikä on viruksen endeemisillä alueilla yleisin tartuntatapa (Chang & Chen, 2015).

HBV infektioiden ehkäiseminen immunisaatiolla on paras tapa eliminoida HBV:hen liitettyjä tauteja. Sekä passiivinen immunisaatio hepatiitti B immunoglobuliinilla eli vasta-aineina toimivilla proteiineilla, että aktiivinen immunisaatio HBV-rokotteella tehoavat virusta vastaan ja yhdistelmä molempia on paras tapa ehkäistä HBV infektiota. HBV-rokote on ensimmäinen

syöpää ehkäisevä rokote ja sen ehkäisyteho heptosellulaarista karsinoomaa vastaan on noin 70 %. HBV immunisaation ehkäisyteho kroonista infektiota vastaan taas on jopa 90–95 % (Chang & Chen, 2015).

Hepatiitti B:n tapauksessa ennaltaehkäisy on tehokkaampaa kuin terapia. HBV-rokotteiden kehittäminen käyttämällä viruksen kantajista johdettua HBsAg pintaproteiinia, joka toimii vasta-ainetuotannon aikaansaamana immunogeeninä HBV infektiota vastaan, on menestyksenkäs pioneeri rokotekehityksen historiassa. Viimeisen kolmen vuosikymmenen aikana rokotteen on todettu olevan turvallinen ja se on onnistunut suojaamaan ihmisiä HBV infektiolta ja sen aiheuttamilta taudeilta maailmanlaajuisesti (Chang & Chen, 2015).

## 7. Tulevaisuus

mRNA-rokotteet ovat saavuttaneet suurta huomiota prekliinisissä ja kliinisissä tutkimuksissa sekä syövästä että infektiivien tautien suhteen johtuen muun muassa Covid-19 mRNA-rokotteiden hyväksymisestä (Miao ym., 2021). mRNA-rokotteita pidetään merkittävänä ja lupaavana uuden sukupolven rokotteenä johtuen esimerkiksi niiden nopeasta kehityskyvystä ja alhaisista tutkimus- sekä valmistuskustannuksista. Sekä mRNA-syöpärokotteita koskevat, että infektiivia tauteja vastaan suoritettavat mRNA kokeet ovat tarjonneet rohkaisevia tuloksia, minkä takia seuraavat vuodet tulevat olemaan kriittisiä uusien mRNA-pohjaisten terapioiden kehittämisen kannalta teknologian kehittyessä nopeasti (Chakraborty ym., 2021).

Monia mRNA teknologiaan liittyviä kohtia tulee kehittää. Esimerkiksi mRNA-rokotteiden kuljetustekniikoissa vaaditaan edistysaskelia. Lisäksi laajennettuja kliinisiä kokeita tarvitaan, jotta rokotteiden immunogeenisuutta ja turvallisuutta pystytään ymmärtämään paremmin (Chakraborty ym., 2021). Monet muut kysymykset jäävät myös vielä vaille vastausta, kuten erot saRNA:n ja perinteisen mRNA:n välillä (Maruggi ym., 2019).

Vaikka suurin osa mRNA-rokotteiden tutkimuksista koskevat kasvaimia ja viruksia, tutkijat ovat lisäksi soveltaneet rokotteita bakteeri-infektioihin ja loistauteihin (Wang ym., 2021). Esimerkiksi saRNA-rokotteiden tehoa malariaa vastaan on arvioitu, ja saadut tulokset olivat yllättävän lupaavia (Baeza Garcia ym., 2018). Bakteereita ja loisia koskevat tutkimukset ovat kuitenkin rajoittuneita rokotteiden tehon ollessa rajallista niiden kohdalla. Bakteerit esimerkiksi ovat huomattavasti suurempia kuin virukset ja lisäksi niiden rakenteessa ja immunologiassa on eroja. Myös sopivien antigeenien löytäminen bakteerin kohdalla on

hankalaa. Lisäksi suurinta osaa bakteerien aiheuttamista taudeista hoidetaan jo tehokkailla antibiooteilla (Wang ym., 2021).

Myös immunogeenisten TAA:iden ja TSA:iden tunnistaminen on vielä suuri rima ylitettäväksi mRNA-rokotteiden kohdalla, mutta viimeaikainen neoantigeenien tunnistaminen on helpottanut personalisoitujen eli potilaiden syöpätyypille ominaisten rokotteiden soveltamista hoidoissa. Kliiniset tutkimukset ovat osoittaneet lupaavia tuloksia personalisoitujen rokotteiden käytöstä useiden kiinteiden kasvainten, kuten metastaattisen melanooman sekä aggressiivisen haimasyövän kohdalla. Jotta mRNA-rokotteiden tehokkuutta kasvaimia vastaan voitaisiin edelleen parantaa, monet käynnissä olevat tutkimukset arvioivat mRNA-rokotteiden yhdistämistä muun muassa sytokiini-terapioiden kanssa (Miao ym., 2021).

Yleisesti, mRNA-rokotteet ovat tehokas ja monipuolinen syöpärokotealusta. Tulevien tutkimusten tulisi keskittyä ymmärtämään ja hyödyntämään mRNA:n paradoksista synnynnäistä immunitettia, kehittämään antigeeniekspression tehokkuutta ja esiintymistä suunnittelemalla kehittyneitä ja sietokykyisiä kuljetussysteemejä, sekä modifioimaan mRNA rakenteita kontrolloidun sekä kestävänsä ekspression saavuttamiseksi (Miao ym., 2021).

## 8. Lähdeluettelo

- Baeza Garcia, A., Siu, E., Sun, T., Exler, V., Brito, L., Hekele, A., Otten, G., Augustijn, K., Janse, C. J., Ulmer, J. B., Bernhagen, J., Fikrig, E., Geall, A., & Bucala, R. (2018). Neutralization of the Plasmodium-encoded MIF ortholog confers protective immunity against malaria infection. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-018-05041-7>
- Blakney, A. K., Ip, S., & Geall, A. J. (2021). An Update on Self-Amplifying mRNA Vaccine Development. *Vaccines* 2021, Vol. 9, Sivu 97, 9(2), 97. <https://doi.org/10.3390/VACCINES9020097>
- Bloom, K., van den Berg, F., & Arbutnot, P. (2020). Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases. *Gene Therapy* 2020 28:3, 28(3), 117–129. <https://doi.org/10.1038/s41434-020-00204-y>
- Boczkowski, D., Nair, S. K., Snyder, D., & Gilboa, E. (1996). Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen-presenting cells in vitro and in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 184(2), 465–472. <https://doi.org/10.1084/JEM.184.2.465>
- Chakraborty, C., Sharma, A. R., Bhattacharya, M., & Lee, S. S. (2021). From COVID-19 to Cancer mRNA Vaccines: Moving From Bench to Clinic in the Vaccine Landscape. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.679344/PDF>
- Chang, M. H., & Chen, D. S. (2015). Prevention of Hepatitis B. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(3). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A021493>
- Conry, R. M., LoBuglio, A. F., Wright, M., Sumerel, L., Pike, M. J., Johannig, F., Benjamin, R., Lu, D., & Curiel, D. T. (1995). Characterization of a Messenger RNA Polynucleotide Vaccine Vector. *Cancer Research*, 55(7).
- Crews, D. W., Dombroski, J. A., & King, M. R. (2021). Prophylactic Cancer Vaccines Engineered to Elicit Specific Adaptive Immune Response. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.626463>
- Heine, A., Juranek, S., & Brossart, P. (2021). Clinical and immunological effects of mRNA vaccines in malignant diseases. *Molecular Cancer*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-021-01339-1>
- Hobernik, D., & Bros, M. (2018). DNA Vaccines—How Far From Clinical Use? *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS19113605>
- Karikó, K., Muramatsu, H., Ludwig, J., & Weissman, D. (2011). Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucleic Acids Research*, 39(21). <https://doi.org/10.1093/NAR/GKR695>
- Knezevic, I., Liu, M. A., Peden, K., Zhou, T., & Kang, H.-N. (2021). Development of mRNA Vaccines: Scientific and Regulatory Issues. <https://doi.org/10.3390/vaccines9020081>

- Kowalski, P. S., Rudra, A., Miao, L., & Anderson, D. G. (2019). Delivering the Messenger: Advances in Technologies for Therapeutic mRNA Delivery. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 27(4), 710–728. <https://doi.org/10.1016/J.YMTHE.2019.02.012>
- Kutzler, M. A., & Weiner, D. B. (2008). DNA vaccines: ready for prime time? *Nature Reviews. Genetics*, 9(10), 776–788. <https://doi.org/10.1038/NRG2432>
- Lai, Y., & Gallo, R. L. (2008). Toll-like receptors in skin infectious and inflammatory diseases. *Infectious Disorders Drug Targets*, 8(3), 144. <https://doi.org/10.2174/1871526510808030144>
- Li, Y., Su, Z., Zhao, W., Zhang, X., Momin, N., Zhang, C., Wittrup, K. D., Dong, Y., Irvine, D. J., & Weiss, R. (2020). Multifunctional oncolytic nanoparticles deliver self-replicating IL-12 RNA to eliminate established tumors and prime systemic immunity. *Nature Cancer* 2020 1:9, 1(9), 882–893. <https://doi.org/10.1038/s43018-020-0095-6>
- Maruggi, G., Zhang, C., Li, J., Ulmer, J. B., & Yu, D. (2019). mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases. In *Molecular Therapy* (Vol. 27, Numero 4). <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.01.020>
- Miao, L., Zhang, Y., & Huang, L. (2021). mRNA vaccine for cancer immunotherapy. *Molecular Cancer* 2021 20:1, 20(1), 1–23. <https://doi.org/10.1186/S12943-021-01335-5>
- mRNA-rokotteet ja koronavirus - THL*. (n.d.). Haettu 1.12.2021 osoitteesta <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/ajankohtaista/ajankohtaista-koronaviruksesta-covid-19/rokotteet-ja-koronavirus/mrna-rokotteet>
- Pardi, N., Hogan, M. J., Naradikian, M. S., Parkhouse, K., Cain, D. W., Jones, L., Moody, M. A., Verkerke, H. P., Myles, A., Willis, E., LaBranche, C. C., Montefiori, D. C., Lobby, J. L., Saunders, K. O., Liao, H.-X., Korber, B. T., Sutherland, L. L., Scarce, R. M., Hraber, P. T., ... Weissman, D. (2018). Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. *The Journal of Experimental Medicine*, 215(6), 1571–1588. <https://doi.org/10.1084/JEM.20171450>
- Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W., & Weissman, D. (2018). mRNA vaccines — a new era in vaccinology. *Nature Reviews Drug Discovery* 2018 17:4, 17(4), 261–279. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.243>
- Pardi, N., Hogan, M. J., & Weissman, D. (2020). Recent advances in mRNA vaccine technology. *Current Opinion in Immunology*, 65, 14–20. <https://doi.org/10.1016/J.COI.2020.01.008>
- Pardi, N., Muramatsu, H., Weissman, D., & Karikó, K. (2013). In Vitro Transcription of Long RNA Containing Modified Nucleosides. *Methods in Molecular Biology*, 969, 29–42. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-260-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-260-5_2)
- Rokotetutkimuksen sanasto - Rokotetutkimuskeskus*. (n.d.). Haettu 17.11.2021 osoitteesta <https://rokotetutkimus.fi/tutkimustyo/rokotetutkimuksen-sanasto/>
- Stanley, M. (2008). Immunobiology of HPV and HPV vaccines. *Gynecologic Oncology*, 109(2), S15–S21. <https://doi.org/10.1016/J.YGYNO.2008.02.003>

- Tan, L., & Sun, X. (2018). Recent advances in mRNA vaccine delivery. *Nano Research* 2018 11:10, 11(10), 5338–5354. <https://doi.org/10.1007/S12274-018-2091-Z>
- Tanne, A., & Bhardwaj, N. (2017). Dendritic Cells: General Overview and Role in Autoimmunity. *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology*, 126-144.e6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-31696-5.00009-7>
- Tsukumo, S. I., & Yasutomo, K. (2018). Regulation of CD8+ T cells and antitumor immunity by Notch signaling. *Teoksessa Frontiers in Immunology* (Vol. 9, Numero JAN). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00101>
- van Driessche, A., van de Velde, A. L. R., Nijs, G., Braeckman, T., Stein, B., de Vries, J. M., Berneman, Z. N., & van Tendeloo, V. F. I. (2009). Clinical-grade manufacturing of autologous mature mRNA-electroporated dendritic cells and safety testing in acute myeloid leukemia patients in a phase I dose-escalation clinical trial. *Cytotherapy*, 11(5), 653–668. <https://doi.org/10.1080/14653240902960411>
- Vänskä, S., Luostarinen, T., Baussano, I., Apter, D., Eriksson, T., Natunen, K., Nieminen, P., Paavonen, J., Pimenoff, V. N., Pukkala, E., Söderlund-Strand, A., Dubin, G., Garnett, G., Dillner, J., & Lehtinen, M. (2020). Vaccination With Moderate Coverage Eradicates Oncogenic Human Papillomaviruses If a Gender-Neutral Strategy Is Applied. *The Journal of Infectious Diseases*, 222(6), 948–956. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIAA099>
- Wang, Y., Zhang, Z., Luo, J., Han, X., Wei, Y., & Wei, X. (2021). mRNA vaccine: a potential therapeutic strategy. *Molecular Cancer* 2021 20:1, 20(1), 1–23. <https://doi.org/10.1186/S12943-021-01311-Z>
- Wolff, J. A., Malone, R. W., Williams, P., Chong, W., Acsadi, G., Jani, A., & Felgner, P. L. (1990). Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science (New York, N.Y.)*, 247(4949 Pt 1), 1465–1468. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1690918>
- Xu, S., Yang, K., Li, R., & Zhang, L. (2020). Mrna vaccine era—mechanisms, drug platform and clinical propection. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 1–35. <https://doi.org/10.3390/IJMS21186582>
- Zarghampoor, F., Azarpira, N., Khatami, S. R., Behzad-Behbahani, A., & Foroughmand, A. M. (2019). Improved translation efficiency of therapeutic mRNA. *Gene*, 707, 231–238. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2019.05.008>
- Zhang, C., Maruggi, G., Shan, H., & Li, J. (2019). Advances in mRNA Vaccines for Infectious Diseases. *Frontiers in Immunology*, 0(MAR), 594. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.00594>
- Zheng, Y., Luo, Y., Chen, X., Li, H., Huang, B., Zhou, B., Zhu, L., Kang, X., & Geng, W. (2021). The role of mRNA in the development, diagnosis, treatment and prognosis of neural tumors. *Molecular Cancer*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-021-01341-7>