

Esko Kankuri ja Esa R. Korpi

Oligonukleotidilääkkeet – tarkentuuko lääkehoito?

Lääketutkijat unelmoivat lääkkeistä, joilla pystyttäisiin parantamaan tai muuten hoitamaan potilaita ilman lääkehaittoja. Karkeasti ottaen useimmat nykyisin käytössä olevat lääkkeet eivät tähän kykene.

Biotieteiden tutkijat ovat pitkään käyttäneet *in situ* -hybridisaatiomenetelmää geenien transkription paikantamiseen solutasolla kudosteikkaisissa ja havainneet menetelmän erittäin spesifiseksi verrattuna vasta-aineisiin perustuvaan immunohistokemiaan (1). Huippuspesifisyys saavutetaan pitkällä, usein 45-nukleotidisillä, antisense-oligonukleotideilla (ASO), joita on helppo valmistaa, kun kohdegeenin sekvenssi tunnetaan. Yli 20 vuoden ajan on käytetty lyhyempiä ASO-pätkiä muun muassa geenien ilmentymisen estämiseen. Lääkkeiksi tällaisia lyhyitä ASO:ja on hyväksytty jo muutamia, ja onkin oikeutettua kysyä, voisiko farmakologia todella hyötyä näistä lääkkeistä vielä enemmän (2,3).

ASO:illa on erilaisia molekulaarisia vaikutusmekanismeja eri sairauksissa, vaikka vaikutukset sinänsä perustuvat Watson–Crickin sidosten (A-U/T, G-C) syntymiseen kulloinkin kohteena olevan RNA-molekyylin kanssa. **KUVASSA** esitämme kaksi erilaista ASO:jen molekulaarista mekanismia. Oligonukleotidirakenteisten aptameerien vaikutuskohteena ovat proteiinit.

Suurta huomiota herättänyt saavutus on nusinerseeni-lääkeaine, joka on hyväksytty spinaalisen lihasatrofian hoitoon (4). Spinaalinen lihasatrofia on geneettinen sairaus, joka useimmiten aiheutuu kromosomin 5q alueella sijaitsevan *SMN1*-geenin (survival motor neuron 1) mutaatiosta tai deleetiosta (5). Normaalisti

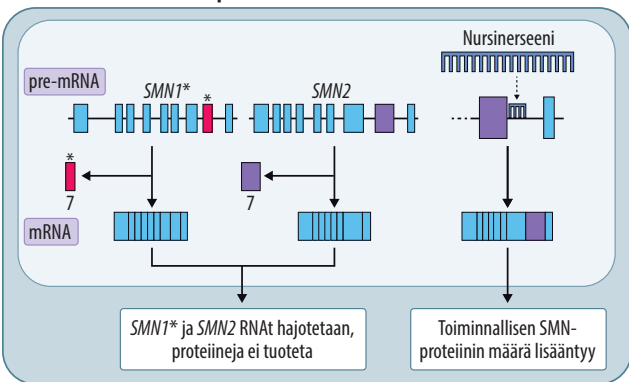
SMN1-geeni tuottaa tarvittavan määrän hermosolujen kehittymiseen vaadittavaa proteiinia, kun taas *SMN2*-geenin translaatio tuottaa 90-prosenttisesti yhden eksonin vajaata SMN-proteiinia, joka nopeasti pilkkoutuu. Nusinerseeni on muokattu ASO, joka korjaa *SMN2*-geenin eksonivajauksen, jolloin täysimittaisen SMN-proteiinin tuotto lisääntyy (**KUVA 1 A**).

Nusinerseenin varsinainen lääkekehitys harvinaislääkkeeksi on ollut nopeaa, koska spinaalisen lihasatrofian molekyyliopatologia oli selvitetty (4). Nusinerseeni joudutaan kuitenkin antamaan intratekaalisesti määrätyn väliajoin, ylläpito-hoidossa neljän kuukauden välein. Varsinkin neurodegeneratiivisten aivosairauksien hoitoon tarvittaisiin tehokkaampia hoitoja (6).

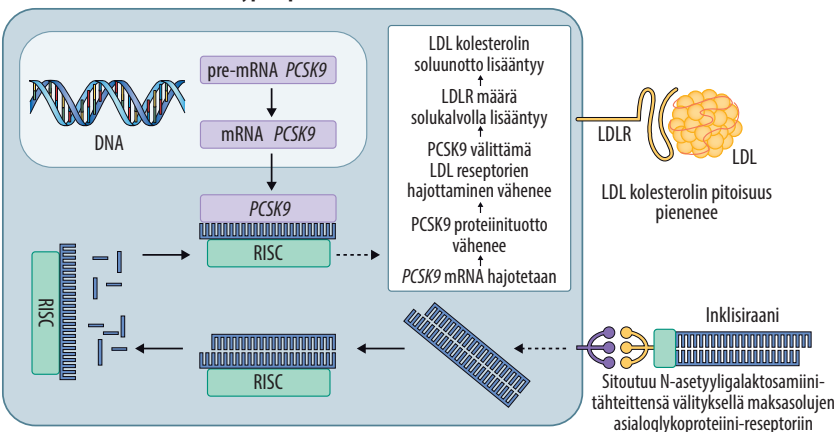
ASO:t voidaan saada kohdistetuksi maksaan liittämällä niihin N-asetyyli-galaktosemiini (GalNAc), kuten on tehty inkliisiraani-lääkeaineessa. Se on ASO-siRNA (small interfering RNA), joka otetaan tehokkaasti maksasoluihin asialoglykoproteiinireseptori 1:n avulla (7,8). Inkliisiraani vähentää PCSK9:n (proteiinikonvertaasi-subtilisiini-keksiini tyyppi 9) tuotantoa, mikä johtaa LDL-kolesterolin vähenemiseen noin 50 %:lla (**KUVA 1 B**) (9,10). Inkliisiraani on saanut myyntiluvan Euroopan komissiolta vuonna 2020.

Muutama vuosi sitten hyväksyttiin kaksi PCSK9:n estäjää, vasta-aineet evolokumabi ja alirokumabi (annos ihon alle 1–2 kertaa kuukaudessa), joista odotettiin käänteentekeviä hoitoja. Ne ovat kuitenkin jääneet lääkkeinä viimeiseksi vaihtoehdoksi tilanteisiin, joissa statiiniannosta ei voida enää suurentaa eikä kolesterolin imeytymistä suolistosta estävän etsetimibinkään lisääminen tuo apua.

A



B



KUVA. Esimerkkejä oligonukleotidilääkkeiden vaikutusmekanismeista. **A.** Nusinerseeni on muokattu antisense-oligonukleotidi (ASO), joka sitoutuu *SMN2*-geenin (survival motor neuron 2) spesifiseen introniin ja muokkaa lähteti-mRNA:n (mRNA) silmukointia siten, että täysimittaisen *SMN2*-proteiinin tuotto lisääntyy, jolloin *SMN1*-geenin mutaatiosta tai deleetiosta (virheellinen *SMN1*-geeni *SMN1**) aiheutunut SMN-proteiinin puute korvautuu. **B.** Inkiliraani koostuu RNA-kaksoisuosteesta sekä kolmesta N-asetyyligalaktoosiiniitähdestä (GalNAc), joiden avulla sen vaikutus kohdistuu maksaan. Maksasoluihin inkiliraani pääsee GalNAc:n kiinnittyessä asialoglykoproteiinireseptoriin. Inkiliraani sitoutuu soluissa RNA:n indusoimaan vaimentamiskompleksiin (RNA-induced silencing complex, RISC), ja sen niin sanottu matkustajajuoste (passenger strand) irtoaa ja hajotetaan. Tällöin ohjaava juoste (guiding strand) pääsee sitoutumaan *PCSK9*-mRNA:han, joka hajotetaan. *PCSK9*-proteiinin määrän väheneminen lisää solukalvon LDL-reseptorien (LDLR) määrää ja siten LDL:n soluunottoa verenkierrasta.

PCSK9 = proproteiinikonvertaasi-subtilisiini-keksiini tyyppi 9, pre-mRNA = esiaste-mRNA

Inklisiraani-siRNA:n muunneltu rakenne estää RNA:ta pilkkovia nukleaaseja hajottamasta sitä. On mielenkiintoista nähdä, vaikuttaako inklisiraani potilaiden ennusteeseen vähentämällä sydän- ja aivoinfarkteja tai kuolleisuutta. Harva annosväli ja hyvä teho ovat inklisiraanin vahvuuksia, joilla se voi jatkossa mullistaa sydän- ja verisuonitautien lääkityksen pienimmillään kahteen ihonalaiseen ruiskeeseen vuodessa.

Syöpätautien osalta oligonukleotidihoitojen mahdollisuudet ovat erittäin merkittävät, koska syöpäbiologia on avannut lukuisia kohdegeene-

jä ja säätelyratoja (11). ASO-preksigeberseeni, joka estää *GRB2*-geenin ilmentymistä, on hyväksytty harvinaislääkkeenä akuutin myelooisen leukemian (EMA:n/FDA:n hyväksymä) ja, kroonisen myelooisen leukemian (FDA:n hyväksymä) hoitoon. Tämä jo vuodesta 2010 kliinisissä tutkimuksissa ollut lääke on nyt jatkettuissa toisen vaiheen tutkimuksissa.

Useiden syöpälääkkeiksi kehitettyjen oligonukleotidilääkkeiden teho on valitettavasti jäänyt vähäiseksi kliinisissä tutkimuksissa tai lääkkeillä on ollut huomattavia haittavaikutuk-

sia. Kliinisissä kokeissa on toki lupaavia poikkeuksiakin, esimerkiksi STAT3:n ilmentymistä estävä danvatirseeni usean eri syövän hoidossa (2). Syövän hoitoon voitaisiin valjastaa syöpsolujen useidenkin geeni- ja säätelymuutosten mukainen hoito.

Oligonukleotidihoitojen suunnittelu edellyttää, että vaikutuskohteen ja taudin molekyyli-genetiikka tunnetaan tarkasti, jolloin lääkekehityksen aiemmin vaatima noin 10–15 vuoden aika voi merkittävästi lyhentyä myös yksilöllistetyssä hoidossa. Jotkin oligonukleotidilääkekandidaatit ovat kuitenkin aiheuttaneet vakavia lääkekehityksen katkaissia haittoja, kuten immunostimulaatiota, trombosytopeniaa ja perifeeristä neuropatiaa toistaiseksi huonosti tunnetuin mekanismein (2,12,14).

On myös epäselvää, miten mahdollisten haittojen ilmetessä hoidon vaikutus voidaan nope-

asti keskeyttää. Solu- ja kudostason kohdennus (myös aivoihin) eri kuljettimien tai sovitomolekyylien avulla on avainasemassa oligonukleotidihoitojen turvallisuudessa. Emästen kemialliset muutokset estävät elimistön nukleaaseja pilkkomasta rakenteen nopeasti (vähäinen CYP-aineenvaihdunta). Nämä kaksi kehitystä ovat mahdollistaneet pitkävaikutteisen tehon, vähäisen altistuksen veressä ja toistaiseksi havaitut vähäiset muun muassa inkliisiraanin aiheuttamat haitat (pääasiassa pistoskohdan ohimeneviä reaktioita).

Oligonukleotidilääkkeet ovat vihdoin saatavissa merkittävän aseman lääkehoidossa. Tämä on tulosta eri alojen pitkäaikaisesta perustutkimuksesta ja varsinkin kliinisten sairauksien molekulaaristen mekanismien selvittämisestä. ■



ESKO KANKURI, LKT, farmakologian dosentti



ESA R. KORPI, LT, farmakologian professori
Farmakologian osasto, lääketieteellinen tiedekunta, Helsingin yliopisto

SIDONNAISUUDET

Esko Kankuri: Apuraha (Chemestmed Ltd), muut sidonnaisuudet (EpiHeart Oy)

Esa Korpi: Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Kustannus Oy Duodecim, Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia -oppikirjan toimittaja)

KIRJALLISUUTTA

1. Wisden W, Morris BJ. In situ hybridization with synthetic oligonucleotide probes. Kirjassa: Wisden W, Morris BJ, toim. In situ hybridization protocols for the brain. London: Academic Press 1994, s. 9–34.
2. Crooke ST, Liang XH, Crooke RM, ym. Antisense drug discovery and development technology considered in a pharmacological context. *Biochem Pharmacol*, julkaisu verkossa 13.8.2020. DOI: 10.1016/j.bcp.2020.114196.
3. Roberts TC, Langer R, Wood MJA. Advances in oligonucleotide drug delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2020;19:1–22.
4. Hoy SM, Nusinersen: first global approval. *Drugs* 2017;77:473–9.
5. Arnold WD, Kassam R, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle Nerve* 2015;51:157–67.
6. Bennett CF, Krainer AR, Cleveland DW. Antisense oligonucleotide therapies for neurodegenerative diseases. *Annu Rev Neurosci* 2019;42:385–406.
7. Fitzgerald K, White S, Borodovsky A, ym. A highly durable RNAi therapeutic inhibitor of PCSK9. *N Engl J Med* 2017;376:41–51.
8. Nair JK, Willoughby JL, Chan A, ym. Multivalent N-acetylgalactosamine-conjugated siRNA localizes in hepatocytes and elicits robust RNAi-mediated gene silencing. *J Am Chem Soc* 2014;136:16958–61.
9. Raal FJ, Kallend D, Ray KK, ym. Inclisiran for the treatment of heterozygous familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 2020;382:1520–30.
10. Ray KK, Wright RS, Kallend D, ym. Two phase 3 trials of inclisiran in patients with elevated LDL cholesterol. *N Engl J Med* 2020;382:1507–19.
11. Dammes N, Peer D. Paving the road for RNA therapeutics. *Trends Pharmacol Sci* 2020;41:755–75.
12. Bennett CF. Therapeutic antisense oligonucleotides are coming of age. *Ann Rev Med* 2019;70:307–21.
13. Smith CIE, Zain R. Therapeutic oligonucleotides: state of the art. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2019;59:605–30.
14. Chi X, Gatti P, Papoian T. Safety of antisense oligonucleotide and siRNA-based therapeutics. *Drug Discov Today* 2017;22:823–33.