



**TURUN
YLIOPISTO**

TGF- β ja sen rooli syövässä

Luk-tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biokemia
Helmikuu 2024
Emilia Peltoniemi

TURUN YLIOPISTO

Bioteknologian laitos

Emilia Peltoniemi: TGF- β ja sen rooli syövässä

Luk-tutkielma, 19 s.

Biokemia

Helmikuu 2024

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check – järjestelmällä

Tiivistelmä

Transformoiva kasvutekijä beeta on TGF- β -suurperheeseen kuuluva proteiini, joka luokitellaan sytokiiniksi. Sitä tuotetaan monissa eri soluissa ja se on monivaikutteinen molekyyli, joka vaikuttaa autokriinisesti tai parakriinisesti. TGF- β :lla on monia eri funktioita ja se muun muassa säätelee solujen kasvua ja erilaistumista sekä osallistuu immuunivasteen ja apoptoosiin säätelyyn. TGF- β tuotetaan inaktiivisena ja signaloinnin mahdollistamiseksi se tulee aktivoitua.

TGF- β :n signalointimekanismit ovat tärkeässä osassa, kun puhutaan sen aikaansaamista vaikutuksista. TGF- β :n toiminnan muutoksien ja mutaatioiden tiedetään olevan erilaisten sairauksien taustalla. Yksi sairaus, jossa TGF- β :lla tiedetään olevan merkittävä rooli, on syöpä. Syövän alkuvaiheessa TGF- β toimii kasvaimen kasvua rajoittavana tekijänä rajoittamalla solujen jakaantumista ja ajamalla soluja apoptoosiin. Syövän edetessä TGF- β :n rooli muuttuu ja siitä tulee onkogeneeni. Sen onkogeenisia vaikutuksia ovat epiteelisolujen muuntautumisen induointi mesenkymaaliseksi soluksi, metastaasi, angiogeneesin lisääminen ja elimistön oman immuunipuolustuksen toiminnan laskeminen.

TGF- β :n merkittävä rooli syövässä on johtanut tutkimuksiin, joissa pyritään kehittämään syövän hoitoon erilaisia TGF- β :n signalointiin vaikuttavia lääkkeitä. Kehitteillä olevat lääkkeet ovat esimerkiksi eri mekanismien avulla vaikuttavia inhibiittoreita, joiden avulla pyritään estämään TGF- β :n signalointi. Tällä hetkellä markkinoilla ei vielä ole yhtään valmista lääkettä, mutta tulevaisuudessa se on mahdollista.

Avainsanat: TGF- β , syöpä

Sisältö

1	Johdanto	2
2	TGF-β sytokiini	3
2.1	TGF- β superperhe	3
2.2	TGF- β :n rakenne ja synteesi	3
2.3	TGF- β :n aktivointi	5
2.4	TGF- β :n signalointi	7
3	TGF-β ja syöpä	10
3.1	Syöpä	10
3.2	TGF- β :n kasvainta estävät toiminnot	12
3.3	TGF- β :n onkogeeniset toiminnot	12
4	TGF-β ja terapeutiset syöpähoidot	14
5	Yhteenveto	16
6	Kirjallisuus	17

1 Johdanto

Sytokiineihin luokiteltava TGF- β eli transformoiva kasvutekijä beeta on monivaikutteinen ja kaikkialla ilmentyvä molekyyli, jolla on monia funktioita (Ahuja ja Zaheer 2023). Sen löysivät De Larco ja George Todaro vuonna 1978 tutkiessaan sarkoomaviruksella transformoituja hiirten soluja (De Larco ja Todaro 1978). TGF- β säätelee useita biologisia prosesseja monissa eri kudoksissa niin autokriinisesti kuin parakriinisesti. Lisäksi sillä on tärkeä ja välttämätön rooli solujen kasvun ja erilaistumisen säätelyssä, kuten myös solujen apoptoosin ja immuunivasteen säätelyssä sekä homeostasian säätelyssä ja ylläpidossa. (Ahuja ja Zaheer 2023.)

Vaikka TGF- β toimii aina saman reseptorin kautta ja myös transskriptiotekijät ovat samat, kykenee se signaloinnin avulla saamaan aikaan erilaisia vasteita. Vaste vaihtelee sen mukaan, minkälaisessa solussa ja kudossympäristössä signalointi tapahtuu. (Massagué ja Sheppard 2023.) Monet sairaudet kuten fibroosi, autoimmuunisairaudet, diabetes ja syöpä voivat johtua TGF- β :n mutaatioista, jotka aiheuttavat sen toiminnan lisääntymistä tai vähenemistä (Ahuja ja Zaheer 2023).

Syövän alkuvaiheessa TGF- β toimii kasvaimen kasvua estävänä tekijänä lisäämällä solujen jakaantumista ja erilaistumista. Tämä myös käynnistää ohjelmoitua solukuolemaa eli apoptoosia, jonka seurauksena syöpäsolut vähenevät. (Ahuja ja Zaheer 2023.) TGF- β voi kuitenkin toimia edenneissä kasvaimissa onkogeeninä edistäen muun muassa angiogeneesiä sekä syöpäsolujen jakaantumista ja tunkeutumista muihin kudoksiin. Korkeammat TGF- β pitoisuudet voivat johtaa syövän kehittymiseen, jonka takia TGF- β :n signalointi nähdään potentiaalisena hoitokohteena. (Ali ja muut 2023.)

Tutkielman tavoitteena on käsitellä TGF- β -molekyyliä ja sen roolia syövän kehityksessä ja etenemisessä. Jotta TGF- β :n rooli syövässä voidaan ymmärtää, täytyy ensin tarkastella molekyylin ominaisuuksia ja taustalla olevia signalointimekanismeja. Signalointimekanismit ja niiden vaikutukset syövässä ovat tällä hetkellä myös lääkekehityksen kohteena. Tästä syystä on tärkeä tarkastella missä vaiheessa tutkimus on ja minkälaisia mahdollisuuksia TGF- β :lla on tulevaisuuden terapeuttisissa syöpähoidoissa.

2 TGF- β sytokiini

2.1 TGF- β superperhe

TGF- β superperhe koostuu suuresta joukosta proteiineja. Näitä proteiineja ovat TGF- β alaperhe, kasvu ja erilaistumistekijät (GDF-perhe), Mullerin inhiboiva aine (MIS)/anti-Mullerin hormoni, aktiviini/inhibiini perhe, gliaalisolulinjasta peräisin oleva neurotrofinen tekijä (GDNF) perhe, luunkasvutekijä perhe (BMP) sekä nodal perhe. Kategorisesti TGF- β superperhe sisältää kolme alaperhettä: TGF- β , aktiviinit ja BMP. TGF- β alaperhe taas sisältää kolme erilaista muotoa TGF- β sytokiinista: TGF- β 1, TGF- β 2 ja TGF- β 3. (Ahuja ja Zaheer 2023.) Näitä kolmea muotoa tuotetaan monissa eri soluissa (Fujio ja muut 2016).

2.2 TGF- β :n rakenne ja synteesi

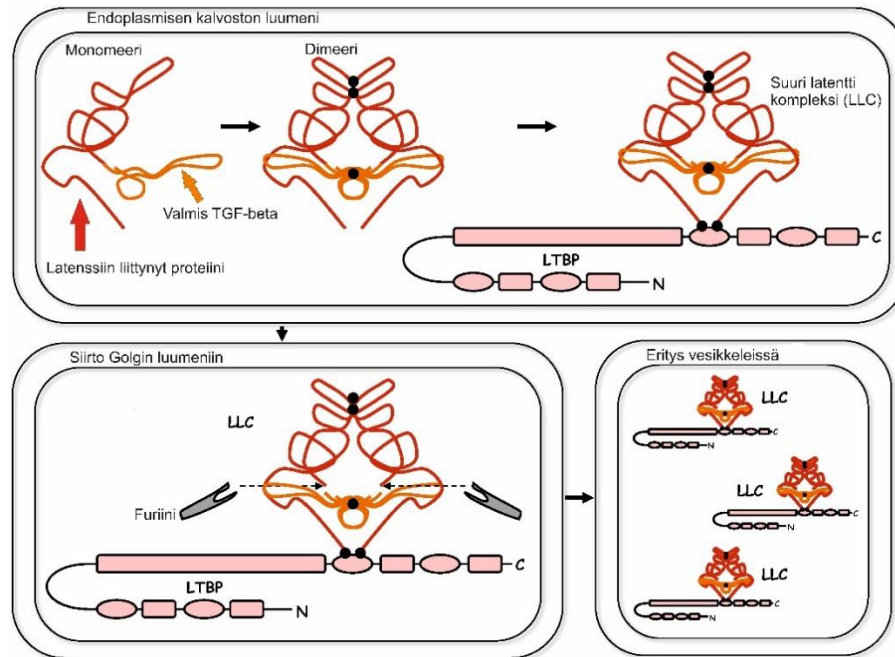
TGF- β -molekyylien aminohapposekvenssi on hyvin konservoitu eri lajien välillä. TGF- β :n aktiivinen muoto koostuu kahdesta 12,5 kDa:n peptidistä, jotka muodostavat homodimeerin (Kuva 1). Nämä homodimeerit ovat liittyneet toisiinsa disulfididisidoksella ja muodostavat näin 25 kDa kokoisen molekyylin. (Clark ja Coker 1998.) TGF- β on hydrofobisesti stabiloitu ja sen jokainen monomeeri sisältää kysteiinisolmuja, jotka muodostuvat disulfididisidoksilla toisiinsa sitoutuneista β -säikeistä. (Ahuja ja Zaheer 2023.)



Kuva 1. TGF- β 1 homodimeerin proteiinin rakenne (Hinck ja muut 1996). Kuva otettu protein data bank tietokannasta: <https://www.rcsb.org/structure/1klc>

TGF- β :n tuotto tapahtuu karkean endoplasmakalvoston ribosomeissa ja sen syntetisoinnin seurauksena muodostuu ensin TGF- β :n esiaste. (Tzavlaki ja Moustakas 2020). Esiasteeseen kuuluvat seuraavat osat: signaalipeptidi, N-terminaalisen pään omaava latenssiin liittynyt proteiini (LAP) sekä valmis TGF- β sytokiini, jossa on C-terminaalinen pää. Tuotettujen eri LAP-alueiden aminohapposekvenssien samankaltaisuus on 36–51 %. (Travis ja Sheppard 2014.) Lisäksi TGF- β 1 ja TGF- β 3 sisältävät arginiini-glysiini-aspargiinihappo-sekvenssin (RGD) (M. Shi ja muut 2011). Esiasteessa olevat LAP ja valmis TGF- β ovat sitoutuneet toisiinsa ei-kovalenttisillä sidoksilla (Fujio ja muut 2016). Signaalipeptidin tehtävä on ohjata tuotettu TGF- β :n esiaste endoplasmiselle kalvostolle. Endoplasmisella kalvostolla signaalipeptidi poistetaan ja jäljelle jäänyt polypeptidi kulkeutuu endoplasmisen kalvoston lumeniin. (Travis ja Sheppard 2014.)

Luumenissa polypeptidi kootaan dimeeriksi, jossa polypeptidiketjujen välille muodostuu kolme disulfididisidosta (Kuva 2). Proteiinista muodostuu pieni latentti kompleksi eli ei biologisesti aktiivinen kompleksi, jossa LAP ja kypsä TGF- β ovat sitoutuneina ei-kovalenttisillä sidoksilla. (Travis ja Sheppard 2014; Tzavlaki ja Moustakas 2020.) LAP on kietoutuneena kypsän TGF- β :an ympärille ja estää näin sen sitoutumisen reseptoriin. Useimmissa soluissa kaksi LAP-kopiota ovat ristisitoutuneet toisiinsa latentin TGF- β :aa sitovan proteiinin (LTBP) avulla. LTBP on kiinni LAP-kopioissa kahden kysteiinitähteen välisellä disulfididisidoksella. Pienen latentin kompleksin sijasta muodostuukin tässä tilanteessa iso latentti kompleksi eli LLC (engl. large latent complex). (Travis ja Sheppard 2014.) LTBP on tärkeä TGF- β :n kiinnittyessä soluväliaineeseen (Fujio ja muut 2016). Endoplasmisen kalvoston lumenista proteiini kuljetetaan Golgiin, jossa furiini-niminen proteaasi katkaisee polypeptidiketjun kahteen osaan: kypsä TGF- β ja LAP (Tzavlaki ja Moustakas 2020). Katkaisusta huolimatta kypsä TGF- β ja LAP ovat edelleen sitoutuneet toisiinsa ei-kovalenttisillä sidoksilla (M. Shi ja muut 2011). Seuraavaksi latentit TGF- β -proteiinit kasataan vesikkeleihin, joissa ne eritetään eksosytoosin avulla ulos golgista soluväliaineeseen. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.)

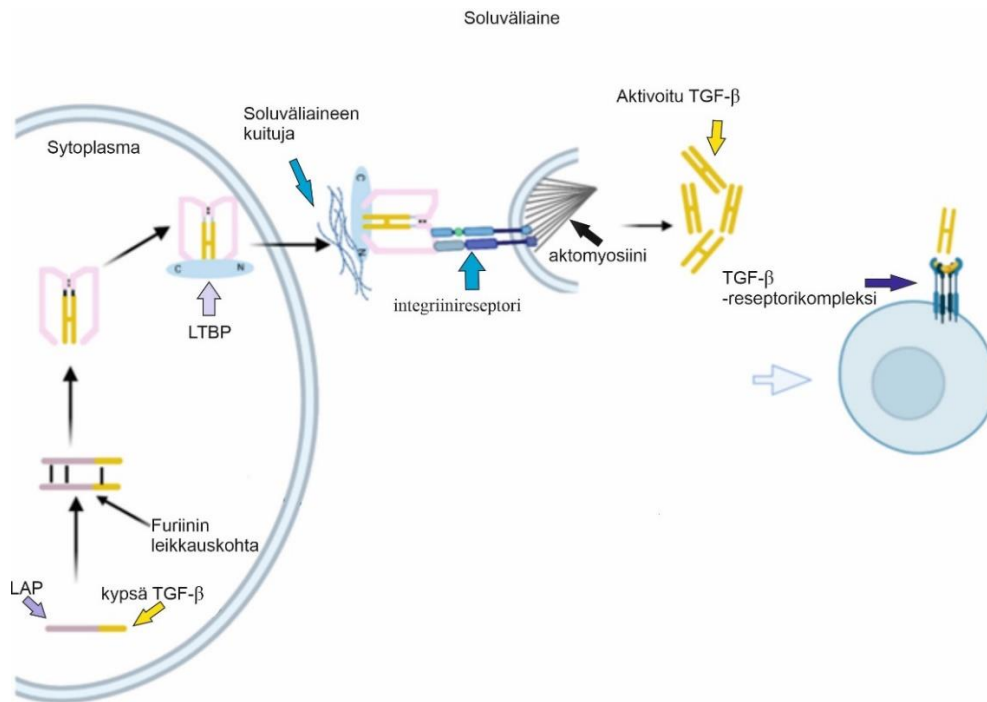


Kuva 2. TGF- β :n esiasteen muokkaus. TGF- β :n esiaste siirtyy endoplasmisen kalvoston luumeniin, jossa monomeeristä muodostetaan dimeeri. Dimeeriin liitetään LTBP, jonka seurauksena muodostuu suuri latentti kompleksi. Seuraavaksi kompleksi siirtyy Golgin luumeniin, jossa furiini katkaisee peptidiketjun kahteen osaan. Lopuksi latentti TGF- β eritetään ulos solusta vesikkeleissä. Muokattu kuvasta Tzavlaki ja Moustakas 2020.

2.3 TGF- β :n aktivointi

TGF- β pitää aktivoida, koska TGF- β :n latentti eli inaktiivinen muoto ei kykene sitoutumaan reseptoreihin. Latentti muoto täytyy vapauttaa LAP:sta ja LTBP:sta. In vivo -aktivaatio voi tapahtua transglutamiinaasin kautta, LAP:n konformaatiomuutoksella trombospondiinin fyysikaalisen vuorovaikutuksen avulla tai mekaanisella vetovoimalla integriinien esimerkiksi $\alpha_v\beta_6$:n avulla. In vitro -aktivaatio voidaan saada aikaan äärimmäisellä pH:lla, lämmöllä tai käyttämällä useita proteaaseja. (Fujio ja muut 2016.)

Integriini β_6 tuotetaan epiteelisoluissa ja sen ilmentymistä tehostavat tulehdukset sekä kudosauriot (Fujio ja muut 2016). Integriini reseptori $\alpha_v\beta_6$ sijaitsee solukalvolla ja kykenee sitoutumaan TGF- β_1 :n ja TGF- β_3 :n RGD-sekvenssi kohtaan, joka sijaitsee lähellä LAP-dimeerin toista päätä. Kun latentti TGF- β sitoutuu integriinireseptoriin, tuottaa reseptori mekaanista voimaa. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.) Integriinireseptorien voimantuotto on kiinni solun tukirangan aktomyosiinin eli aktiinin ja myosiinin supistumisesta (Peng ja muut 2022). Tämän voiman seurauksena suuren latentin kompleksin konformaatio muuttuu, jolloin kypsän TGF- β :n vapautuminen sen ympäröivästä LAP-dimeeristä alkaa (Kuva 3). Vapautumisessa toimivat apuna myös BMP-1, joka irrottaa proteolyttisesti fibronectiinin ja MMP2 eli matriksinmetalloproteinaasi 2 (engl. matrix metalloprotease 2), joka pilkkoo LTBP:tä ja LAPia irrottaen ne kypsästä TGF- β :sta. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.)



Kuva 3. TGF- β :n aktivointi. Latentti TGF- β eritetään ulos solusta. Aktivoituakseen TGF- β sitoutuu integroinireseptoriin, jolloin reseptori tuottaa mekaanista voimaa. Voiman seurauksena suuren latentin kompleksin konformaatio muuttuu, jolloin kypsä TGF- β vapautuu. Vapauduttuaan TGF- β on aktivoitunut ja valmis sitoutumaan reseptoreihinsa. Muokattu kuvasta Peng ja muut 2022.

Trombospondiini 1 (TSP 1) on monitoiminnallinen solväliaineen proteiini, jota on runsaasti esimerkiksi verihiutaleiden β -granuloissa. Sitä esiintyy paljon kudosaaurioiden ja niiden korjausten yhteydessä. Tämän lisäksi se toimii yhtenä TGF- β :n mahdollisena aktivoijana. TSP-1-proteiinissa on lysiini-arginiini-fenyyialaniini-lysiini-sekvenssi (KRFK), joka sitoutuu LAPin leusiini-seriini-lysiini-leusiini-sekvenssiin (LSKL) häiriten vuorovaikutusta LAPin ja kypsän TGF- β :n välillä. Tällöin kypsän TGF- β :n reseptoriin sitoutumiseen vaadittavat sekvenssit paljastuvat, jolloin kypsä TGF- β kykenee sitoutumaan omiin reseptoreihinsa. (Murphy-Ullrich ja Suto 2018.)

Kudostransglutaminaasi (TG2) on entsyymi, joka katalysoi transamidaatioreaktioita. Reaktiossa primäärinen amiini sitoutuu glutamiinitähteisiin. LTBP:n ja suuren latentin kompleksin tiedetään olevan TG2:n substraatteja ja lisäksi on osoitettu, että TG2 on mukana LTBP:n sitoutumisessa solväliaineeseen. TG2:n osuutta TGF- β :n aktivoitumisessa on tutkittu ja tutkimuksessa huomattiin, että TG2 lisää TGF- β :n aktivoitumista. Mahdollisena syynä aktivaation lisääntymiselle pidetään sitä, että TG2 ohjaa LLC:n solukalvolle. Lisäksi tutkimuksen tulokset osoittavat, että TG2 ristisitoo LTBP:n fibrilliiniin. Tämä lisää LTBP:n sitoutumista matriksiin. Kudostransglutaminaasin tiedetään siis osallistuvan TGF- β :n aktivointiin, mutta taustalla olevat tarkat molekulaariset mekanismit eivät ole vielä selvillä. (Lockhart-Cairns ja muut 2022.)

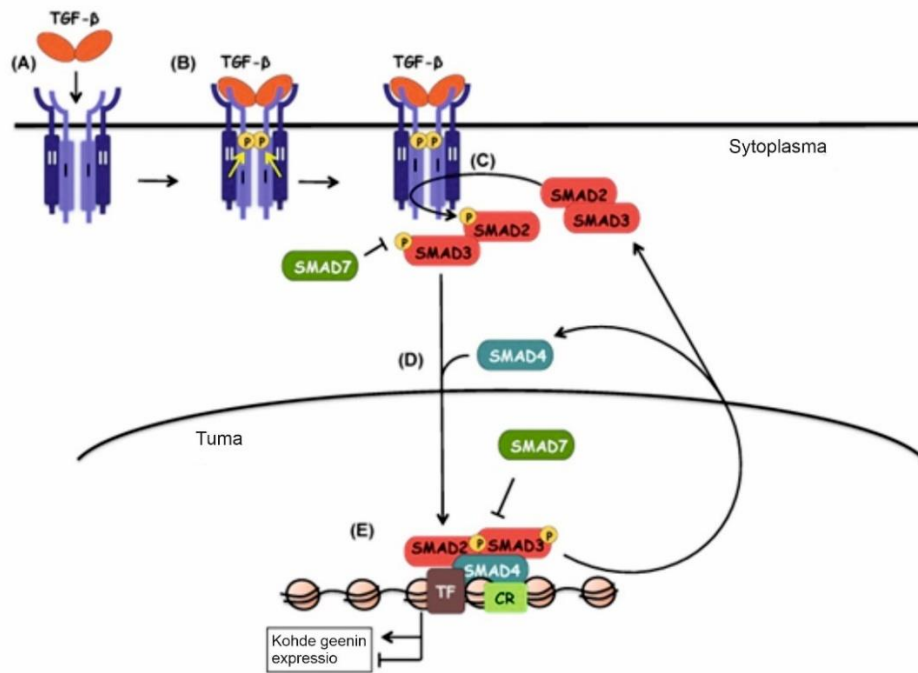
2.4 TGF- β :n signalointi

TGF- β :n signalointi tapahtuu sen reseptoreiden kautta, joita on kolme: TGFBR1, TGFBR2 sekä TGFBR3. TGF- β toimii näiden reseptoreiden ligandina. TGF- β -reseptorit sijaitsevat solukalvolla lipidilautojen alueella ja alueilla, joissa ei ole lipidilautoja. TGFBR1:llä on tärkeä merkitys TGF- β :an signaloinnissa ja se pystytään fosforyloimaan useasta eri kohdasta. Fosforyloitu TGFBR1 fosforyloi signaloinnissa seuraavaksi joko SMAD2/3:n C-terminaalista päästä tai muita kinaaseja, jotka aktivoivat ei-SMAD reittejä. Ubikinointi säätelee tiukasti TGFBR1:n määrää. Lisäksi ubikinointi toimii välittäjänä TGFBR1:n ei-kanonisessa signaloinnissa. TGFBR2 on reseptori, johon TGF- β sitoutuu suoraan. TGFBR2 on aktiivinen kinaasi, myös ilman ligandin sitoutumista, ja se pystyy fosforyloimaan itsensä, TGFBR1:n sekä muita reseptoreita. TGFBR2:lla on treoniini-, seriini- ja tyrosiinikinaasiaktiivisuus. TGFBR3:lla ei ole kinaasiaktiivisuutta, mutta se pystyy kuitenkin sitoutumaan korkealla affiniteetilla kaikkiin kolmeen TGF- β :an isoformiin. (Vander Ark ja muut 2018.)

Signalointi alkaa, kun joku kolmesta TGF- β :n muodosta sitoutuu TGFBR2:een, joka on korkean affiniteetin omaava reseptori. Kun ligandi on sitoutunut TGFBR2:een, tapahtuu konformaationaalinen adaptaatio, jonka seurauksena TGFBR1 pystyy sitoutumaan ligandiin ja TGFBR2:een korkealla affiniteetilla. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.) Tämän jälkeen TGFBR2 fosforyloi TGFBR1:essä olevan glysiini/seriini-rikkaan alueen, joka on lähellä TGFBR1:n kinaasidomeenia (Massagué ja Sheppard 2023). Fosforylointi aktivoi TGFBR1:n kinaasin. TGFBR1:n aktivointi on riippuvainen allosterisesta muutoksesta reseptorin konformaatiossa, mikä johtaa kaperoniproteiinien ja negatiivisen säätelijän FKBP12 irtoamiseen TGFBR1:stä. Biologisesti aktiivinen reseptorikompleksi sisältää siis dimeerisen ligandin ja heterotetrameerisen reseptorikompleksin. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.) Kompleksi on heterodimeerinen, sillä se sisältää dimeerisen TGF- β -ligandin ja kaksi kappaletta TGFBR1:tä ja TGFBR2:ta (Ahuja ja Zaheer 2023).

Aktivoiduttuaan TGFBR1 fosforyloi omat substraattinsa. Toistaiseksi TGFBR1 substraateiksi on tunnistettu pieni proteiiniperhe nimeltään SMAD-perhe. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.) SMAD-proteiinit (engl. Suppressor of Mother against Decapentaplegic proteins) ovat noin 500 aminohapon pituisia ja niissä on kaksi konservoitunutta domeenia: N-terminaalinen MH1-domeeni sekä C-terminaalinen MH2-domeeni (Ali ja muut 2023; Y. Shi ja Massagué 2003). N-terminaalinen domeeni sitoutuu DNA:han ja C-terminaalinen domeeni taas sitoutuu esimerkiksi TGF- β -reseptori-1:n, muihin SMAD-proteiineihin ja reseptorien adaptor-proteiineihin (Massagué ja Sheppard 2023). SMAD-proteiineja on kolme eri luokkaa, joista TGF- β :n aktivoinnissa on mukana reseptoriaktivoidut SMAD-proteiinit (R-SMAD-proteiinit). SMAD-proteiini aktivoituu, kun sen C-terminaalisen pään seriinitähteet fosforyloidaan. (Y. Shi ja

Massagué 2003.) SMAD-reaktiotie on keskeisin signalointireitti TGF- β :n aktivoitumisessa (Kuva 4) (Tzavlaki ja Moustakas 2020).



Kuva 4. Kuvassa on esitetty TGF- β :n signalointi SMAD-reaktiotien kautta. Ensinnä TGF- β toimii ligandina ja sitoutuu heterodimeeriseen reseptorikompleksiin (A). TGF- β :n sitoutumisen seurauksena TGFBR2 fosforyloituu ja aktivoi TGFBR1:n (B). Aktivoitunut TGFBR1 fosforyloituu ja aktivoi SMAD2:n ja SMAD3:n (C). SMAD7 kilpailee SMAD2:n ja SMAD3:n kanssa vuorovaikutuksesta TGFBR1:n kanssa. Jos SMAD7 pääsee sitoutumaan, estää se signaalin etenemisen. Mikäli SMAD2 ja SMAD3 onnistuvat sitoutumaan irtoavat ne TGFBR1:stä ja muodostavat kompleksin SMAD4:n kanssa. (D). Trimeerinen kompleksi kulkeutuu seuraavaksi tumaan, missä se vuorovaikuttaa korkean affiniteetin omaavien DNA:n sitoutuvien transkriptio tekijöiden (TF) ja kromatiinin muokkaus proteiinien (CR) kanssa. Seurauksena on kohde geenin positiivinen tai negatiivinen säätely (E). Muokattu kuvasta Tzavlaki ja Moustakas 2020.

SMAD-proteiinien aktivoitumista edesauttaa endosytoottinen proteiini SARA, joka vastaa SMAD2:n ja SMAD3:n saapumisesta TGF- β -reseptorille. SMAD-proteiinien ja SARA-proteiinin välistä sidosta stabiloi sytoplasmisessa muodossa oleva promyelosyyttinen leukemia(cPML)-proteiini. Lisäksi SMAD-proteiinien aktivaatioon ja saapumiseen reseptorille vaikuttaa adaptorimolekyyli DAP-2, joka on vuorovaikutuksessa sekä SMAD-proteiinien ja TGF- β -reseptorien 1 ja 2 kanssa edistäen reseptorien klatriinivälitteistä endosytoosia ja TGF- β -signaalin välittymistä. SMAD2:n ja SMAD3:n kanssa reseptoriin sitoutumisesta kilpailee SMAD7. Jos SMAD7 onnistuu sitoutumaan reseptoriin, estää se näin SMAD2:n ja SMAD3:n aktivoitumisen ja signaalin etenemisen. SMAD:n ja TGFBR1:n spesifinen sitoutuminen toisiinsa tapahtuu SMAD-proteiinin MH2-domeenissa olevan L43 silmukan ja TGFBR1:n kinaasidomeenissa olevan silmukan L3-avulla. SMAD-proteiinin molempien C-terminaalisten päiden seriinien fosforylaatio on välttämätön, jotta aktivoituminen, irtoaminen TGFBR1:stä ja trimeerinen kompleksi SMAD4 kanssa voi tapahtua sekä signaalin eteneminen jatkua. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.)

Kun TGFBR1 on aktivoitunut, se siis fosforyloi R-SMAD proteiinien SMAD2:n ja SMAD3:n kahden C-terminaalisen pään seriinit. Fosforyloinnin seurauksena R-SMAD proteiinien rakenteessa tapahtuu konformaation muutoksia, jolloin R-SMAD proteiinit irtoavat reseptorikompleksista. Irrottuaan reseptorikompleksista SMAD2 ja SMAD3 vuorovaikuttavat SMAD4 kanssa muodostaen trimeerisen kompleksin. (Tzavlaki ja Moustakas 2020.) Muodostunut kompleksi kulkeutuu tumaan ja säätelee siellä transkription kautta niitä geenejä, joihin TGF- β vaikuttaa. Sääteilyä varten SMAD proteiinit sitoutuvat DNA:han. Sitoutuminen tapahtuu matalalla affiniteetilla ja spesifisyydellä, joten apuna on DNA:han sitoutuvia transkriptio kofaktoreita ja aputekijöitä. Aputekijöinä toimii esimerkiksi sytosiini-5-metyylitransferaasi, joka poistaa DNA:n repressiivistä metylaatiota ja stimuloi transkriptiota. (Ahuja ja Zaheer 2023.) SMAD7 pystyy kuitenkin inhiboimaan muodostuneen trimeerisen kompleksin transkriptioaktiivisuutta tumassa (Tzavlaki ja Moustakas 2020).

SMAD reaktiotien lisäksi TGF- β signalointi voi tapahtua muita reittejä. Näitä reittejä ovat solunulkoisten signaalien säätelemä kinaasi (ERK) MAPK signaalireitti, jun N-terminaalinen kinaasi (JNK) ja p38 MAPK signaalireitti, Rho-perheen GTPaasi signaalireitit, Grb2/SOS (engl. growth factor receptor-bound protein 2/son of sevenless complex) signaalireitti sekä fosfoinositidi-3-kinaasi (PI3K)/ATK signaalireitti. (Ahuja ja Zaheer 2023.)

ERK reaktiotie alkaa, kun TGF- β aikaansaa TGFBR1 ja TGFBR2 tyrosiinitähteiden fosforylaation. Tämän seurauksena adaptoriproteiinit Grb2 ja SOS saavat aikaan ketjureaktion, jossa Ras, Rho ja MEK1/2 aktivoituvat. Viimeisenä aktivoituu ERK1/2. Kun ERK on aktivoitu, kykenee se fosforyloimaan transkriptiotekijöitä ja näin säätelemään geenien ekspressiota. JNK ja p38 signaalireitissä aktivoituneet TGF reseptorit vuorovaikuttavat TNF reseptoriin yhdistetyn tekijä 6 kanssa (TRAF-6). Tämän seurauksena TRAF6 ja Lys63 polyubikitinoidaan. Polyubikitinoitu TRAF6 aktivoi MKK4:n ja MKK3:n Tak1:n avulla ja lopulta JNK ja p38 aktivoituvat. JNK ja p38 kykenevät kontrolloimaan transkription alavirran tekijöitä. Lisäksi ne kykenevät SMAD proteiinien aktivoinnin sääteelyyn fosforylaation avulla. (Finsson ja muut 2020.)

Rho-perheen GTPaasi signaalireitissä Rhon yhdistetty proteiini kinaasi ROCK voidaan aktivoida, jolloin se edistää aktiinin polymerisaatioita ja stressi kuidun muodostumista. TGF- β :n pitkäaikainen aktivaatio saa aikaan muodostuneiden stressikuitujen kerääntymisen. Nämä stressikuidut signaloivat eteenpäin SMAD proteiinien, RhoA ja Cdc42 kautta. PI3K/AKT signaalireitissä PI3K:n alayksikkö p85 vuorovaikuttaa TGF- β reseptorien kanssa. Kun PI3K aktivoituu, aktivoi se jälleen AKT:n. AKT:n aktivoiduttua, se pystyy vaikuttamaan translaatiovasteeseen. (Ahuja ja Zaheer 2023.)

3 TGF- β ja syöpä

3.1 Syöpä

Elämän edellytys on se, että kromosomit kahdentuvat ja solut jakautuvat. Genomin ylläpito nimittäin on ratkaisevaa kaikissa organismeissa. Kromosomien jakautumisen tavoitteena on myös ylläpitää euploidiaa ja näin ehkäistä aneuploidiaa. Kromosomien jakautuminen tapahtuu mitoosin kautta. Virheet perimän jakautumisessa mahdollistavat kromosomien lukumäärien poikkeukset ja muut virheet DNA:ssa. Näillä virheillä voi olla vaikutusta syövän syntymiseen, sillä monesti syövän aiheuttajana on virheet geeneissä, jotka säätelevät solunjakautumista. (Jamasbi ja muut 2022.) Geenit, jotka vaikuttavat syövän kehitykseen ja etenemiseen voidaan jakaa onkogeneihin ja kasvaimen kasvua estäviin geeneihin. Onkogeeneit koodaavat niitä proteiineja, jotka edistävät kasvaimen kasvua, kun taas kasvaimen kasvua estävät geenit pyrkivät rajoittamaan kasvaimen kehittymistä. (Vaghari-Tabari ja muut 2021.)

Mahdollisia virheitä ja niitä mekanismeja, jotka virheitä aiheuttavat kutsutaan nimellä genomien epävakaus. Genomin epävakautta aiheuttavat tekijät voidaan jakaa kolmeen eri luokkaan ja näitä tekijöitä pidetään yleisimpinä syinä genomissa tapahtuneisiin muutoksiin ja syöpäsolujen heterogeenisyyteen. Ensimmäisenä tekijänä pidetään nukleotidien epävakautta (NIN). Tähän kuuluu nukleotidien deleetiot, insertiot ja vaihtuminen toiseen. Toisena tekijänä pidetään kromosomien epävakautta (CIN), johon kuuluu muutokset kromosomien rakenteessa ja lukumäärissä. Kolmas tekijä on mikrosatelliittien epävakaus (MSI). Mikrosatelliitit ovat pieniä pätkiä DNA:ssa, joissa toistuvat tietyt nukleotidit. Mikrosatelliitit ovat alttiita mutaatioille, mikä voi johtaa mikrosatelliittien laajenemiseen tai lyhenemiseen. DNA:n muutoksien ehkäisemiseksi soluissa on erilaisia mekanismeja, joilla virheitä pyritään korjaamaan tai ennaltaehkäisemään. (Jamasbi ja muut 2022.)

Mutaatioiden lisäksi syövän syntymiseen vaikuttaa solun ympäristö, jota voidaan kutsua myös mikroympäristöksi. Mikroympäristön rakenteella tarkoitetaan sitä, minkälainen rakenne solua ympäröivällä kudoksella on. Rakenne voi olla syövän syntymistä suosiva tai päinvastoin. Kun solussa on tapahtunut useita ajajamutaatioita ja mikroympäristö on suotuinen voi muodostua syöpäsolu. (Graham ja Sottoriva 2017.) Syövän syntymisen taustalla voi lisäksi olla perinnölliset tekijät tai erilaiset ympäristön vaikutukset, jotka aiheuttavat vaurioita DNA:han. Näitä ympäristövaikutuksia voivat olla esimerkiksi oksidatiivinen stressi tai UV-säteily. Vaurioiden synnyttyä DNA:han, pyrkivät solun omat DNA:n korjausmekanismit korjaamaan syntyneen vaurion. Mikäli vauriota ei kyetä korjaamaan ohjataan solu apoptoosiin. Jos apoptoosi epäonnistuu häiritsevien tekijöiden takia, voivat mutatoituneet solut lisääntyä. Ajan kuluessa

mutaatioita voi kertyä soluihin, minkä seurauksena saattaa muodostua syöpä. (Vaghari-Tabari ja muut 2021.)

Syöpäsolulle tyypillisiä piirteitä ovat esimerkiksi muuttunut metabolia, mikä voi olla joko seuraus tai syy, apoptoosin estyminen ja lisääntynyt solujen kasvu. Tämän lisäksi syöpäsolut muodostavat uusia verisuonia, eivät reagoi kasvua hallitseviin signaaleihin, välttävät elimistön immuunipuolustuksen, tunkeutuvat kudoksiin ja muodostavat etäpesäkkeitä. (Kroemer ja Pouyssegur 2008.)

Glukoosi on solujen tärkein energian lähde ja siitä voidaan tuottaa energiaa sekä aerobisesti, että anaerobisesti. Lisäksi glukoosilla on tärkeä rooli nukleotidien ja rasvahappojen syntetisoinnissa. Myös syöpäsolujen metabolialle glukoosi on tärkeä energianlähde ja syöpäsolujen glukoosin sisäänoton onkin havaittu olevan suurempaa kuin tavallisissa soluissa. Suuren glukoosin sisäänoton lisäksi syöpäsolut tuottavat huomattavan määrän laktaattia. (Vaghari-Tabari ja muut 2021.) Syöpäsolujen suuri glukoosin sisäänotto tuottaa niille edun verrattaessa niitä tavallisiin soluihin. Syöpäsoluissa muodostuu laktaattia aerobisen glykolyysin seurauksena. Tämän jälkeen stroomasolut voivat ottaa laktaatin sisäänsä ja tuottaa siitä uudelleen pyruvaattia. Pyruvaatti voidaan täten käyttää energian lähteenä tai oksidatiivisessa fosforylaatiossa. Lisäksi syöpäsolut voivat tuottaa glukoosista energiaa pentoosi-fosfaatti reaktiotietä muodostaen NADPH:ta. Syöpäsolut pystyvät myös hyödyntämään anabolisiin reaktioihin glukoosin muodostamisessa syntyviä välituotteita. (Kroemer ja Pouyssegur 2008.)

Telomeerit ovat eukaryoottisolujen kromosomien päissä olevia konservoituneita nukleiniiniproteiinirakenteita. Telomeerien tehtävänä on suojella kromosomien päitä estämällä DNA:n korjausmekanismit ja tuoda genomista tasapainoa. Lisäksi telomeerien tärkeä tehtävä on estää DNA-polymerasia replikoimasta kromosomien päitä. Telomeerit lyhentyvät jokaisella solusyklillä noin 200 nukleotidiä, johtaen lopulta siihen, ettei solu voi enää jakautua, jolloin se ohjautuu apoptoosiin. Syöpäsolujen kohdalla telomeerit eivät kuitenkaan toimi normaalisti, sillä ne kykenevät estämään telomeerien lyhenemisen ja näin ollen välttävät apoptoosin. (De Vitis ja muut 2018.)

Syövän aiheuttamat etäpesäkkeet ovat suurimpia syitä syöprien aiheuttamille kuolemille. Syövän etäpesäkkeiden muodostamista kutsutaan nimellä metastaasi. Metastaasin muodostuminen vaatii solujen irtoamista alkuperäisestä kasvaimesta. Tämän jälkeen solut tunkeutuvat verenkiertoon. Syöpäsolut kulkeutuvat verenkierron mukana yksittäisinä soluina tai pieninä soluryppäinä muualle elimistöön. Kun solut päätyvät mikroverisuoniin, jäävät ne jumiin. Syöpäsolut pyrkivät poistumaan verenkierrosta, sillä muuten mikrosuoni voi revetä. Kun solut poistuvat verenkierrosta,

ne asettuvat johonkin kudokseen. Kudoksessa solut alkavat jakautua ja muodostaa uutta kasvainta. (Fares ja muut 2020.)

3.2 TGF- β :n kasvainta estävät toiminnot

TGF- β toimii esiastesyöpäsoluissa sekä normaaleissa soluissa kasvaimen kasvua estävänä tekijänä (Hao ja muut 2019). Keinoinaan TGF- β käyttää solujen jakaantumisen estämistä ja solujen ajamista apoptoosiin kasvaimen kehityksen aikaisessa vaiheessa. Tämä onnistuu tuottamalla suurempi määrä sykliiniriippuvaisen kinaasin (CDK) inhibiittoreita ja ilmentämällä vähemmän MYC geenejä. (Peng ja muut 2022.)

TGF- β vaikuttaa solujen jakaantumiseen solusyklin G1-vaiheessa. TGF- β aktivoi SMAD4:n kautta translaatioinhibiittori proteiini 4E-BP1 promoottorin, mikä vähentää translaatioita, solun kasvua sekä solun jakautumista. TGF- β kykenee lisäksi pysäyttämään solusyklin kokonaan G1 vaiheen loppupuolella. (Hao ja muut 2019.) Syklin pysäyttämisen lisäksi TGF- β saa aikaan CDK-inhibiittorien (engl. cyclin dependent kinase inhibitors) aktivoitumisen ja DNA:n sitojaproteiinien inhibiittorien eli ID-proteiinien vaimenemisen (Ali ja muut 2023). TGF- β säätelee ID-proteiineja negatiivisesti, sillä kyseiset proteiinit ovat tärkeitä solujen kasvun inhiboinnissa sekä pysäyttämässä. Joissakin solulinjoissa SMAD ja p53 toimivat yhdessä, jolloin TGF- β :n indusoima p21 estää solusyklin etenemisen. Lisäksi TGF- β estää solujen kasvua inhiboimalla CDC25a fosfataasin ilmenemistä, jota tarvitaan CDK syklin aktivaatioon. (Hao ja muut 2019.)

Solusykliin vaikuttamisen lisäksi TGF- β kykenee ajamaan solun apoptoosiin. Apoptoosiin ajaminen tapahtuu kasvaimen aikaisessa vaiheessa. TGF- β :n mekanismit, jotka ajavat erilaiset solutyypit apoptoosiin eivät kuitenkaan ole vielä tarkkaan tunnettuja. Joidenkin apoptoottisten säätelijöiden tiedetään kuitenkin olevan säädelty TGF- β /SMAD reaktiotien avulla. (Hao ja muut 2019.) Lisäksi TGF- β :n signaalien tiedetään vaikuttavan muihin apoptoosiin yhdistettyihin geeneihin (Ali ja muut 2023). TGF- β :lla on siis tärkeä rooli kasvaimen kasvua rajoittavana tekijänä. Useammassa syövissä TGF- β :n signaalireittien eri komponenttien on huomattu olevan mutatoituneita tai inaktivoituneita. (Hao ja muut 2019.)

3.3 TGF- β :n onkogeeniset toiminnot

Syövän edettyä pitkälle syöpäsolut reagoivat edelleen TGF- β :n lähettämiin signaaleihin, mutta niistä tulee resistenttejä TGF- β :n sytostaattisille vaikutuksille. Tällöin TGF- β voikin muuttua kasvaimen kasvua edistäväksi tekijäksi indusoimalla epiteelisolujen muuntautumista mesenkymaalisiksi soluiksi. Normaaleissa olosuhteissa epiteelisolujen muuntautuminen mesenkymaalisoluiksi on tärkeää alkion kehityksessä sekä kudonvaurioiden korjaantumisissa. (Hao ja muut 2019.) Muuntautumisen avulla solut liikkuvat paikkaan, jossa ne saavat tarvittavaa

tukea ja signaaleja vaurion korjaamista varten (Massagué ja Sheppard 2023). Joissakin tilanteissa epiteelisolujen muuntautuminen mesenkyymäsoluiksi voi kuitenkin saada aikaan kasvaimen kehittymisen. Tässä tilanteessa solujen adheesio heikkenee ja polarisaatio sekä solujen väliset tiukat sidokset häviävät. Näiden ominaisuuksien laskiessa tai hävitessä soluista tulee alttiimpia liikkumaan ja taipumus invaasiolle sekä metastaasille kasvaa. (Hao ja muut 2019.)

Kasvaimen kasvun kannalta on tärkeää, että se saa happea ja ravinteita. Näiden saamiseksi uusien verisuonten muodostaminen eli angiogeneesi on tärkeässä roolissa. Kun kasvaimella on paljon verisuonia, kykenevät ne paremmin tunkeutumaan verenkiertoon ja näin edistämään metastaasia. TGF- β :lla on kyky edistää angiogeneesiä suorien ja epäsuorien mekanismien kautta. Suorana mekanismina on TGF- β :an vaikuttaminen verisuonien endoteelikasvutekijän määrään. Nostamalla verisuonien endoteelikasvutekijän määrää angiogeneesi kiihtyy. Epäsuorana mekanismina TGF- β stimuloi kasvaimen tunkeutuvia makrofageja tuottamaan lisää tiettyjä proteiineja. Proteiinien tuotto edistää proteiinirikasta mikroympäristöä, mikä puolestaan auttaa aktivoituneiden endoteelisolujen liikkumista. Lisäksi TGF- β :n vuorovaikutus transmembraaniglykoproteiini endogliinin kanssa aktivoi muita signaalikomponentteja ja edistää niin ikään endoteelisolujen liikkumista kuin myös jakaantumista. (Ahuja ja Zaheer 2023.)

TGF- β edistää kasvaimen kasvua myös laskemalla elimistön oman immuunipuolustuksen toimintaa. Se vähentää luonnollisten tappajasolujen sytostaattista aktiivisuutta ja T-solujen jakaantumista sekä erilaistumista. T-soluvälitteinen kasvaimen kasvun esto alentuu, sillä TGF- β vähentää sytotoksisten T-solujen erilaistumista ja T-soluvälitteistä lyyseistä. Lisäksi MHC I ja MHC II molekyylien ilmentyminen alentuu, mikä puolestaan johtaa kasvaimen lyyksien vähenemiseen. Luonnollisten tappajasolujen ja neutrofiilien toimintojen alentaminen johtaa kasvaimelle suotuisan ympäristön kehittymiseen. (Ahuja ja Zaheer 2023.)

4 TGF- β ja terapeutiset syöpähoidot

Lääkeyhtiöt ovat jo usean vuoden ajan pyrkineet kehittämään inhibiittoreita, jotka vaikuttaisivat TGF- β :n ilmentymiseen, aktivaatioon ja signalointiin. Lääkkeitä kehitetään, jotta niiden avulla voitaisiin hoitaa useita eri sairauksia, joista yksi on syöpä. (Massagué ja Sheppard 2023.) TGF- β :n suurempi ilmeneminen voi johtaa syövän kehittymiseen, minkä takia TGF- β :n aikaansaamien signaalien sammuttaminen nähdään potentiaalisena hoitokeinona syöpää vastaan. (Ali ja muut 2023.) Useat TGF- β -inhibiittorit ovat testattavana kliinisten kokeiden eri vaiheissa. Inhibiittoreita on kehitetty erilaisia ja niiden vaikutusmekanismit vaihtelevat. Inhibiittorit voidaankin jakaa vaikutusmekanismin mukaan seuraaviin luokkiin: TGF- β :n latentin muodon aktivoitumisen estävät vasta-aineet, reseptorien solunulkoisetproteiinit ja vasta-aineet, jotka vangitsevat TGF- β :n tai estävät TGF- β -reseptorin, sekä TGF- β -reseptorikinaasien inhibiittoreina toimivat pienet molekyylit. (Massagué ja Sheppard 2023.)

Erilaisten inhibiittoreiden lisäksi on pyritty kehittämään myös muunlaisia vaihtoehtoja. Näissä vaihtoehtoissa pyritään vähentämään TGF- β :n väliintulo immunoterapiaan. Yhtenä keinona on kehitetty dominanttinegatiivinen TGFBR2 konstruktio tai TGF- β :lle komplementaariset oligonukleotidit, jotka on sisällytetty rokotteeseen tai CAR (engl. chimeric antigen reseptor) T-soluihin. (Massagué ja Sheppard 2023.) Dominanttinegatiivisen TGFBR2:n kyky estää signalointi on seurausta sen lyhentämisestä ja poistetusta solunsisäisestä domeenista, joka vaaditaan signaalin etenemiseen (Kloss ja muut 2018). Jotta TGF- β :aan voitaisiin vaikuttaa haluttujen solujen läheisyydessä, on kehitetty TGF- β molekyylejä vangitsevia fuusioproteiineja, jotka sisältävät myös antigeeni-CD4:n. CD4-antigeenin tehtävänä on estää TGF- β :n toiminta T-solujen läheisyydessä. (Massagué ja Sheppard 2023.)

Kehitettäessä terapeutisia TGF- β hoitoja syöpää vastaan, tulee huomioon ottaa tekijöitä, jotka vaikeuttavat hoitojen kehittämistä. Vaikka TGF- β :n aktivoitumisen taustalla on yleensä tarve saada aikaan patologisia prosesseja, ei sen fysiologista tarkoitusta voida jättää huomioimatta. TGF- β :n laaja toiminnan estäminen saattaisi johtaa normaalien fysiologisten toimintojen häiriintymiseen ja tämä on otettava huomioon. TGF- β muuttaa laajoja signaaliketjuja edistäessään syövän etenemistä, mikä lisää hoitojen monimutkaisuutta ja hankaluutta. (Peng ja muut 2022.) Lisäksi TGF- β :n vaikutukset ovat kudosspesifisiä, eli tiettyyn kudokseen kohdistettu lääke saattaisi aiheuttaa erilaisen vaikutuksen toisessa kudoksessa (Ahuja ja Zaheer 2023). Tämän takia on tärkeä tutkia jokaisen sairauden osalta TGF- β :n aktivoimat tekijät tarkasti. Vaikka TGF- β :lla on tärkeä rooli kasvaimen kehityksessä, on syövän puhkeaminen ja kehittyminen monitekijäinen tapahtuma. (Peng ja muut 2022.)

Morris ja muut (2014) ovat tutkineet faasi 1 vaiheen tutkimuksissa GC1008:n toiselta nimeltä Fresolimumab lääkkeen turvallisuutta ja sen aktiivisuutta kasvaimen kasvun estossa. GC1008 on monoklonaalinen korkean affiniteetin omaava humaanista vasta-ainetta, joka neutraloi ihmisen aktiiviset TGF- β 1, TGF- β 2 ja TGF- β 3 muodot. (Morris ja muut 2014.) Humaani vasta-aine tarkoittaa vasta-ainetta, joka on johdettu ihmisen immunoglobuliinigeenisekvenssistä ja sitä voidaan tuottaa esim. transgeenisellä hiirellä, jonka genomia on muokattu lisäämällä siihen ihmisen immunoglobuliinilokus (Brüggemann ja muut 2015; Lonberg 2008). Fresolimumabia tutkitaan mahdollisena hoitokeinona syöpään. Tähän tutkimukseen osallistui 29 potilasta ja potilaille annettiin GC1008. Tutkimuksen tuloksissa yhdellä potilaalla huomattiin osittainen vaste ja kuudella potilaalla syövän tilanne muuttui vakaaksi. Osittaisen vasteen saaneella potilaalla kasvaimen koko pieneni ja vakaan tilanteen saavuttaneista kolmella havaittiin kasvaimissa sekalaisia vasteita. Tutkimuksen rajoitteina olivat kuitenkin pieni potilasmäärä, joten suurempia johtopäätöksiä varten vaaditaan suurempia tutkimuksia. (Morris ja muut 2014.)

Gonzales-Junca ja muut (2020) taas tutkivat yhtenä osana tutkimustaan sädehoidon ja 1D11 vasta-aineeseen perustuvan fresolimumabin yhteisvaikutusta käyttäen aivosyöpä hiirimalleja. Pelkän vasta-aineen antamisella ei ollut vaikutusta kasvaimen kasvuun tai hiirten elossa pysymiseen. Pelkkä sädehoito taas lisäsi elossa säilymistä 19 päivästä 21 päivään. Sädehoidon ja vasta-aineen yhdistelmä taas nosti elossa pysymisen 19 päivästä 30 tai 31 päivään. TGF- β :n toiminnan estävä vasta-aine ei siis pelkästään käytettynä vaikuttanut kasvaimen kasvuun, mutta se kykeni estämään signaaloinnin ja paransi kasvaimen vastetta sädehoitoon jokaisessa mallissa. Tutkimuksessa käytettiin vain yhtä säteilyannosta, joten säteilyohjelmien vertailua vaaditaan, jotta tuloksia voitaisiin yleistää.

Dominanttinegatiivisen TGFBR2 vaikutusta on tutkittu yhdessä PSMA (engl. prostate-specific membrane antigen) spesifisten CAR-T solujen kanssa syöpä hiirimalleissa. Tutkimuksessa huomattiin TGFBR2 ja PSMA spesifisten CAR-T solujen yhdistelmän lisäävän sytokiinien tuotantoa, T-solujen jakaantumista ja T-solujen tuottamien mikro-RNA:den määrää. Verrattaessa kahta hiirimallia, joista toiseen injektoidiin CAR-T soluja ilman TGFBR2:ta ja toiseen CAR-T soluja, joissa mukana oli TGFBR2 huomattiin, että jälkimmäisissä malleissa syöpäsolut tuhoutuivat kokonaan kaikissa neljässä hiiressä. Ensimmäisessä mallissa syöpäsolut tuhoutuivat vain yhdessä neljästä hiirestä. Dominanttinegatiivisen TGFBR2 huomattiin kuitenkin lisäävän ihmisten T-solujen määrää hiirten veressä ja se korreloi hiirten painon laskun ja käänteishyljintäsairauden kehittymisen kanssa. Tulosten perusteella on tarkoituksena käynnistää kliiniset kokeet ihmisillä, jotta menetelmää ja sen vaikutuksia voidaan kehittää. (Kloss ja muut 2018.)

5 Yhteenveto

TGF- β on laajasti vaikuttava sytokiini, jonka kaikkia signalointimekanismeja ja vaikutuksia ei vielä tunneta tarkasti. Se vaikuttaa niin solujen kasvuun ja erilaistumiseen kuin immuunivasteeseen ja homeostasian säätelyyn. Tämä tekee signalointimekanismien ja niiden vaikutusten ymmärtämisestä tärkeää. Muutokset TGF- β :n toiminnassa voivat johtaa erilaisiin sairauksiin kuten syöpään, jonka kehittymisessä ja etenemisessä TGF- β :lla on merkittävä rooli. Syövän alussa TGF- β toimii kasvaimen kasvua ehkäisevänä tekijänä, kun taas syövän edetessä se muuttuu onkogeeniksi. Tämä tekee siitä potentiaalisen kohteen terapeuttisille syöpähoidoille.

Lääkkeiksi on kehitteillä eri mekanismeilla vaikuttavia inhibiittoreita. Inhibiittorien tarkoituksena on sammuttaa TGF- β :n signalointi. Useampi TGF- β -inhibiittori on kliinisissä kokeissa testattavana. Inhibiittorien lisäksi on kehitteillä myös muita sovelluksia, joissa periaatteena on esimerkiksi estää TGF- β :n väliintulo immunoterapiassa. Tällä hetkellä markkinoilla ei kuitenkaan vielä ole yhtään valmista ja hyväksyttyä lääkettä. TGF- β :n toimintaan vaikuttavia lääkkeitä on kliinisissä kokeissa testattu myös yhdessä sädehoidon kanssa. Tätä yhdistelmää pidetään potentiaalisena hoitomuotona tulevaisuuden syöpähoidoissa.

Vaikka TGF- β vaikuttaa potentiaaliselta kohteelta erilaisille terapeuttisille hoidoille, on hoitojen kehityksessä useampia haasteita. Juuri TGF- β laaja-alaiset vaikutusmekanismit tekevät hoitojen kehittämisestä haastavaa. Kun TGF- β :n signalointiin vaikutetaan voivat sen muut fysiologiset toiminnot häiriintyä ja tämä on tärkeää ottaa huomioon. Jotta markkinoille saadaan tulevaisuudessa TGF- β :n vaikuttava lääke vaatii aihe vielä lisää tutkimusta ja kliinisiä kokeita.

6 Kirjallisuus

- Ahuja, S. & Zaheer, S. (2023) Multifaceted TGF- β signaling, a master regulator: From bench-to bedside, intricacies, and complexities. *Cell Biol Int* cbin.12097.
- Ali, S., Rehman, M. U., Yattoo, A. M., Arafah, A., Khan, A., Rashid, S., ... Ali, Md. N. (2023) TGF- β signaling pathway: Therapeutic targeting and potential for anti-cancer immunity. *Eur J Pharmacol* **947**:175678.
- Brüggemann, M., Osborn, M. J., Ma, B., Hayre, J., Avis, S., Lundstrom, B. & Buelow, R. (2015) Human Antibody Production in Transgenic Animals. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* **63**:101–108.
- Clark, D. A. & Coker, R. (1998) Molecules in focus Transforming growth factor-beta (TGF- β). *Int J Biochem Cell Biol* **30**:293–298.
- De Larco, J. E. & Todaro, G. J. (1978) Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci* **75**:4001–4005.
- De Vitis, M., Berardinelli, F. & Sgura, A. (2018) Telomere Length Maintenance in Cancer: At the Crossroad between Telomerase and Alternative Lengthening of Telomeres (ALT). *Int J Mol Sci* **19**:606.
- Fares, J., Fares, M. Y., Khachfe, H. H., Salhab, H. A. & Fares, Y. (2020) Molecular principles of metastasis: A hallmark of cancer revisited. *Signal Transduct Target Ther* **5**:28.
- Finnson, K. W., Almadani, Y. & Philip, A. (2020) Non-canonical (non-SMAD2/3) TGF- β signaling in fibrosis: Mechanisms and targets. *Semin Cell Dev Biol* **101**:115–122.
- Fujio, K., Komai, T., Inoue, M., Morita, K., Okamura, T. & Yamamoto, K. (2016) Revisiting the regulatory roles of the TGF- β family of cytokines. *Autoimmun Rev* **15**:917–922.
- Gonzalez-Junca, A., Reiners, O., Borrero-Garcia, L. D., Beckford-Vera, D., Lazar, A. A., Chou, W., ... Barcellos-Hoff, M. H. (2021) Positron Emission Tomography Imaging of Functional Transforming Growth Factor β (TGF β) Activity and Benefit of TGF β Inhibition in Irradiated Intracranial Tumors. *Int J Radiat Oncol* **109**:527–539.
- Graham, T. A. & Sottoriva, A. (2017) Measuring cancer evolution from the genome. *J Pathol* **241**:183–191.

- Hao, Y., Baker, D. & Ten Dijke, P. (2019) TGF- β -Mediated Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Metastasis. *Int J Mol Sci* **20**:2767.
- Hinck, A. P., Archer, S. J., Qian, S. W., Roberts, A. B., Sporn, M. B., Weatherbee, J. A., ... Torchia, D. A. (1996) Transforming Growth Factor β 1: Three-Dimensional Structure in Solution and Comparison with the X-ray Structure of Transforming Growth Factor β 2. *Biochemistry* **35**:8517–8534.
- Jamasbi, E., Hamelian, M., Hossain, M. A. & Varmira, K. (2022) The cell cycle, cancer development and therapy. *Mol Biol Rep* **49**:10875–10883.
- Kloss, C. C., Lee, J., Zhang, A., Chen, F., Melenhorst, J. J., Lacey, S. F., ... June, C. H. (2018) Dominant-Negative TGF- β Receptor Enhances PSMA-Targeted Human CAR T Cell Proliferation And Augments Prostate Cancer Eradication. *Mol Ther* **26**:1855–1866.
- Kroemer, G. & Pouyssegur, J. (2008) Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel. *Cancer Cell* **13**:472–482.
- Lockhart-Cairns, M. P., Cain, S. A., Dajani, R., Steer, R., Thomson, J., Alanazi, Y. F., ... Baldock, C. (2022) Latent TGF β complexes are transglutaminase cross-linked to fibrillin to facilitate TGF β activation. *Matrix Biol* **107**:24–39.
- Lonberg, N. (2008) Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms. *Curr Opin Immunol* **20**:450–459.
- Massagué, J. & Sheppard, D. (2023) TGF- β signaling in health and disease. *Cell* **186**:4007–4037.
- Morris, J. C., Tan, A. R., Olencki, T. E., Shapiro, G. I., Dezube, B. J., Reiss, M., ... Lawrence, D. P. (2014) Phase I Study of GC1008 (Fresolimumab): A Human Anti-Transforming Growth Factor-Beta (TGF β) Monoclonal Antibody in Patients with Advanced Malignant Melanoma or Renal Cell Carcinoma. *PLoS ONE* **9**:e90353.
- Murphy-Ullrich, J. E. & Suto, M. J. (2018) Thrombospondin-1 regulation of latent TGF- β activation: A therapeutic target for fibrotic disease. *Matrix Biol* **68–69**:28–43.
- Peng, D., Fu, M., Wang, M., Wei, Y. & Wei, X. (2022) Targeting TGF- β signal transduction for fibrosis and cancer therapy. *Mol Cancer* **21**:104.

- Shi, M., Zhu, J., Wang, R., Chen, X., Mi, L., Walz, T. & Springer, T. A. (2011) Latent TGF- β structure and activation. *Nature* **474**:343–349.
- Shi, Y. & Massagué, J. (2003) Mechanisms of TGF- β Signaling from Cell Membrane to the Nucleus. *Cell* **113**:685–700.
- Travis, M. A. & Sheppard, D. (2014) TGF- β Activation and Function in Immunity. *Annu Rev Immunol* **32**:51–82.
- Tzavlaki, K. & Moustakas, A. (2020) TGF- β Signaling. *Biomolecules* **10**:487.
- Vaghari-Tabari, M., Ferns, G. A., Qujeq, D., Andevvari, A. N., Sabahi, Z. & Moein, S. (2021) Signaling, metabolism, and cancer: An important relationship for therapeutic intervention. *J Cell Physiol* **236**:5512–5532.
- Vander Ark, A., Cao, J. & Li, X. (2018) TGF- β receptors: In and beyond TGF- β signaling. *Cell Signal* **52**:112–120.