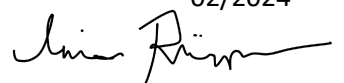


# KRAS-ONKOGEEINI

## LÄÄKEKEHITYKSEN KOHTEENA

LuK-tutkielma  
Turun yliopisto  
Bioteknologian laitos  
Biokemian tutkinto-ohjelma

02/2024



Annika Riippa

ChatGTP:tä käytettiin tiedonhaun apuna sopivien hakusanojen ideoimiseen sekä kielenhuoltoon.

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä.

# TIIVISTELMÄ

Turun yliopisto

Bioteknologian laitos

Annika Riippa: KRAS-onkogeeni lääkekehityksen kohteena

Tutkielma, 22 s.

Biokeemia

02/2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä.

---

Kirstenin rotta-sarkooma-virus-onkogeeni-homologi, KRAS, kuuluu RAS-perheeseen, joka muodostaa yleisimmin mutatoituneen geeniperheen ihmisten syövässä. Se on pieni ja pinnaltaan suhteellisen sileä solukalvolla sijaitseva guanosiinitrifosfaasi, joka toimii kytkimenä sitoutuen vuorotellen inaktiiviseen guanosiinidifosfaattiin ja aktiiviseen guanosiinitrifosfaattiin. Aktiivinen KRAS aktivoi useita eri signaalinvälitysteitä, jotka edistävät solujen eloonjäämistä ja lisääntymistä.

KRAS on ollut lääkekehityksen mielenkiinnon kohde siitä asti, kun sen onkogeeninen luonne ihmisten syövässä selvitettiin. Useat lääkekehitysyrietykset ovat kuitenkin epäonnistuneet ja sen ajateltiin jo olevan lääkekehitykseen kelpaamaton molekyyli. Viime aikojen kehitys on kuitenkin tuottanut suoria KRASG12C-mutaatioihin kohdistuvia inhibiittoreita. Näistä ensimmäiset sotorasib ja adagrasib ovat saaneet jo hyväksynnän hoitomuodoksi ei-pienisoluista keuhkosyöpää sairastavilla potilailla, jotka ovat saaneet aikaisemman hoidon sairauteensa.

KRAS-mutaatioihin kohdistuvat inhibiittorit ovat aktiivisen kehityksen kohteena, ja niitä tutkitaan sekä ainoina hoitomuotona että osana yhdistelmähoitoja. Myös useampaan mutaatioon kohdistuvat inhibiittorit ovat tutkimuksen kohteena. Tulevaisuudessa myös rokotteet ja adoptiivinen soluterapia voivat olla vaihtoehtoisia hoitomuotoja KRAS-mutatoituneita syöpiä vastaan.

Asiasanat: KRA-onkogeeni, lääkekehitys, syöpä

# SISÄLTÖ

1	JOHDANTO .....	2
2	KRAS-ONKOGEENI .....	3
2.1	KRASIN RAKENNE.....	3
2.2	KRASIN MERKITYS SIGNAALINVÄLITYKSESSÄ.....	4
3	KRAS-MUTAATIOIOT SYÖVISSÄ .....	7
4	LÄÄKEKEHITYKSEN ERI STRATEGIAT KRAS-MUTAATIOIHIN .....	9
4.1	SOLUKALVOON KIINNITTÄMISEN ESTÄMINEN.....	9
4.1.1	FARNESYYLITRANSFERAASIAESTÄJÄT.....	9
4.1.2	FOSFODIESTERAASI $\delta$ .....	10
4.2	MUTAATIOIDEN KOHDISTAMINEN KAHTAAN ERI GEENIIN .....	10
4.3	G12C-INHIBIITTORIT .....	11
4.3.1	ESIKLIINISET TUTKIMUKSET.....	12
4.3.2	SOTORASIB (AMG510).....	13
4.3.3	ADAGRASIB MRTX849 .....	14
4.3.4	G12C-INHIBIITTORIEN ONGELMAT.....	15
4.4	MUIHIN MUTAATIOIHIN KOHDISTUVAT SUORAT INHIBIITTORIT .....	15
5	TULEVAISUUDEN STRATEGIAT KRAS LÄÄKEKEHITYKSESSÄ .....	17
5.1	ROKOTTEET .....	17
5.2	ADOPTIIVINEN SOLUTERAPIA .....	17
6	YHTEENVETO .....	19
7	KIRJALLISUUS.....	20

# 1 JOHDANTO

Kirstenin rotta-sarkooma-virus-onkogeeni-homologi (*engl. Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog, KRAS*) kuuluu rotta-sarkooma-virus onkogeeniperheeseen (RAS) yhdessä Harvey ja neuroblastooma rotta-sarkooma-virus-onkogeenien kanssa (HRAS, NRAS). RAS-mutaatioista KRAS-mutaatiot ovat yleisimpiä, muodostaen 86 % kaikista RAS-mutaatioista. KRAS-mutaatioita tavataan erityisesti keuhko-, haima- ja paksusuolensyövissä. (Liu ja muut 2019) KRAS-geeni sijaitsee kromosomin kaksitoista lyhyessä käsivarressa ja se koodaa kahta eri proteiini-isoformia: KRAS4B (188 aminohappoa) ja KRAS4A (189 aminohappoa). Nämä kaksi proteiinia eroavat toisistaan neljännen eksonin vaihtoehdoisen silmukoinnin seurauksena. (Huang ja muut 2021.)

RAS-geeniperhe muodostaa yleisimmin mutatoituneen geeniperheen ihmisten syöissä ja siksi se on ollut lääkekehityksen kiinnostuksen kohde. Yli neljän vuosikymmenen ajan on tehty lukuisia yrityksiä löytää tehokkaita lääkkeitä KRAS-mutaatioiden hoitoon. Suurin osa näistä yrityksistä on ollut epäspesifisiä ja tehottomia, eikä riittävää tehoa tai selektiivisyyttä ole saavutettu. Tämän takia KRASia on pidetty lääkekehitykseen soveltumattomana molekyylinä. (Huang ja muut 2021.) Viimeisen kymmenen vuoden aikana tutkimukset ovat antaneet rohkaisevia tuloksia, ja ensimmäiset suorat inhibiittorit, sotorasib ja adagrasib, on hyväksytty hoidoksi potilaille, joilla on KRASG12C-mutaatio ja jotka ovat saaneet aiempia hoitoja ei-pienisoluisista keuhkosyöpää vastaan.

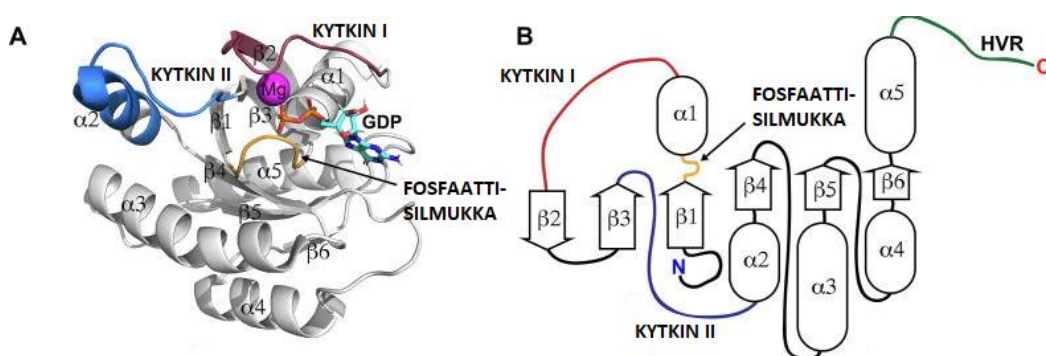
Tässä tutkielmassa käsitellään KRAS-onkogeenin rakennetta, sen merkitystä signaalinvälityksessä sekä sen mutaatioita eri syöissä. Tutkielman pääpaino on luoda katsaus lääkekehitykseen esittelemällä muutamia aikaisempia lähestymistapoja KRASin estämiseksi sekä esittelemällä viime aikoina kehitettyjä suoria KRASiin vaikuttavia inhibiittoreita. Lisäksi tutkielmassa tarkastellaan, mihin suuntaan lääkekehitys on tulevaisuudessa kohdistumassa.

## 2 KRAS-ONKOGEENI

### 2.1 KRASIN RAKENNE

KRAS on 21kDa:n kokoinen, monomeerinen, solukalvolla sijaitseva pieni guanosiinitrifosfataasi (GTPaasi), joka toimii kytkimenä inaktiivisen ja aktiivisen tilan välillä. Inaktiivisessa tilassa se on sitoutunut guanosiinidifosfaattiin (GDP), ja aktiivisessa tilassa guanosiinitrifosfaattiin (GTP). Fysiologisissa olosuhteissa näiden kahden tilan välistä muutosta säätelevät guaniinukleotidivaihtotekijät (*engl. Guanine nucleotide exchange factors, GEF*) tai GTPaasia aktivoivat proteiinit (*GAPit*). *GEFit* katalysoivat GDP:n muuttumista GTP:ksi, kun taas *GAPit* lisäävät GTP:n hydrolyysia GDP:ksi. Aktiivisessa tilassa, eli sitouduttuaan GTP:hen, KRAS pystyy aktivoimaan efektorimolekyylejä, kuten RAF-kinaaseja, PI3K:ta ja Ra1GDS:ää. (Liu ja muut 2019.)

KRAS koostuu G-domeenista ja C-terminaalisesta hännästä, jota kutsutaan hypervariaabelialueeksi (HVR). G-domeenin rakenne muodostuu viidestä alfa-heliksistä ja kuudesta beetanauhasta. G-domeeni voidaan vielä jakaa eri alueisiin: kytkin I:seen (*engl. Switch I*), kytkin II:seen (*engl. Switch II*) ja fosfaattisilmukkaan (*engl. P-loop*) (kuva 1). Kytkinalueet muodostavat tärkeän alueen, johon efektorimolekyylit ja RAS-säätelijät (*GAPit* ja *GEFit*) voivat sitoutua. Fosfaattisilmukka on lyhyt, rakenteellinen motiivi proteiinissa. Sen tehtävänä on mahdollistaa guaniinukleotidien (GDP, GTP) sitoutuminen ja siten osallistua konformaatiomuutokseen, joka tapahtuu GDP:n muuttuessa aktiiviseksi GTP:ksi. Hypervariaabelialue kiinnittää KRAS-molekyylin solukalvoon. Se on vuorovaikutuksessa solukalvon kanssa, mikä on keskeistä solunsisäisten signaalintireittien säätelyssä. (Han ja muut 2021; Pantsar 2020.)



**KUVA 1. KRAS4B:n rakenne.** A. Villityypin KRAS4B:n kiderakenne. B. Kaavakuva KRAS4B:n sekundäärirakenteesta (Kuva muokattu Pantsar 2020).

KRAS käy läpi sarjan translaation jälkeisiä modifikaatioita toimiakseen solukalvolla. HVR-alue sisältää CAAX-sekvenssin (C: kysteini, A: alifaattinen aminohappo, X: mikä tahansa aminohappo), jonka translaation jälkeinen muokkautuminen on isossa osassa KRASin kiinnittyessä solukalvoon. Ensin CAAX-motiivin sisältämä kysteini farnesyloidaan farnesyylitransferaasin toimesta. Tämän jälkeen RAS-konvertaasientsyymi (*engl.* RAS-converting enzyme 1, RCE1) poistaa AAX-aminohapot ja isoprenyylidikysteiniinikarboksyylimetyylitransferaasi (*engl.* Isoprenylcysteine carboxylmethyltransferase, ICMT) metyloi karboksyyliryhmän. Näiden kolmen entsyymin muokkaamisen lopputuloksena KRAS-proteiinin C-terminaali muuttuu hydrofiilisestä hydrofobiseksi, mikä mahdollistaa sen liittymisen solukalvoihin. (Ahearn ja muut 2012.)

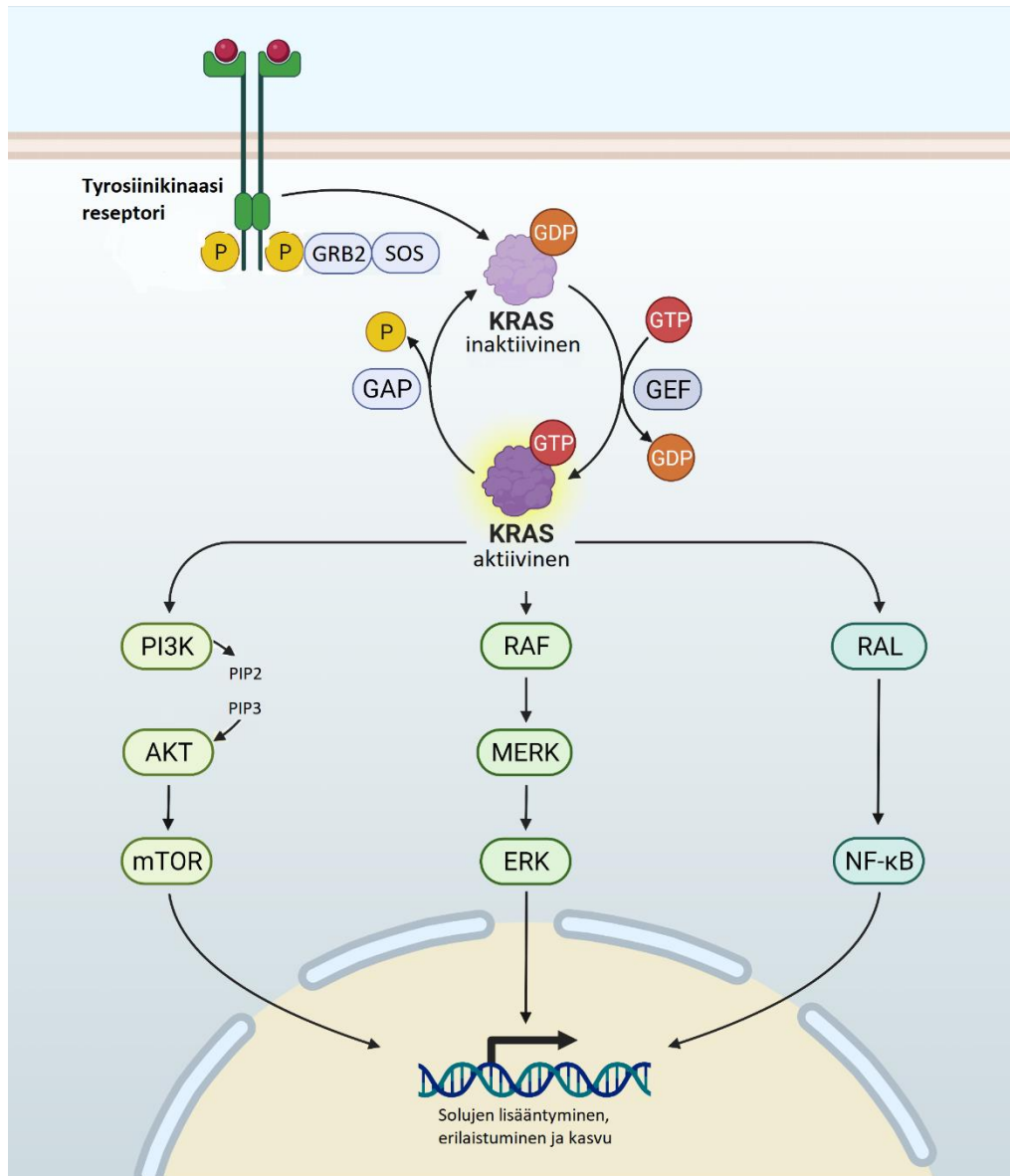
## 2.2 KRASIN MERKITYS SIGNAALINVÄLITYKSESSÄ

KRAS-signalointi alkaa, kun ligandi sitoutuu ylävirran reseptoriin, joka yleensä on tyrosiinikinaasireseptori. Monet kasvutekijät kuten epidermaalinen kasvutekijä (*engl.* *Epidermal Growth Factor, EGF*), verihiutaleista peräisin oleva kasvutekijä (*engl.* *Platelet-Derived Growth Factor*) tai fibroblastikasvutekijä (*engl.* *Fibroblast Growth Factor*) voivat toimia tyrosiinikinaasia aktivoivina ligandeina. Esimerkiksi, kun EGF sitoutuu sen reseptoriin EGFR:ään, reseptori dimerisoituu ja tapahtuu autofosforylaatio. Fosforyloitunut EGF-reseptori sitoutuu kasvutekijäreseptorilla sitoutuneeseen proteiini 2:seen (*engl.* *Growth factor receptor-bound protein 2, Grb2*). Grb2 on adaptorimolekyyli ja se sitoo SOS:n (*engl.* *Son of Sevenless*) solukalvoon. SOS on GEF-tekijä KRAS-proteiinille, joten se aktivoi KRASin (kuva 2). (Uprety ja Adjei 2020.)

Aktivoitunut KRAS voi välittää signaalin useille efektorimolekyyleille, kuten nopeasti kiihtyvä-fibrosarkooma (*engl.* *Rapidly Accelerated Fibrosarcoma, RAF*) proteiineille tai fosfoinositidi-3-kinaasille (*engl.* *Phosphoinositide 3-kinase, PI3K*). Kolme parhaiten tunnettua KRASin aktivoimaa reittiä on RAF-MEK-ERK-, PI3K-AKT-mTOR- ja RALGEF-RAL-reitit. Ensimmäisessä RAF-MEK-ERK-reitissä aktivoitunut KRAS-GTP lisää nopealla tahdilla seriini/treoniinispesifisen proteiinikinaasin (RAF) määrää sytoplasmalta solukalvoon. Lisäksi KRAS edistää RAFin dimerisoitumista ja fosforylaatiota. Aktivoitunut RAF fosforyloi mitogeeni-aktivoitun proteiinikinaasin (*engl.* *Mitogen Activated Protein Kinase, MEK*), joka puolestaan fosforyloi solunulkoisen-signaalin säätelemän kinaasin (*engl.* *Extracellular Signal-Regulated Kinase, ERK*) (kuva 2). Fosforyloitunut ERK siirtyy tumaan, jossa se fosforyloi ja aktivoi eri transkriptiofaktoreita, ja vaikuttaa tällä tavoin solujen lisääntymiseen ja erilaistumiseen (Huang ja muut 2021; Martinelli ja muut 2017.)

Toisessa PI3K-AKT-mTOR- reitissä aktivoitunut KRAS aktivoi PI3K:n sitoutumalla sen p110- alayksikköön (kuva 2). Aktivoitunut PI3K fosforyloi fosfatidyylinositoli-4,5-bifosfaatin (*engl. Phosphatidylinositol 4,5-biphosphate, PIP2*) fosfatidyylinositoli-3,4,5-trifosfaatiksi (*engl. Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, PIP3*). PIP3 sitoutuu fosfoinositidiriippuvaiseen kinaasi 1:seen (*engl. Phosphoinositide-dependent kinase-1, PDK1*), joka fosforyloi oman kohdeproteiininsa, proteiini kinaasi B:n (*engl. Protein kinase B*) eli Akt:n. (Huang ja muut 2021.) Aktivoitunut Akt fosforyloi rapamysiiniherkän proteiinin (*engl. Mammalian Target of Rapamycin, mTOR*), joka vaikuttaa solujen jakautumiseen ja proteiinisynteesiin. (Han ja muut 2021).

Kolmas parhaiten tunnettu KRASin välittämä reitti on RALGEF-RAL-reitti (kuva 2). Aktivoitunut KRAS voi aktivoida Ral-Guaanininvaihtotekijän (*engl. Ral-Guanine Nucleotide Exchange Factor, RalGEF*), joka aktivoi Ral-proteiinit. Ral-proteiinit ovat pieniä GTPaaseja ja ne luokitellaan osaksi Ras-perhettä. Ral-proteiineja on kaksi isoformia: Ral-a ja Ral-b. Aktivoituneet Ral-proteiinit vaikuttavat useisiin solun toimintoihin kuten solun muotoon, migraatioon, adheesioon, endosytoosiin ja kalvoliikenteeseen. (Guin ja Theodorescu 2015; Huang ja muut 2021.) KRASin signalointireitit ovat esitetty kuvassa 2.

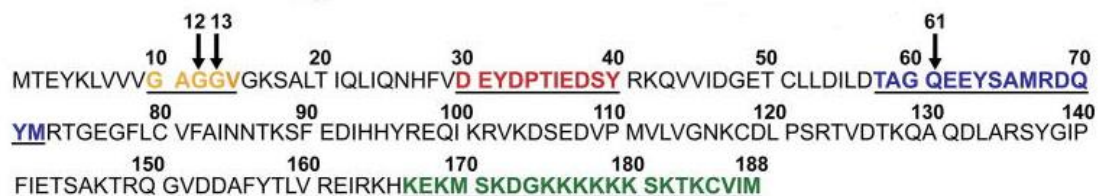


**KUVA 2. KRASin aktivoimat signaalintireitit.** Kuvassa esitetty kolme yleisintä GTP-sitoutuneen KRASin aktivoimaa signaalinvälitysreittiä: PI3K-AKT-mTOR-reitti, RAF-MEK-ER-reitti ja RALGEF-RAL-reitti. (Kuva muokattu Parikh ja muut 2022).

### 3 KRAS-MUTAATIOIT SYÖVISSÄ

Villityypin KRAS-proteiini aktivoituu väliaikaisesti reseptorityrosiinikinaasien signaloinnin seurauksena. Mutaatiot KRAS-proteiinissa häiritsevät guaniinin vaihtosykliä, jolloin KRAS-proteiini pysyy jatkuvasti aktiivisessa GTP-muodossa. Tällöin myös alavirran signalointireitit pysyvät jatkuvasti aktiivisina, mikä edistää syöpään liittyvää kasvua ja toimintaa. (Teo ja muut 2022.)

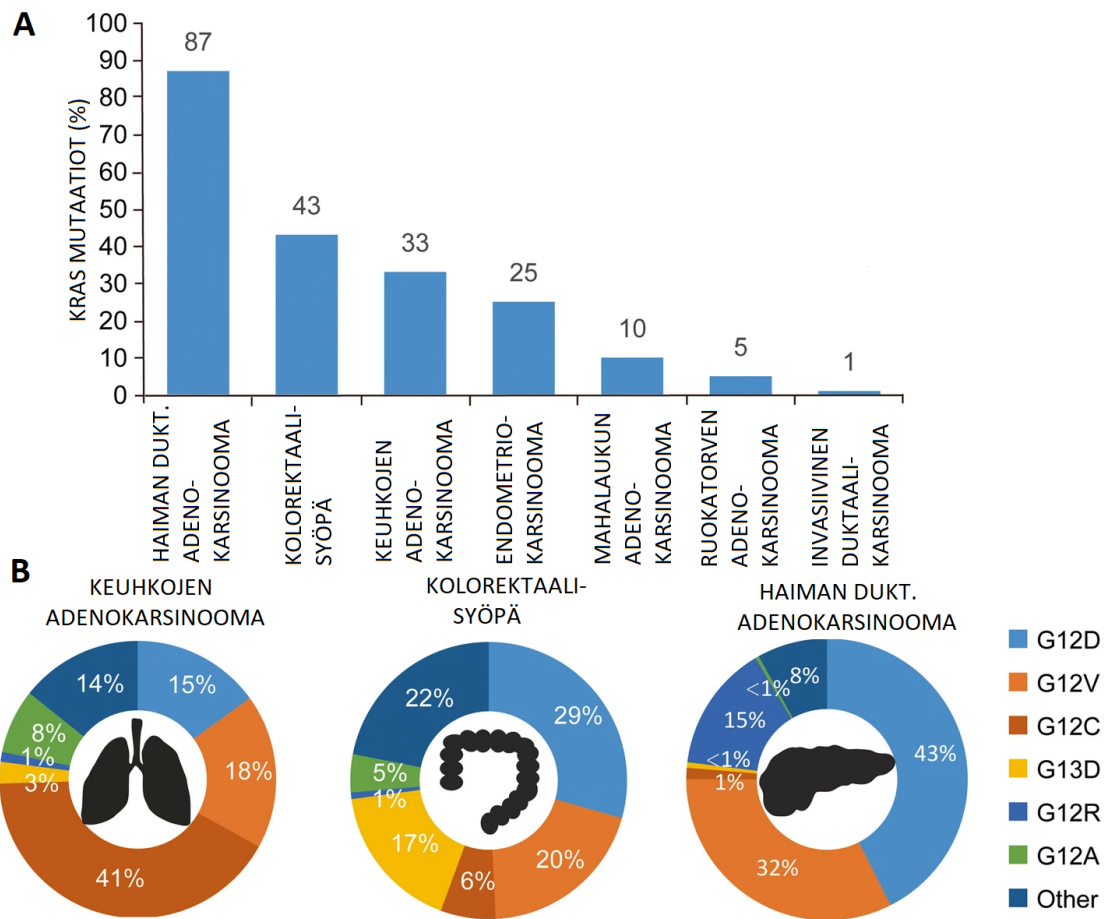
Suurin osa KRAS-mutaatioista on yhden emäksen pistemutaatioita, jotka osuvat yleensä kodoneihin 12 (glysiini-12, G12), 13 (glysiini-13, G13) ja 61 (glutamiini-61, Q61) (kuva 3). Kunkin kodonin aminohappo voi muuttua yhdeksi kuudesta eri aminohaposta, kun yksi emäspari korvautuu toisella. Kodonien 12 ja 13 mutaatioita hallitsee erityisesti G->A-mutaatio toisessa emäsparissa, mikä johtaa G12D- tai G13D-mutaatioihin. Toinen yleinen muutos on G->T toisessa emäsparissa, mikä tuottaa G12V-mutaation. G12C-mutaatio johtuu G->T muutoksesta kodonin 12 ensimmäisessä emäsparissa. (Prior ja muut 2012.) Glysiinin muuttuminen toiseksi aminohapoksi on uskottu aiheuttavan steerisen esteen, joka estää GAPin arginiinisormeaa pääsemästä GTPaasikohtaan ja estää siten hydrolyysiä. Harvinaisempia pistemutaatioita tavataan kodoneissa 63, 117, 119 ja 146. (Simanshu ja muut 2017.)



**KUVA 3. KRAS4Bn proteiinisekvenssi.** Proteiinisekvenssiin on nuolella merkattu yleisimmät mutatoituvat kohdat. Lisäksi tärkeät rakenteet on merkitty eri värein: P-silmukka oranssi; kytkin I punainen, kytkin II sininen ja HVR vihreä. (Kuva muokattu Pantsar 2020).

KRAS4B on yleisin ihmisten syöissä mutatoituva RAS-isoformi. Se ilmenee erityisen runsaasti haimasyövässä (90 %), paksusuolensyövässä (30–40 %) ja ei-pienisoluisessa keuhkasyövässä (15–20 %) (kuva 4). Lisäksi sitä esiintyy sappiteiden syöissä, kohdunrungon syövässä, kohdunkaulan syövässä, virtsarakon syövässä, maksasyövässä, myeloisissa leukemiassa ja rintasyövässä. (Liu ja muut 2019.)

KRAS-mutaatioiden profiili vaihtelee huomattavasti eri syöpätyypeissä. Esimerkiksi haima- ja paksusuolensyövässä G12D ja G12V ovat kaksi yleisintä mutaatiotyyppiä (kuva 4). Paksusuolensyövässä havaitaan myös useammin harvinaisempia mutaatioita. Ei-pienisoluisessa keuhkasyövässä yleisin mutaatiotyyppi on G12C. (Zhu ja muut 2022.)



**KUVA 4. KRAS-mutaatiot eri syöpätyypeissä. A. KRAS-mutaatioiden esiintyvyys eri syöpätyypeissä. B. KRAS-mutaatiotyypit ja niiden esiintyvyys keuhkojen adenokarsinoomassa, kolorektaalisyövässä ja paksusuolen adenokarsinoomassa. (Kuva muokattu Zhu ja muut 2022).**

## 4 LÄÄKEKEHITYKSEN ERI STRATEGIAT KRAS-MUTAATIOIHIN

KRAS-molekyyliä on pidetty haastavana kohteena lääkekehityksen kannalta useasta syystä. Se on pienikokoinen molekyyli, jonka pinta on suhteellisen sileä. Tämän vuoksi KRASin rakenteessa ei ole GTP-sitoutumispaikan lisäksi lääkeainemolekyylien kannalta sopivia hydrofobisia taskuja, johon inhibiittorit voisivat kiinnittyä. (Kwan ja muut 2022.) GTP-sitoutumispaikkaan lääkeaineen kohdentaminen taas on hyvin hankalaa. Fysiologisissa olosuhteissa GTP-sitoutuu tähän sitoutumispaikkaan erittäin suurella affiniteetilla, ja lisäksi solujen GTP-pitoisuus on merkittävä. Tämä vaikeuttaa pienten inhibiittorien suunnittelua, jotka kykenisivät kilpailemaan GTP:n kanssa. Lisäksi KRAS-mutaatioiden heterogeenisyys syövässä luo omat haasteensa lääkekehitykselle. (Huang ja muut 2021.)

Lääkekehitysstrategioita on erilaisia, joista tässä kappaleessa käsitellään kolmea eri strategiaa: solukalvon kiinnittymisen estäminen, synteettisten tappajien löytäminen ja suoraan KRASiin kohdentaminen.

### 4.1 SOLUKALVOON KIINNITTÄMISEN ESTÄMINEN

#### 4.1.1 FARNESYYLITRANSFERAASIESTÄJÄT

Yllä mainittujen syiden takia lääkekehityksen alkuvaiheissa translaation jälkeisistä modifikaatioista tuli houkutteleva tutkimuskohde. Koska farnesyylitransferaasilla on keskeinen rooli KRASin kiinnittymisessä solukalvoon, pidettiin sitä lupaavana kohteena lääkekehitykselle. Farnesyylitransferaasiestäjät pyrkivät estämään farnesyylitransferaasin toiminnan, jolloin KRAS-proteiinin toiminta estyy. (Ryan ja Corcoran 2018.)

1990-luvulla prekliiniset kokeet vaikuttivat lupaavilta: farnesyylitransferaasiestäjät onnistuivat syöpäsolujen tappamisessa *in vitro* siten, että toksisuusrajat pysyivät tarpeeksi matalina, jotta ne eivät haitanneet solujen normaalia toimintaa. Hiirikokeet osoittivat lisäksi, että farnesyylitransferaasiestäjät estivät tehokkaasti HRASin aiheuttamien kasvainten kasvun. (Whyte ja muut 1997.) Näiden tulosten innoittamina kehitettiin kaksi farnesyylitransferaasiestäjää: lonafarnib ja tipifarnib, joita testattiin vaiheen III kliinisissä tutkimuksissa potilailla, joilla oli pitkälle edennyt haimasyöpä. Kyseisessä tutkimuksessa farnesyylitransferaasiestäjät eivät kuitenkaan osoittaneet kliinistä tehoa KRASin aiheuttamassa syövässä (Van Cutsem ja muut 2004). Samat tulokset saatiin myös muista vaiheen III kliinisistä kokeista. Epäonnistumiset johtivat päätelmään, että RASin translaation jälkeisiin muutoksiin

lääkekehityksen kohdentaminen oli hyödytöntä. (Ryan ja Corcoran 2018.) Epäonnistumiselle löydettiin myöhemmin syy. KRAS ja NRAS eivät farnesyylitransferaasistäjä-hoidossa enää farnesyloituneet, vaan ne tulivat gerenygeranylointiprosessin alaisiksi. Tämä vaihtoehtoinen prenylaatio mahdollisti KRASin liittymisen solukalvoon ja siten sen onkogeeninen toiminta säilyi muuttumattomana. (Whyte ja muut 1997.)

#### 4.1.2 FOSFODIESTERAASI $\delta$

Fosfodiesterazaasi  $\delta$  (*engl. Phosphodiesterase- $\delta$ , PDE $\delta$* ) on prenyyliä sitova proteiini. Se sitoutuu KRASin farnesyyliryhmään ja helpottaa siten KRASin siirtymistä joko Golgiin tai kierrätysendosomeihin, joista KRAS kuljetetaan vesikkeleissä solukalvolle. (Schmick ja muut 2014.) PDE $\delta$  herätti kiinnostusta mahdollisena kohteena KRASin toiminnan inhiboimiseksi. Pienet molekyylit deltarasin ja deltazinone kykenivät täyttämään PDE $\delta$ :n farnesyylia sitovan taskun. Kun näitä molekyylejä käytettiin estämään PDE $\delta$ , KRASin havaittiin siirtyvän plasmamembraanista endomembraaneihin, mikä puolestaan vähensi onkogeenista signalointia. (Björn Papke ja muut 2016; Zimmermann ja muut 2013.) Lupaavista tuloksista huolimatta PDE $\delta$ -estäjiin liittyi ongelmia. Deltarasinin osoitettiin olevan ei-selektiivinen eli se oli myrkyllinen myös terveille soluille. Deltazinone sitoutui PDE $\delta$ :aan suurella affiniteetilla, mutta sen soluteho oli heikko, mikä rajoitti jatkokehitystä. (Björn Papke ja muut 2016.)

## 4.2 MUTAATIOIDEN KOHDISTAMINEN KAHTEN ERI GEENIIN

Synteettinen tappavuus (*engl. Synthetic Lethality*) on syöpätutkimuksen käsite, jossa kahden geenin mutaatio johtaa solukuolemaan, kun taas yksittäisen geenin mutaatio ei saa aikaan vastaavaa vaikutusta. KRASin tapauksessa on yritetty etsiä kohteita, joiden toiminta on välttämätöntä KRAS-mutanttisoluissa, mutta ei soluissa, joissa on villityypin KRAS. Synteettiset tappajat -strategia nosti korkeita odotuksia KRASin tukahduttamisessa, mutta odotukset eivät ole täyttyneet. (Downward 2015.)

Useissa tutkimuksissa löydettiin laaja valikoima geenejä, joilla on synteettisiä tappavia vuorovaikutuksia mutantti-KRASin kanssa. Yksi näistä oli seriini/treoniini kinaasi 33 (STK33), jonka osoitettiin olevan synteettisesti tappava KRAS-mutanttisoluille. STK33:n rooli liittyy sen kykyyn säädellä syöpäsolujen elinkykyä kinaasi toiminnan kautta, erityisesti estämällä mitokondrioiden apoptoosia. (Scholl ja muut 2009.) Myöhemmät tutkimustulokset eivät kuitenkaan tukeneet tätä näkemystä. Tutkimukset osoittivat, että

STK33:n vaimennus ei vaikuttanut KRASin signalointiin tai näiden solujen elinkykyyn, ja näin ollen kiistivät aiemmat oletukset siitä, että STK33:n estäminen voisi olla hyödyllinen terapeuttinen lähestymistapa. (Babji ja muut 2011.)

Kuten STK33:n tapauksessa, seulonnoissa on kohdattu teknisiä haasteita. Useimmat niistä on toteutettu hyödyntäen RNAi-kirjastoja, ja seulonnoissa on käytetty isogeenisiä kasvainsolulinjoja. Nämä solulinjat eivät kuitenkaan täysin jäljittele potilaan kasvainta, jossa on monimutkainen mikroympäristö. Toinen haaste on liittynyt RNAi-kirjastojen merkittävään sivuvaikutukseen, eli muiden geenien kuin halutun kohteen ilmentymisen tahattomaan tukahduttamiseen (*eng. Off-target effect*). Tämän takia eri seulontojen tuloksissa on havaittu vain vähäinen määrä päällekkäisyyttä. Vaikka seulontamenetelmiä voitaisiin parantaa esimerkiksi CRIPR/Cas9-tekniikan avulla tai käyttämällä kolmiulotteisia soluviljelmiä, synteettisillä tappajilla tuskin on merkitystä muulloin kuin vain melko rajoitetuissa tapauksissa. Tämä johtuu KRASin heterogeenisyydestä ja signalointiverkon etäisyydestä mahdollisen synteettisen tappajakompleksin kanssa, mikä todennäköisesti aiheuttaisi signalointiketjun uudelleenohjelmoinnin ja resistenssin kehittymiseen. (Downward 2015.)

### 4.3 G12C-INHIBIITTORIT

Kun KRASin kiderakenne saatiin määritettyä 1980-luvun lopulla, tuli selväksi, ettei proteiinista löydy lääkekehityksen kannalta sopivia taskuja. Niinpä lääkekehitys on suurelta osin keskittynyt strategioihin, jotka keskittyvät KRASin epäsuoraan inhibointiin. Viimeinen reilu vuosikymmen on kuitenkin tuonut toivoa KRASin suoraan inhibointiin. (Bjoern Papke ja Der 2017.)

Vuonna 2012 kaksi eri tutkimusryhmää tutkivat KRAS-molekyylin rakenteen ja toiminnan välistä suhdetta hyödyntämällä ydinmagneettista resonanssia (*engl. Structure-activity relationship by NMR*). Molemmat tutkimusryhmät löysivät lähes samanaikaisesti ligandia sitovan taskun KRAS-proteiinissa, joka oli kytkin I ja II-alueiden välissä. Tämän taskun osoitettiin olevan osa SOS:n sitoutumispaikkaa. Taskuun sitoutuvat yhdisteet estivät SOS-välitteistä nukleotidinvaihtoa ja estivät siten aktiivisen KRAS-GTP:n muodostumisen. (Maurer ja muut 2012; Sun ja muut 2012.) Tähän taskuun sitoutuneet molekyylit sitoutuivat kuitenkin vain heikosti KRASiin eikä niitä ole jatkokehitetty. Tutkimukset olivat kuitenkin tärkeitä, sillä ne edistivät suorien KRAS-estäjien tutkimusta ja tarjosivat tärkeää tietoa siitä, miten pienet molekyylit sitoutuvat KRAS-molekyyliin. (Cox ja muut 2014.)

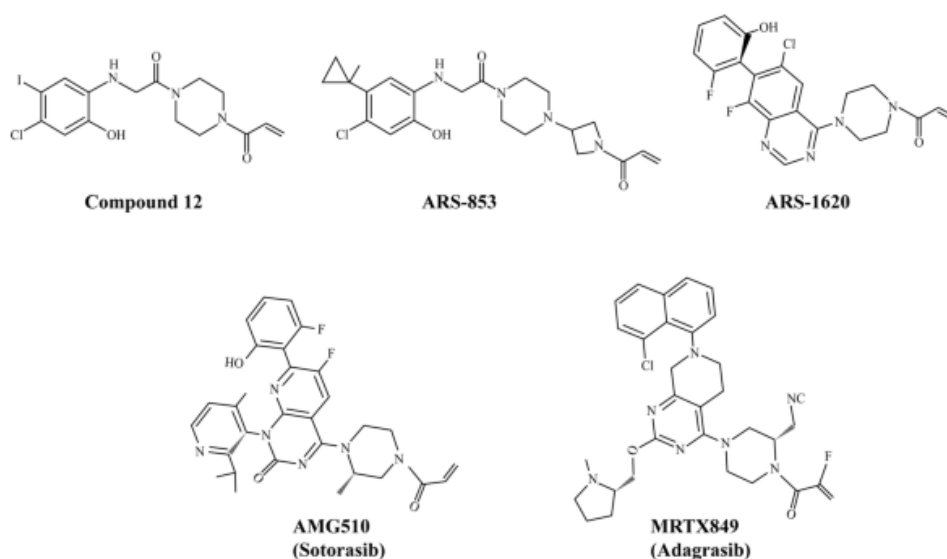
Vuonna 2013 Ostream ja muu tutkimusryhmä tekivät tähän asti suurimman läpimurron KRASin lääkekehityksessä kehittämällä menestyksekkäästi sarjan yhdisteitä, jotka sitoutuvat kovalenttisesti ja irreversibelisti KRASG12C-mutanttiin kysteiinitähteeseen. Tutkimuksessa hyödynnettiin kysteiiniolien ainutlaatuisia nukleofiilisyyttä tutkimalla kysteiinireaktiivisia pienmolekyylejä. Tämä oli lisäetuna tutkimukselle: nämä molekyylit sitoutuivat mutanttikysteiiniin ja eivät siten vaikuttaneet villityypin KRAS-proteiiniin. Tutkimuksessa käytettiin disulfididonnaista (*engl. Disulfide tethering*) lähestymistapaa, joka mahdollisti pienten molekyylifragmenttien tunnistamisen. Kiderakennetta tutkiessaan he huomasivat, että fragmentit eivät sitoudu nukleotiditaskuun, vaan viereiseen taskuun kytkin II-alueen alle lähelle mutanttikysteiiniä. He antoivat tälle taskulle nimen kytkin II tasku (S-IIP). Tasku ei ole havaittavissa muissa KRAS-proteiinin rakenteissa, vaan on todennäköisesti yhdisteen indusoima.

Seuraavaksi Ostream ja muut vaihtoivat disulfidipohjaiset yhdisteet hiilipohjaisiin elektrofiileihin, kuten akryyliamideihin ja vinyylisulfoamideihin. Nämä olivat edelleen kemoselektiivisiä, mutta muodostivat pysyvän kysteiinisidoksen. He syntetisoivat lähes sata analogia saadakseen merkittäviä parannuksia tehoon. Nämä tutkimukset osoittivat, että S-IIP:hen sitoutuvat yhdisteet suosivat GDP-tilaa GTP-tilan sijasta, heikensivät SOS-katalysoitua nukleotidinvaihtoa GDP:stä GTP:ksi ja heikensivät KRASin vuorovaikutuksia efektoreiden, kuten RAFin, kanssa. Löydöksen lopputuloksena oli KRAS-toiminnan heikkeneminen ja nämä löydökset olivat lähtökohtana KRASG12C:n lääkkeiden löytämiseen. (Ostream ja muut 2013.)

#### 4.3.1 ESIKLIINISET TUTKIMUKSET

Ostreamin tutkimusryhmän alkuperäinen yhdiste 12 (kuva 5) ei täyttänyt vaadittavia farmakologisia ominaisuuksia, eikä se pystynyt kovalenttisesti sitoutumaan KRASG12C:n kanssa soluissa edes suurilla pitoisuuksilla ja pitkän inkubaatioajan jälkeen. Yhdisteen 12 lisäoptimoinnin tuloksena saatiin aikaiseksi paranneltu inhibiittori, ARS-853, joka oli ensimmäinen suora KRAS-inhibiittori, joka on osoittautunut selektiiviseksi KRASia vastaan soluissa ja joka teholtaan sopii lääkekandidaatiksi. ARS-853:n rakenne muistutti paljon yhdisteen 12 kemiallista rakennetta (kuva 5) ja se sitoutui KRASG12C:hen kovalenttisesti sen ollessa GDP-tilassa. Verrattuna yhdisteeseen 12, ARS-853 sitoutui KRASG12C:hen nopeasti ja esti voimakkaasti KRASG12C-soluja alhaisella mikromolaarisella pitoisuudella soluissa. (Patricelli ja muut 2016.)

ARS-853:lla ei kuitenkaan ollut riittävää tehoa *in vivo* hiiren kasvaimalleissa. Sen suurimmat ongelmat olivat sen *orto*-amino-fenoliryhmä ja glysiinilinkki, jotka aiheuttivat huonoa plasmastabiilisuutta ja tekivät ARS-853:sta sopimattoman molekyylin jatkokehitykseen. Seuraavaksi kehitetty uusi S-IIP estäjä oli ARS-1620 (kuva 5). Se oli tehokas sekä *in vivo*- että *in vitro*, ja sen terapeuttinen vaikutusalue oli sopivalla tasolla lääkekandidaatin kehityksen kannalta. Sen paranneltujen farmakologisten ominaisuuksien ansiosta ARS-1620 oli erittäin tehokas yksittäisenä aineena useissa ihmisen syöpäsolulinjoissa ja potilasperäisten hiiren xenograft-kasvaimalleissa. ARS-1620 oli ensimmäinen *in vivo* todiste siitä, että S-IIP:hen kohdistuva lähestymistapa voi olla lupaava terapeuttinen strategia potilaille, joilla on KRASG12C-mutantitsyöpä. (Janes ja muut 2018)



**KUVA 5. Ensimmäisten suorien KRASG12C-estäjien kemialliset rakenteet.** Yhdiste 12 oli ensimmäinen yhdiste, joka optimoitiin myöhemmin ARS-853:ksi. ARS-1620 oli ensimmäinen inhibiittori, joka osoitti toimivuutta *in vivo*. AMG510 (sotorasib) ja MRTX849 (adagrasib) ovat ensimmäiset hyväksytyt suorat inhibiittorit KRASG12C-mutaatioiden hoitoon. (Kuva muokattu Kwan ja muut 2022).

#### 4.3.2 SOTORASIB (AMG510)

ARS-1620:n ongelmana oli sen suboptimaalinen teho. S-II-P-tasku ei tarjonnut riittävästi tilaa, jotta ARS-1620 olisi voinut sitoutua siihen optimaalisella tavalla. Tämä rajoitti mahdollisuutta ylimääräisiin ja tehokkaisiin vuorovaikutuksiin ARS-1620:n ja KRAS-proteiinin välillä. AMG510 täytti His95:n vaihtoehtoisesta orientaatiosta syntyneen pinnan uran aromaattisilla renkailla, mikä lisäsi vuorovaikutuksia KRASG12C:n ja AMG510:n välillä (kuva 5). Lisääntyneet

vuorovaikutukset mahdollistivat huomattavan tehokkuuden lisääntymisen. (Canon ja muut 2019.)

Elokuussa 2018 sotorasibista tuli ensimmäinen kliinistä turvallisuutta ja tehokkuutta osoittanut KRASG12C -inhibiittori, joka eteni kliinisiin ihmiskokeisiin. Ensimmäisen vaiheen tutkimukseen osallistui 129 syöpäpotilasta, joille oli aiemmin annettu keskimäärin kolme syövänpäivästä hoitoa. Tutkimuksessa ei todettu annosta rajoittavia toksisia vaikutuksia, eikä hoitoon liittyviä kuolemantapauksia ilmennyt. Sotorasibin turvallisuus todettiin suhteellisen siedettäväksi ja se aiheutti pääasiassa matala-asteisia toksisia vaikutuksia. Lisäksi sotorasibin osoitti lupaavaa syöpälääkeaktiivisuutta raskaasti hoidetuilla KRASG12C-mutaatiopotilailla, erityisesti ei-pienisoluisessa keuhkosyöpässä. (Hong ja muut 2020.)

Vaihe II toteutettiin 126 potilaalle, jotka sairastivat aikaisemmin hoidettua, ei-pienisoluisia keuhkosyöpää. Objektiiivinen vaste havaittiin 46 potilaalla, ja nämä vasteet olivat merkittäviä. Mediaaniaika ilman taudin etenemistä tai pahenemista oli 6,8 kuukautta, vasteen keston mediaani oli 11,1 kuukautta. Haittavaikutukset olivat pääosin luokkaa 1 ja 2, eikä uusia turvallisuusriskejä havaittu. (Skoulidis ja muut 2021.) Toukokuussa 2021 sotorasib sai Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeviraston hyväksynnän KRASG12C-mutaation aiheuttaman paikallisesti edenneen tai metastaattisen ei-pienisoluisen keuhkosyöpän hoitoon, jos potilaat olivat saaneet vähintään yhden aikaisemman systemaattisen hoidon (Iska ja Alley 2023).

#### 4.3.3 ADAGRASIB MRTX849

Adagrasib (MRTX849) oli toinen KRASG12C inhibiittori, joka eteni kliinisiin kokeisiin tammikuussa 2019. KRYSTAL-1 oli multikohorttinen vaiheen 1/2 tutkimus potilaille (n=79), joilla oli aikaisemmin hoidettu ei-pienisoluisen keuhkosyöpä. Yleisimmät haittavaikutukset olivat pahoinvointi ja ripuli, ja vain 3 %:lla potilaista esiintyi vakavia haittavaikutuksia. Lisäksi 51 potilasta, jotka osallistuivat kliinisen aktiivisuuden arviointiin, osoittivat 23 potilaalla objektiiivisen vasteen ja 49 potilaalla saavutettiin taudin hallinta. (Jänne ja muut 2020.)

Lokakuuhun 2021 mennessä adagrasibilla oli hoidettu 116 potilasta, joilla oli aiemmin hoidettu KRASG12C-mutatoitunut ei-pienisoluisen keuhkosyöpä. Näistä 48 potilaalla havaittiin osittainen vaste ja vasteen keston mediaani oli 8,5 kuukautta ja taudin etenemiseen elinajan mediaani oli 6,5 kuukautta. Kuten aikaisempi

KRYSTAL-1 tutkimus, tämä vaiheen II rekisteröintitutkimus osoitti adagrasibin tuottavan pysyvää kliinistä hyötyä aikaisemmin hoidettua ei-pienisoluista keuhkosityöpää sairastaville potilaille, joilla oli todettu KRASG12C-mutaatio. (Jänne ja muut 2022) 10. tammikuuta 2024 Euroopan komissio hyväksyi adagrasibin kohdennetuksi hoitovaihtoehdoksi potilaille, joilla on edennyt ei-pienisoluinen keuhkosityöpä ja KRASG12C-mutaatio. Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeainevirasto myönsi saman hyväksynnän joulukuussa 2022. (Mirati Therapeutics 2024.)

#### 4.3.4 G12C-INHIBIITTORIEN ONGELMAT

Vaikka sotorasibia ja adagrasibia käytetään ei-pienisoluista keuhkosityöpää sairastavien potilaiden hoitoon, suurin osa potilaista ei reagoi KRASG12C-estäjähoitoon resistenssin kehittymisen vuoksi. Resistenssin mekanismeja on tutkittu perusteellisesti, mutta kliiniset mekanismit ovat edelleen aktiivisen tutkimuksen kohteena. (Kwan ja muut 2022.) Toissijaiset mutaatiot voivat vaikuttaa S-II-P:n sitoutumispaikkaan estäen inhibiittorien sitoutumisen. Lisäksi osa toissijaisista mutaatioista voi lisätä GTP-tilassa olevaa aktiivisen KRASin osuutta, jolloin inhibiittorit eivät toimi. Toinen resistenssin mekanismi liittyy mutaatioihin muissa reseptorityrosiinikinaaseissa ja RAS/MAPK-reitin jäsenissä, mikä johtaa KRASin uudelleenaktivoitumiseen. Lisäksi jotkin histologiset muutokset voivat yksinään edistää resistenssin kehittymistä. (Awad ja muut 2021.)

G12inhibiittoreiden resistenssin kehittymistä potilailla. Sekä sotorasibilla että adagrasibilla on käynnissä aktiivisia kliinisiä tutkimuksia, joissa testataan muun muassa niiden tehokkuutta yhdistelmähoidoissa. Lisäksi käynnissä on useita muita kliinisiä kokeita, joissa tutkitaan erilaisia G12C-inhibiittoreita, jotka perustuvat erilaiseen sitoutumistapaan. Tämä lähestymistapa voisi myös auttaa estämään resistenssin kehittymistä. (Kwan ja muut 2022)

#### 4.4 MUIHIN MUTAATIOIHIN KOHDISTUVAT SUORAT INHIBIITTORIT

MRTX1133 on KRASG12D-inhibiittori, joka on äskettäin edennyt ensimmäisiin kliinisiin kokeisiin. Adagrasibin rakennetta käytettiin inhibiittorin suunnittelun lähtökohtana ja sen akryyliamidielektrofiili muutettiin piperatsiiniksi, joka on vuorovaikutuksessa KRASG12D -mutantin aspartaatti-sivuketjun kanssa. Rakenteen optimoinnilla saatiin aikaiseksi MRTX1133, joka sitoutui S-II-taskuun adagrasibin tavoin. MRTX1133 osoitti estävän KRASG12D-signaalointia *in vivo*, ja hiirieläinmalleilla osoitettiin sen kykenevän hillitsemään kasvainten kasvua. (Wang ja muut 2022.)

Yhteen mutaatioon kohdistuvien inhibiittoreiden sijaan, kehitteillä on myös inhibiittoreita, jotka estäisivät laajemman joukon KRAS-mutanteja eli Pan-KRAS-inhibiittoreita. Vuonna 2023 Piro Lito ja muu tutkimusryhmä julkaisivat tutkimuksen Pan-KRAS inhibiittorista BI-2865, jonka kehittäminen aloitettiin G12C-inhibiittoria BI-0474 muokkaamalla. Korkea-resoluutioinen kiderakenne paljasti, että BI-2865 sitoutui KRAS-molekyylin kytkin II-alueen kauimmaiseen osaan, ja oli osittain päällekkäinen G12C-estäjien sitoutumispaikan kanssa. Erotuksena kuitenkin oli, että se ei ulottunut p-silmukkaan. BI-2865:n osoitettiin estävän merkittävästi GDP-sitoutuneiden KRAS-varianttien guaniinin vaihtosykliä. Tämä johti alavirran signaloinnin heikkenemiseen mutantti-KRASin sisältävissä soluissa ja siten kasvaimen kasvun tukahtumiseen. BI-2865 estää myös villityypin KRASin toiminnan, mikä rajoittaa sen tehoa hoitomuotona. BI-2865 ei ole vielä edennyt kliinisiin kokeisiin. (Kim ja muut 2023.)

## 5 TULEVAISUUDEN STRATEGIAT KRAS LÄÄKEKEHITYKSESSÄ

### 5.1 ROKOTTEET

Kehitteillä olevat rokotteet ovat peptidi-, mRNA- tai dendriittisolupohjaisia (DC). Rokotteiden käyttö perustuu niiden sisältämiin KRASin neoantigeeneihin eli mutatoituneisiin tai äskettäin muodostuneisiin antigeeneihin, jotka ovat syöpäsoluille tyypillisiä. Oman elimistön MHC-proteiinit tunnistavat nämä antigeenit ja pyrkivät kehittämään syöpäspesifisiä pitkään aikavälin T-muistisoluja. Kasvaimen kasvaessa, aktivoituneet T-solut tuhoaisivat syöpäsolut TCR-MHC sitoutumisen kautta. (Asimgil ja muut 2020.)

Peptidipohjaisten rokotteen etuna on niiden helppo muokattavuus, mutta ne eivät yleensä kykene aktivoimaan riittävästi T-soluja. Dendriittisolupohjaisissa rokotteissa käytetään hyväksi ammattimaisia antigeenin esittelysoluja kuten dendriittisoluja. Yksi lupaavimmista DC-rokotteista on neljästä hiivakomponentista koostuva GI-4000, joka sisältää seitsemän yleisintä syövässä havaittavaa KRAS-mutaatiota. GI-4000:n vaiheen II-kliinisissä kokeissa hoidetuista potilaista 50 % osoitti antigeenispesifisen immuunivasteen KRAS-mutaatiolle. Meneillään on myös useita muita GI-4000 liittyviä kliinisiä kokeita. (Asimgil ja muut 2020; Chaff ja muut 2014.)

mRNA-rokotteet tulivat tutuiksi COVID-19 pandemian kautta ja niistä on tullut kiinnostava kohde myös syöpärokotteina. Moderna on kehittänyt mRNA-5671/V941 -rokotteen, joka sisältää neljä yleisintä kiinteissä kasvaimissa havaittavaa KRAS-mutaatiota. Prekliinisissä tutkimuksissa, rokote lisäsi CD8 positiivisten T-solujen soluvastetta mRNA:lle, joka koodasi mutantti KRASia. Vaiheen I kliiniset kokeet ovat käynnissä. (Asimgil ja muut 2020.)

### 5.2 ADOPTIIVINEN SOLUTERAPIA

Adoptiivisessa soluterapiassa potilaan omia T-soluja hyödynnetään syöpäsolujen tuhoamiseen. Potilaan T-soluja kerätään ja muutetaan tunnistamaan syöpäsoluja. Tämän jälkeen ne siirretään takaisin potilaaseen. Aikaisemmin adoptiivisessa soluterapiassa hyödynnettiin kasvaimen tunkeutuvia lymfosyyttejä (*engl. Tumor-infiltrating lymphocytes, TIL*), mutta ne eivät tarjoa kestävä hoitoa. Uusien tekniikoiden myötä, uudet adoptiiviset soluterapiat mahdollistavat paremman spesifisyyden ja tehokkaamman tunnistuksen. (Asimgil ja muut 2020.)

TCR-terapiassa potilaan omia TIL-soluja on geneettisesti muokattu ilmentämään T-solureseptoreita, jotka kykenevät tunnistamaan spesifisiä kasvaimeen liittyviä neoepitopeja samanaikaisesti. Wang ja muu tutkimusryhmä kehittivät tutkimuksissaan spesifisiä T-solureseptoreita, jotka olivat erittäin reaktiivisia KRAS-variantti G12V- ja G12D-mutaatioille siirtogeenisissä immunisoiduissa HLA-C\*11-01 hiirissä. Hiiren lymfosyytit, joille oli siirretty spesifiset T-solureseptorit, tunnistivat HLA-C\*11-01:tä ilmentävät haimasyöpäsolut. Vaiheen I/II kliiniset kokeet ovat käynnissä. (Wang ja muut 2016)

CAR-T-soluterapiassa ei tarvita antigeeniä esittelevää MHC-molekyyliä kohdemolekyylin tunnistukseen, mikä mahdollistaa antigeenien suoran tunnistamisen syöpäsolujen pinnalta. CAR-T-soluterapiassa potilaan omat T-solut muokataan geneettisesti ilmentämään kimeeristä vasta-ainemolekyyliä. CAR-T-hoito on osoittautunut onnistuneeksi menetelmäksi CD19:ää ilmentävien B-soluleukemioiden ja lymfoomien hoidossa. Toiveena on, että CAR-T-soluterapia osoittautuu tehokkaaksi myös kiinteiden kasvaimien hoidossa. Useat tutkimukset ovat tunnistaneet useita eri neoantigenejä, joita voitaisiin hyödyntää KRAS-mutatoituneiden syöpien hoidossa CAR-T-soluterapian avulla. Useampi CAR-T soluterapiaan liittyvä tutkimus on kliinisissä kokeissa. (Asimgil ja muut 2020.)

## 6 YHTEENVETO

Tutkimus KRAS-mutaatioihin kohdistuvan lääkekehityksen parissa on ollut aktiivista, koska KRAS on yksi eniten mutatoituvista geeniperheen jäsenistä ihmisten eri syöpätyypeissä. KRAS on ollut hankala molekyyli lääkekehityksen kannalta ja monet yritykset ovat johtaneet epäonnistumisiin spesifisyyden puutteen tai liian suuren toksisuuden takia. KRASiin on yritetty vaikuttaa epäsuorasti farnesyylitransferaasijien tai synteettisten tappajien avulla. Lisäksi paljon on yritetty vaikuttaa KRASin signaalintiketjun osiin ja sen metaboliareitteihin.

Valoa on kuitenkin näkyvissä tunnelin päässä, ja ensimmäiset suoraan KRAS-molekyyliin kohdistuvat inhibiittorit, sotorasib ja agarasib, ovat saaneet Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeaineviraston hyväksynnän hoitomuotona KRASG12C-mutatoituneille ei-pienisoluisille keuhkosyöville. Saman hyväksynnän teki Euroopan komissio adagrasibin osalta 10.tammikuuta 2024. Valitettavasti näiden inhibiittorien käytössä on myös ollut ongelmia, ja potilaat ovat kärsineet resistenssin kehittymisestä. Toiveissa kuitenkin on, että lisätutkimukset uusilla inhibiittoreilla ja yhdistelmähoitomuodoilla, voisivat ratkaista tämän ongelman. Viime vuosina geenitekniikan menetelmät ovat kehittyneet, mikä antaa toivoa uusista hoitomuodoista tulevaisuudessa. Näihin kuuluu muun muassa mRNA-rokotteet ja CAR-T-soluterapia.

KRAS-geenin löytämisestä on kulunut neljäkymmentä vuotta ja tänä aikana on saavutettu merkittäviä edistysaskelia. Laajat rakenne-toimintatutkimukset ovat tuoneet lisätietoa KRASin rakenteesta ja toiminnasta. Vaikka paljon on opittu, edessä on vielä paljon tuntematonta. On myös mahdollista, että lääkekehityksessä tullaan kohtaamaan uusia pettymyksiä. KRAS-mutanttien monimuotoisuuden takia on todennäköistä, että yksi ja sama hoito ei tule sopimaan kaikkiin tilanteisiin, mikä korostaa tarpeellisuutta kehittää spesifisempiä hoitomuotoja.

## 7 KIRJALLISUUS

Ahearn, I. M., Haigis, K., Bar-Sagi, D. & Philips, M. R. (2012) Regulating the regulator: Post-translational modification of RAS. *Nat Rev Mol Cell Biol* **13**:39–51.

Asimgil, H., Ertetik, U., Çevik, N. C., Ekizce, M., Doğruöz, A., Gökalp, M., ... Demir, I. E. (2020) Targeting the undruggable oncogenic KRAS: The dawn of hope. *JCI Insight* **7**:e153688.

Awad, M. M., Liu, S., Rybkin, I. I., Arbour, K. C., Dilly, J., Zhu, V. W., ... Aguirre, A. J. (2021) Acquired Resistance to KRASG12C Inhibition in Cancer. *New England Journal of Medicine* **384**:2382–2393.

Babij, C., Zhang, Y., Kurzeja, R. J., Munzli, A., Shehabeldin, A., Fernando, M., ... Dussault, I. (2011) STK33 Kinase Activity Is Nonessential in KRAS-Dependent Cancer Cells. *Cancer Research* **71**:5818–5826.

Canon, J., Rex, K., Saiki, A. Y., Mohr, C., Cooke, K., Bagal, D., ... Lipford, J. R. (2019) The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity. *Nature* **575**:217–223.

Chaft, J. E., Litvak, A., Arcila, M. E., Patel, P., D'Angelo, S. P., Krug, L. M., ... Azzoli, C. G. (2014) Phase II Study of the GI-4000 KRAS Vaccine After Curative Therapy in Patients With Stage I-III Lung Adenocarcinoma Harboring a KRAS G12C, G12D, or G12V Mutation. *Clinical Lung Cancer* **15**:405–410.

Cox, A. D., Fesik, S. W., Kimmelman, A. C., Luo, J. & Der, C. J. (2014) Drugging the undruggable RAS: Mission Possible? *Nat Rev Drug Discov* **13**:828–851.

Downward, J. (2015) RAS Synthetic Lethal Screens Revisited: Still Seeking the Elusive Prize? *Clinical Cancer Research* **21**:1802–1809.

Guin, S. & Theodorescu, D. (2015) The RAS-RAL axis in cancer: Evidence for mutation-specific selectivity in non-small cell lung cancer. *Acta Pharmacol Sin* **36**:291–297.

Han, C. W., Jeong, M. S. & Jang, S. B. (2021) Understand KRAS and the Quest for Anti-Cancer Drugs. *Cells* **10**:842.

Hong, D. S., Fakih, M. G., Strickler, J. H., Desai, J., Durm, G. A., Shapiro, G. I., ... Li, B. T. (2020) KRASG12C Inhibition with Sotorasib in Advanced Solid Tumors. *New England Journal of Medicine* **383**:1207–1217.

Huang, L., Guo, Z., Wang, F. & Fu, L. (2021) KRAS mutation: From undruggable to druggable in cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy* **6**:1–20.

Iska, S. & Alley, E. W. (2023) Sotorasib as First-Line Treatment for Advanced KRAS G12C-Mutated Non-Small Cell Lung Carcinoma: A Case Report. *Case Rep Oncol* **16**:183–187.

Janes, M. R., Zhang, J., Li, L.-S., Hansen, R., Peters, U., Guo, X., ... Liu, Y. (2018) Targeting KRAS Mutant Cancers with a Covalent G12C-Specific Inhibitor. *Cell* **172**:578-589.e17.

Jänne, P. A., Rybkin, I. I., Spira, A. I., Riely, G. J., Papadopoulos, K. P., Sabari, J. K., ... Ou, S. H. I. (2020) 3LBA Late Breaking - KRYSTAL-1: Activity and Safety of Adagrasib (MRTX849) in Advanced/ Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) Harboring KRAS G12C Mutation. *European Journal of Cancer* **138**:S1–S2.

Jänne, Pasi A., Riely, G. J., Gadgeel, S. M., Heist, R. S., Ou, S.-H. I., Pacheco, J. M., ... Spira, A. I. (2022) Adagrasib in Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring a KRASG12C Mutation. *New England Journal of Medicine* **387**:120–131.

- Kim, D., Herdeis, L., Rudolph, D., Zhao, Y., Böttcher, J., Vides, A., ... Lito, P. (2023) Pan-KRAS inhibitor disables oncogenic signalling and tumour growth. *Nature* **619**:160–166.
- Kwan, A. K., Piazza, G. A., Keeton, A. B. & Leite, C. A. (2022) The path to the clinic: A comprehensive review on direct KRASG12C inhibitors. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* **41**:27.
- Liu, P., Wang, Y. & Li, X. (2019) Targeting the untargetable KRAS in cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **9**:871–879.
- Martinelli, E., Morgillo, F., Troiani, T. & Ciardiello, F. (2017) Cancer resistance to therapies against the EGFR-RAS-RAF pathway: The role of MEK. *Cancer Treatment Reviews* **53**:61–69.
- Maurer, T., Garrenton, L. S., Oh, A., Pitts, K., Anderson, D. J., Skelton, N. J., ... Fang, G. (2012) Small-molecule ligands bind to a distinct pocket in Ras and inhibit SOS-mediated nucleotide exchange activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**:5299–5304.
- Mirati Therapeutics Mirati Therapeutics Inc. - European Commission Approves KRAZATI (adagrasib) as a Targeted Treatment Option for Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) with a KRASG12C Mutation. <https://ir.mirati.com/press-releases/press-release-details/2024/European-Commission-Approves-KRAZATI-adagrasib-as-a-Targeted-Treatment-Option-for-Patients-with-Advanced-Non-Small-Cell-Lung-Cancer-NSCLC-with-a-KRASG12C-Mutation/default.aspx> (Luettu 20.1.2024)
- Ostrem, J. M., Peters, U., Sos, M. L., Wells, J. A. & Shokat, K. M. (2013) K-Ras(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions. *Nature* **503**:548–551.
- Pantsar, T. (2020) The current understanding of KRAS protein structure and dynamics. *Computational and Structural Biotechnology Journal* **18**:189–198.
- Papke, Bjoern & Der, C. J. (2017) Drugging RAS: Know the enemy. *Science* **355**:1158–1163.
- Papke, Björn, Murarka, S., Vogel, H. A., Martín-Gago, P., Kovacevic, M., Truxius, D. C., ... Bastiaens, P. I. H. (2016) Identification of pyrazolopyridazinones as PDE $\delta$  inhibitors. *Nat Commun* **7**:11360.
- Parikh, K., Banna, G., Liu, S. V., Friedlaender, A., Desai, A., Subbiah, V. & Addeo, A. (2022) Drugging KRAS: Current perspectives and state-of-art review. *J Hematol Oncol* **15**:152.
- Patricelli, M. P., Janes, M. R., Li, L.-S., Hansen, R., Peters, U., Kessler, L. V., ... Liu, Y. (2016) Selective Inhibition of Oncogenic KRAS Output with Small Molecules Targeting the Inactive State. *Cancer Discovery* **6**:316–329.
- Prior, I. A., Lewis, P. D. & Mattos, C. (2012) A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer Res* **72**:2457–2467.
- Ryan, M. B. & Corcoran, R. B. (2018) Therapeutic strategies to target RAS-mutant cancers. *Nat Rev Clin Oncol* **15**:709–720.
- Schmick, M., Vartak, N., Papke, B., Kovacevic, M., Truxius, D. C., Rossmannek, L. & Bastiaens, P. I. H. (2014) KRas Localizes to the Plasma Membrane by Spatial Cycles of Solubilization, Trapping and Vesicular Transport. *Cell* **157**:459–471.
- Scholl, C., Fröhling, S., Dunn, I. F., Schinzel, A. C., Barbie, D. A., Kim, S. Y., ... Gilliland, D. G. (2009) Synthetic Lethal Interaction between Oncogenic KRAS Dependency and STK33 Suppression in Human Cancer Cells. *Cell* **137**:821–834.

- Simanshu, D. K., Nissley, D. V. & McCormick, F. (2017) RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease. *Cell* **170**:17–33.
- Skoulidis, F., Li, B. T., Dy, G. K., Price, T. J., Falchook, G. S., Wolf, J., ... Govindan, R. (2021) Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *New England Journal of Medicine* **384**:2371–2381.
- Sun, Q., Burke, J. P., Phan, J., Burns, M. C., Olejniczak, E. T., Waterson, A. G., ... Fesik, S. W. (2012) Discovery of Small Molecules that Bind to K-Ras and Inhibit Sos-mediated Activation. *Angew Chem Int Ed Engl* **51**:6140–6143.
- Teo, M. Y. M., Fong, J. Y., Lim, W. M. & In, L. L. A. (2022) Current Advances and Trends in KRAS Targeted Therapies for Colorectal Cancer. *Molecular Cancer Research* **20**:30–44.
- Uprety, D. & Adjei, A. A. (2020) KRAS: From undruggable to a druggable Cancer Target. *Cancer Treatment Reviews* **89**:102070.
- Van Cutsem, E., Velde, H., Karasek, P., Helmut, O., Vervenne, W. L., Szawlowski, A., ... Von Hoff, D. (2004) Phase III Trial of Gemcitabine Plus Tipifarnib Compared With Gemcitabine Plus Placebo in Advanced Pancreatic Cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **22**:1430–1438.
- Wang, Q. J., Yu, Z., Griffith, K., Hanada, K., Restifo, N. P. & Yang, J. C. (2016) Identification of T-cell Receptors Targeting KRAS-Mutated Human Tumors. *Cancer Immunology Research* **4**:204–214.
- Wang, X., Allen, S., Blake, J. F., Bowcut, V., Briere, D. M., Calinisan, A., ... Marx, M. A. (2022) Identification of MRTX1133, a Noncovalent, Potent, and Selective KRASG12D Inhibitor. *J Med Chem* **65**:3123–3133.
- Whyte, D. B., Kirschmeier, P., Hockenberry, T. N., Nunez-Oliva, I., James, L., Catino, J. J., ... Pai, J.-K. (1997) K- and N-Ras Are Geranylgeranylated in Cells Treated with Farnesyl Protein Transferase Inhibitors. *Journal of Biological Chemistry* **272**:14459–14464.
- Zhu, C., Guan, X., Zhang, X., Luan, X., Song, Z., Cheng, X., ... Qin, J.-J. (2022) Targeting KRAS mutant cancers: From druggable therapy to drug resistance. *Mol Cancer* **21**:159.
- Zimmermann, G., Papke, B., Ismail, S., Vartak, N., Chandra, A., Hoffmann, M., ... Waldmann, H. (2013) Small molecule inhibition of the KRAS–PDE $\delta$  interaction impairs oncogenic KRAS signalling. *Nature* **497**:638–642.