



Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας  
Μεταπτυχιακή Ειδίκευση Καθηγητών των Φυσικών  
Επιστημών

Διπλωματική Εργασία  
Μοριακές Προσεγγίσεις στην Αντιμετώπιση του Καρκίνου.

Ελένη Γκουζούνη

Επιβλέπων καθηγητής: Παντελεήμων Μπάγκος

Πάτρα, Σεπτέμβριος 2024

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του/της φοιτητή/φοιτήτριας («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



## Μοριακές Προσεγγίσεις στην Αντιμετώπιση του Καρκίνου

Ελένη Γκουζούνη

Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής:

Παντελεήμων Μπάγκος

Καθηγητής Βιοπληροφορικής και  
Βιοστατιστικής

Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη  
Βιοιατρική

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής:

Ανδρέας Σκορίλας

Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας

Τμήμα Βιολογίας

ΕΚΠΑ

Πάτρα, Σεπτέμβριος 2024

**«Αφιερώνεται στο γιο μου, Μάριο, που με έμαθε να μην εγκαταλείπω ποτέ το στόχο μου...»**



## Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία εξετάζει τις σύγχρονες μοριακές προσεγγίσεις στην αντιμετώπιση του καρκίνου. Αρχικά γίνεται μια αναφορά στην ασθένεια και στα αίτια που συμβάλουν στην εμφάνισή της. Στη συνέχεια, προσεγγίζονται οι σύγχρονες θεραπευτικές παρεμβάσεις και η χρήση του αγγελιοφόρου RNA (mRNA) ως θεραπευτική προσέγγιση για τον καρκίνο. Η έρευνα εστιάζει στις μοριακές τεχνικές και τα πλεονεκτήματα που προσφέρει το mRNA σε σχέση με παραδοσιακές θεραπείες όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία.

Ακολουθεί μια συστηματική ανασκόπηση, η οποία πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας συγκεκριμένα βήματα για την επιλογή και αξιολόγηση των σχετικών μελετών. Αρχικά, προσδιορίστηκαν τα κριτήρια εισόδου και αποκλεισμού για τις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στην ανασκόπηση. Αυτά τα κριτήρια καθόρισαν ποιες μελέτες ήταν κατάλληλες, εστιάζοντας σε εκείνες που εξετάζαν την αποτελεσματικότητα του mRNA στη θεραπεία του καρκίνου.

Στη συνέχεια, έγινε αναζήτηση και εντοπισμός κατάλληλων μελετών στη PubMed, χρησιμοποιώντας λέξεις-κλειδιά και φίλτρα για να βρεθούν σχετικές δημοσιεύσεις. Η διαδικασία αυτή διασφάλισε την ανεύρεση των πιο πρόσφατων και σχετικών ερευνών.

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε επιλογή των εργασιών βάσει της συνάφειάς τους και της ποιότητας των δεδομένων τους. Μόνο οι μελέτες που πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου και παρείχαν αξιόπιστα αποτελέσματα συμπεριλήφθηκαν στην ανασκόπηση.

Η συστηματική ανασκόπηση καλύπτει κλινικές μελέτες και πειραματικά δεδομένα που αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα του mRNA σε διάφορους τύπους καρκίνου. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το mRNA μπορεί να προκαλέσει ανοσολογική απόκριση που στοχεύει και καταστρέφει καρκινικά κύτταρα, ενώ παράλληλα μειώνει τις παρενέργειες που συνδέονται με τις παραδοσιακές θεραπείες. Επιπλέον, εξετάζονται οι προκλήσεις που αφορούν την κλινική εφαρμογή του mRNA, όπως η μεταλλαξιμότητα του καρκίνου και οι πιθανοί μηχανισμοί αντίστασης.

Συμπερασματικά, η εργασία καταλήγει ότι οι μοριακές προσεγγίσεις με χρήση mRNA προσφέρουν μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική θεραπευτική στρατηγική για τον καρκίνο. Αν και απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να ξεπεραστούν οι τρέχουσες προκλήσεις, η

ενσωμάτωση του mRNA στη θεραπεία του καρκίνου μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την αποτελεσματικότητα και την ποιότητα ζωής των ασθενών. Η παρούσα ανασκόπηση υπογραμμίζει τη σημασία της συνεχιζόμενης έρευνας και ανάπτυξης στον τομέα αυτόν για την επίτευξη καινοτόμων και αποτελεσματικών λύσεων στην καταπολέμηση του καρκίνου.

### **Λέξεις – Κλειδιά**

Καρκίνος, Μοριακές Τεχνικές, mRNA, Εμβόλια, Συστηματική Ανασκόπηση.

# Molecular Approaches to Cancer Treatment.

Eleni Gkouzouni

## Abstract

This thesis examines contemporary molecular approaches to cancer treatment. Initially, it provides an overview of the disease and the factors contributing to its onset. Subsequently, it addresses modern therapeutic interventions and the use of messenger RNA (mRNA) as a therapeutic approach for cancer. The research focuses on molecular techniques and the advantages offered by mRNA compared to traditional treatments such as chemotherapy and radiotherapy.

The following is a systematic review conducted following specific steps for the selection and evaluation of relevant studies. Initially, the inclusion and exclusion criteria for the studies included in the review were defined. These criteria determined which studies were suitable, focusing on those that examined the effectiveness of mRNA in cancer treatment.

Next, an extensive search and identification of suitable studies were conducted in PubMed using keywords and filters to find relevant publications. This process ensured the retrieval of the most recent and pertinent research.

Subsequently, the selection of studies was based on their relevance and the quality of their data. Only studies that met the inclusion criteria and provided reliable results were included in the review.

The systematic review covers clinical studies and experimental data demonstrating the effectiveness of mRNA in various types of cancer. The results show that mRNA can induce an immune response that targets and destroys cancer cells while reducing the side effects associated with traditional therapies. Additionally, the challenges related to the clinical application of mRNA, such as cancer mutability and potential resistance mechanisms, are examined.

In conclusion, the thesis finds that molecular approaches using mRNA offer a promising alternative therapeutic strategy for cancer. Although further research is needed to overcome

current challenges, the integration of mRNA into cancer therapy can significantly improve the effectiveness and quality of life for patients. This review highlights the importance of ongoing research and development in this field to achieve innovative and effective solutions in the fight against cancer.

### **Keywords**

Cancer, Molecular Approaches, mRNA, Vaccines, Systematic Review.



## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	v
Abstract .....	vii
Περιεχόμενα.....	ix
Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων .....	x
Κατάλογος Πινάκων .....	xi
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια.....	xii
1. Καρκίνος.....	13
1.1 Παράγοντες που προκαλούν καρκίνο .....	13
1.2 Καρκινογένεση .....	14
1.2.1 Ανάπτυξη και Εξέλιξη του Καρκίνου .....	14
1.2.2 Ιδιότητες Καρκινικών Κυττάρων .....	15
1.3 Ογκογόνοι Ιοί.....	16
1.4 Ογκογονίδια.....	19
1.5 Ογκοκατασταλτικά γονίδια .....	24
2. Μοριακές Προσεγγίσεις στην Αντιμετώπιση του Καρκίνου.....	29
2.1 Μοριακές τεχνικές ανίχνευσης γενετικών μεταλλάξεων στη πρόληψη και τη διάγνωση του καρκίνου .....	29
2.2 Βιοδείκτες και αντιμετώπιση του καρκίνου.....	30
2.3 Μοριακές προσεγγίσεις στη θεραπεία του καρκίνου .....	35
2.3.1 Ανοσοθεραπεία.....	37
2.3.2 Εμβόλια mRNA .....	40
3. Συστηματική Ανασκόπηση .....	43
3.1 Αρχές που διέπουν μια Συστηματική Ανασκόπηση.....	44
4. Αποτελεσματικότητα του εμβολίου mRNA στη θεραπεία του καρκίνου: Μια Συστηματική Ανασκόπηση.....	46
4.1 Εισαγωγή .....	46
4.1.1 Διατύπωση του ερευνητικού ερωτήματος.....	46
4.2 Υλικό και Μέθοδος .....	47
4.2.1 Προσδιορισμός κριτηρίων εισόδου και αποκλεισμού μελετών .....	47
4.2.2 Αναζήτηση και εντοπισμός κατάλληλων μελετών .....	47
4.2.3 Επιλογή εργασιών .....	48
4.2.4 Αποτίμηση μεθοδολογικής ποιότητας των πρωτογενών εργασιών .....	48
4.3 Καταγραφή Αποτελεσμάτων .....	48
4.4 Συζήτηση.....	90
Βιβλιογραφία .....	93
Παράρτημα Α: «Περαιτέρω Έρευνα» .....	97
Παράρτημα Β: «Διπλώματα Ευρεσιτεχνίας» .....	98

## Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων

Εικόνα 1.2-1 Αναστολή πολλαπλασιασμού εξαρτώμενη από τη πυκνότητα της καλλιέργειας.....	15
Εικόνα 1.4-1 Ανακάλυψη ενός ογκογονιδίου σε καρκίνωμα του ανθρώπου με τη βοήθεια γονιδιακής μεταφοράς.....	20
Εικόνα 1.4-2 Σημειακές Μεταλλαγές στα ογκογονίδια ras. ....	20
Εικόνα 1.4-3 Κύκλος ενεργοποίησης και απενεργοποίησης της πρωτεΐνης Ras.....	21
Εικόνα 1.4-4 Μετατόπιση του c-myc.....	23
Εικόνα 1.5-1 Μεταλλαγές του γονιδίου Rb κατά τη διαδικασία ανάπτυξης του ρετινοβλαστώματος.....	25
Εικόνα 1.5-2 Ελλείματα του Rb στο ρετινοβλάστωμα. ....	26
Εικόνα 1.5-3 Μονοπάτια που επηρεάζονται από ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια στον άνθρωπο. ....	28
Σχήμα 1.4-1 Σχηματική περιγραφή σχηματισμού χμαιρικού γονιδίου λόγω χρωμοσωμικής μετατόπισης. ....	24
Σχήμα 3.1-1 Συνοπτικά Βήματα Συστηματική Ανασκόπησης .....	45
Σχήμα 4.3-1 Διάγραμμα Ροής της μελέτης σε PubMed.....	49

## Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 2.2-1 Βιοδείκτες στη πρόγνωση του καρκίνου.....	31
Πίνακας 2.2-2 Χρησιμότητα Βιοδεικτών.....	34
Πίνακας 4.3-1 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για Γαστρεντερικό καρκίνο.....	51
Πίνακας 4.3-2 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για PDAC.....	52
Πίνακας 4.3-3 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για Πολλαπλό Μυέλωμα.....	54
Πίνακας 4.3-4 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για το NSCLC.....	55
Πίνακας 4.3-5 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για το Μελάνωμα.....	59
Πίνακας 4.3-6 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για το Γλοιοβλάστωμα.....	60
Πίνακας 4.3-7 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο του Προστάτη.....	61
Πίνακας 4.3-8 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο της Μήτρας.....	62
Πίνακας 4.3-9 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο του Παχέος Εντέρου.....	63
Πίνακας 4.3-10 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο των Νεφρών.....	64
Πίνακας 4.3-11 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για την Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία.....	66
Πίνακας 4.3-12 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για Συμπαγείς Όγκους.....	68
Πίνακας 4.3-13 Συνοπτικά Αποτελέσματα Συστηματικής Ανασκόπησης.....	89

## **Συντομογραφίες & Ακρωνύμια**

NCI	National Cancer Institute
EDRN	Early Detection Research Network
CAR T	Chimeric Antigen Receptor Therapy
EGF	Epidermal Growth Factor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
TIL	Tumor Infiltrating Lymphocytes
PCR	Polymerase Chain Reaction
APC	Antigen Presenting Cell
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NLM	National Library of Medicine
NIH	National Institutes of Health
WT1	Wilms Tumor 1
NSCLC	Μη Μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα
MM	Πολλαπλό Μυέλωμα
PDAC	Αδενοκαρκίνωμα Παγκρεατικού Πόρου

## 1. Καρκίνος

Ο καρκίνος αποτελεί τη νούμερο δύο αιτία θανάτων παγκοσμίως. Είναι μια πολύπλοκη γενετική νόσος που τόσο η εμφάνιση όσο και η εξέλιξη της προκύπτει από ένα συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Ο καρκίνος προκύπτει από την κατάρρευση των ρυθμιστικών μηχανισμών των κυττάρων, με αποτέλεσμα αυτά να αναπτύσσονται και να διαιρούνται ανεξέλεγκτα, ενώ στο τέλος εξαπλώνονται σε όλο το σώμα και εμποδίζουν τη φυσιολογική λειτουργία ιστών και οργάνων. Η μελέτη της φυσιολογίας των καρκινικών κυττάρων αποτελεί αντικείμενο της κυτταρικής αλλά και της μοριακής βιολογίας. Τα αίτια της εμφάνισης του καρκίνου μπορεί να είναι γενετικά ή περιβαλλοντικά όπως διάφορες ακτινοβολίες, χημικά ή ακόμα και ιοί, ωστόσο η απόδοση της εμφάνισης του καρκίνου σε ένα συγκεκριμένο παράγοντα δε θεωρείται σωστή καθώς όπως προαναφέρθηκε αποτελεί μια σύνθετη νόσο (Cooper, 2018).

### 1.1 Παράγοντες που προκαλούν καρκίνο

Το γενετικό υλικό των κυττάρων, αν και είναι προφυλαγμένο στον πυρήνα, υπόκειται σε μεταλλάξεις οι οποίες είτε διορθώνονται από τους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς είτε όχι. Αν οι βλάβες αυτές αφορούν το χρονικό ορίζοντα της ζωής του οργανισμού, τότε μιλάμε για μεταλλάξεις εξαλλαγής των κυττάρων που οδηγούν σε καρκίνο λόγω συσσώρευσης τους στο DNA. Μια μεγάλη κατηγορία μεταλλαξογόνων παραγόντων είναι οι ακτινοβολίες όπως οι ιονίζουσες ακτινοβολίες αλλά και η μη ιονίζουσα ακτινοβολία ενώ μια δεύτερη είναι οι χημικές ουσίες όπως οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες. Ένας πολύ σημαντικός μεταλλαξογόνος παράγοντας είναι τα ανάλογα των βάσεων, τα οποία είναι χημικές ενώσεις που μοιάζουν με τις βάσεις του DNA και δημιουργούν λάθη κατά την αντιγραφή του, ζευγαρώνοντας με πουρίνες και πυριμιδίνες και ανατρέποντας τη συμπληρωματικότητα των βάσεων (Μαργαρίτης, 2004).

Ένας πολύ σημαντικός καρκινογόνος παράγοντας είναι οι επαγωγείς όγκων οι οποίοι ενεργοποιούν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και με αυτό το τρόπο επάγουν την καρκινογένεση, καθώς διευκολύνουν την ανάπτυξη του πληθυσμού των ογκοκυττάρων κατά τα πρώτα στάδια της ογκογένεσης. Παράλληλα ο έντονος κυτταρικός

πολλαπλασιασμός οδηγεί σε μεταλλάξεις κατά την αντιγραφή του DNA. Ένας τέτοιος παράγοντας είναι τα οιστρογόνα (Cooper, 2018).

Τέλος, πολύ σημαντικός παράγοντας δημιουργίας του καρκίνου είναι μερικά είδη ιών, η μελέτη των οποίων είναι πολύ σημαντική για την αποκάλυψη των μοριακών μηχανισμών της ανάπτυξης του καρκίνου.

## 1.2 Καρκινογένεση

Η καρκινογένεση ή κυτταρική εξαλλαγή προκύπτει όταν στα κύτταρα συσσωρευθούν μεταλλαγές που αλλοιώνουν ή ακυρώνουν τη διαδικασία αποτελεσματικού ελέγχου του πολλαπλασιασμού του κυττάρου. Ο συνεχής και ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός των κυττάρων μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη καρκίνου. Ως καρκίνο θεωρούμε κάθε κακοήγη όγκο κυττάρων που μπορεί να κάνει μεταστάσεις σε άλλες περιοχές του σώματος. Ανάλογα με τη περιοχή προέλευσης των κυττάρων τους, οι όγκοι ταξινομούνται σε σαρκώματα, καρκινώματα, λευχαιμίες και λεμφώματα.

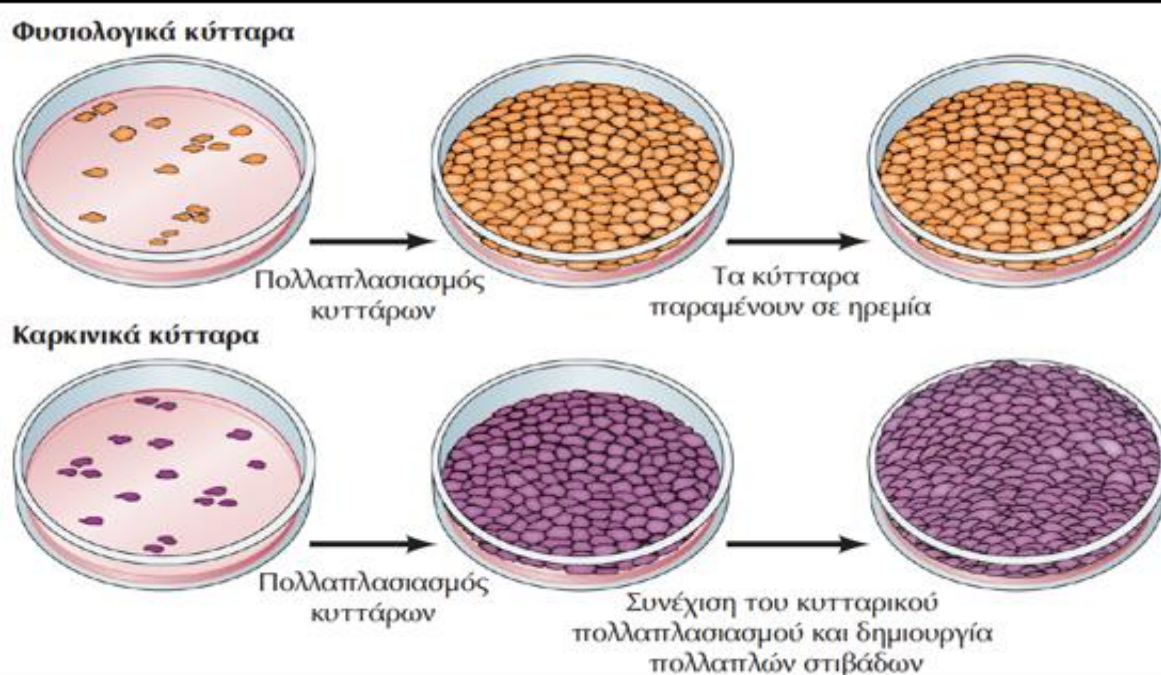
### 1.2.1 Ανάπτυξη και Εξέλιξη του Καρκίνου

Είναι ξεκάθαρο πως ο καρκίνος είναι μια γενετική νόσος, της οποίας η έναρξη αλλά και η εξέλιξη οφείλονται σε συσσωρευμένες μεταλλάξεις. Μετά το 1970 η έρευνα εντατικοποιήθηκε γύρω από την εύρεση των μηχανισμών που οδηγούν ορισμένα γονίδια να εκφράζονται με διαφορετικό ρυθμό, με αποτέλεσμα την εμφάνιση φαινομένων κυτταρικής εξαλλαγής η οποία αποτελεί και το πρώτο στάδιο της καρκινογένεσης (Μαργαρίτης, 2004).

Η ανάπτυξη του καρκίνου είναι μια διαδικασία που γίνεται σε πολλά στάδια. Το πρώτο από αυτά είναι η έναρξη της ογκογένεσης, η οποία είναι αποτέλεσμα πολλών μεταλλάξεων που συσσωρεύονται σε ένα αρχικό κύτταρο και προκαλούν τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό του και στη συνέχεια τη δημιουργία ενός κλώνου που αποτελείται από τα θυγατρικά εξαλλαγμένα κύτταρα. Στο δεύτερο στάδιο, την εξέλιξη της ογκογένεσης συνεχίζουν να συμβαίνουν μεταλλαγές στα κύτταρα του κλώνου που τους δίνουν πλεονέκτημα έναντι άλλων κυττάρων, με αποτέλεσμα να επικρατούν ανάμεσα στα ογκοκύτταρα. Η διαδικασία αυτή λέγεται επιλογή κλώνου και συνεχίζεται κατά την ανάπτυξη του όγκου με αποτέλεσμα κάποιοι όγκοι να γίνονται πιο κακοήθεις (Cooper, 2018).

### 1.2.2 Ιδιότητες Καρκινικών Κυττάρων

Τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν ιδιότητες που τα διαφοροποιούν από τα φυσιολογικά. Πέρα από τις δομικές αλλαγές που μπορούμε να παρατηρήσουμε σε καλλιέργειες και *in vivo*, διαπιστώνουμε και αλλαγές όπως η αδυναμία τους να μουν στη G<sub>0</sub> φάση. Τα καρκινικά κύτταρα δεν εμφανίζουν αναστολή του πολλαπλασιασμού λόγω επαφής ή λόγω πυκνότητας της καλλιέργειας, με αποτέλεσμα να συνεχίζουν τη διαίρεση τους «Εικόνα 1.2-1». Επίσης δε χρειάζονται αυξητικούς παράγοντες καθώς τα ίδια παράγουν τον αυξητικό παράγοντα που επάγει τον πολλαπλασιασμό τους (Cooper, 2018).



Εικόνα 1.2-1 Αναστολή πολλαπλασιασμού εξαρτώμενη από τη πυκνότητα της καλλιέργειας.

Μια άλλη ιδιότητα των καρκινικών κυττάρων είναι η ελαττωμένη σταθερότητα πρόσφυσης τους λόγω μειωμένης σύνθεσης των απαιτούμενων μορίων π.χ. E-καντχερίνη, η οποία είναι σημαντική για την πρόσφυση των επιθηλιακών κυττάρων και η έλλειψη της οδηγεί σε ανάπτυξη καρκινωμάτων. Εξαιτίας αυτής της ιδιότητας τα καρκινικά κύτταρα εισέρχονται πιο εύκολα σε άλλους ιστούς λόγω της μειωμένης αλληλεπίδρασης που έχουν με τους ιστούς που ανήκουν, με αποτέλεσμα να κάνουν εύκολα μεταστάσεις. Σε αυτό συντελούν και δύο ακόμα ιδιότητες των καρκινικών κυττάρων, η έκκριση πρωτεασών που τα διευκολύνει να εισέρχονται σε άλλους ιστούς και η έκκριση αυξητικών παραγόντων που προάγουν την αγγειογένεση με αποτέλεσμα τα καρκινικά κύτταρα να μπορούν να

αναπτύσσονται πέρα από ένα μέγεθος. Η αγγειογένεση είναι απαραίτητη προκειμένου τα κύτταρα του όγκου να τροφοδοτούνται με οξυγόνο και θρεπτικά στοιχεία (Cooper, 2018).

Τέλος, τα καρκινικά κύτταρα δε διαφοροποιούνται φυσιολογικά και έτσι συνεχίζουν τον πολλαπλασιασμό τους ενώ δεν υπόκεινται σε κυτταρική απόπτωση λόγω κυτταρικής γήρανσης καθώς εκφράζουν υψηλά επίπεδα της τελομεράσης, η οποία τους επιτρέπει να καθιστούν άθικτα τα τελομερή των χρωμοσωμάτων για άπειρες κυτταρικές διαιρέσεις (Cooper, 2018).

### 1.3 Ογκογόνοι Ιοί

Η μελέτη των ογκοϊών άρχισε όταν ανακαλύφθηκε ότι προκαλούσαν όγκους στα ζώα τα οποία μολύναν. Η ανακάλυψη αυτή συνέβαλε καθοριστικά στην κατανόηση των μηχανισμών της καρκινογένεσης. Οι ιοί αυτοί μπορούν να έχουν DNA ή RNA. Στους ογκογόνους RNA ιούς ανήκουν ο ιός του όγκου του μαστού των ποντικών MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus), ο ιός του σαρκώματος των πτηνών, ο ιός της λευχαιμίας των αιλουροειδών FLV (Feline Leukemia Virus) και άλλοι. Παραδείγματα ογκογόνων DNA ιών αποτελούν ο ιός του πιθήκου SV40 (Simian Virus 40), ο ιός του πολυώματος του ποντικού MPV (Mouse Polyoma Virus) (Σωτηροπούλου, 2008).

Άλλοι Ογκογόνοι ιοί είναι αυτοί που προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο όπως ο ιός του θηλώματος HPV (Human Papilloma Virus), ο αδενοϊός του ανθρώπου, οι ιοί της ηπατίτιδας B και C που είναι υπαίτιοι για την εμφάνιση καρκίνου στο ήπαρ αλλά και ο ιός Polyoma των κυττάρων του Merkel, ερπητοϊοί οι οποίοι προκαλούν λεμφώματα και ρινοφαρυγγικό καρκίνο, ο ιός που σχετίζεται με το σάρκωμα Kaposi αλλά και ρετροϊοί. Τέλος, ο ιός HIV ο οποίος ευθύνεται έμμεσα για καρκίνους που αναπτύσσονται σε ασθενείς με AIDS λόγω της ανοσοεπάρκειας που αναπτύσσουν (Cooper, 2018).

Οι DNA ιοί όπως οι ιοί Polyoma και οι αδενοϊοί είναι ιοί μικρού μεγέθους και δεν προκαλούν τη δημιουργία όγκων ούτε τον μετασχηματισμό των φυσιολογικών κυττάρων που μολύνουν. Αυτό συμβαίνει γιατί κατά την αντιγραφή του γονιδιώματος του ιού, το κύτταρο λύεται και τα ιοσώματα απελευθερώνονται, άρα εφόσον πεθαίνει το αρχικό κύτταρο ξενιστής δε μπορεί να συμβεί μετασχηματισμός. Στη περίπτωση όμως που το φυσιολογικό κύτταρο δε διαθέτει τους παράγοντες που είναι απαραίτητοι για την αντιγραφή



του ιικού γονιδιώματος ή αν το ιικό γονιδίωμα ενσωματωθεί στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή, μπορεί να προκληθεί καρκινογένεση.

Ως παράδειγμα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το ιικό γονιδίωμα του ιού των θηλωμάτων του ανθρώπου. Οι ιοί αυτοί, ως DNA ιοί διαθέτουν στο γονιδίωμα τους δυο περιοχές, την πρώιμη και την όψιμη. Τα γονίδια της πρώιμης περιοχής είναι αυτά που προκαλούν κυτταρικό μετασχηματισμό και συγκεκριμένα για τον ιό αυτό, τα γονίδια E6 και E7. Οι πρωτεΐνες που εκφράζονται από τα γονίδια αυτά αναστέλλουν τη δράση των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών του κυττάρου p53 και Rb αντίστοιχα, καθώς προσδένονται σε αυτές και δεν τους επιτρέπουν να ρυθμίσουν τον κυτταρικό κύκλο. Η E7 αναστέλλει την δράση της Rb ενώ η E6 οδηγεί στη πρωτεόλυση της p53 μέσω του συστήματος της ουβικιτίνης (Cooper, 2018).

Στην κατηγορία των ρετροϊών ανήκουν ιοί που προκαλούν άμεσα καρκίνο στον άνθρωπο ή σε ζώα αλλά και ιοί όπως ο HIV που ευθύνονται έμμεσα για την ανάπτυξη καρκίνου σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς με AIDS εμφανίζονται κυρίως λεμφώματα και σαρκώματα όπως το σάρκωμα Kaposi. Οι ρετροϊοί, λοιπόν, διακρίνονται ως προς την ιδιότητα τους να επάγουν την καρκινογένεση. Οι περισσότεροι διαθέτουν 3 γονίδια απαραίτητα για την αντιγραφή τους αλλά δεν επάγουν κυτταρικό μετασχηματισμό. Ο καρκίνος σε αυτή τη περίπτωση οφείλεται σε μεταλλάξεις που προκαλούνται στο γονιδίωμα του κυττάρου. Κάποιοι ρετροϊοί όμως διαθέτουν γονίδια που προκαλούν κυτταρικό μετασχηματισμό όπως ο ιός του σαρκώματος Rous (RSV), του οποίου η μελέτη αποτέλεσε τη βάση για την κατανόηση της ανάπτυξης των όγκων σε μοριακό επίπεδο.

Μια σειρά μεταλλαγμάτων του ιού RSV που έφεραν μεταλλάξεις στο ιικό γονιδίωμα, οι οποίες δεν καταστρέφουν τη μετασχηματιστική (ογκογόνο) δράση του ιού αποδείχθηκαν ιδιαίτερα χρήσιμα εργαλεία για την έρευνα. Οι μεταλλαγμένοι αυτοί ιοί ήταν θερμοευαίσθητοι, δηλαδή δεν μπορούσαν να μετασχηματίσουν κύτταρα που είχαν μολυνθεί αν αυτά αναπτύσσονταν σε υψηλότερη θερμοκρασία (41°C), αλλά μπορούσαν να μετασχηματίσουν τα κύτταρα αυτά σε χαμηλότερη θερμοκρασία (35°C), διατηρούσαν όμως την ικανότητα να αναπαράγονται κανονικά και στις δύο θερμοκρασίες, υποδεικνύοντας ότι το μεταλλαγμένο ιικό γονίδιο δεν είναι απαραίτητο σε κάποιο στάδιο της αντιγραφής του ιού. Όταν τα κύτταρα που έχουν μολυνθεί και μετασχηματισθεί από τον μεταλλαγμένο ιό μεταφερθούν από τη χαμηλή στην υψηλή θερμοκρασία, χάνουν τις καρκινικές τους ιδιότητες και αντιστρόφως. Από τις παρατηρήσεις αυτές διαπιστώθηκε ότι ο ιός RSV έχει

τουλάχιστον ένα γονίδιο, το πρωτεϊνικό προϊόν του οποίου απαιτείται απαραίτητα για την κακοήγη εξαλλαγή του κυττάρου, δεν είναι όμως απαραίτητη για την αναπαραγωγή του ιού. Το γονίδιο αυτό αποδείχθηκε ότι ήταν το ικό γονίδιο *v-src*, το οποίο στα συγκεκριμένα μεταλλάγματα έφερε μεταλλάξεις στη νουκλεοτιδική αλληλουχία οι οποίες καθιστούσαν τη μετασχηματιστική του ικανότητα θερμοεξααρτώμενη. Αποδείχθηκε αργότερα ότι το γονίδιο *v-src* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη με λειτουργία που διαταράσσει την κυτταρική αύξηση και ότι οι μεταλλάξεις τροποποιούσαν τη στερεοδομή της πρωτεΐνης έτσι ώστε αυτή να χάνει τη δραστικότητα της όταν ανεβαίνει η θερμοκρασία. Το γεγονός ότι τα θερμοευαίσθητα ογκογόνα μεταλλάγματα του ιού RSV πολλαπλασιάζονται κανονικά και στις δύο θερμοκρασίες έδειχνε ότι ο ιός στο μικροσκοπικό του γονιδίωμα φέρει δύο κατηγορίες γονιδίων: τα μετασχηματιστικά (που αποδείχθηκε ότι ήταν μόνον το *v-src*) και αυτά που είναι κρίσιμα για την αύξηση του ιού. Η ιδέα αυτή επιβεβαιώθηκε από το γεγονός ότι μεταλλάγματα στα οποία είχε απαλειφθεί το γονίδιο *v-src* και δεν μπορούσαν να συνθέσουν την *v-src* πρωτεΐνη δεν μπορούσαν να μετασχηματίσουν κύτταρα σε καμία θερμοκρασία, αλλά μπορούσαν να μολύνουν κύτταρα και να αναπαραχθούν. Οι διαφορές μεταξύ του ογκογόνου γονιδιώματος των φυσιολογικών ιών RSV και του γονιδιώματος των μη ογκογόνων μεταλλαγμάτων που έφεραν απαλοιφές χαρτογραφήθηκαν σε μια περιοχή του ικού γονιδιώματος μεγέθους 2000 bp, από την οποία κατέστη δυνατή η απομόνωση τμήματος της αλληλουχίας του γονιδίου *v-src*, η οποία χρησιμοποιήθηκε ως ιχνηλάτης (probe) για να διερευνηθεί η παρουσία ή απουσία του *v-src* σε μολυσμένα και μη μολυσμένα κύτταρα (Σωτηροπούλου, 2008).

Η φυσιολογική μορφή του γονιδίου *c-src* που εντοπίζεται στο κύτταρο και του *v-src* που εντοπίζεται στο ικό γονιδίωμα μπορεί να εξηγηθεί αν το γονίδιο *v-src* αποτελεί τροποποιημένη μορφή ενός αρχικού *c-src* γονιδίου που ενσωματώθηκε στο γονιδίωμα μιας προγονικής μορφής του RSV. Επειδή το *c-src* αποτελεί τη πρόιμη μορφή ενός ογκογονιδίου ονομάστηκε πρώτο-ογκογονίδιο και δείχνει ότι τα φυσιολογικά κύτταρα των σπονδυλωτών περιέχουν γονίδια που έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν καρκίνο. Η δράση του *v-src* έδειξε ότι ένα μόνο ογκογονίδιο μπορεί να δράσει προκαλώντας πολλαπλές αλλαγές στο φυσιολογικό κύτταρο ενώ η μελέτη του *c-src* έδειξε ότι υπάρχουν μηχανισμοί που οδηγούν σε μεταλλάξεις οι οποίες ενεργοποιούν ένα πρώτο-ογκογονίδιο το οποίο εξακολουθεί να βρίσκεται στη φυσιολογική γενετική του θέση (Weinberg, 2014).

Έτσι λοιπόν η έρευνα γύρω από τους ιούς που προκαλούν καρκίνο, έδειξε ότι ο καρκίνος είναι μια γενετική ασθένεια και πρέπει να εξετάζεται με γενετικές και μοριακές μεθόδους.

## 1.4 Ογκογονίδια

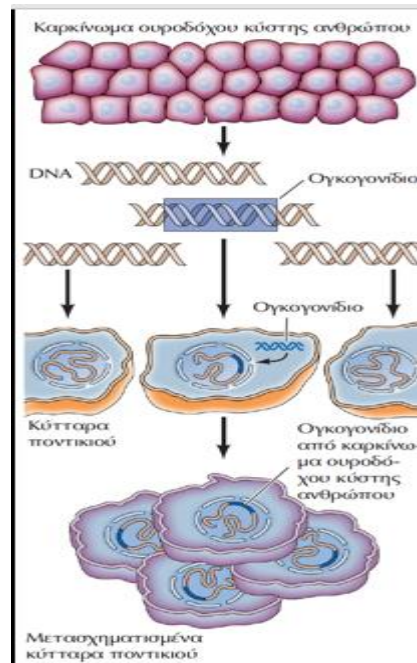
Η μια μεγάλη κατηγορία γονιδίων που σχετίζεται με την εμφάνιση καρκίνου είναι τα ογκογονίδια. Η έρευνα των ογκογόνων ιών οδήγησε στην ανακάλυψη αυτής της μεγάλης κατηγορίας κυτταρικών γονιδίων, των οποίων οι μεταλλάξεις μπορούν να οδηγήσουν σε καρκινογένεση. Όπως αναφέρθηκε, τα γονίδια των φυσιολογικών κυττάρων από τα οποία προέρχονται τα ογκογονίδια των ιών ονομάζονται πρώτο-ογκογονίδια και είναι γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σημαντικές για τα σηματοδοτικά μονοπάτια που ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα ογκογονίδια είτε δίνουν μεταλλαγμένη μορφή της ομόλογης πρωτεΐνης είτε δίνουν την ίδια σε μη φυσιολογικά επίπεδα και έτσι επάγουν την ογκογένεση (Cooper, 2018; Weinberg, 2014).

Με την κατανόηση του μηχανισμού δημιουργίας των ογκογονιδίων στους ρετροϊούς, ακολούθησε η μελέτη των όγκων στον άνθρωπο οι οποίοι δεν προκαλούνται από ιούς και εξετάστηκε αν προκαλούνται από πρώτο-ογκογονίδια που μετατρέπονται σε ογκογονίδια. Τα πρώτα πειράματα έγιναν από τους Weinberg και Cooper το 1981. Σε πειράματα που έγιναν, χορηγήθηκε DNA από καρκίνωμα ουροδόχου κύστης σε κύτταρα ποντικού τα οποία μετασηματίστηκαν, άρα υπήρχε ένα ενεργό κυτταρικό ογκογονίδιο «Εικόνα 1.4-1». Οι μελέτες που ακολούθησαν με γονιδιακή μεταφορά απέδειξαν την ύπαρξη ογκογονιδίων παραπλήσιων με αυτά των ρετροϊών αλλά και νέα, με τα γονίδια της οικογένειας *ras* να είναι αυτά που συναντάμε πιο συχνά (Cooper, 2018).

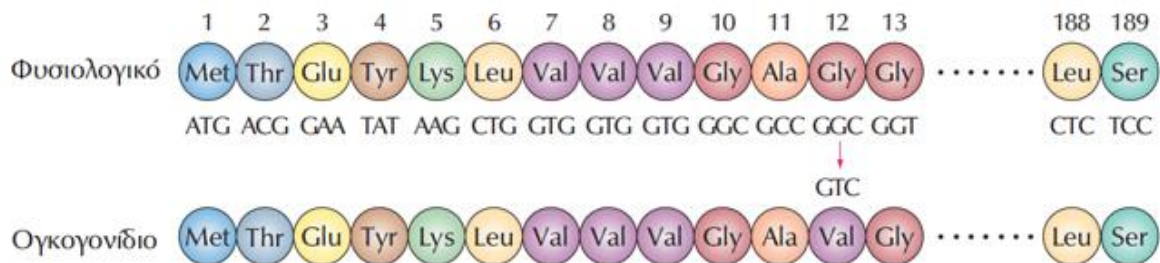
Στη συνέχεια, εξετάστηκε με ποιο μηχανισμό ενεργοποιούνται τα ογκογονίδια και παρατηρήθηκε ότι στους ανθρώπινους καρκίνους υπάρχουν τρεις βασικοί μηχανισμοί ενεργοποίησης ογκογονιδίων: η μετάλλαξη, η χρωμοσωμική αναδιάταξη και η γονιδιακή ενίσχυση, οι οποίοι είτε οδηγούν σε αλλαγή της δομής του πρώτο-ογκογονιδίου είτε σε αύξηση της έκφρασής του (Σωτηροπούλου, 2008).

Ο πρώτος μηχανισμός, των σημειακών μεταλλαγών είναι εμφανής στην κωδικοποίηση των πρωτεϊνών *ras* «Εικόνα 1.4-2». Τα γονίδια *ras* δίνουν πρωτεΐνες πρόσδεσης νουκλεοτιδίων γουανίνης που συμμετέχουν στη μεταγωγή μιτογόνων σημάτων από διάφορους υποδοχείς

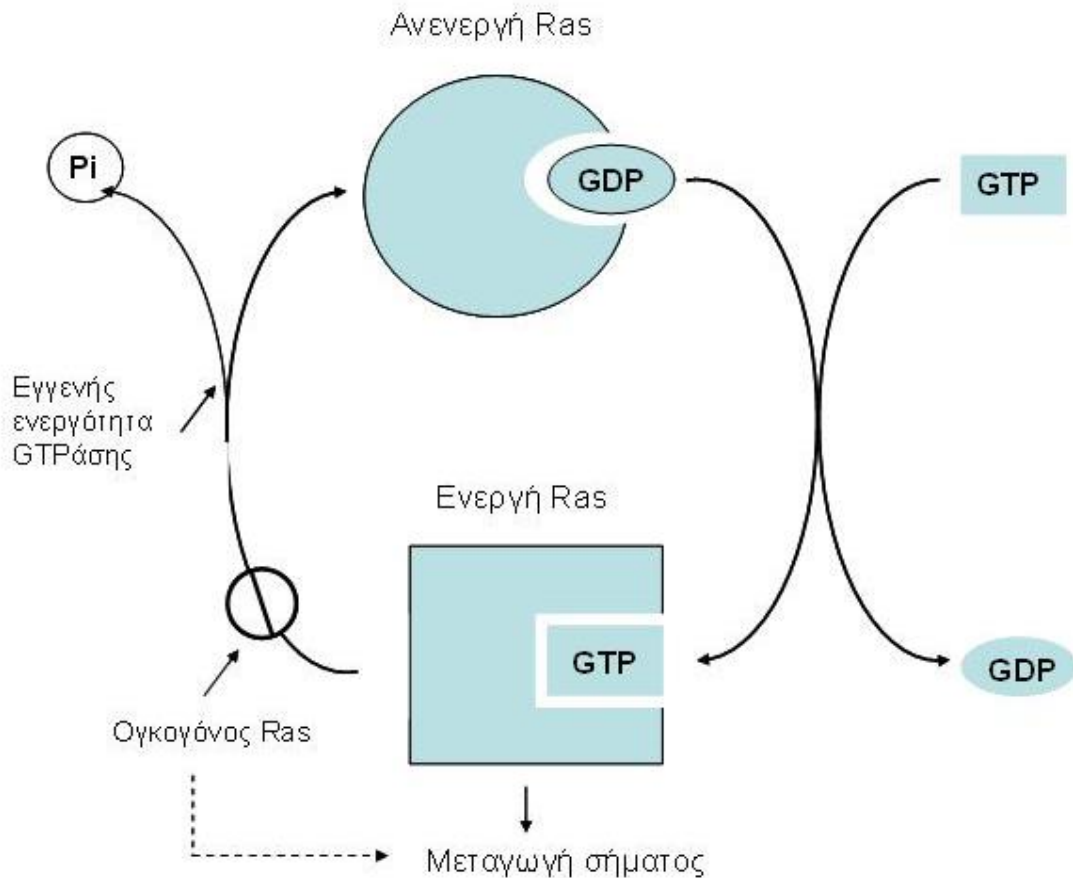
αυξητικών παραγόντων. Η ενεργότητα τους καθορίζεται από τη πρόσδεση GTP ή GDP και μπορούν και εναλλάσσονται από την ενεργή στην ανενεργή μορφή τους. Οι μεταλλαγές στα ογκογονίδια *ras* εγκλωβίζουν τις πρωτεΐνες Ras στην ενεργή τους μορφή καθώς οι μεταλλαγμένες Ras πρωτεΐνες δεν ανταποκρίνονται στην GAP που είναι πρωτεΐνη υπεύθυνη για την ενεργοποίηση της GTPάσης, με αποτέλεσμα να μην υδρολύεται το GTP και οι Ras πρωτεΐνες να μένουν προσδεμένες στο ενεργό σύμπλοκο που σχηματίζουν με το GTP, κατάσταση που οδηγεί σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό «Εικόνα 1.4-3» (Cooper, 2018).



Εικόνα 1.4-1 Ανακάλυψη ενός ογκογονιδίου σε καρκίνωμα του ανθρώπου με τη βοήθεια γονιδιακής μεταφοράς.



Εικόνα 1.4-2 Σημειακές Μεταλλαγές στα ογκογονίδια *ras*.



Εικόνα 1.4-3 Κύκλος ενεργοποίησης και απενεργοποίησης της πρωτεΐνης Ras.

Η γονιδιακή ενίσχυση αναφέρεται στο μηχανισμό που προκαλεί αυξημένη γονιδιακή έκφραση και συναντάται στα καρκινικά κύτταρα καθιστώντας τα πιο επιθετικά. Μελέτες έδειξαν ότι τρεις οικογένειες πρώτο-ογκογονιδίων (*myc*, *erbB*, και *ras*) παρουσιάζουν γονιδιακή ενίσχυση σε σημαντικό ποσοστό των όγκων του ανθρώπου, π.χ. περίπου 20-30% των όγκων μαστού και ωθηκών φέρουν ενίσχυση του *c-myc*, ενώ το *N-myc* είναι ενισχυμένο σε νευροβλαστώματα και το *L-myc* σε καρκίνο του πνεύμονα. Ενίσχυση του *erbB* που κωδικοποιεί τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα παρατηρείται σε 50% των γλοιοβλαστωμάτων, ενώ το γονίδιο *erbB-2* (*HER-2/neu*) είναι ενισχυμένο σε περίπου 15-30% των όγκων μαστού και ωθηκών και σχετίζεται με προχωρημένη νόσο και κακή πρόγνωση (Cooper, 2018; Σωτηροπούλου, 2008).

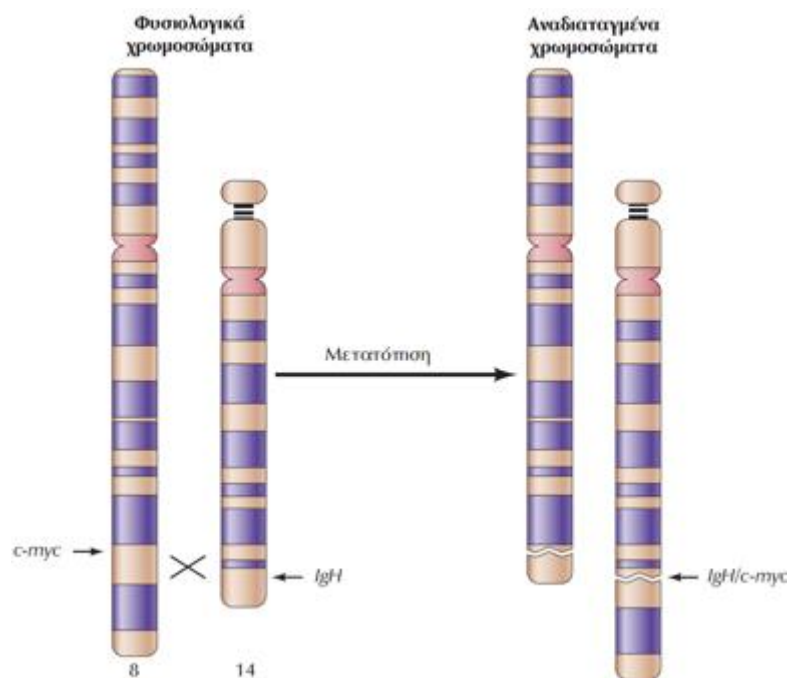
Τελευταίος αλλά πολύ σημαντικός μηχανισμός είναι αυτός της χρωμοσωμικής αναδιάταξης. Με αυτόν εννοούμε διάφορες αλλαγές στη δομή των χρωμοσωμάτων όπως

διπλασιασμό, μετατόπιση ή έλλειψη και οδηγούν στη ταυτοποίηση ήδη γνωστών ογκογονιδίων αλλά και στην εμφάνιση νέων.

Συγκεκριμένα, οι μετατοπίσεις που ενεργοποιούν το ανθρώπινο πρώτο-ογκογονίδιο *c-myc* παρατηρούνται στους γενετικούς τόπους *TCR* (σε T κύτταρα) και *Ig* (σε B κύτταρα). Στον άνθρωπο, οι μετατοπίσεις στα καρκινικά B κύτταρα γίνονται σε 90% των περιπτώσεων ανάμεσα στο χρωμόσωμα 8, το οποίο φέρει το γονίδιο *c-myc*, και στο χρωμόσωμα 14, το οποίο φέρει τον τόπο IgH όπως φαίνεται στην «Εικόνα 1.4-4» (Σωτηροπούλου, 2008).

Η χρωμοσωμική μετατόπιση t(8;14)(q24;q32) έχει βρεθεί σε ποσοστό 85% των λεμφωμάτων Burkitt και αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα μεταγραφικής ενεργοποίησης πρώτο-ογκογονιδίου. Η χρωμοσωμική αυτή αναδιάταξη προκαλεί μετατόπιση του γονιδίου *c-myc* από το χρωμόσωμα 8q24 στον γενετικό τόπο 14q32 του γονιδίου που κωδικοποιεί τη βαριά αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης IgH, όπου τίθεται υπό τον έλεγχο των ρυθμιστικών στοιχείων του IgH, με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων έκφρασης του γονιδίου κατά 2-10 φορές σε διαφορετικούς όγκους. Η μεταγραφική ενεργοποίηση του *c-myc*, το οποίο κωδικοποιεί μια πυρηνική πρωτεΐνη που εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, έχει σαν αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και παίζει κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη λεμφώματος Burkitt. Η ενεργοποίηση συμβαίνει επειδή το *c-myc* μεταφέρεται σε χρωμοσωμική περιοχή στην οποία το γονίδιο Ig (ή TCR) εκφράζεται ενεργά ή επειδή η δομή του γονιδίου *c-myc* μπορεί να αλλάξει με τη μετατόπιση συνήθως χωρίς να αλλάξουν οι κωδικές περιοχές. Είναι πιθανόν ότι η ενεργοποίηση του *c-myc* στη νέα χρωμοσωμική θέση μπορεί να γίνει με διαφορετικούς μηχανισμούς, όπως η ενσωμάτωση ρετροϊών ενεργοποιεί το *c-myc* με διαφορετικούς τρόπους. Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης *c-Myc* είναι ογκογόνος, γιατί εμποδίζει τα λεμφοκύτταρα να διαφοροποιηθούν προς ώριμα B ή T κύτταρα, τα οποία παραμένουν αδιαφοροποίητα και συνεχίζουν να διαιρούνται. Πειράματα σε διαγονιδιακά ζώα έχουν δείξει ότι η υπερέκφραση του *c-myc* προκαλεί ογκογένεση σε όλη την κυτταρική γραμμή των B κυττάρων. Διαγονιδιακοί ποντικοί που φέρουν το γονίδιο *c-myc* υπό τον έλεγχο της αλληλουχίας μεταγραφικής ρύθμισης LTR (Long Terminal Repeat) ενός ογκογόνου ιού κυττάρων μαστού, εμφάνισαν αδenoκαρκίνωμα του μαστού και διάφορους άλλους τύπους καρκίνου, υποδεικνύοντας ότι η αυξημένη ή η συνεχής έκφραση του *c-myc* μετασχηματίζει τον τύπο κυττάρου προς τον αντίστοιχο τύπο καρκίνου (Σωτηροπούλου, 2008; Cooper, 2018).

Συμπερασματικά, το γονίδιο *c-myc* μπορεί να ενεργοποιηθεί στα λεμφοκύτταρα από μετατοπίσεις που περιλαμβάνουν τους γενετικούς τόπους Ig ή TCR με ενσωμάτωση ρετροϊών, χρωμοσωμική μετατόπιση και γονιδιακή ενίσχυση, με αποτέλεσμα σε κάθε περίπτωση την απορυθμισμένη έκφραση του ογκογονιδίου παρά την αλλαγή της αλληλουχίας της πρωτεΐνης, και τη δημιουργία όγκων B ή T κυττάρων. Το *c-myc* αποτελεί πρότυπο για τα ογκογονίδια που ενεργοποιούνται λόγω αύξησης των επιπέδων έκφρασης (Σωτηροπούλου, 2008).

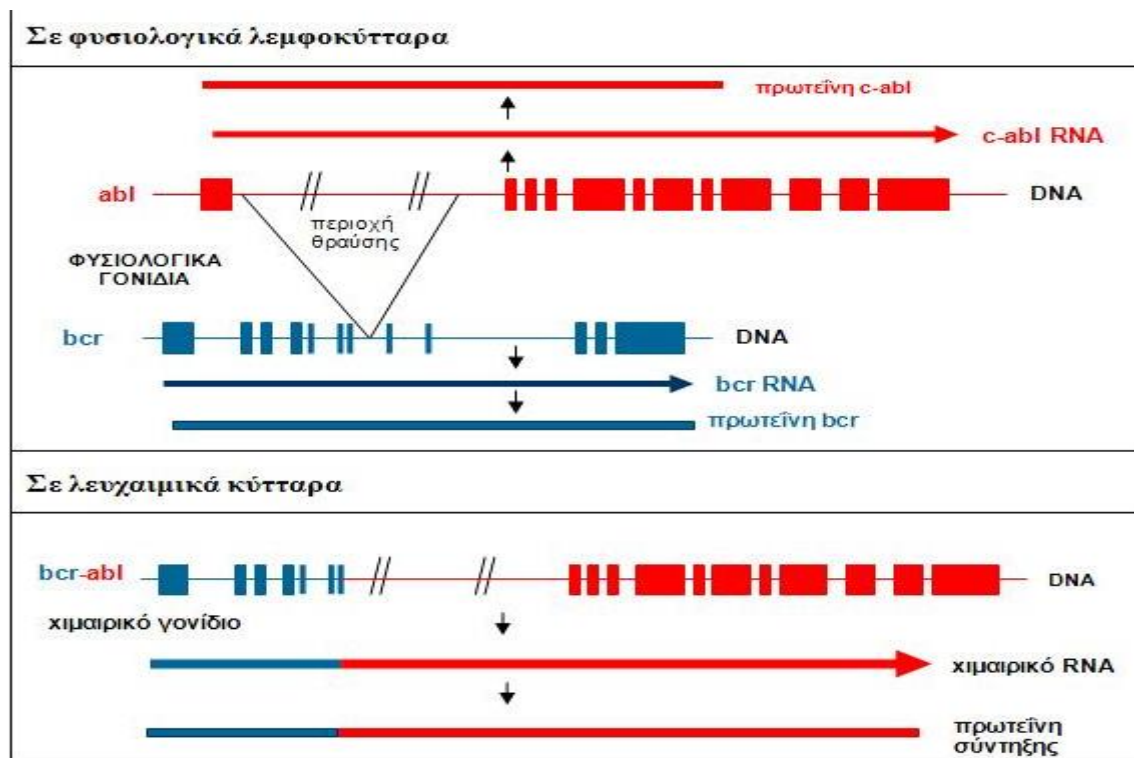


Εικόνα 1.4-4 Μετατόπιση του *c-myc*

Μια ακόμα περίπτωση χρωμοσωμικής μετατόπισης που οδηγεί σε καρκίνο είναι αυτό που προκαλεί τη χρόνια μυελογενή λευχαιμία. Σε αυτή το πρώτο-ογκογονίδιο *abl* μετατοπίζεται από το χρωμόσωμα 9 στο 22 και εκεί συγχωνεύεται με το *bcr*, όπως δείχνει το «Σχήμα 1.4-1». Ως αποτέλεσμα παράγεται η υβριδική πρωτεΐνη *Bcr/Abl* στην οποία ένα τμήμα στο N- άκρο της *Abl* έχει αντικατασταθεί από ένα τμήμα της *Bcr*. Έτσι χάνεται ο έλεγχος της ενεργότητας κινάσης της τυροσίνης της *Abl* και η υπερδιέγερση της κινάσης προκαλεί κυτταρικό μετασχηματισμό (Cooper, 2018).

Συνοψίζοντας, οι ογκοπρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα πρώτο-ογκογονίδια ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, συμμετέχουν στην κυτταρική διαφοροποίηση ή καταστέλλουν ιδιότητες των κυττάρων σημαντικές για τη μη ανάπτυξη καρκίνου, καθώς

μπορεί να είναι μετατροπείς σήματος, αυξητικοί παράγοντες, υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, μεταγραφικοί παράγοντες και ρυθμιστές της απόπτωσης (Devlin, 2009).



Σχήμα 1.4-1 Σχηματική περιγραφή σχηματισμού χιμαϊρικού γονιδίου λόγω χρωμοσωμικής μετατόπισης.

## 1.5 Ογκοκατασταλτικά γονίδια

Τα ογκογονίδια αποτελούν τη μια εκδοχή γενετικών αλλαγών που επάγουν τον καρκίνο. Η άλλη εκδοχή είναι αυτή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Σε αντίθεση με τα ογκογονίδια τα οποία επάγουν το συνεχή κυτταρικό πολλαπλασιασμό, η δράση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων εντοπίζεται στην αναστολή του. Έτσι αυτά τα δυο είδη γονιδίων, στα φυσιολογικά κύτταρα ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ σε εξαλλαγμένα κύτταρα επάγουν την ογκογένεση οδηγώντας σε καρκίνο.

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια ανάλογα με το τρόπο δράσης των προϊόντων τους ταξινομούνται σε πέντε μεγάλες κατηγορίες:

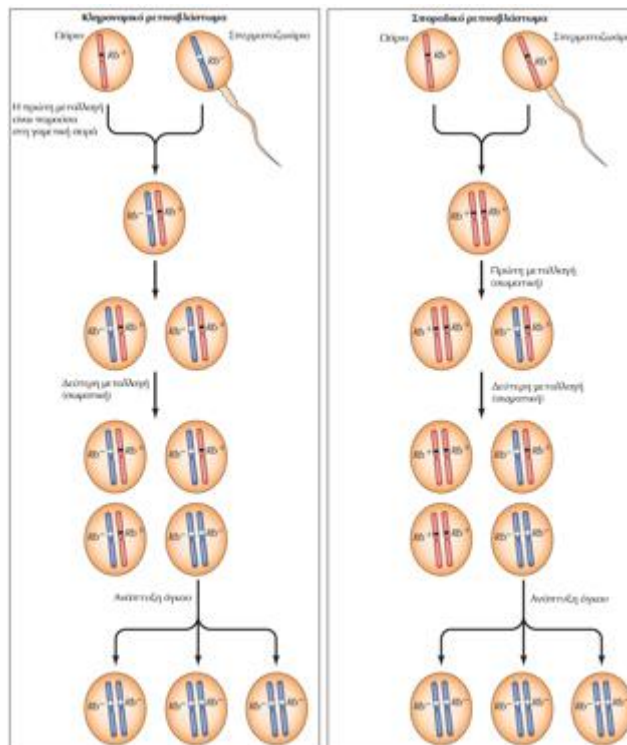
- Γονίδια που δρουν αναστέλλοντας ένα σημείο του κυτταρικού κύκλου όπως το p16
- Υποδοχείς για εκκρινόμενες πρωτεΐνες που αναστέλλουν τον κυτταρικό κύκλο



- Πρωτεΐνες που επάγουν απόπτωση
- Ένζυμα που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA
- Πρωτεΐνες που αναστέλλουν τον κυτταρικό κύκλο αν εντοπιστεί βλάβη στο DNA.

Έτσι κάθε μετάλλαξη που μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια λειτουργικότητας των παραπάνω προϊόντων, μπορεί να οδηγήσει σε καρκίνο (Μαργαρίτης, 2004).

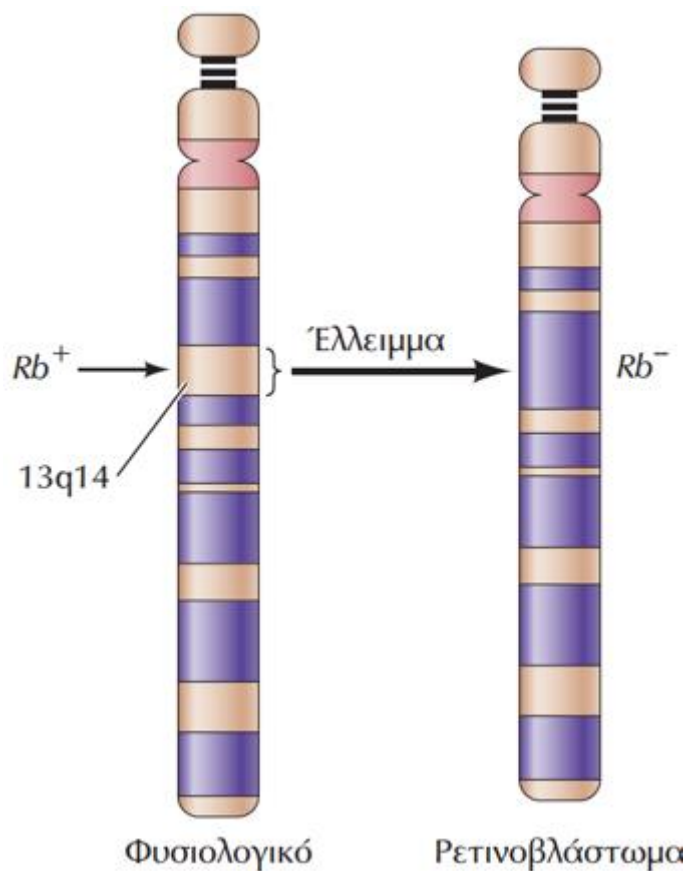
Το πρώτο ογκοκατασταλτικό γονίδιο που μελετήθηκε ήταν αυτό, του οποίου η απώλεια λειτουργικότητας οδηγεί σε ρετινοβλάστωμα. Πρόκειται για έναν καρκίνο της παιδικής ηλικίας που μπορεί να συμβεί με κληρονομικό ή μη κληρονομικό τρόπο. Στην κληρονομική μορφή το παιδί έχει κληρονομήσει μια μεταλλαγμένη μορφή του γονιδίου Rb και εμφανίζει γενετική προδιάθεση, όμως για να εμφανιστεί ο καρκίνος πρέπει να συμβεί και μια σημειακή μετάλλαξη στο άλλο (φυσιολογικό αλληλόμορφο), έτσι ώστε να το απενεργοποιήσει. Στη περίπτωση αυτή, οι ασθενείς εμφανίζουν καρκίνο και στα δυο μάτια. Στη περίπτωση του μη κληρονομικού ρετινοβλαστώματος, πρέπει να συμβούν δυο σημειακές μεταλλάξεις στο ίδιο κύτταρο «Εικόνα 1.5-1» (Lehman κ.ά., 1991).



Εικόνα 1.5-1 Μεταλλάξεις του γονιδίου Rb κατά τη διαδικασία ανάπτυξης του ρετινοβλαστώματος.

Με τη μοριακή κλωνοποίηση βρέθηκε ότι η απώλεια ή η μετάλλαξη στο φυσιολογικό αλληλόμορφο Rb εντοπίζεται εκτός από το ρετινοβλάστωμα και σε άλλους καρκίνους όπως

ουροδόχου κύστεως, μαστού και πνευμόνων, γεγονός που επιβεβαίωσε τη σημαντική του δράση ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο όπως δείχνει η «Εικόνα 1.5-2» (Cooper, 2018).



**Εικόνα 1.5-2 Έλλειματα του Rb στο ρετινοβλάστωμα.**

Το δεύτερο ογκοκατασταλτικό γονίδιο που μελετήθηκε είναι αυτό p53. Το γονίδιο αυτό έχει βρεθεί απενεργοποιημένο σε πολλούς τύπους καρκίνου, με τις μεταλλάξεις του να εμφανίζονται στο 50% των καρκίνων. Αρχικά οι ερευνητές πίστευαν ότι πρόκειται για ογκογονίδιο αλλά αργότερα (1990) αναγνωρίστηκε ως ογκοκατασταλτικό, μέσα από τη διερεύνηση στου συνδρόμου Li-Fraumeni. Οι πάσχοντες εμφανίζουν σημαντική προδιάθεση για εμφάνιση καρκίνου, ενώ όσοι έχουν ένα μόνο λειτουργικό αλληλόμορφο του γονιδίου είναι πιθανό να εμφανίσουν καρκίνο λόγω τυχαίων μεταλλάξεων στο αντίγραφο αυτό. Ένα ποσοστό της τάξης του 50% των νοσούντων από καρκίνο έχουν μεταλλάξεις και στα δυο αντίγραφα του γονιδίου, ενώ όταν αυτά δεν υπάρχουν, ο όγκος είναι μεταστατικός (Κομητοπούλου, 1999).

Η πρωτεΐνη p53 αποτελείται από 2 διμερή. Το γονίδιο που την κωδικοποιεί βρίσκεται στο κοντό βραχίονα του χρωμοσώματος 17p13, αποτελείται από 11 εξόνια και 10 εσώνια και

κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους 53 kDa. Κάθε υπομονάδα της πρωτεΐνης αποτελείται από 3 λειτουργικές περιοχές: (α) το αμινοτελικό άκρο, το οποίο παίρνει μέρος στο μηχανισμό μεταγραφής του RNA, (β) την περιοχή αλληλεπίδρασης με το DNA και (γ) το καρβοξυτελικό άκρο. Η p53 είναι μεταγραφικός παράγοντας, εκφράζεται σε χαμηλές ποσότητες, είναι ασταθής και αποδομείται γρήγορα από το πρωτεάσωμα (Μαργαρίτης, 2004).

Η πρωτεΐνη p53 έχει και άλλες λειτουργίες εκτός από την ογκοκατασταλτική:

- Εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και συγκεκριμένα στον έλεγχο βλαβών στο DNA. Η p53 φωσφορυλιώνεται από τις πρωτεϊνικές κινάσες ATM και τη Chk2. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω πρόκειται για μια ιδιαίτερα ασταθή πρωτεΐνη στη μη φωσφορυλιωμένη της μορφή. Μετά τη δράση όμως των παραπάνω κινασών ο παράγοντας αυτός σταθεροποιείται με αποτέλεσμα να αυξάνεται η συγκέντρωσή του (Cooper, 2018).
- Εμπλέκεται στην κυτταρική απόπτωση. Οι βλάβες στο DNA αποτελούν έναν σημαντικό παράγοντα που οδηγεί τα κύτταρα σε απόπτωση. Η πρωτεΐνη p53 προκαλεί στάση του κυτταρικού κύκλου ώστε να δοθεί χρόνος για την επιδιόρθωση των βλαβών. Αν όμως η επιδιόρθωση αυτή δεν επιτευχθεί, η p53, πέρα από την ενεργοποίηση του γονιδίου p21 που εμπλέκεται στη διαδικασία αυτή, μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει γονίδια που εμπλέκονται στην απόπτωση, τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες Noxa και PUMA. Αυτές οι πρωτεΐνες ανήκουν στην οικογένεια των προαποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 και στοχεύουν τα γονίδια Bak και Bax. Στη συνέχεια, το κυτόχρωμα c απελευθερώνεται από τα μιτοχόνδρια και τελικά ενεργοποιείται η κασπάση 9, οδηγώντας το κύτταρο σε απόπτωση (Μαργαρίτης, 2004; Cooper, 2018)

Συνεπώς η σύνθεση της p53 επάγεται από βλάβες στο DNA και οδηγεί σε στάση του κυτταρικού κύκλου ή κυτταρική απόπτωση ανάλογα με την έκταση των βλαβών.

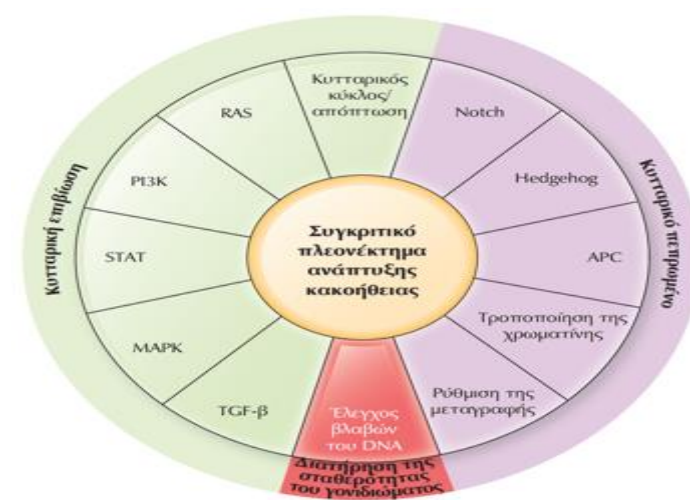
Όπως είναι προφανές, οποιαδήποτε μετάλλαξη που απενεργοποιεί το γονίδιο p53 θα έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση βλαβών στο DNA. Αυτό συμβαίνει επειδή δεν θα σταματήσει ο κυτταρικός κύκλος ούτε θα οδηγηθεί το κύτταρο σε απόπτωση. Η συσσώρευση αυτών των μεταλλάξεων μπορεί τελικά να οδηγήσει στον μετασχηματισμό του κυττάρου σε καρκινικό.

Κλείνοντας το κεφάλαιο που αναφέρεται με συντομία στον καρκίνο, κρίνεται σκόπιμο να συνοριστούν τα παρακάτω σχετικά με τη γονιδιωματική της νόσου.

Η καρκινογένεση είναι μια διαδικασία με πολλά στάδια στην οποία εμπλέκονται μεταλλάξεις σε πρώτο- ογκογονίδια αλλά και σε ογκοκατασταλτικά γονίδια, οι οποίες είτε τα ενεργοποιούν ή τα απενεργοποιούν αντίστοιχα. Η συσσώρευση όλων αυτών των βλαβών οδηγεί τελικά στο μετασχηματισμό των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά με αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού, κυτταρική επιβίωση, ικανότητα διήθησης γειτονικών κυττάρων και δημιουργία μεταστάσεων (Lehman, 1991).

Η ανάπτυξη μοριακών τεχνικών οδήγησε στη μελέτη των γονιδίων που εμπλέκονται στην καρκινογένεση και φανέρωσε ότι παρόλο ότι οι μεταλλάξεις είναι πολλές και σε πολλά γονίδια και των δυο κατηγοριών, αφορούν γονίδια που συνήθως εμπλέκονται στο ίδιο σηματοδοτικό μονοπάτι, ενώ η σταδιακή συσσώρευση των μεταλλάξεων σε αυτά τα οδηγεί στην απώλεια ρύθμισης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και στην εμφάνιση καρκίνου (Weinberg, 2014).

Τελικά, τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια που βρίσκονται μεταλλαγμένα σε περιπτώσεις καρκίνου στον άνθρωπο είναι δυνατόν να ταξινομηθούν σε 12 μονοπάτια τα οποία προσφέρουν κάποιο συγκριτικό πλεονέκτημα στα ογκοκύτταρα, αφού ενέχονται στη ρύθμιση της κυτταρικής επιβίωσης, της διατήρησης του γονιδιώματος και του κυτταρικού πεπρωμένου, όπως απεικονίζεται στην «Εικόνα 1.5-3» (Cooper, 2018).



**Εικόνα 1.5-3 Μονοπάτια που επηρεάζονται από ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια στον άνθρωπο.**

## 2. Μοριακές Προσεγγίσεις στην Αντιμετώπιση του Καρκίνου

Ο καρκίνος είναι μια σοβαρή ασθένεια που μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο έναν στους τέσσερις ασθενείς σε μια αναπτυγμένη χώρα. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια χάρη στη πρόοδο που έχει σημειώσει η έρευνα στο πεδίο της μοριακής βιολογίας, ανοίγει ένα νέο πεδίο στο κομμάτι της πρόληψης, της έγκαιρης διάγνωσης αλλά και της θεραπευτικής προσέγγισης. Οι μοριακές προσεγγίσεις στην αντιμετώπιση του καρκίνου περιλαμβάνουν τη χρήση προηγμένης τεχνολογίας προκειμένου να γίνουν κατανοητές οι μοριακές διαδικασίες που οδηγούν στην ανάπτυξη του καρκίνου. Μια σειρά μοριακών προσεγγίσεων που συναντώνται στην αντιμετώπιση του καρκίνου είναι η γενετική ανάλυση των όγκων για να εντοπιστούν οι μεταλλάξεις που οδήγησαν σε αυτόν, η χρήση βιοδεικτών για τη πρόβλεψη της εμφάνισης της νόσου, της πορείας της και το σχεδιασμό της θεραπευτικής της αντιμετώπισης με χρήση στοχευμένων θεραπειών, η γονιδιακή θεραπεία και η ανοσοθεραπεία.

Η καλύτερη προσέγγιση για την αντιμετώπιση του καρκίνου είναι η πρόληψη. Παρά την αύξηση των μεθόδων ανίχνευσης και ενημέρωσης για τον καρκίνο, εξακολουθεί να είναι μια ασθένεια που μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο όταν προκαλέσει μεταστάσεις. Στην τελευταία δεκαετία, η θεραπεία του καρκίνου έχει σημειώσει σημαντική πρόοδο. Οι βιοδείκτες και οι στοχευμένες θεραπείες αντικαθιστούν το παραδοσιακό μοντέλο θεραπείας «ένα μέγεθος ταιριάζει σε όλους» και την παραδοσιακή στρατηγική «δοκιμή και σφάλμα».

### 2.1 Μοριακές τεχνικές ανίχνευσης γενετικών μεταλλάξεων στη πρόληψη και τη διάγνωση του καρκίνου

Η ανίχνευση των γενετικών μεταλλάξεων που οδηγούν στην εμφάνιση του καρκίνου αποτελεί μια από τις σημαντικότερες εφαρμογές της μοριακής βιολογίας στη πρόληψη αλλά και την έγκαιρη διάγνωση της νόσου. Ανιχνεύοντας μεταλλάξεις σε ογκοκατασταλτικά γονίδια, σε ογκογονίδια όπως τα *ret* και *cdk4* αλλά και μεταλλάξεις που οδηγούν σε απενεργοποίηση γονιδίων σταθερότητας ή επιδιόρθωσης, είναι εφικτό να εντοπιστεί η κληρονομική προδιάθεση ενός ατόμου στην εμφάνιση καρκίνου και να σχεδιαστεί η πρόληψη ή να παρακολουθείται στενά ο ασθενής ώστε να γίνει έγκαιρα η διάγνωση,

γεγονός που οδηγεί στην αντιμετώπιση της νόσου νωρίς και οδηγεί σε μείωση της θνησιμότητας που εμφανίζει η νόσος (Cooper, 2018).

Πολλές έρευνες, τα τελευταία χρόνια, αφορούν την εύρεση βιοδεικτών που μπορούν να οδηγήσουν στην εύρεση της αυξημένης πιθανότητας εμφάνισης της νόσου.

## 2.2 Βιοδείκτες και αντιμετώπιση του καρκίνου

Ως βιοδείκτης ορίζεται ένα βιολογικό μόριο το οποίο βρίσκεται στο αίμα, σε άλλα βιολογικά υγρά ή σε ιστούς και αποτελεί ένδειξη φυσιολογικής ή παθολογικής λειτουργίας του οργανισμού. Για να θεωρηθεί ένας βιοδείκτης ιδανικός πρέπει να εμφανίζει κάποια χαρακτηριστικά που συνοψίζονται παρακάτω:

- να μπορεί να μετρηθεί εύκολα και οικονομικά (analytical validity)
- να δίνει πληροφορίες οι οποίες δεν εξάγονται από την κλινική αξιολόγηση (clinical validity)
- να είναι επικουρικός στη λήψη αποφάσεων (clinical usefulness)
- να εφαρμόζεται εύκολα σε συνθήκες γραφείου
- να δίνει γρήγορα αποτελέσματα και
- να έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα στον πληθυσμό-στόχο προκειμένου να μειωθεί η ανάγκη για περισσότερες επεμβατικές μεθόδους (Porcel, 2013).

Όσον αφορά τον καρκίνο, ο βιοδείκτης μπορεί να είναι ένα μόριο που παράγεται από έναν όγκο ή μια συγκεκριμένη αντίδραση του οργανισμού στην παρουσία καρκίνου. Έχουν ταυτοποιηθεί βιοδείκτες για τους πιο συνηθισμένους τύπους όγκων. Η χρήση βιοδεικτών στην ογκολογία περιλαμβάνει την εκτίμηση του κινδύνου προδιάθεσης ενός ατόμου σε συγκεκριμένο τύπο καρκίνου, τη διάγνωση για το αν ο καρκίνος είναι πρωτοπαθής ή μεταστατικός, την πρόγνωση της επιθετικότητας της νόσου και την πιθανή απόκριση στη θεραπεία μετά τη διάγνωση, τη μελέτη της φαρμακοκινητικής και φαρμακοδυναμικής δράσης ενός φαρμάκου που λαμβάνει ο ασθενής, την παρακολούθηση της απόκρισης στη θεραπεία και την πρόβλεψη υποτροπής του καρκίνου. Επιπλέον, οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται στην έρευνα για τον καρκίνο για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων (Kalina, 2016).

Ανάλογα με τη μορφή του καρκίνου διακρίνονται διαφορετικοί βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της νόσου αλλά και το σχεδιασμό του θεραπευτικού πρωτοκόλλου.

Παρακάτω, «Πίνακας 2.2-1» αναφέρονται συνοπτικά κάποιοι βιοδείκτες που εξετάζονται σε ορισμένες μορφές καρκίνου (Chung, 2014).

Βιοδείκτες	Μορφή Καρκίνου
Έκφραση γονιδίου egfr	Μεταστατικός ορθοκολικός καρκίνος
Μεταλλάξεις γονιδίου kras	
Μεταλλάξεις γονιδίου pras	
Μεταλλάξεις γονιδίου braf	
Μεταλλάξεις γονιδίου dryd	
Μεταλλάξεις γονιδίου ugt1A1	
Μεταλλάξεις γονιδίου pik3ca	
Παρουσία υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης	Καρκίνος του Μαστού
Υπερέκφραση γονιδίου her 2/neu	
Πολυμορφισμός γονιδίου cyp2d6	
Μεταλλάξεις του γονιδίου egfr	Καρκίνος του Πνεύμονα
Μεταλλάξεις του γονιδίου braf	
Αναδιάταξη γονιδίου alk	
Αναδιάταξη γονιδίου ros l	
Μεταλλάξεις του γονιδίου kras	
Έκφραση γονιδίου ercc l	

**Πίνακας 2.2-1 Βιοδείκτες στη πρόγνωση του καρκίνου**

Στον καρκίνο, οι βιοδείκτες βρίσκουν εφαρμογή στη πρόληψη, τη διάγνωση και τη θεραπεία της νόσου. Είναι δυνατόν μεταλλάξεις γονιδίων να δείξουν τη προδιάθεση της

νόσου ενώ στο κομμάτι της διάγνωσης μπορεί να χρησιμοποιηθούν μαζί με την ιστολογική εξέταση για να διαγνωσθεί η νόσος, καθώς από μόνοι τους δεν αποτελούν διαγνωστικό εργαλείο. Τέλος, σημαντική είναι η συμβολή τους στη θεραπεία της νόσου, συγκεκριμένα στην επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής προσέγγισης η οποία θα οδηγήσει σε εξειδικευμένη θεραπεία αλλά και στην αξιολόγηση της θεραπευτικής μεθόδου.

Οι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στον καρκίνο βρίσκονται στα ιστολογικά δείγματα όγκων ή στον ορό και περιλαμβάνουν μια ευρεία ποικιλία μορίων, συμπεριλαμβανομένου του DNA, του mRNA, των παραγόντων μεταγραφής, των υποδοχέων επιφάνειας κυττάρων και των εκκρινόμενων πρωτεϊνών. Οι μελέτες των βιοδεικτών θα πρέπει να είναι ακριβείς, και ένα πάνελ πολλαπλών βιοδεικτών θα πρέπει να αναλυθεί προκειμένου να αυξηθεί η ειδικότητα, η ευαισθησία και η αξιοπιστία (Purkayastha, 2023).

Οι βασικές προκλήσεις στην ανακάλυψη και τη χρήση των βιοδεικτών είναι τόσο σε βιολογικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο κλινικής εφαρμογής. Οι βιολογικές προκλήσεις αναφέρονται κυρίως στη πολυπλοκότητα του σύνθετου δικτύου μοριακών μονοπατιών ενώ οι προκλήσεις στη φάση των κλινικών δοκιμών είναι ότι κάποιες φορές υποδεικνύουν ευνοϊκά κλινικά αποτελέσματα σε ένα συγκεκριμένο γκρουπ ασθενών (Purkayastha, 2023).

Οι περισσότεροι από τους βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση του καρκίνου είναι πρωτεΐνες με αποτέλεσμα να μην εμφανίζουν εξειδίκευση καθώς μπορούν να βρεθούν και σε άλλες καταστάσεις εκτός του καρκίνου και να δώσουν ψευδώς θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα. Αντίθετα, οι γενετικοί βιοδείκτες είναι πιο αξιόπιστοι αλλά δεν έχουν εντοπιστεί ακόμα όλες οι γενετικές μεταλλάξεις που οδηγούν σε καρκίνο. Επίσης παρα τη σημασία των βιοδεικτών στην αντιμετώπιση του καρκίνου, πρέπει να αναφερθεί ότι η χρήση τους υπόκειται σε περιορισμούς από τη στιγμή της συλλογής του δείγματος, τη μεταφορά του και την επεξεργασία του, όπου οποιοδήποτε λάθος θα δώσει λανθασμένα αποτελέσματα, τα πρότυπα αναφοράς που χρησιμοποιούνται, καθώς δεν υπάρχουν πάντα τυποποιημένα πρωτόκολλα άρα μπορεί να εμφανιστεί μεταβλητότητα στα αποτελέσματα και την ειδικότητα της μεθόδου ανάλυσης αλλά και τη μετα- ανάλυση των αποτελεσμάτων γιατί η ερμηνεία των αποτελεσμάτων μπορεί να είναι πολύπλοκη και να απαιτεί εξελιγμένες αναλυτικές μεθόδους και εργαλεία βιοπληροφορικής. Προκειμένου να είναι αξιόπιστα τα αποτελέσματα της ανάλυσης των βιοδεικτών απαιτούνται τυποποιημένα πρωτόκολλα κατά την κλινική εφαρμογή καθώς και χρήση προηγμένης τεχνολογίας (Purkayastha, 2023).



Συνοπτικά, οι βιοδείκτες στην ογκολογία παίζουν κρίσιμο ρόλο στην αξιολόγηση του κινδύνου, τον έλεγχο, τη διαφορική διάγνωση, τον καθορισμό της πρόγνωσης, την ανταπόκριση στη θεραπεία και την πρόοδο της νόσου, «Πίνακας 2.2-2» Η ανακάλυψη βιοδεικτών πρέπει να υποβληθεί σε αξιολόγηση και επικύρωση πριν από τις κλινικές εφαρμογές. Είναι επίσης απαραίτητο να τεθεί ξεκάθαρο όριο μεταξύ βιοδεικτών και στόχων. Αυτοί μπορεί να είναι πολύ διαφορετικοί σε διάφορους τύπους καρκίνου και απαιτείται περαιτέρω σχεδιασμός στις σχετικές κλινικές μελέτες (Diamandis, 2002; Füzéry, 2013).

<b>Εφαρμογή</b>	<b>Τρέχουσα Χρήση</b>	<b>Σχόλια</b>
Πληθυσμιακός έλεγχος	Περιορισμένη	Πρέπει να υπάρχει υψηλή ευαισθησία και ακρίβεια για να αποφευχθούν ψευδή αποτελέσματα σε πληθυσμούς με χαμηλή προδιάθεση
Διάγνωση	Περιορισμένη	Οι υπάρχοντες βιοδείκτες έχουν χαμηλή διαγνωστική αξία
Πρόγνωση	Περιορισμένη	Οι περισσότεροι καρκινικοί δείκτες έχουν κάποια προγνωστική αξία. Ωστόσο συγκεκριμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις δε μπορούν να προσδιοριστούν επειδή η ακρίβεια της πρόβλεψης των συγκεκριμένων βιοδεικτών είναι χαμηλή

Πρόβλεψη της ανταπόκρισης στη θεραπεία	Υψηλή	Πολύ λίγοι δείκτες έχουν προγνωστική ισχύ, με εξαίρεση τους υποδοχείς των στεροειδών ορμονών και τη HER2, αλλά η πληροφορία που παρέχουν βοηθά στην επιλογή θεραπείας.
Στάδιο ανάπτυξης όγκου	Περιορισμένη	Εκτός από το AFP και το HCG, η ακρίβεια των δεικτών στον προσδιορισμό του σταδίου του όγκου είναι χαμηλή
Ανίχνευση πρόωρης επανεμφάνισης του όγκου.	Αμφιλεγόμενη	Μπορεί να επανεμφανιστεί χωρίς αύξηση των δεικτών ή να αυξηθεί ο δείκτης μη ειδικά.
Παρακολούθηση αποτελεσματικότητας της θεραπείας του καρκίνου	Υψηλή	Οι τρέχοντες βιοδείκτες παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη θεραπευτική ανταπόκριση (αποτελεσματική ή μη-αποτελεσματική) που είναι εύκολα ερμηνεύσιμες και πιο οικονομικές από τις μεθόδους απεικόνισης.

**Πίνακας 2.2-2 Χρησιμότητα Βιοδεικτών**

Ανακεφαλαιώνοντας, ένας βιοδείκτης καρκίνου μπορεί να είναι γονίδια, πρωτεΐνες, μεταβολίτες, λιπίδια ή miRNA. Η μεγαλύτερη πρόκληση είναι η μετάφραση των βιοδεικτών από τον εντοπισμό/απομόνωση στο εργαστήριο στην κλινική χρήση και ερμηνεία. Αυτό απαιτεί μια μεγαλύτερη κατανόηση και την εφαρμογή των κατευθυντήριων γραμμών που έχουν καθορίσει το NCI. Παράλληλα, το EDRN έχει καθορίσει το ορόσημο για την πιστοποίηση των βιοδεικτών. Ένας ιδανικός βιοδείκτης καρκίνου θα έπρεπε να είναι φθηνός, αξιόπιστος και μεταφράσιμος και να καθοδηγεί την αξιολόγηση κινδύνου, τον εντοπισμό, τη διάγνωση, την πρόγνωση και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Η νέα ανακάλυψη φαρμάκων για τον καρκίνο εξαρτάται πλήρως από την κατανόηση των βιοδεικτών και της μοριακής οδού που οδηγεί στην παθογένεια. Η ανάπτυξη βιοδεικτών στον καρκίνο αποτελεί μεγάλη πρόκληση για την επιστημονική κοινότητα λόγω της πολυπλοκότητάς του, της ευαισθησίας ή της αντίστασης στη θεραπεία. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μοριακών οδών είναι πολύπλοκες και δεν είναι εφικτό ένας μόνο βιοδείκτης να αντιπροσωπεύσει έναν τύπο καρκίνου. Έτσι, θα απαιτηθούν πολλαπλοί δείκτες για τη δημιουργία ευαίσθητων και ειδικών βιοδεικτών που αντιπροσωπεύουν μια καρκινογένεση και προβλέπουν τις αντιδράσεις στη θεραπεία και τα αποτελέσματα.

### 2.3 Μοριακές προσεγγίσεις στη θεραπεία του καρκίνου

Οι κύριοι στόχοι στη θεραπεία του καρκίνου είναι:

- οι αυξητικοί παράγοντες και οι υποδοχείς τους,
- οι adaptor proteins οι οποίες συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι και φροντίζουν την ακριβή ρύθμιση των μοριακών διαδρομών και την εκτέλεση διάφορων κυτταρικών λειτουργιών,
- οι binding proteins οι οποίες είναι πρωτεΐνες που συνδέονται με άλλα μόρια εσωτερικά και εξωτερικά του κυττάρου τροποποιώντας τη δομή και τη λειτουργία τους ή μεταφέροντας τα,
- οι guanine nucleotide exchange factors: οι παράγοντες επιτρέπουν τη μετάβαση από τη μορφή GDP στη μορφή GTP στις GTPases, όπως οι πρωτεΐνες της οικογένειας Ras,
- φωσφατάσες που είναι ένζυμα που αφαιρούν φωσφορικές ομάδες από άλλα μόρια

- φωσφολιπάσες: ένζυμα που υδρολύουν φωσφολιπίδια σε φωσφορικά οξέα και αλκοόλες,
- κινάσες οι οποίες είναι πρωτεΐνες υπεύθυνες για τη μεταφορά φωσφορικών ομάδων από ένα ATP σε άλλες πρωτεΐνες σε μια διαδικασία που ονομάζεται φωσφορυλίωση.
- ριβοσώματα
- μεταγραφικοί παράγοντες,
- ιστόνες,
- DNA,
- Μικροσωληνίσκοι και
- miRNA: μικρά μόρια RNA που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων στο επίπεδο του mRNA (Cho, 2007).

Η αντιμετώπιση του καρκίνου, παραδοσιακά, στηρίζεται στη χρήση φαρμάκων που στόχο έχουν να εξουδετερώσουν τα καρκινικά κύτταρα προκαλώντας βλάβες στο DNA τους ή εμποδίζοντας την αντιγραφή τους, τα οποία ωστόσο δε δρουν επιλεκτικά κατά των καρκινικών κυττάρων αλλά βάλουν και τα υγιή γειτονικά κύτταρα.

Εναλλακτικά σχεδιάζονται φάρμακα που αναστέλλουν την αγγειογένεση του όγκου, με αποτέλεσμα να μη τροφοδοτείται με οξυγόνο και θρεπτικά στοιχεία, γεγονός που εμποδίζει την ανάπτυξη του. Αυτά τα φάρμακα δεν είναι τόσο τοξικά για τα υγιή κύτταρα.

Μια άλλη εξειδικευμένη θεραπεία είναι η στόχευση ογκογονιδίων που ενοχοποιούνται για ένα είδος καρκίνου. Αν και τα πρωτο-ογκογονίδια έχουν σημαντικό ρόλο και στα φυσιολογικά κύτταρα, οι έρευνες δείχνουν ότι η στόχευση συγκεκριμένων ογκογονιδίων αποτελεί ελπιδοφόρα θεραπεία. Έτσι στην αρχή οι θεραπείες που στοχεύουν στην αναστολή των ογκοπρωτεϊνών δίνουν αποτελέσματα, στη συνέχεια όμως η αποτελεσματικότητα των φαρμάκων αυτών περιορίζεται λόγω ανθεκτικότητας. Ωστόσο, η χρήση στοχευμένων φαρμάκων σε συνδυασμό με την αλληλούχιση του γονιδιώματος των καρκινικών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε εξατομικευμένη αντικαρκινική θεραπεία (Cooper, 2018).

Τέλος, η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων, η οποία περιορίζεται σε εξωκυτταρικούς στόχους όπως οι αυξητικοί παράγοντες και οι επιφανειακοί υποδοχείς αποτελεί ένα ακόμα είδος εξειδικευμένης θεραπευτικής μοριακής προσέγγισης (Cooper, 2018).

### 2.3.1 Ανοσοθεραπεία

Πέρα από αυτούς τους ειδικούς για κύτταρα και ιστούς μηχανισμούς, τα θηλαστικά μπορεί να έχουν άλλη μια γραμμή άμυνας-το ανοσοποιητικό σύστημα. Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην ανίχνευση και την εξάλειψη ξένων μολυσματικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων ιών, βακτηρίων και μυκήτων, από τους ιστούς μας. Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι οργανωμένο για να αναγνωρίζει και να αποβάλλει ξένους παράγοντες από το σώμα αφήνοντας ανενόχλητους τους ιστούς του ίδιου του σώματος. Τα καρκινικά κύτταρα, ωστόσο, από πολλές απόψεις, δεν διακρίνονται από τα φυσιολογικά κύτταρα του σώματος. Γεννώνται λοιπόν μια σειρά από ερωτήματα που αφορούν τη δράση του ανοσοποιητικού έναντι του καρκίνου. Πώς μπορούν τα καρκινικά κύτταρα να αναγνωριστούν από το ανοσοποιητικό σύστημα ως διαφορετικά και, ως εκ τούτου, κατάλληλοι στόχοι θανάτωσης μέσω του ανοσοποιητικού; πώς μπορεί να κινητοποιηθεί το ανοσοποιητικό σύστημα από ογκολόγους για επίθεση σε όγκους μόλις αυτοί σχηματιστούν;

Η αντίδραση του ανοσοποιητικού έναντι των μολυσματικών παραγόντων εξαρτώνται από την ικανότητα να αναγνωρίσει αυτούς τους εισβολείς ως ξένους στο ανθρώπινο σώμα. Οι μολυσματικοί παράγοντες εμφανίζουν πάντα μόρια που προδίδουν τη προέλευσή τους, προκαλώντας επίθεση από εξειδικευμένα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Τυπικά, αυτά τα ξένα μόρια περιέχουν ολιγοπεπτιδικές αλληλουχίες που είναι διαφορετικές από τις αλληλουχίες που υπάρχουν στις φυσιολογικές πρωτεΐνες του ίδιου του σώματος. Η επιτυχία του ανοσοποιητικού να αναγνωρίσει τα καρκινικά κύτταρα που προκύπτουν στους ιστούς ενός ατόμου ως ξένα, έγκειται σε αυτή τη διαφορά. Μεταξύ των 20.000 περίπου διαφορετικών πρωτεϊνικών ειδών (και των παραλλαγών τους) που παράγονται από τον ένα ή τον άλλο τύπο καρκινικού κυττάρου, υπάρχει σίγουρα ένας μικρός αριθμός που δεν υπάρχουν σε φυσιολογικούς ιστούς. Δημιουργείται έτσι ένας νέος τύπος αντιγόνου. Ένα παράδειγμα ενός νέου καρκινικού αντιγόνου παρέχεται από τις ογκοπρωτεΐνες Ras, που δημιουργούνται από αμινοτελικές αντικαταστάσεις αμινοξέων στις θέσεις 12, 13 ή 61 των τεσσάρων υποτύπων πρωτεϊνών Ras που παρατηρούνται σε φυσιολογικά κύτταρα. Το ίδιο συμβαίνει και στα προϊόντα του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 (Weinberg, 2014).

Η ανοσοθεραπεία είναι μια προηγμένη μέθοδος θεραπείας που χρησιμοποιείται σε ορισμένους τύπους καρκίνου. Αντί να επικεντρώνεται απευθείας στον καρκίνο, όπως συμβαίνει με τη χημειοθεραπεία ή την ακτινοθεραπεία, η ανοσοθεραπεία ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς για να καταπολεμήσει τον καρκίνο.

Η σημαντική πρόοδος στην ανοσολογία του καρκίνου τα τελευταία χρόνια έχει προσφέρει τη γνώση και τις τεχνικές για την ανάπτυξη καινοτόμων ανοσοθεραπευτικών προσεγγίσεων, όπως η ενεργητική, η παθητική και η επαγωγική ανοσοθεραπεία. Αν και η ενεργητική ανοσοθεραπεία φαίνεται θεωρητικά λογική, η χρήση καρκινοειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων έχει δείξει πιο σαφείς αποδείξεις για αντικειμενική κλινική βελτίωση στους ασθενείς στους οποίους εφαρμόστηκε. Πρόσφατα, έχει αναπτυχθεί και μια νέα ανοσοθεραπευτική προσέγγιση για τον καρκίνο, η θεραπεία με χημειοκίτους αντιγονικούς υποδοχείς (CAR Therapy) (Κιάκου, 2015).

### ***Ενεργητική Ανοσοθεραπεία***

Η ενεργητική ανοσοθεραπεία έχει ως στόχο την ανοσολογική απάντηση του οργανισμού σε ειδικά μεμβρανικά ή μη αντιγόνα των νεοπλασματικών κυττάρων, με την προϋπόθεση ότι το ανοσοποιητικό σύστημα είναι λειτουργικό και μπορεί να διεγερθεί. Για το σκοπό αυτόν χρησιμοποιούνται αυτόλογα ή αλλογενή καρκινικά κύτταρα, τα οποία τις περισσότερες φορές είναι απενεργοποιημένα ή τροποποιημένα, καθώς επίσης και αντιγονικά παράγωγά τους, και στη συνέχεια εμβολιάζονται στον ασθενή με σκοπό την επίτευξη ειδικής ανοσοδιέγερσης έναντι των στόχων αυτών. Συνήθως, χρησιμοποιούνται παράλληλα και άλλου τύπου ανοσοδιεγερτικά μόρια, προκειμένου να αυξηθεί η αντιγονικότητα και να ρυθμιστεί η δραστηριότητα των μακροφάγων (Sedlacek, 1986).

### ***Παθητική Ανοσοθεραπεία***

Μια παθητική ανοσοθεραπευτική προσέγγιση αφορά τη χορήγηση έτοιμων ανοσολογικών μορίων-αντισωμάτων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι μια σχετικά νέα προσέγγιση στην ειδική ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Πλεονεκτούν έναντι άλλων μεθόδων λόγω του ότι έχουν συγκεκριμένους στόχους και λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες. Παράγονται από Β-λεμφοκύτταρα που συντήκονται με «αθάνατα κύτταρα από Β-λεμφοκυτταρικούς όγκους». Τα υβριδικά κύτταρα μπορούν να κλωνοποιηθούν μεμονωμένα, με κάθε κλώνο να παράγει αντισώματα έναντι ενός συγκεκριμένου αντιγόνου. Τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να συμβάλλουν με διάφορους τρόπους στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Κατ' αρχήν, μπορούν να λειτουργήσουν ως οψωνίνες για τα καρκινικά κύτταρα και να τα οδηγήσουν επομένως στην απόπτωση ή την καταστροφή. Επί πλέον, τα μονοκλωνικά αντισώματα

μπορούν να λειτουργήσουν ανασταλτικά, διακόπτοντας σηματοδοτικές οδούς ζωτικές για την ανάπτυξη του καρκίνου. Τα μονοκλωνικά αντισώματα κετουξιμάμπη (cetuximab) και πανιτουμουμάμπη (panitumumab) αποκλείουν την αλληλεπίδραση του EGFR, (υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα) με τον EGF (επιδερμικός αυξητικός παράγοντας), εμποδίζοντας την ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης MAPK/KRAS,30 η οποία παρέχει σήματα για πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και εισβολή. Άλλη πρακτική περιορισμού αποτελεί η δέσμευση του κυκλοφορούντα VEGF (αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας), με αποτέλεσμα τη διακοπή της αγγειογένεσης. Η βεβασιζουμάμπη (bevacizumab) είναι ο πρώτος αντι-αγγειογενετικός παράγοντας με αποδεδειγμένα οφέλη στη συνολική επιβίωση και στην επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου στους τρεις συνηθέστερους τύπους όγκων: τον καρκίνο παχέος εντέρου, τον καρκίνο του μαστού και το μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Επί πλέον, με τη σύνδεση ενός συγκεκριμένου μονοκλωνικού αντισώματος με χημειοθεραπευτικά τοξικά φάρμακα επιτυγχάνεται ιδανικά η αποκλειστική στόχευση των καρκινικών κυττάρων, χωρίς να παραβλέπονται τα υγιή κύτταρα ή να προκαλείται συστηματική τοξικότητα. Με τον ίδιο τρόπο, στα αντικαρκινικά μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να συνδεθούν και ραδιοϊσότοπα, που επιτρέπουν την επικέντρωση της ακτινοβολίας στο νεόπλασμα πάνω στο οποίο προσκολλώνται, ή ακόμη τοξίνες και να υπάρξει η παραγωγή ανοσοτοξινών (Κιάκου, 2015).

### ***Επαγωγική Ανοσοθεραπεία***

Αυτού του είδους η ανοσοθεραπεία αφορά την αυτόλογη ή ετερόλογη μεταμόσχευση ανοσοποιητικών κυττάρων που έχουν τροποποιηθεί ex vivo ώστε να εκφράζουν καρκινοειδικούς υποδοχείς. Η επαγωγική ανοσοθεραπεία αρχικά αναπτύχθηκε χρησιμοποιώντας ογκοδιηθητικά λεμφοκύτταρα (TIL) από χειρουργικά αφαιρεθέντες όγκους ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα. Τα κύτταρα αυτά καλλιεργούνταν στο περιβάλλον του όγκου ex vivo με την παρουσία της κυτταροκίνης IL-2 και τα προκύπτοντα T-κύτταρα επανεισάγονταν στους ασθενείς, με αξιοσημείωτα αποτελέσματα (Rosenberg, 2011).

Μια εξέλιξη της συγκεκριμένης προσέγγισης αποτελεί η θεραπεία με χημειοκίτους αντιγονικούς υποδοχείς (CAR therapy), μια εξατομικευμένη θεραπεία που περιλαμβάνει τη γενετική τροποποίηση των T-κυττάρων ενός ασθενούς, ώστε να στοχεύουν κύτταρα όγκων.

Οι χυμικοί υποδοχείς αποτελούνται από ένα μεταβλητό θραύσμα μονοκλωνικού αντισώματος που συντήκεται με ενδοκυτταρικές περιοχές σηματοδότησης των T-κυττάρων. Μέχρι σήμερα, το αντιγόνο διαφοροποίησης CD19 που εκφράζεται στις λευχαιμίες B-κυττάρων είναι ο πλέον διαδεδομένος στόχος της CAR (Kochenderfer, 2012).

Η CAR αποτελεί πλέον το επίκεντρο πολλών κλινικών δοκιμών. Αν και τα τροποποιημένα T-κύτταρα είναι ακόμη σε πειραματικό στάδιο, οι ερευνητές υιοθετούν πολύ ελπιδοφόρα στάση και εργάζονται πυρετωδώς για την εφαρμογή της σχετικής θεραπείας

### 2.3.2 Εμβόλια mRNA

Μορφή ανοσοθεραπείας είναι και ο εμβολιασμός που μπορεί να κινητοποιήσει το ανοσοποιητικό σύστημα έναντι του καρκίνου. Αυτή τη στιγμή είναι σε κλινική ανάπτυξη διάφορα mRNA εμβόλια για τον καρκίνο. Τα mRNA εμβόλια χρησιμοποιούν το mRNA του παθογόνου για να επιτύχουν την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού.

Τα mRNA εμβόλια εισάγουν στο κυτταρόπλασμα όπου γίνεται η πρωτεϊνσύνθεση ένα συνθετικό τμήμα του γονιδίου που κωδικοποιεί τη πρωτεΐνη- αντιγόνο. Αυτά τα mRNA απορροφώνται από τα δενδριτικά κύτταρα τα οποία χρησιμοποιούν τα ριβοσώματα τους για τη μετάφραση τους. Το mRNA μετά καταστρέφεται. Έτσι προκύπτει η πρωτεΐνη- αντιγόνο η οποία θα διεγείρει την ανοσολογική απόκριση του οργανισμού. Με αυτό το τρόπο εμφανίζονται περισσότερα τμήματα του αντιγόνου, αφού παράγονται από το κύτταρο και έτσι ενισχύεται η ανοσοαπόκριση μέσω χυμικής και κυτταρικής ανοσίας (Goldman, 2020).

Το εμβόλιο mRNA πλεονεκτεί έναντι των κλασσικών εμβολίων καθώς και των εμβολίων DNA, τα οποία πρέπει να εισέλθουν στη πυρηνική μεμβράνη, γιατί σε σχέση με τα πρώτα είναι πιο ακριβή, εκφράζουν ένα αντιγόνο και επάγουν την ανοσοαπόκριση για αυτό. Η δομή τους είναι παρόμοια με αυτή του mRNA του ευκαρυωτικού κυττάρου, δηλαδή είναι μονόκλωνα μόρια, έχουν μια καλύπτρα στο 5' άκρο, μια polyA ουρά στο 3' άκρο και ένα ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης πλαισιωμένο από αμετάφραστες περιοχές (Pollard, 2013). Ωστόσο μειονεκτούν λόγω της ευαίσθητης δομής τους, καθώς δε διατηρούνται εύκολα, γι' αυτό και εγκαταλείφθηκαν αρχικά, όμως με τη πρόοδο της επιστήμης και λόγω των πολλών δυνατοτήτων τους σε ένα ευρύ φάσμα ασθενειών, το ενδιαφέρον στράφηκε πάλι σε αυτά.



Η κατασκευή τους απαιτεί την εισαγωγή του κωδικοποιημένου αντιγόνου σε ένα πρότυπο DNA από όπου το mRNA μεταγράφεται *in vitro*. Έπειτα, το mRNA θα μεταφραστεί *in vivo*, χρησιμοποιώντας τους μηχανισμούς του κυττάρου (Marrugi, 2019).

Ο πιο συχνός τρόπος παραγωγής τους, χρησιμοποιεί T3, T7, ή SP6 RNA πολυμεράσες και γραμμικό DNA (γραμμικό πλασμιδικό DNA ή συνθετικό DNA ) για τη σύνθεση του επιθυμητού mRNA από το αντίστοιχο πρότυπο DNA με ενίσχυση της περιοχής ενδιαφέροντος με χρήση της τεχνικής της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) ή ενός γραμμικού πλασμιδίου. Το πρότυπο DNA στη συνέχεια επεξεργάζεται με πεπτικά ένζυμα, όπως DNases, και το mRNA καθαρίζεται για την απομόνωση νουκλεϊκών οξέων. Είναι μια γρήγορη αντίδραση μόνο λίγων ωρών, σε αντίθεση με τις χρονοβόρες διαδικασίες που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή συμβατικών εμβολίων. Επιπλέον, αυτός ο μειωμένος χρόνος μειώνει την πιθανότητα μόλυνσης (Pascolo, 2015).

Ο τρόπος δράσης του *in vitro* μεταγραμμένου mRNA είναι ότι αναγνωρίζεται από διάφορους ενδοσωμικούς έμφυτους ανοσοποιητικούς υποδοχείς τύπου Toll όπως ο υποδοχέας TLR3, ο TLR7 και ο TLR8 αλλά και κυτταροπλασματικούς έμφυτους ανοσοποιητικούς υποδοχείς, όπως η ενεργοποιημένη με RNA πρωτεϊνική κινάση, η πρωτεΐνη γονιδίου I επαγόμενη από ρετινοϊκό οξύ, η πρωτεΐνη 5 σχετιζόμενη με διαφοροποίηση μελανώματος (5-MDA5) και 2'-5'-ολιγοαδενυλική συνθάση (OAS). Η όλη διαδικασία δημιουργεί ένα προ-φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον που οδηγεί σε ενεργοποίηση των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs) που προκαλούν την αύξηση των επιπέδων προ φλεγμονωδών κυτοκινών (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 και IL-12), χημειοκινών και μονοξειδίου του αζώτου (NO) και παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση συν διεγερτικών μορίων (CD40, CD80, CD86) στην μεμβράνη τους. Όλες αυτές οι αλλαγές στη λειτουργία των APC επιτρέπουν την επαγωγή της προσαρμοστικής ανοσολογικής απόκρισης, όπου τόσο τα T όσο και τα B λεμφοκύτταρα παίζουν κρίσιμο ρόλο. Οι υποδοχείς TLRs παίζουν επίσης ρόλο στη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης μέσω άμεσης ή έμμεσης επίδρασης στη λειτουργία των CD4<sup>+</sup> και CD25<sup>+</sup> T ρυθμιστικών κυττάρων (Tregs), η οποία έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή τους και την επακόλουθη καταστολή της ανοσολογικής απόκρισης ή την αντιστροφή της καταστολής (αντι-καταστολή) (Linares-Fernández, 2020; Pascolo, 2015).

Μέχρι σήμερα, οι παραδοσιακές θεραπείες για τον καρκίνο περιλαμβάνουν τη χειρουργική επέμβαση, την ακτινοθεραπεία, τη χημειοθεραπεία, την ανοσοθεραπεία και συνδυαστικές

θεραπείες. Στον τομέα της ογκολογίας, ο εμβολιασμός με mRNA αναδεικνύεται ως μια πρωτοποριακή προσέγγιση, ανεξαρτήτως της μεθόδου χορήγησης. Γενικά, οι πλατφόρμες εμβολίων κατά του καρκίνου κατατάσσονται σε εμβόλια που βασίζονται σε κύτταρα, σε πεπτίδια, σε ιούς και σε νουκλεϊκά οξέα. Οι στόχοι-πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τις αλληλουχίες εμβολίων mRNA στην περίπτωση του καρκίνου μπορεί να περιλαμβάνουν:

- Νεοαντιγόνα ή μεταλλαγμένες πρωτεϊνικές μορφές που εκφράζονται αποκλειστικά από τον όγκο, λόγω αλλαγών στο DNA, εναλλακτικής ωρίμανσης του mRNA ή μετα-μεταγραφικών τροποποιήσεων. Αυτά χαρακτηρίζονται από υψηλή και ειδική για τον όγκο ανοσογονικότητα και μπορεί να σχετίζονται με τον τύπο του όγκου ή να είναι ειδικά για τον ασθενή αντιγόνα.
- Αντιγόνα σχετιζόμενα με όγκους (TAAs), τα οποία μπορεί να βρεθούν σε φυσιολογικό ιστό, αλλά η έκφρασή τους αποκλίνει ποσοτικά ή δομικά από τα φυσιολογικά πρότυπα. Η ετερογένεια και η αλληλεπικαλυπτόμενη έκφραση των TAAs σε συμπαγείς καρκίνους και υγιείς ιστούς καθιστά δύσκολη την εύρεση κατάλληλων στόχων για εξατομικευμένη θεραπεία, ιδιαίτερα με κύτταρα CAR-T.
- Φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως χημειοκίνες που απεκκρίνονται εξωκυτταρικά, όπως η IL-12 (ιντερλευκίνη-12) και ο GM-CSF (παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων), ή μόρια που εκφράζονται στην κυτταρική επιφάνεια, όπως ο TLR4 (υποδοχέας τύπου Toll 4).

Η απομόνωση αυτών των πρωτεϊνών και αλληλουχιών mRNA επέτρεψε τη δημιουργία κατάλληλων προτύπων DNA, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή διαφόρων εμβολίων mRNA που εφαρμόζονται σε διάφορους τύπους κακοηθειών (Σαΐτης, 2023).

### 3. Συστηματική Ανασκόπηση

Η συστηματική Ανασκόπηση συνεισφέρει σε μια πιο αντικειμενική προσέγγιση της βιβλιογραφίας συγκριτικά με μια αφηγηματική ανασκόπηση. Έτσι, συμβάλλει στην αποσαφήνιση θεμάτων όπου υφίσταται αβεβαιότητα, αλλά και στην αποκάλυψη πεδίων όπου η έρευνα ενδέχεται να είναι ελλιπής. Θεμελιώδη στοιχεία μιας συστηματικής ανασκόπησης είναι η διατύπωση του σκοπού και του ερευνητικού ερωτήματος, ο προσδιορισμός κριτηρίων εισόδου ή αποκλεισμού μιας μελέτης, η καταγραφή της στρατηγικής που ακολουθείται κατά την αναζήτηση των μελετών και η καταγραφή και ανάλυση των αποτελεσμάτων. Οι ανασκοπήσεις αποτελούν ουσιαστικά εργαλεία σύνθεσης και κριτικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων των πρωτογενών μελετών. Αντίθετα, οι αφηγηματικές ανασκοπήσεις συνιστούν μη αξιόπιστη πηγή πληροφορίας, καθώς είναι υποκειμενικές και είναι πιο εύκολο να προκύψει σφάλμα. Η επιλεκτική χρησιμοποίηση, σε τέτοιες ανασκοπήσεις, εργασιών που υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητα δοκιμαζόμενων θεραπευτικών μέτρων έναντι εκείνων που δεν τεκμηριώνουν τη δράση τους, αγνοώντας ταυτόχρονα σημαντικές παραμέτρους, όπως ο σχεδιασμός της μελέτης, το μέγεθος του δείγματος αλλά και του θεραπευτικού αποτελέσματος, καθιστούν προβληματική την αποδοχή των συμπερασμάτων τους. Το κενό αυτό αξιοπιστίας κάλυψαν τα τελευταία χρόνια οι συστηματικές ανασκοπήσεις (Καράσσα, 2006).

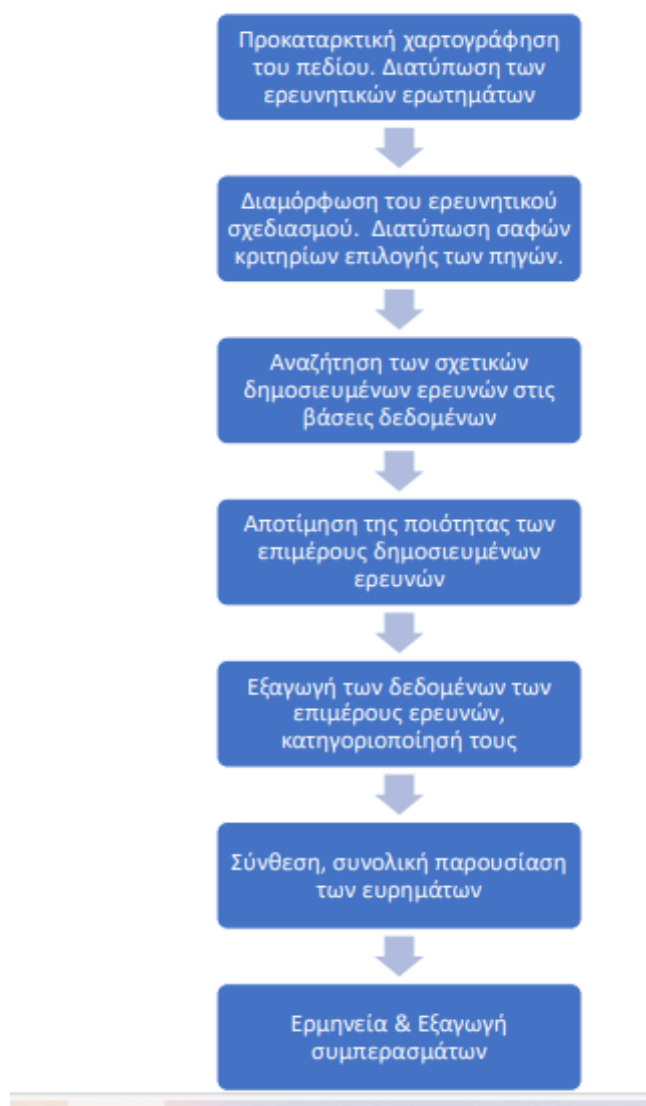
Ο όρος «Συστηματική Ανασκόπηση» (Systematic Review) χρησιμοποιείται με δύο βασικές έννοιες. Η πρώτη αναφέρεται σε μια συγκεκριμένη μέθοδο αξιολόγησης της συγκεντρωμένης έρευνας. Η δεύτερη αναφέρεται στο αποτέλεσμα της χρήσης αυτής της μεθόδου, το οποίο παίρνει τη μορφή επιστημονικής δημοσίευσης. Η συστηματική ανασκόπηση χαρακτηρίζεται από τη χρήση μιας σαφώς καθορισμένης ερευνητικής μεθόδου για την απάντηση σε συγκεκριμένα ερευνητικά ερωτήματα σχετικά με τη συγκεντρωμένη γνώση ή έρευνα σε έναν συγκεκριμένο τομέα. Στην περίπτωση της συστηματικής ανασκόπησης, η έρευνα πραγματοποιείται με συστηματικό και δομημένο τρόπο, αντί για τυχαίο ή αυθαίρετο. Στόχος της συστηματικής ανασκόπησης είναι να απαντήσει σε εστιασμένα ερευνητικά ερωτήματα μέσω της αξιολόγησης ολόκληρης της σχετικής βιβλιογραφίας, βάσει αυστηρά καθορισμένων κανόνων.

### 3.1 Αρχές που διέπουν μια Συστηματική Ανασκόπηση

Οι συστηματικές ανασκοπήσεις πρέπει να διέπονται από συγκεκριμένες αρχές προς αποφυγή σφαλμάτων. Οι κυριότερες από αυτές είναι οι εξής:

1. Διατύπωση ερευνητικού ερωτήματος: το ερευνητικό ερώτημα μιας συστηματικής ανασκόπησης πρέπει να είναι εστιασμένο και διατυπωμένο με σαφήνεια και διαφάνεια. Η διατύπωση του με αυτό το τρόπο, είναι κρίσιμη γιατί λειτουργεί ως οδηγός στην αναζήτηση.
2. Προσδιορισμός κριτηρίων εισόδου και αποκλεισμού μελετών: τα κριτήρια πρέπει να είναι σαφή και να ορίζεται η λογική που τα διέπει. Μερικά κριτήρια επιλογής ή απόρριψης μπορεί να είναι η γλώσσα του άρθρου, το χρονικό διάστημα εντοπισμού των άρθρων, η ηλικία των συμμετεχόντων σε μια κλινική δοκιμή κ.α.
3. Αναζήτηση και εντοπισμός κατάλληλων μελετών: Καθορίζονται οι βάσεις δεδομένων στις οποίες γίνεται η αναζήτηση, οι όροι που χρησιμοποιούνται για την αναζήτηση των άρθρων, ο συνδυασμός των όρων με και/ή/ όχι ώστε να αυξηθεί η πιθανότητα ανάκτησης κατάλληλων δημοσιεύσεων παρα το κόστος η αναζήτηση να πραγματοποιείται σε μεγαλύτερο αριθμό εργασιών.
4. Επιλογή των εργασιών: εδώ καταγράφονται οι μελέτες που έχουν επιλεγεί και ο αριθμός αλλά και η αιτία όσων έχουν αποκλειστεί.
5. Αποτίμηση μεθοδολογικής ποιότητας των πρωτογενών εργασιών: πρέπει να περιγραφούν και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την αποτίμηση του κινδύνου μεροληψίας των ερευνών και η αξιολόγηση τους με ποιοτικό, κυρίως, τρόπο.
6. Καταγραφή των δεδομένων: η καταγραφή γίνεται σε φόρμα και δίνεται ένα flowchart με τα βήματα.
7. Παρουσίαση και ερμηνεία αποτελεσμάτων: διαμορφώνεται ένας συγκεντρωτικός πίνακας που περιλαμβάνει τις έρευνες που έχουν συμπεριληφθεί οι οποίες κατηγοριοποιούνται και αναλύονται τα χαρακτηριστικά τους. Η κριτική αποτίμηση των ερευνών είναι απαραίτητη ώστε να αναδείξει τη συμβολή τους σε ένα συγκεκριμένο πεδίο γνώσης όπως και να εντοπίσει τους περιορισμούς και τις ανεπάρκειές τους (Καράσσα, 2006; Μπελλάλη, 2011).

Τελικά, πρέπει κατά τη συγγραφή μιας Συστηματικής Ανασκόπησης να υπάρχει ροή, ανάλυση και επιχειρηματολογία όπως σε κάθε επιστημονική εργασία. Συνοπτικά τα βήματα φαίνονται στο «Σχήμα 3.1-1».



Σχήμα 3.1-1 Συνοπτικά Βήματα Συστηματική Ανασκόπησης

Συνοψίζοντας, οι συστηματικές ανασκοπήσεις είναι δευτερογενείς ερευνητικές εργασίες, οι οποίες στηρίζονται σε συγκεκριμένες αρχές και απαιτούν ειδική μεθοδολογία υλοποίησης. Αρχικά, αποφασίζονται τα ερευνητικά της ερωτήματα, σχεδιάζεται το ερευνητικό πρωτόκολλο, καθορίζοντας τα κριτήρια αναζήτησης και επιλογής του υλικού που θα μελετηθεί, ορίζονται κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού των πρωτογενών μελετών, εντοπίζονται τα άρθρα που θα συμπεριληφθούν, αξιολογείται η ποιότητά τους και εξάγονται τα αποτελέσματα με ή χωρίς τις στατιστικές μεθόδους της μετα-ανάλυσης. Η αυστηρή επαγωγική διαδικασία με την οποία εξάγονται τα συμπεράσματα των συστηματικών ανασκοπήσεων, καθώς και η αναλυτική μεθοδολογία τους αποτελούν τα εχέγγυα της αξιοπιστίας τους (Μπελλάλη, 2011).

## **4. Αποτελεσματικότητα του εμβολίου mRNA στη θεραπεία του καρκίνου: Μια Συστηματική Ανασκόπηση.**

### **4.1 Εισαγωγή**

Σκοπός του συγκεκριμένου μέρους της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι να κάνει μια συστηματική ανασκόπηση γύρω από τον εμβολιασμό με mRNA που βοηθά στην αντιμετώπιση του καρκίνου και συγκεκριμένα στη θεραπεία της νόσου. Ουσιαστικά, στόχος είναι να εξετάσει και να αναλύσει την υπάρχουσα επιστημονική βιβλιογραφία σχετικά με τη χρήση του εμβολίου mRNA στη θεραπεία του καρκίνου. Η ανασκόπηση αυτή προσδιορίζει την τρέχουσα κατάσταση των ερευνών, αξιολογεί τα πλεονεκτήματα και τους περιορισμούς της χρήσης αυτών των τεχνικών στην αντιμετώπιση του καρκίνου, και εξετάζει τις προοπτικές για μελλοντικές εφαρμογές και έρευνες. Μέσω αυτής της ανασκόπησης, οι ερευνητές μπορούν να κατανοήσουν καλύτερα τον τρόπο με τον οποίο οι mRNA τεχνικές μπορούν να συμβάλουν στην αντιμετώπιση του καρκίνου και να καθορίσουν πιθανές κατευθύνσεις για μελλοντικές έρευνες και κλινικές εφαρμογές.

#### **4.1.1 Διατύπωση του ερευνητικού ερωτήματος**

Μια συστημική ανασκόπηση ξεκινά πάντα με τη σαφή διατύπωση του ερευνητικού ερωτήματος που σκοπεύουμε να μελετήσουμε. Στη παρούσα εργασία το ερευνητικό ερώτημα διατυπώνεται ως εξής: «Πόσο αποτελεσματικά είναι τα mRNA εμβόλια στη θεραπεία του καρκίνου;»

Συγκεκριμένα, στοχεύουμε να αξιολογήσουμε τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα των προσεγγίσεων που βασίζονται σε χορήγηση mRNA εμβολίου σε διάφορους τύπους καρκίνου, εξετάζοντας παράγοντες όπως τα ποσοστά απόκρισης του όγκου, η εξέλιξη της νόσου, η συνολική επιβίωση και τα αποτελέσματα ποιότητας ζωής.

Μέσω μιας περιεκτικής ανασκόπησης της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, επιδιώκουμε να αναλύσουμε τις δυνατότητες και τους περιορισμούς των εμβολίων mRNA στη θεραπεία του καρκίνου, να εντοπίσουμε πιθανούς στόχους που σχετίζονται με την ανταπόκριση στη θεραπεία και να διερευνήσουμε τους μηχανισμούς που διέπουν τα θεραπευτικά τους αποτελέσματα. Τελικά, αυτή η συστηματική ανασκόπηση στοχεύει να παρέχει

τεκμηριωμένες γνώσεις σχετικά με τον ρόλο των εμβολίων mRNA στη θεραπεία του καρκίνου και να ενημερώσει τις μελλοντικές κατευθύνσεις έρευνας σε αυτό το ταχέως εξελισσόμενο πεδίο.

## 4.2 Υλικό και Μέθοδος

### 4.2.1 Προσδιορισμός κριτηρίων εισόδου και αποκλεισμού μελετών

Τα κριτήρια για την αποδοχή άρθρων στη συγκεκριμένη Συστημική Ανασκόπηση αφορούν τη συνάφεια με το Ερευνητικό Ερώτημα δηλαδή περιλαμβάνονται κλινικές δοκιμές οι οποίες αφορούν άμεσα την αποτελεσματικότητα των εμβολίων mRNA στη θεραπεία του καρκίνου.

Ένα άλλο κριτήριο είναι ο πληθυσμός. Περιλαμβάνονται μελέτες που αφορούν ενήλικες ασθενείς με καρκίνο που λαμβάνουν θεραπείες βασισμένες σε mRNA εμβόλια.

Σημαντικό κριτήριο είναι η γλώσσα του άρθρου. Έχουν επιλεγεί άρθρα που είναι στα αγγλικά.

Τα κριτήρια για την απόρριψη των άρθρων σχετίζονται με την ηλικία των ασθενών καθώς μπορεί να υπάρχουν μελέτες που αφορούν παιδιά καθώς επίσης και αυτές που επικεντρώνονται αποκλειστικά στη σύνθεση ή τις μεθόδους χορήγησης mRNA χωρίς αξιολόγηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας στη θεραπεία του καρκίνου ή εάν έχουν σημαντικές μεθοδολογικές ατέλειες που θέτουν σε κίνδυνο την εγκυρότητα των ευρημάτων.

### 4.2.2 Αναζήτηση και εντοπισμός κατάλληλων μελετών

Απαραίτητη προϋπόθεση της συστηματικής αναζήτησης κατάλληλων δημοσιεύσεων είναι ο καθορισμός όρων ευρετηριασμού. Στη παρούσα Συστημική Ανασκόπηση η αναζήτηση πραγματοποιήθηκε από την ίδρυση της βάσης έως τον μήνα Μάιο του 2024 στο PubMed.

Το PubMed είναι μια δωρεάν βάση δεδομένων που υποστηρίζει την αναζήτηση και την ανάκτηση βιβλιογραφίας βιοϊατρικών ερευνών και βιοεπιστημών. Περιέχει περισσότερες από 37 εκατομμύρια αναφορές και περιλήψεις βιοϊατρικής βιβλιογραφίας. Δεν

περιλαμβάνει το πλήρες κείμενο, ωστόσο, υπάρχουν συχνά οι σύνδεσμοι για το πλήρες κείμενο όταν αυτό διατίθεται από άλλες πηγές.

Διαθέσιμο στο κοινό, διαδικτυακά, από το 1996, το PubMed αναπτύχθηκε και διατηρείται από το Εθνικό Κέντρο Πληροφοριών Βιοτεχνολογίας (NCBI), στην Εθνική Βιβλιοθήκη Ιατρικής των ΗΠΑ (NLM), που βρίσκεται στα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας (NIH).

Στη PubMed, χρησιμοποιήθηκαν οι όροι «mRNA», «vaccines» και «Cancer». Χρησιμοποιήθηκε το «AND» για σύνθετη αναζήτηση καθώς και το «NOT» για να εξαιρεθεί η περίπτωση της Covid-19 και το ερώτημα έτρεξε ως εξής: «mRNA AND vaccine AND cancer NOT Covid-19».

#### **4.2.3 Επιλογή εργασιών**

Η τελική επιλογή και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγιναν χειροκίνητα. Από κάθε μελέτη κατεγράφησαν τα εξής στοιχεία: ο αριθμός PMID, ο τίτλος, ο πρώτος συγγραφέας η χώρα και ο χρόνος διεξαγωγής, το είδος του καρκίνου, ο αριθμός των συμμετεχόντων, η χρήση του mRNA σε κάθε δοκιμή, η φάση της κλινικής δοκιμής και τέλος το αποτέλεσμα.

#### **4.2.4 Αποτίμηση μεθοδολογικής ποιότητας των πρωτογενών εργασιών**

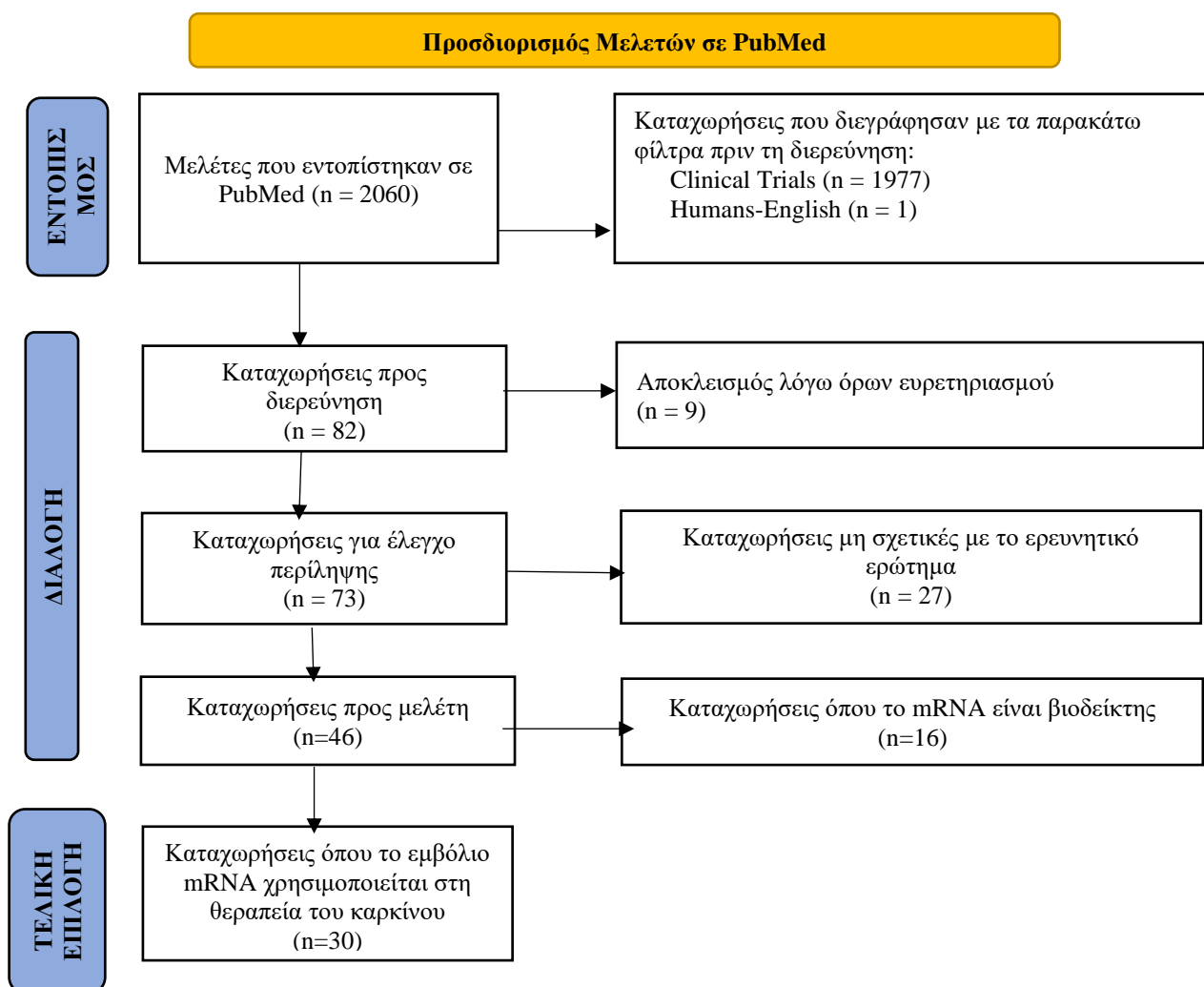
Στη παρούσα ανασκόπηση δεν έγινε αποτίμηση της ποιότητας των μελετών βάσει κάποιου συγκεκριμένου δημοσιευμένου εργαλείου, καθώς ο σκοπός της είναι κυρίως περιγραφικός και εστιάζει στο να εντοπίσει τη πρόοδο στο τομέα της χρήσης του mRNA στην αντιμετώπιση του καρκίνου.

### **4.3 Καταγραφή Αποτελεσμάτων**

Στο PubMed βρέθηκαν, αρχικά, τρέχοντας την αναζήτηση με τους όρους που προαναφέρθηκαν 2060 αποτελέσματα. Στη συνέχεια, ζητήθηκαν μόνο όσα ήταν Clinical trials και έμειναν 83. Σε αυτά μπήκε ως φίλτρο επιλογής το «Humans» και έμειναν 82 ενώ επιλέγοντας τη γλώσσα «English» παρέμειναν 82. Δεν εφαρμόστηκε το φίλτρο «Adults» προκειμένου να μην αφαιρεθούν άρθρα, στα οποία δεν γίνεται αναφορά ηλικίας. Ωστόσο



στη διερεύνηση που ακολούθησε, αποκλείστηκαν τα παιδιατρικά. Από το τίτλο και τη περίληψη των άρθρων αποκλείστηκαν 9 καθώς τα 4 αφορούσαν μελέτες σε ζώα, το ένα αφορούσε τη λύσσα, το άλλο ήταν παιδιατρικό και τα τρία δεν ήταν κλινικές δοκιμές. Στη συνέχεια από τα 73 αφαιρέθηκαν άλλα 27 τα οποία δεν αφορούσαν τον εμβολιασμό με mRNA (κάποια αφορούσαν εμβολιασμό με πεπτίδια σε περιπτώσεις καρκίνου) κ έμειναν 46 τα οποία αφορούσαν τη συμβολή του mRNA στη θεραπεία του καρκίνου. Από αυτά, 16 ήταν μελέτες με αναφορά στο mRNA ως βιοδείκτη ενώ 30 αναφέρονταν σε εμβολιασμό με mRNA, τα οποία τελικά, εντάχθηκαν στη Συστηματική Ανασκόπηση. Τα παραπάνω δεδομένα παρουσιάζονται στο «Σχήμα 4.3-1».



Σχήμα 4.3-1 Διάγραμμα Ροής της μελέτης σε PubMed

Στο τέλος, ακολουθεί ο «Πίνακας 4.3-13» όπου παρουσιάζονται συνοπτικά οι κλινικές μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στη Συστηματική Ανασκόπηση. Στο πίνακα υπάρχουν 3 μελέτες (με αύξοντα αριθμό 4,5,6) οι οποίες δεν έχουν αποτελέσματα καθώς αυτά δεν έχουν καταγραφεί. Η μελέτη με αύξοντα αριθμό 2 δεν είχε καμία πληροφορία καθώς αποτελεί σχολιασμό άλλης μελέτης, η οποία ενσωματώθηκε στο πίνακα.

Οι κλινικές δοκιμές που προέκυψαν από την αναζήτηση στη βάση δεδομένων χρονικά είναι όλες μετά το 2000, με 2 από αυτές να είναι μέσα στο 2024 και να μην έχουν δώσει ακόμα αποτελέσματα. Όσον αφορά τη χώρα που έχουν γίνει, 9 έχουν τρέξει στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής ενώ άλλες τόσες αφορούν το Βέλγιο, 4 την Ολλανδία, από 3 την Ελβετία, τη Γερμανία, τη Νορβηγία, και τέλος από 1 την Ισπανία, τη Δανία, τη Σουηδία, το Ηνωμένο Βασίλειο και τέλος από 1 την Ιαπωνία και το Κατάρ, με 3 από αυτές να συμβαίνουν σε πάνω από μια χώρα.

Οι κλινικές δοκιμές που αφορούν το mRNA ως θεραπεία είναι είτε σε πιλοτική φάση ή σε φάση I ή/και II. Συγκεκριμένα, από αυτές που συμπεριελήφθησαν στη παρούσα εργασία, 4 είναι στη φάση «Pilot», 6 σε «Phase I», 8 σε «Phase II» ενώ 12 βρίσκονται στα στάδια των φάσεων 1 και 2 «Phase I/II». Σε μια κλινική δοκιμή, οι φάσεις αποτελούν τα στάδια από τα οποία πρέπει να περάσει η δοκιμή αυτή προκειμένου να δοθεί η θεραπεία στο ευρύ κοινό.

Η πιλοτική φάση (Pilot Phase) σε μια κλινική δοκιμή αναφέρεται συνήθως σε μια μικρής κλίμακας μελέτη που πραγματοποιείται πριν από τις επίσημες φάσεις (Φάσεις I-IV). Αυτή η φάση μπορεί να περιλαμβάνει τη Μελέτη Σκοπιμότητας (Feasibility Study), τη Δοκιμή Πρωτοκόλλου (Protocol Testing) και τη Προκαταρκτική Αξιολόγηση Ασφάλειας και Αποτελεσματικότητας (Preliminary Assessment of Safety and Efficacy). Μπορεί να περιλαμβάνει έναν μικρό αριθμό συμμετεχόντων και διαρκεί συνήθως για μικρό χρονικό διάστημα. Τα αποτελέσματα αυτής της φάσης χρησιμοποιούνται για να γίνουν απαραίτητες προσαρμογές στο σχεδιασμό της κύριας κλινικής δοκιμής και για να διασφαλιστεί ότι οι επίσημες φάσεις θα διεξαχθούν αποτελεσματικά και με ασφάλεια.

Στη συνέχεια, οι φάσεις μιας κλινικής δοκιμής χωρίζονται συνήθως στη Φάση I (Phase I) όπου αξιολογείται η ασφάλεια και η ανεκτικότητα ενός νέου φαρμάκου ή θεραπείας, με μικρό αριθμό συμμετεχόντων. Ακολουθεί η Φάση II (Phase II) όπου εξετάζεται η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου και συνεχίζεται η αξιολόγηση της ασφάλειας, ενώ καθορίζονται οι δόσεις και οι παρενέργειες. Στη συνέχεια, η Φάση III (Phase III) που

επιβεβαιώνει την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του φαρμάκου σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Τέλος η Φάση IV (Phase IV) όπου παρακολουθούνται οι μακροπρόθεσμες επιδράσεις και η ασφάλεια του φαρμάκου μετά την έγκριση και την κυκλοφορία του στην αγορά (Κοσμίδης, 2021).

Κάθε φάση έχει συγκεκριμένο ρόλο και βοηθά στην εξασφάλιση ότι το νέο φάρμακο ή θεραπεία είναι τόσο ασφαλές όσο και αποτελεσματικό πριν να καταστεί διαθέσιμο στο ευρύ κοινό.

Στη παρούσα εργασία, οι κλινικές μελέτες που διερευνώνται βρίσκονται όπως ήδη αναφέρθηκε σε Pilot, Phase I ή και Phase II και έχουν μικρό αριθμό συμμετεχόντων που κυμαίνεται από μόλις 3 έως 54 άτομα με καρκίνο.

### **Γαστρεντερικός Καρκίνος**

Οι κλινικές δοκιμές αφορούν διάφορους τύπους καρκίνου. Ειδικότερα, η πρώτη μελέτη αφορά τον μεταστατικό γαστρεντερικό καρκίνο όπως δείχνει ο «Πίνακας 4.3-1». Αναπτύχθηκε μια διαδικασία χρησιμοποιώντας διηθητικά λεμφοκύτταρα του όγκου για την ταυτοποίηση συγκεκριμένων ανοσογονικών μεταλλάξεων που εκφράζονται στους όγκους των ασθενών. Επικυρωμένα, καθορισμένα νεοαντιγόνα, προβλεπόμενα νεοεπιτόπια και μεταλλάξεις γονιδίων-οδηγών συνενώθηκαν σε ένα ενιαίο mRNA εμβόλιο για ασθενείς με μεταστατικό γαστρεντερικό καρκίνο. Το εμβόλιο ήταν ασφαλές και προκάλεσε ειδικές για τη μετάλλαξη αντιδράσεις T κυττάρων εναντίον των προβλεπόμενων νεοεπιτοπίων που δεν ανιχνεύθηκαν πριν από τον εμβολιασμό. Επιπλέον, απομονώθηκαν υποδοχείς T κυττάρων που στοχεύουν τη μετάλλαξη KRASG12D. Δεν παρατηρήθηκαν αντικειμενικές κλινικές αποκρίσεις στους 4 ασθενείς που έλαβαν μέρος στη δοκιμή αυτή.

<b>Είδος Καρκίνου</b>	<b>Αριθμός Δοκιμών</b>	<b>Χρήση mRNA</b>	<b>Αποτελέσματα</b>
Γαστρεντερικός Καρκίνος	1	Εμβόλιο mRNA με επικυρωμένα, καθορισμένα νεοαντιγόνα, προβλεπόμενα νεοεπιτόπια και μεταλλάξεις γονιδίων-οδηγών.	Το εμβόλιο ήταν ασφαλές και προκάλεσε ειδικές αντιδράσεις T κυττάρων για τη μετάλλαξη, που δεν ανιχνεύθηκαν πριν τον εμβολιασμό. Επίσης, απομονώθηκαν υποδοχείς T κυττάρων που στοχεύουν τη μετάλλαξη KRASG12D.

**Πίνακας 4.3-1 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για Γαστρεντερικό καρκίνο**

### Αδενοκαρκίνωμα Παγκρεατικού Πόρου

Η επόμενη μελέτη αφορά το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου, «Πίνακας 4.3-2». Το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC) περιέχει νεοαντιγόνα T κυττάρων που προέρχονται από μεταλλάξεις και είναι κατάλληλα για εμβόλια. Η συγκεκριμένη δοκιμή (Phase I) αφορά ένα εξατομικευμένο εμβόλιο νεοαντιγόνων βασισμένο σε νανοσωματίδια mRNA-λιποπλέγματος ουριδίνης, το οποίο συντέθηκε σε πραγματικό χρόνο από χειρουργικά αφαιρεθέντες όγκους PDAC. Μετά τη χειρουργική επέμβαση, χορηγήθηκε διαδοχικά μια ανοσοθεραπεία κατά του PD-L1, το και μια τροποποιημένη έκδοση ενός θεραπευτικού σχήματος τεσσάρων φαρμάκων που περιλαμβάνει φυλλινικό οξύ, φθοριοουρακίλη, ιρινοτεκάνη και οξαλιπλατίνη. Τα τελικά σημεία περιλάμβαναν τα νεοαντιγόνα-ειδικά T κύτταρα που προκλήθηκαν από το εμβόλιο, την επιβίωση χωρίς υποτροπή για 18 μήνες και την ογκολογική εφικτότητα. Αποδείχτηκε ότι τα παραπάνω προκαλούν σημαντική δραστηριότητα T κυττάρων που μπορεί να συσχετίζεται με καθυστερημένη υποτροπή του PDAC.

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Αδενοκαρκίνωμα Παγκρεατικού Πόρου (PDAC)	1	Ένα εξατομικευμένο εμβόλιο νεοαντιγόνων από νανοσωματίδια mRNA-λιποπλέγματος ουριδίνης συντέθηκε από χειρουργικά αφαιρεθέντες όγκους PDAC. Μετά την επέμβαση, χορηγήθηκε ανοσοθεραπεία κατά του PD-L1 και μια τροποποιημένη θεραπεία τεσσάρων φαρμάκων: φυλλινικό οξύ, φθοριοουρακίλη, ιρινοτεκάνη και οξαλιπλατίνη.	Τα τελικά σημεία περιλάμβαναν την πρόκληση νεοαντιγόνων-ειδικών T κυττάρων από το εμβόλιο, την επιβίωση χωρίς υποτροπή για 18 μήνες και την ογκολογική εφικτότητα. Αποδείχτηκε ότι αυτά προκαλούν σημαντική δραστηριότητα T κυττάρων που μπορεί να συσχετίζεται με καθυστερημένη υποτροπή του PDAC.

Πίνακας 4.3-2 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για PDAC

### **Πολλαπλό Μυέλωμα**

Δυο δοκιμές είναι για το πολλαπλό μυέλωμα (3 & 20) όπως δείχνει ο «Πίνακας 4.3-3». Στη πρώτη, πραγματοποιήθηκε μια δοκιμή (Phase I) εμβολίου για να προσδιοριστεί η ασφάλεια, η τοξικότητα και η ανοσογονικότητα των αυτόλογων δενδριτικών κυττάρων τύπου Langerhans (LCs) που ηλεκτροπορίθηκαν με mRNA των CT7, MAGE-A3 και Wilms tumor 1 (WT1), μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (ASCT) για το πολλαπλό μυέλωμα (MM). Τα αυτόλογα δενδριτικά κύτταρα τύπου Langerhans (LCs) που ηλεκτροπορίθηκαν με mRNA των CT7, MAGE-A3 και Wilms tumor 1 (WT1) τα οποία κωδικοποιούν τα αντιγόνα CT7, MAGE-A3 και Wilms tumor 1 (WT1), πρωτεΐνες που εκφράζονται στους καρκινικούς όγκους, είναι μια εξειδικευμένη μορφή ανοσοθεραπείας που χρησιμοποιείται μετά από ASCT για το MM. Οι εμβολιασμένοι ασθενείς ανέπτυξαν ήπιες τοπικές αντιδράσεις υπερευαισθησίας καθυστερημένου τύπου μετά τα ενισχυτικά εμβόλια, αλλά δεν παρατηρήθηκαν τοξικότητες που να υπερβαίνουν τον βαθμό 1. Ένα και τρεις μήνες μετά τα εμβόλια, τα CD4 και CD8 T- κύτταρα που αναγνωρίζουν τα αντιγόνα αύξησαν την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (ιντερφερόνη-γ, ιντερλευκίνη-2 και παράγοντας νέκρωσης όγκων-α) πάνω από τα επίπεδα πριν από τον εμβολιασμό, και επίσης ρύθμισαν προς τα πάνω τον δείκτη κυτταροτοξικότητας CD107a. Η ανάλυση των CD4 και CD8 T -κυττάρων έδειξε τάση για αυξημένη κλωνική επέκταση στην ομάδα του εμβολίου, η οποία ήταν πιο έντονη στα CD4. Αν και η μελέτη δεν είχε τη δύναμη να αξιολογήσει την κλινική αποτελεσματικότητα, οι αποκρίσεις στη θεραπεία ήταν υπέρ της ομάδας του εμβολίου. Στην επόμενη που αφορά την ίδια νόσο (20), πραγματοποιήθηκε μια δοκιμή (Phase I) με σκοπό να διερευνηθεί η ασφάλεια και οι ανοσολογικές επιδράσεις του εμβολιασμού με δενδριτικά κύτταρα (DCs) φορτωμένα με mRNA TAA για τη θεραπεία της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (MRD) σε MM μετά από ASTC. Τα πλασματοκύτταρα του μυελώματος εκφράζουν αντιγόνα που σχετίζονται με όγκους (TAA), τα οποία αποτελούν ενδιαφέροντες στόχους για ανοσοθεραπεία. Τα ευρήματα του εμβολιασμού δείχνουν ότι τα ώριμα DCs που ηλεκτροπορίθηκαν με mRNA TAA είναι ικανά να προκαλέσουν αποκρίσεις T-κυττάρων κατά των TAA σε ασθενείς με MM μετά από ASCT.

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Πολλαπλό Μυέλωμα	2	Μια εξειδικευμένη μορφή ανοσοθεραπείας με αυτόλογα δενδριτικά κύτταρα τύπου Langerhans (LCs) που ηλεκτροπορίθηκαν με mRNA των CT7, MAGE-A3 και Wilms tumor 1 (WT1) τα οποία κωδικοποιούν τα αντιγόνα CT7, MAGE-A3 και Wilms tumor 1 (WT1), πρωτεΐνες που εκφράζονται στους καρκινικούς όγκους.	Οι εμβολιασμένοι ασθενείς ανέπτυξαν ήπιες τοπικές αντιδράσεις υπερευαισθησίας καθυστερημένου τύπου μετά τα ενισχυτικά εμβόλια, αλλά δεν παρατηρήθηκαν τοξικότητες που να υπερβαίνουν τον βαθμό 1. Αν και η μελέτη δεν είχε τη δύναμη να αξιολογήσει την κλινική αποτελεσματικότητα, οι αποκρίσεις στη θεραπεία ήταν υπέρ της ομάδας του εμβολίου.
		Εμβολιασμός με δενδριτικά κύτταρα (DC) φορτωμένα με mRNA TAA για τη θεραπεία της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (MRD) σε MM μετά από ASCT.	Τα ώριμα DCs που ηλεκτροπορίθηκαν με mRNA TAA είναι ικανά να προκαλέσουν αποκρίσεις T-κυττάρων κατά των TAA σε ασθενείς με MM μετά από ASCT.

**Πίνακας 4.3-3 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για Πολλαπλό Μυέλωμα**

### **Μη Μικροκυτταρικός Καρκίνος του Πνεύμονα**

Δυο μελέτες από τις 30 αφορούν τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC), όπως απεικονίζει ο «Πίνακας 4.3-4». Στη μελέτη με α/α 4 σκοπός ήταν να αξιολογηθεί η ασφάλεια και η ανεκτικότητα του εμβολιασμού με το CV9202 σε συνδυασμό με την τοπική ακτινοθεραπεία που έχει σχεδιαστεί για να ενισχύσει τις ανοσολογικές αποκρίσεις και περιλαμβάνει ασθενείς με στάδιο IV NSCLC και ανταπόκριση ή σταθερή νόσο μετά από θεραπεία πρώτης γραμμής με χημειοθεραπεία ή με αναστολέα τυροσινικής κινάσης του EGFR αλλά δεν υπάρχουν δημοσιευμένα αποτελέσματα. Ωστόσο, η μελέτη με α/α 8, η οποία έδωσε αποτελέσματα 5 χρόνια μετά, από τον ίδιο ερευνητή, κύριος στόχος της δοκιμής ήταν η αξιολόγηση της ασφάλειας του CV9201 (προηγούμενο σκεύασμα από το CV9202), μιας ανοσοθεραπείας κατά του καρκίνου βασισμένης στο RNaActive® που

κωδικοποιεί πέντε αντιγόνα μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα: το New York esophageal squamous cell carcinoma-1, την οικογένεια αντιγόνων μελανώματος C1/C2, το survivin και τη γλυκοπρωτεΐνη τροφοβλάστη. Δευτερεύοντες στόχοι περιλάμβαναν την αξιολόγηση των αντισωμάτων και των αποκρίσεων των Τ-κυττάρων ex vivo έναντι των πέντε αντιγόνων και τις αλλαγές στους πληθυσμούς των ανοσοκυττάρων. Το αποτέλεσμα ήταν ότι η ανοσοθεραπεία CV9201 έδειξε αποδεκτό προφίλ ανεκτικότητας και ενδείξεις ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος, ενώ επισημαίνεται ότι το διάδοχο εμβόλιο CV9202 διερευνάται σε συνδυασμό με αντισώματα που εμποδίζουν τους σημειακούς ελέγχους (checkpoint inhibitors) χρησιμοποιώντας τεχνική χορήγησης χωρίς βελόνα, η οποία έχει δείξει ότι βελτιώνει την ανοσογονικότητα άλλων εμβολίων mRNA διαμορφωμένων με πρωταμίνη.

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (NSCLC)	2	Ανοσοθεραπεία κατά του καρκίνου βασισμένης στο RNAActive® που κωδικοποιεί πέντε αντιγόνα μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα	Η ανοσοθεραπεία CV9201 έδειξε αποδεκτή ανεκτικότητα και ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Το διάδοχο εμβόλιο CV9202 διερευνάται σε συνδυασμό με αντισώματα που εμποδίζουν τους σημειακούς ελέγχους (checkpoint inhibitors) και χορηγείται χωρίς βελόνα, μια τεχνική που έχει βελτιώσει την ανοσογονικότητα άλλων mRNA εμβολίων με πρωταμίνη.

Πίνακας 4.3-4 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για το NSCLC

### Μελάνωμα

Δέκα μελέτες αναφέρονται σε προχωρημένο μεταστατικό μελάνωμα, «Πίνακας 4.3-5». Συγκεκριμένα οι μελέτες στο συγκεντρωτικό πίνακα αποτελεσμάτων με α/α 5, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 23, 26, 30. Τρεις από αυτές είναι σε φάση «Pilot», τέσσερις σε «Phase II» και άλλες τρεις σε «Phase I/II». Η μια μελέτη είναι πρόσφατη, με δημοσίευση τον Απρίλιο του 2024, χωρίς διακριτά αποτελέσματα αλλά με σαφή ένδειξη υπεροχής για το εμβόλιο σε συνδυασμό με αντι-PD-1 όσον αφορά την επιβίωση χωρίς υποτροπή. Σε 8 μελέτες, το mRNA χρησιμοποιείται με αυτόλογα δενδριτικά κύτταρα. Στη μελέτη 10 το TriMixDC,

ένας συνδυασμός τριών μορίων (CD70, CD40 ligand, και συντακτικά ενεργό TLR4) που έχουν ενσωματωθεί στα δενδριτικά κύτταρα μέσω ηλεκτροπόρωσης mRNA, με σκοπό να ενεργοποιήσουν τα κύτταρα αυτά και να ενισχύσουν την ικανότητά τους να ενεργοποιούν τα T-κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος), συνδυάζεται με το ipilimumab. Η θεραπεία TriMixDC-MEL IPI έχει ως αποτέλεσμα ισχυρές αποκρίσεις CD8<sup>+</sup> T-κυττάρων σε σημαντικό τμήμα ασθενών με μελάνωμα σταδίου III ή IV και προφανώς σε ασθενείς με κλινική ανταπόκριση. Τα επίπεδα πολυλειτουργικών και πολυαντιγονικών αποκρίσεων T-κυττάρων που μετρούνται σε ασθενείς με πλήρη ανταπόκριση, ιδιαίτερα σε ασθενείς που θεραπεύτηκαν εμφανώς μετά από 5+ χρόνια παρακολούθησης, μπορεί να αποτελέσουν σημείο αναφοράς για το επίπεδο ανοσοδιέγερσης που απαιτείται για την επίτευξη διαρκούς κλινικής ύφεσης.

Στη μελέτη 11 και στη μελέτη 23 αξιολογήθηκε η δυνατότητα εφαρμογής, η ασφάλεια και η ανοσογονικότητα ενός θεραπευτικού εμβολίου που περιέχει αυτόλογα TriMixDC συν-ηλεκτροπορωμένα με mRNA το οποίο κωδικοποιεί ένα σήμα στόχευσης της κατηγορίας II του ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου συνδεδεμένο με ένα από τα 4 αντιγόνα που σχετίζονται με το μελάνωμα (MAGE-A3, MAGE-C2, τυροσινάση και gp100) σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα ενώ μπορούσαν να λάβουν και ιντερφερόνη-άλφα-2β (IFN-α-2β). Κατά τη διάρκεια της συνδυαστικής θεραπείας με TriMixDC/IFN-α-2β, παρατηρήθηκε μία μερική ανταπόκριση και πέντε σταθερές ασθένειες (έλεγχος της νόσου για >6 μήνες με υποχώρηση των μεταστάσεων) σε 17 ασθενείς με αξιολογήσιμη νόσο κατά την έναρξη της θεραπείας. Συμπερασματικά, αυτή η μελέτη έδειξε ότι ο θεραπευτικός εμβολιασμός με αυτόλογα TriMixDC είναι εφικτός, ασφαλής και ανοσογόνος και μπορεί να συνδυαστεί με διαδοχική IFN-α-2β.

Στη μελέτη 12 έχουμε χρήση του TriMix DC-MEL η οποία έδειξε ότι 71% των ασθενών ήταν ζωντανοί, χωρίς σημάδια της νόσου ενώ το διάστημα μέχρι την επανεμφάνιση του μελανώματος ήταν μεγαλύτερο. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες (AE) που σχετίζονται με το TriMixDC-MEL περιελάμβαναν παροδικές τοπικές δερματικές αντιδράσεις, συμπτώματα γρίπης και ρίγη μετά την έγχυση. Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες βαθμού  $\geq 3$ .

Στη μελέτη με αριθμό 30, ο εμβολιασμός με TriMixDC-MEL οδήγησε στη διέγερση της απόκρισης των T-κυττάρων κατά των παρουσιαζόμενων αντιγόνων που σχετίζονται με τον όγκο (TAAs). Στις τρέχουσες κλινικές δοκιμές, οι ασθενείς με μελάνωμα με συστηματικές μεταστάσεις υποβάλλονται σε θεραπεία, απαιτώντας αρχική διέγερση και/ή επέκταση των



προϋπαρχόντων Τ-κυττάρων ειδικών για τα ΤΑΑ που μπορούν να μεταναστεύσουν τόσο στο δέρμα όσο και στα εσωτερικά όργανα. Παρακολουθήσαμε την παρουσία των Τ-κυττάρων CD8(+) ειδικών για τα ΤΑΑ που διείσδυσαν στο δέρμα στα σημεία της ενδοδερμικής ένεσης TriMixDC-MEL (SKILs) και στην κυκλοφορία των ασθενών με μελάνωμα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία σε δύο κλινικές δοκιμές. Σε 10 από τους 14 (71%) ασθενείς που εξετάστηκαν, τα Τ-κύτταρα CD8(+) που αναγνώρισαν οποιοδήποτε από τα τέσσερα ΤΑΑ που παρουσιάζονται από το κυτταρικό εμβόλιο TriMixDC-MEL βρέθηκαν και στα δύο διαμερίσματα. Συνολικά, 30 αποκρίσεις Τ-κυττάρων ειδικών για τα ΤΑΑ ανιχνεύθηκαν μεταξύ των SKILs και 29 μεταξύ των Τ-κυττάρων του περιφερικού αίματος, εκ των οποίων οι 24 ήταν κοινές. Ένας λεπτομερής χαρακτηρισμός της ειδικότητας των αντιγόνων των πληθυσμών των Τ-κυττάρων CD8(+) σε τέσσερις ασθενείς δείχνει ότι η πλειοψηφία των επιτόπων που ανιχνεύθηκαν αναγνωρίστηκαν μόνο από τα Τ-κύτταρα CD8(+) που προέρχονται είτε από δερματικές βιοψίες είτε από περιφερικό αίμα, υποδεικνύοντας ότι λαμβάνει χώρα κάποια διαμερισματοποίηση μετά τη θεραπεία με TriMixDC. Συμπερασματικά, τα λειτουργικά Τ-κύτταρα CD8(+) ειδικά για τα ΤΑΑ κατανέμονται τόσο στο δέρμα όσο και στο περιφερικό αίμα των ασθενών μετά τη θεραπεία με TriMixDC-MEL.

Στη μελέτη 13 καθώς και στη 16 αναπτύχθηκε ένα εξατομικευμένο εμβόλιο για το μελάνωμα, βασισμένο στη μεταφορά αυτόλογων δενδριτικών κυττάρων (DCs) με mRNA από τον αυτόλογο όγκο. Τα δενδριτικά κύτταρα που έχουν φορτωθεί με πλήρες mRNA από τον όγκο μπορεί να παράγουν μια ανοσοαπόκριση έναντι ενός ευρέος ρεπερτορίου αντιγόνων, συμπεριλαμβανομένων των μοναδικών αντιγόνων που είναι συγκεκριμένα για τον ασθενή. Ο σκοπός των μελετών ήταν να αξιολογηθεί η δυνατότητα εφαρμογής και η ασφάλεια του εμβολίου, καθώς και η ικανότητα των DCs να προκαλούν αποκρίσεις των Τ-κυττάρων σε ασθενείς με μελάνωμα. Φαίνεται ότι η ανοσο-γονιδιακή θεραπεία με το περιγραφόμενο εμβόλιο DC είναι εφικτή και ασφαλής, και ότι το εμβόλιο μπορεί να προκαλέσει *in vivo* αποκρίσεις Τ-κυττάρων έναντι των αντιγόνων που κωδικοποιούνται από το μεταφερθέν mRNA του όγκου.

Στη μελέτη 17 εξετάστηκε αν η σισπλατίνη έχει δείξει ανοσορυθμιστικές επιδράσεις *in vivo*, που μπορεί να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα του εμβολιασμού με DC. Οι ασθενείς εμβολιάστηκαν με DC που προέρχονται από μονοκύτταρα και φορτώθηκαν με mRNA για gp100 και τυροσινάση, με ή χωρίς σισπλατίνη. Τέσσερις ασθενείς σταμάτησαν

τη σισπλατίνη λόγω τοξικότητας και συνέχισαν μόνο με DC μονοθεραπεία. Δεν εμφανίστηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες βαθμού 3 ή 4 σχετιζόμενες με τη μονοθεραπεία με DC. Κατά τη διάρκεια της συνδυαστικής θεραπείας, συνέβη μία ανεπιθύμητη ενέργεια βαθμού 3 σχετιζόμενη με τη θεραπεία, η απορρύθμιση καρδιακής ανεπάρκειας λόγω υπερφόρτωσης υγρών. Οι κλινικοί παράμετροι αποτελέσματος δεν έδειξαν σαφείς σημαντικές διαφορές.

Τέλος, η μελέτη 26 που εξετάζει την άμεση ένεση γυμνού αγγελιαφόρου RNA (mRNA) που κωδικοποιεί τα αντιγόνα του όγκου. Από κάθε έναν εκ των 15 ασθενών αφαιρέθηκε μια αναπτυσσόμενη μετάσταση, απομονώθηκε ολικό RNA, έγινε αντίστροφη μεταγραφή, ενίσχυση και κλωνοποίηση. Οι βιβλιοθήκες cDNA μεταγράφηκαν για να παραχθούν απεριόριστες ποσότητες αντιγράφων mRNA. Οι αυτόλογες παρασκευές εφαρμόστηκαν ενδοδερμικά σε συνδυασμό με παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων ως ανοσοενισχυτικό. Η θεραπεία φάνηκε να είναι εφικτή και ασφαλής. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση της ανοσοαπόκρισης κατά του όγκου σε ορισμένους ασθενείς. Ωστόσο, η απόδειξη της κλινικής αποτελεσματικότητας της άμεσης έγχυσης αντιγράφων mRNA για αντικαρκινική ανοσοθεραπεία δεν επιβεβαιώθηκε σε αυτή τη μελέτη και πρέπει να αξιολογηθεί σε επόμενες δοκιμές.

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Μελάνωμα	10	TriMixDC	Ισχυρές αποκρίσεις CD8 <sup>+</sup> T-κυττάρων σε σημαντικό τμήμα ασθενών με μελάνωμα σταδίου III ή IV και προφανώς σε ασθενείς με κλινική ανταπόκριση.

		TriMix-DC/IFN- $\alpha$ -2 $\beta$	Ο θεραπευτικός εμβολιασμός με αυτόλογα TriMixDC είναι εφικτός, ασφαλής και ανοσογόνος και μπορεί να συνδυαστεί με διαδοχική IFN- $\alpha$ -2 $\beta$ .
		TriMixDC-MEL IPI	Συμπερασματικά, τα λειτουργικά T-κύτταρα CD8(+) ειδικά για τα TAA κατανέμονται τόσο στο δέρμα όσο και στο περιφερικό αίμα των ασθενών μετά τη θεραπεία με TriMixDC-MEL
		Γυμνό mRNA	Η απόδειξη της κλινικής αποτελεσματικότητας της άμεσης έγχυσης αντιγράφων mRNA για αντικαρκινική ανοσοθεραπεία δεν επιβεβαιώθηκε σε αυτή τη μελέτη και πρέπει να αξιολογηθεί σε επόμενες δοκιμές.

Πίνακας 4.3-5 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για το Μελάνωμα

### **Γλοιοβλάστωμα**

Η μελέτη 9 έδειξε ότι εμβόλια δενδριτικών κυττάρων (DCs) με mRNA που κωδικοποιεί την γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των λυσοσωμάτων που σχετίζεται με το pp65 και έχουν αναμιχθεί με τον παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF) προσφέρουν αυξημένη επιβίωση χωρίς επιδείνωση (PFS) καθώς και συνολική επιβίωση (OS).

Στην κλινική δοκιμή 14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του εμβολιασμού 7 ασθενών με γλοιοβλάστωμα με εμβόλιο βασισμένο σε δενδριτικά κύτταρα (DC) με mRNA από τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSCs) που τα στοχεύει. Μια ανοσοαπόκριση που προκλήθηκε από τον εμβολιασμό ταυτοποιήθηκε και στους επτά ασθενείς. Κανένας ασθενής δεν εμφάνισε ανεπιθύμητα αυτοάνοσα συμβάντα ή άλλες παρενέργειες. Σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες, η επιβίωση χωρίς εξέλιξη ήταν 2,9 φορές μεγαλύτερη στους εμβολιασμένους ασθενείς. Συνοπτικά τα αποτελέσματα παρουσιάζει ο «Πίνακας 4.3-6».

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Γλοιοβλάστωμα	2	Εμβόλια δενδριτικών κυττάρων (DCs) με mRNA που κωδικοποιεί την γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των λυσοσωμάτων που σχετίζεται με το p96 και έχουν αναμιχθεί με τον παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF)	Αυξημένη επιβίωση χωρίς επιδείνωση (PFS) καθώς και συνολική επιβίωση (OS)
		Εμβόλιο βασισμένο σε δενδριτικά κύτταρα (DCs) με mRNA από τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSCs) που τα στοχεύει	Κανένας ασθενής δεν εμφάνισε ανεπιθύμητα αυτοάνοσα συμβάντα ή άλλες παρενέργειες. Σε σύγκριση με τους αντίστοιχους μάρτυρες, η επιβίωση χωρίς εξέλιξη ήταν 2,9 φορές μεγαλύτερη στους εμβολιασμένους ασθενείς.

**Πίνακας 4.3-6 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για το Γλοιοβλάστωμα**

### **Καρκίνος του Προστάτη (CRPC)**

Οι μελέτες 18 και 19 αφορούν τον μεταστατικό καρκίνο του προστάτη, «Πίνακας 4.3-7». Στη 18 ερευνήθηκε εάν η προσθήκη ενός αυτόλογου δενδριτικού εμβολίου κατά του καρκίνου (DCvac) προκαλεί ανοσοαπόκριση σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη ανθεκτικό στον μεταστατικό ευνουχισμό που έλαβαν θεραπεία με docetaxel. Διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη DCvac ήταν ασφαλής και ότι ανιχνεύθηκαν ανοσολογικές αποκρίσεις περίπου στους μισούς από τους ασθενείς που ερευνήθηκαν. Στη 19 εξετάστηκε η ανοσολογική απόκριση και το κλινικό αποτέλεσμα του εμβολιασμού με μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα CD1c+ (mDCs, cDC2) και πλασματοκυτταροειδή DCs (pDCs) που προέρχονται από αίμα και διαπιστώθηκε αντίστοιχα ότι η ανοσοθεραπεία με υποσύνολα DC προερχόμενα από το αίμα ήταν εφικτή και ασφαλής και προκάλεσε λειτουργικά αντιγονο-ειδικά T κύτταρα. Η παρουσία λειτουργικών αντιγονοειδικών T κυττάρων συσχετίστηκε με βελτιωμένη κλινική έκβαση.

<b>Είδος Καρκίνου</b>	<b>Αριθμός Δοκιμών</b>	<b>Χρήση mRNA</b>	<b>Αποτελέσματα</b>
Καρκίνος του Προστάτη (CRPC)	2	Αυτόλογο δενδριτικό εμβόλιο (DCvac)	Ασφαλές και ανίχνευση ανοσολογικών αποκρίσεων στους μισούς ασθενείς περίπου.
		Εμβολιασμός με μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα CD1c+ (mDCs, cDC2) και πλασματοκυτταροειδή DCs (pDCs)	Η ανοσοθεραπεία με υποσύνολα DC προερχόμενα από το αίμα ήταν εφικτή και ασφαλής και προκάλεσε λειτουργικά αντιγονο-ειδικά T κύτταρα. Η παρουσία τους συσχετίστηκε με βελτιωμένη κλινική έκβαση.

**Πίνακας 4.3-7 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο του Προστάτη**

### **Καρκίνος της Μήτρας**

Στη μελέτη 15, ασθενείς με καρκίνο της μήτρας έλαβαν εμβόλιο με αυτόλογα δενδριτικά κύτταρα ηλεκτροπορωμένα με WT1 mRNA. Παρατηρήθηκαν ογκολογικές και ανοσολογικές αποκρίσεις και είναι υποστηρικτικές για περαιτέρω έρευνα, όπως δείχνει ο «Πίνακας 4.3-8».

<b>Είδος Καρκίνου</b>	<b>Αριθμός Δοκιμών</b>	<b>Χρήση mRNA</b>	<b>Αποτελέσματα</b>
Καρκίνος της Μήτρας	1	Εμβόλιο με αυτόλογα δενδριτικά κύτταρα ηλεκτροπορωμένα με WT1 mRNA	Χρειάζεται περαιτέρω έρευνα.

**Πίνακας 4.3-8 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο της Μήτρας**

### **Καρκίνος του Παχέος Εντέρου**

Η μελέτη 25 είχε ως στόχο να ελέγξει αν η επιμόλυνση των DCs με RNA που κωδικοποιεί ένα ειδικό για όγκο αντιγόνο μπορεί να προκαλέσει μια ευρύτερη ανοσολογική απόκριση σε σύγκριση με την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική παλμών πεπτιδίων. 16 ασθενείς εμβολιάστηκαν ενδοφλεβίως και ενδοδερμικά 3 φορές την εβδομάδα είτε με καρκινοεμβρυογόνο αντιγόνο (CEA) που δεσμεύεται με πεπτίδιο ή με ηλεκτροπόρωση με CEA mRNA DCs πριν από τη χειρουργική εκτομή των μεταστάσεων.

Όλοι οι ασθενείς εμφάνισαν αποκρίσεις T-κυττάρων έναντι της πρωτεΐνης ελέγχου κατά τον εμβολιασμό. Τα ειδικά για το πεπτίδιο CEA T-κύτταρα ανιχνεύθηκαν σε 8 από τους 11 ασθενείς στην ομάδα πεπτιδίων, αλλά σε κανέναν από τους 5 ασθενείς στην ομάδα RNA. Η διαμόλυνση mRNA του DC CEA δεν ήταν ανώτερη από την παλμική δράση του πεπτιδίου DC CEA στην επαγωγή μιας ειδικής για τον όγκο ανοσοαπόκρισης σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου.

Συνοπτικά τα αποτελέσματα παρουσιάζει ο «Πίνακας 4.3-9».

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Καρκίνος του Παχέος Εντέρου	1	Εμβολιασμός με δενδριτικά κύτταρα που είχαν επιμολυνθεί με RNA που κωδικοποιεί ένα ειδικό για όγκο αντιγόνο μπορεί να προκαλέσει μια ευρύτερη ανοσολογική απόκριση.	Η διαμόλυνση mRNA του DC CEA δεν ήταν ανώτερη σε σύγκριση με τη τεχνική παλμών πεπτιδίων

**Πίνακας 4.3-9 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο του Παχέος Εντέρου**

### **Καρκίνος των Νεφρών**

Ο στόχος της 28 δοκιμής ήταν να αξιολογήσει τη σκοπιμότητα, την ασφάλεια καθώς και τις ανοσολογικές και κλινικές αποκρίσεις ενός εμβολιασμού με βάση το mRNA σε ασθενείς με καρκίνο νεφρικών κυττάρων σταδίου IV χρησιμοποιώντας παράγοντα διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF) ως επικουρικό. Ενδοδερμικές ενέσεις *in vitro* μεταγραμμένου γυμνού mRNA, το οποίο δημιουργήθηκε χρησιμοποιώντας πλασμίδια που κωδικοποιούν τα σχετιζόμενα με τον όγκο αντιγόνα βλεννίνη 1 (MUC1), καρκινοεμβρυονικό (CEA), υποδοχέα ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (Her-2/neu), τελομεράση, Survivin, και αντιγόνο 1 που σχετίζεται με το μελάνωμα (MAGE-A1) πραγματοποιήθηκαν σε 30 εγγεγραμμένους ασθενείς. Οι εμβολιασμοί ήταν καλά ανεκτοί χωρίς σοβαρές παρενέργειες. Επαγωγή αποκρίσεων T-λεμφοκυττάρων CD4(+) και CD8(+) φάνηκε για αρκετά σχετιζόμενα με όγκο αντιγόνα (TAA) χρησιμοποιώντας ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) συνδεδεμένη με ενζυμική ανοσοαπορροφητική κηλίδα (ELISpot) και δοκιμασίες απελευθέρωσης Cr, όπως απεικονίζει ο «Πίνακας 4.3-10».

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Καρκίνος των νεφρών	1	Εμβόλιο με γυμνό mRNA το οποίο δημιουργήθηκε χρησιμοποιώντας πλασμίδια που κωδικοποιούν τα σχετιζόμενα με τον όγκο αντιγόνα βλεννίνη 1 (MUC1), καρκινοεμβρυονικό (CEA), υποδοχέα ανθρώπινου επιδερμικού	Οι εμβολιασμοί ήταν καλά ανεκτοί χωρίς σοβαρές παρενέργειες ενώ επαγωγή αποκρίσεων T-λεμφοκυττάρων CD4(+) και CD8(+) φάνηκε για αρκετά σχετιζόμενα με όγκο αντιγόνα (TAA).

		αυξητικού παράγοντα 2 (Her-2/neu), τελομεράση, Survivin, και αντιγόνο 1 που σχετίζεται με το μελάνωμα (MAGE-A1)	
--	--	---	--

**Πίνακας 4.3-10 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για τον Καρκίνο των Νεφρών**

### **Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία**

Οι μελέτες 21,22, 24 και 29 αναφέρονται την οξεία μυελογενή λευχαιμία. Συγκεκριμένα στη δοκιμή 21 οι συγγραφείς αξιολόγησαν τη σκοπιμότητα, την ασφάλεια, την ανοσογονικότητα και το θεραπευτικό δυναμικό των αυτογενών δενδριτικών κυττάρων που εκφράζουν την ανθρώπινη τελομεράση αντίστροφη μεταγραφάση (hTERT-DCs) σε ενήλικες ασθενείς με AML. Τα hTERT-DCs παρήχθησαν από ειδική για τον ασθενή λευκαφαίρεση, ηλεκτροπορίθηκαν με mRNA που κωδικοποιεί hTERT και μια αλληλουχία στόχευσης λυσοσωμάτων, και κρυοσυντηρήθηκαν. Τα hTERT-DCs ήταν καλά ανεκτά χωρίς να αναφερθούν σοβαρές τοξικότητες. Το 58% όσων που έλαβαν hTERT-DCs ανέπτυξαν hTERT-ειδικές T-κυτταρικές αποκρίσεις που κυρίως στόχευαν προς πεπτιδία hTERT με προβλεπόμενες χαμηλές συγγένειες σύνδεσης με το ανθρώπινο λευκοκυτταρικό αντιγόνο (HLA). Με ένα διάμεσο παρακολούθησης 52 μηνών, 58% των ασθενών ήταν ελεύθεροι υποτροπής της νόσου κατά την τελευταία τους επίσκεψη παρακολούθησης. Έτσι, η δημιουργία των hTERT-DCs είναι εφικτή και ο εμβολιασμός με hTERT-DCs φαίνεται να είναι ασφαλής και μπορεί να συσχετίζεται με ευνοϊκή επιβίωση χωρίς υποτροπή.

Στην 22 διερευνήθηκε η επίδραση του εμβολιασμού με δενδριτικά κύτταρα (DCs) ηλεκτροπορημένα με αγγελιοφόρο RNA (mRNA) του Wilms' tumor 1 (WT1) ως μετα-ύφεση θεραπεία σε 30 ασθενείς με AML πολύ υψηλού κινδύνου υποτροπής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο εμβολιασμός ασθενών με AML με WT1 mRNA-ηλεκτροπορημένα DCs μπορεί να είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την πρόληψη ή την καθυστέρηση της υποτροπής μετά από τη συνήθη χημειοθεραπεία, μεταφραζόμενη σε βελτιωμένα ποσοστά OS, τα οποία συσχετίζονται με την επαγωγή της WT1-ειδικής CD8+ T κυτταρικής απόκρισης.



Στην 24 μελέτη, τα κύτταρα CD14(+) απομονώθηκαν από προϊόντα λευκαφαίρεσης με ανοσομαγνητικό διαχωρισμό CliniMACS και διαφοροποιήθηκαν σε ώριμα δενδριτικά κύτταρα (mDCs). Τα mDCs ηλεκτροπορίθηκαν με κλινικά παρασκευασμένο mRNA που κωδικοποιεί το αντιγόνο του όγκου του Wilm (WT1) και δοκιμάστηκαν για βιωσιμότητα, φαινότυπο, στειρότητα και ανάκτηση. Για να δοκιμαστεί η ασφάλεια του προϊόντος, αυξανόμενες δόσεις DC χορηγήθηκαν ενδοδερμικά. Στην κλινική δοκιμή, υψηλής καθαρότητας κύτταρα CD14(+)ελήφθησαν από όλους τους ασθενείς. Ένας συντελεστής μετατροπής μονοκυττάρων σε mDC 25+/-10% επιτεύχθηκε. Όλες οι παρασκευές DC παρουσίασαν υψηλή έκφραση δεικτών mDC. Παρά τη μειωμένη ανάκτηση κυττάρων mDC μετά από συνδυασμό ηλεκτροπόρωσης mRNA και κρυσυντήρησης, επιτεύχθηκαν επιτυχείς παρασκευές εμβολίων σε όλους τους ασθενείς με AML. Οι ενέσεις DC έγιναν ανεκτές από όλους τους ασθενείς. Η μέθοδός μας αποδίδει μια τυποποιημένη, απλοποιημένη και αναπαραγωγίμη προετοιμασία πολλαπλών δόσεων κλινικής ποιότητας mRNA-μετασχηματισμένων DC εμβολίων από μία μόνο αφαίρεση με συνεπή ώριμο φαινότυπο, ανάκτηση, στειρότητα και βιωσιμότητα. Η ενδοδερμική ένεση τέτοιων DC εμβολίων σε ασθενείς με AML είναι ασφαλής.

Τέλος, στην 29 διερευνήθηκε η επίδραση του εμβολιασμού με αυτόλογα δενδριτικά κύτταρα σε 10 ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία (AML). Η πρωτεΐνη του όγκου Wilm's 1 (WT1), ένα σχεδόν καθολικό αντιγόνο όγκου, επιλέχθηκε ως ανοσοθεραπευτικός στόχος λόγω του καθιερωμένου ρόλου της στην εμφάνιση της λευχαιμίας και των ανώτερων ανοσογονικών χαρακτηριστικών της. Δύο ασθενείς σε μερική ύφεση μετά από χημειοθεραπεία οδηγήθηκαν σε πλήρη ύφεση μετά από ενδοδερμική χορήγηση πλήρους μήκους mRNA WT1-ηλεκτροπορημένων δενδριτικών κυττάρων. Σε αυτούς τους δύο ασθενείς και σε άλλους τρεις ασθενείς που ήταν σε πλήρη ύφεση, ο δείκτης όγκου που σχετίζεται με την AML επανήλθε στο φυσιολογικό μετά τον εμβολιασμό με δενδριτικά κύτταρα, συμβαδίζοντας με την επαγωγή μοριακής ύφεσης. Οι κλινικές ανταποκρίσεις συσχετίστηκαν με αυξήσεις που σχετίζονται με το εμβόλιο στις συχνότητες των WT1-ειδικών CD8+ T κυττάρων, όπως ανιχνεύθηκαν από τη χρώση τετραμερών πεπτιδίου/HLA-A\*0201, και αυξημένα επίπεδα ενεργοποιημένων φυσικών φονικών κυττάρων μετά τον εμβολιασμό. Επιπλέον, οι εμβολιασμένοι ασθενείς έδειξαν αυξημένα επίπεδα WT1-ειδικών CD8+ T κυττάρων που παράγουν IFN-gamma και χαρακτηριστικά γενικής ανοσοδραστηριοποίησης. Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν την περαιτέρω ανάπτυξη του

εμβολιασμού με δενδριτικά κύτταρα φορτωμένα με mRNA WT1 ως μετα-ύφεσης θεραπεία για την πρόληψη πλήρους υποτροπής σε ασθενείς με AML. Συνοπτικά τα αποτελέσματα παρουσιάζει ο «Πίνακας 4.3-11».

<b>Είδος Καρκίνου</b>	<b>Αριθμός Δοκιμών</b>	<b>Χρήση mRNA</b>	<b>Αποτελέσματα</b>
Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία	4	Αυτογενή δενδριτικά κύτταρα που εκφράζουν την ανθρώπινη τελομεράση αντίστροφη μεταγραφάση (hTERT-DCs)	Η δημιουργία των hTERT-DCs είναι εφικτή και ο εμβολιασμός με hTERT-DCs φαίνεται να είναι ασφαλής και μπορεί να συσχετίζεται με ευνοϊκή επιβίωση χωρίς υποτροπή.
		Εμβολιασμός με δενδριτικά κύτταρα (DCs) ηλεκτροπορημένα με mRNA που κωδικοποιεί το αντιγόνο του όγκου του Wilm (Wilms' tumor 1 -WT1)	Ίσως είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την πρόληψη ή την καθυστέρηση της υποτροπής μετά από τη συνήθη χημειοθεραπεία
		Ωριμα δενδριτικά κύτταρα (mDC) ηλεκτροπορήθηκαν με κλινικά παρασκευασμένο mRNA που κωδικοποιεί το αντιγόνο του όγκου του Wilm (WT1)	Οι ενέσεις DC έγιναν ανεκτές από όλους τους ασθενείς
		Ενδοδερμική χορήγηση πλήρους μήκους mRNA WT1-ηλεκτροπορημένων δενδριτικών κυττάρων	Ο δείκτης όγκου που σχετίζεται με την AML επανήλθε στο φυσιολογικό μετά τον εμβολιασμό με δενδριτικά κύτταρα, συμβαδίζοντας με την επαγωγή μοριακής ύφεσης σε κάποιους ασθενείς.

**Πίνακας 4.3-11 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για την Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία**

### *Συμπαγείς Όγκοι*

Κλείνοντας θα αναφερθούμε στις μελέτες 6, 7 και 27. Στη μελέτη 6 αξιολογήθηκε η ασφάλεια και η ανεκτικότητα ενός θεραπευτικού εμβολίου που κωδικοποιεί 20 κοινά

νεοαντιγόνα σε ασθενείς με προχωρημένους/μεταστατικούς συμπαγείς όγκους. Τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία περιελάμβαναν την ανοσογονικότητα, το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης, την επιβίωση χωρίς εξέλιξη και τη συνολική επιβίωση. Οι ασθενείς επιλέχθηκαν εάν οι όγκοι τους εξέφραζαν μία από τις ταιριασμένες με το αντιγόνο ανθρώπινο λευκοκυττάρου μεταλλάξεις όγκου που περιλαμβάνονται στο εμβόλιο, με την πλειονότητα των ασθενών (18/19) να φιλοξενούν μια μετάλλαξη στο KRAS. Το σχήμα εμβολίου, που αποτελείται από έναν αδενιοϊό χιμπατζή (ChAd68) και το αυτοενισχυόμενο mRNA (samRNA) σε συνδυασμό με τους αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου ipilimumab και nivolumab, έδειξε ότι είναι καλά ανεκτό, με παρατηρούμενες ανεπιθύμητες ενέργειες σχετιζόμενες με τη θεραπεία συμβατές με αναμενόμενη οξεία φλεγμονή. Αυτά τα δεδομένα οδήγησαν στην ανάπτυξη ενός βελτιστοποιημένου εμβολίου που στοχεύει αποκλειστικά τα νεοαντιγόνα που προέρχονται από το KRAS και το οποίο αξιολογείται σε ένα υποσύνολο ασθενών στη φάση 2 της κλινικής μελέτης.

Στη μελέτη 7 στόχος ήταν να εξεταστεί αν η συνδυαστική ανοσοθεραπεία έχει τη δυνατότητα να επιτύχει αθροιστικά ή συνεργατικά αποτελέσματα. Οι συνδυασμένες τοπικές ενέσεις ανάλογων dsRNA (μιμούμενοι το ιικό RNA) και οι επαναλαμβανόμενοι εμβολιασμοί με δενδριτικά κύτταρα φορτωμένα με λύμα όγκου δείχνουν αποτελεσματικότητα σε συμπαγείς όγκους. Στο πλαίσιο της ανοσοθεραπείας, η ακτινοθεραπεία μπορεί να ασκήσει ευεργετικά αποτελέσματα.

Τέλος, η μελέτη 27 έθεσε ως στόχο να καταδειχθεί η σκοπιμότητα πρόκλησης ανοσολογικών αποκρίσεων ειδικών για αντιγόνο όγκου σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο χρησιμοποιώντας δενδριτικά κύτταρα φορτωμένα με RNA όγκου (DCs). Τα DCs που διαμολύνονται με mRNA το οποίο κωδικοποιεί καθορισμένα αντιγόνα όγκου επάγουν ειδικές για το αντιγόνο όγκο, αποκρίσεις T-κυττάρων τόσο in vitro όσο και in vivo. Φαίνεται να υπάρχουν σημαντικά πλεονεκτήματα στην πρόκληση ανοσολογικών αποκρίσεων έναντι του συνόλου των αντιγόνων που εκφράζονται από τον αυτόλογο όγκο ενός ασθενούς. Τα DCs που διαμολύνθηκαν με ολικό RNA όγκου μπορεί να αντιπροσωπεύουν μια μέθοδο για την επαγωγή ανοσολογικών αποκρίσεων έναντι του συνόλου των αντιγόνων του όγκου των χειρουργικά αφαιρεθέντων κακοηθειών. Συνοπτικά τα αποτελέσματα απεικονίζει ο «Πίνακας 4.3-12».

Είδος Καρκίνου	Αριθμός Δοκιμών	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα
Συμπαγείς Όγκοι	3	Το εμβόλιο αποτελείται από έναν αδενοϊό χιμπατζή (ChAd68) και το αυτοενισχυόμενο mRNA (samRNA) σε συνδυασμό με τους αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου ipilimumab και nivolumab.	Καλά ανεκτό, με παρατηρούμενες ανεπιθύμητες παρενέργειες σχετιζόμενες με τη θεραπεία, συμβατές με αναμενόμενη οξεία φλεγμονή που οδήγησε σε επόμενη φάση μελέτης.
		Τοπικές ενέσεις ανάλογων dsRNA (μιμούμενοι το ιικό RNA) και οι επαναλαμβανόμενοι εμβολιασμοί με δενδριτικά κύτταρα φορτωμένα με λύμα όγκου.	Αποτελεσματικότητα σε συμπαγείς όγκους και συνδυασμός με ακτινοθεραπεία οδηγεί σε ευεργετικά αποτελέσματα.
		DCs που διαμορφώνονται με mRNA το οποίο κωδικοποιεί καθορισμένα αντιγόνα όγκου.	Σημαντικά πλεονεκτήματα στην πρόκληση ανοσολογικών αποκρίσεων έναντι του συνόλου των αντιγόνων που εκφράζονται από τον αυτόλογο όγκο ενός ασθενούς. Μπορεί να αντιπροσωπεύουν μια μέθοδο για την επαγωγή ανοσολογικών αποκρίσεων έναντι του συνόλου των αντιγόνων του όγκου των χειρουργικά αφαιρεθέντων κακοηθειών.

Πίνακας 4.3-12 Παρουσίαση αποτελεσμάτων για Συμπαγείς Όγκους

No	PMID	Τίτλος	Πρώτος Συγγραφέας	Ασθένεια	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα	Συμμετέχοντες	Φάση Κλινικής Δοκιμής	Τόπος	Χρόνος Δημοσίευσης
1	33016924	mRNA vaccine-induced neoantigen-specific T cell immunity in patients with gastrointestinal cancer	Cafri G	Gastrointestinal Cancer	mRNA vaccine	The vaccine was safe and elicited mutation-specific T cell responses against predicted neoepitopes not detected before vaccination. Furthermore, we were able to isolate and verify T cell receptors targeting KRASG12D mutation. We observed no objective clinical responses in the 4 patients treated in this trial.	4	PHASE I/II	USA	2/11/2020

2	37165196	Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer	Rojas LA	Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC)	mRNA vaccine	At 18-month median follow-up, patients with vaccine-expanded T cells (responders) had a longer median recurrence-free survival (not reached) compared with patients without vaccine-expanded T cells	34	PHASE I	USA	10/5/2023
3	35100339	Langerhans dendritic cell vaccine bearing mRNA-encoded tumor antigens induces antimyeloma immunity after auto transplant	Chung DJ	Multiple Myeloma (MM)	Autologous Langerhans-type dendritic cells (LCs) electroporated with CT7, MAGE-A3, and Wilms tumor 1 (WT1) messenger RNA (mRNA)	Vaccination with triple antigen-bearing mRNA-electroporated autologous LCs initiated at the onset of engraftment after ASCT for MM, followed by lenalidomide maintenance therapy, is safe and feasible. Vaccines are tolerated well, with only mild delayed-type hypersensitivity	20	PHASE I	USA	8/3/2022

reactions at injection sites after booster vaccines.

Postvaccine immune assessments detected antigen-specific CD4 and CD8 T-cell activation and proinflammatory cytokine secretion, as well as a trend toward greater T-cell clonal expansion. Although not powered to assess clinical efficacy, treatment responses favored the vaccine arm.

4	25288198	Phase Ib study evaluating a self-adjuvanted mRNA cancer vaccine (RNActive®) combined with local	Sebastian M	Advanced non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	CV9202 is a self-adjuvating mRNA vaccine	No results	36	PHASE I	Switzerland	6/10/2014
---	----------	---	-------------	---	--	------------	----	---------	-------------	-----------

radiation as consolidation and maintenance treatment for patients with stage IV non-small cell lung cancer

Melanoma neoantigen vaccines: Are we getting more personal now?

5

38614074

Latifyan S

Stage III  
Melanoma

Personalized  
neoantigen  
mRNA  
vaccine

No results

unknown

PHASE II

Switzerland

12/4/2024

A shared neoantigen vaccine combined with immune checkpoint blockade for advanced metastatic solid tumors: phase 1 trial interim results

6

38538867

Rappaport  
AR

Metastatic  
Solid  
Tumors

mRNA  
vaccine

No results

19

PHASE I/II

USA

27/3/2024



7	29554212	Combined immunotherapy encompassing intratumoral poly-ICLC, dendritic-cell vaccination and radiotherapy in advanced cancer patients	Rodríguez-Ruiz ME	Advanced Cancer	mRNA vaccine (dsRNA-analogue)	This radio-immunotherapy combination strategy, aimed at resembling viral infection in tumor tissue in combination with a dendritic-cell vaccine and SABR, is safe and shows immune-associated activity and signs of preliminary clinical efficacy	15	PHASE I	USA & Spain	1/5/2018
8	30770959	A phase I/IIa study of the mRNA-based cancer immunotherapy CV9201 in patients with stage IIIB/IV non-small cell lung cancer.	Sebastian M	Stage IIIB/IV non-Small Cell Lung Cancer	CV9201 is an RNAActive®-based cancer immunotherapy	CV9201 was well-tolerated and immune responses could be detected after treatment supporting further clinical investigation.	46	PHASE I/II	USA/Switzerland / Germany / Qatar	15/2/2019

9	28411277	Long-term Survival in Glioblastoma with Cytomegalovirus pp65-Targeted Vaccination.	Batich KA	Glioblastoma	Vaccines of pp65 lysosome-associated membrane glycoprotein mRNA-pulsed DCs admixed with GM-CSF	Despite increased Treg proportions following DI-TMZ, patients receiving pp65-DCs showed long-term PFS and OS, confirming prior studies targeting cytomegalovirus in glioblastoma.	11	PILOT	USA	15/4/2017
10	32114500	TriMix and tumor antigen mRNA electroporated dendritic cell vaccination plus ipilimumab: link between T-cell activation and clinical responses in advanced melanoma	De Keersmaecker B	Advanced Melanoma	TriMixDC-MEL plus ipilimumab	TriMixDC-MEL IPI treatment results in robust CD8+ T-cell responses in a meaningful portion of stage III or IV melanoma patients, and obviously in patients with a clinical response. The levels of polyfunctional and multiantigen T-cell responses measured in patients with a complete response, particularly in patients evidently	39	PHASE II	Belgium	8/2/2020

cured after 5+ years of follow-up, may provide a benchmark for the level of immune stimulation needed to achieve a durable clinical remission

11	21577140	Therapeutic vaccination with an autologous mRNA electroporated dendritic cell vaccine in patients with advanced melanoma	Wilgenhof S	Advanced Melanoma	TriMix-DC Co-electroporated with mRNA encoding a human leukocyte antigen class II-targeting signal linked to 1	This study demonstrated that therapeutic vaccination with autologous TriMix-DC is feasible, safe, and immunogenic and can be combined with sequential IFN- $\alpha$ -2b.	35	PILOT	Belgium	June 2011
----	----------	--	-------------	-------------------	--	--	----	-------	---------	-----------

					of 4 melanoma-associated antigens (MAGE-A3, MAGE-A2, MAGE-C2, tyrosinase and gp100					
12	32591862	A randomized controlled phase II clinical trial on mRNA electroporated autologous monocyte-derived dendritic cells (TriMixDC-MEL) as adjuvant treatment for stage III/IV melanoma patients who are	Jansen Y	Stage III/IV Melanoma	TriMixDC-MEL	TriMixDC-MEL id/iv as adjuvant therapy is tolerable and may improve the 1-year disease-free survival rate. Combination of optimized autologous monocyte-derived DC-formulations warrants further investigation in combination with currently approved adjuvant therapy option	41	PHASE II	Belgium	26/6/2020

disease-free  
following the  
resection of  
macrometasta  
ses.

13	16710345	Phase I/II trial of melanoma therapy with dendritic cells transfected with autologous tumor-mRNA	Kyte JA	Melanoma	Vaccine based on transfection of autologous dendritic cells (DCs) with autologous tumor-mRNA.	Immuno-gene-therapy with the described DC-vaccine is feasible and safe, and that the vaccine can elicit in vivo T-cell responses against antigens encoded by the transfected tumor-mRNA. The response rates do not	22	PHASE I/II	Norway	5/5/2006
----	----------	--	---------	----------	---	--	----	------------	--------	----------

suggest an advantage in applying i.n. vaccination.										
14	23817721	Therapeutic vaccination against autologous cancer stem cells with mRNA-transfected dendritic cells in patients with glioblastoma	Vik-Mo EO	Glioblastoma	Dendritic cell vaccine with mRNA from tumor stem cells	Vaccination against glioblastoma stem cells is safe, well-tolerated, and may prolong progression-free survival.	7	PHASE I/II	Norway	2/7/2013
15	24324087	Wilms' Tumor Gene 1 (WT1)--loaded dendritic cell immunotherapy in patients with uterine tumors: a	Coosemans A	Uterine Cancer	Vaccines of autologous dendritic cells (DCs) electroporated with WT1 mRNA	The technique was feasible. One patient had a local allergic reaction. Three out of four Human Leucocyte Antigen-A2 (HLA-A2)-positive patients showed an oncological	6	PHASE I/II	Belgium	December 2013



classic Th1/Th2  
dichotomy.

17	31980913	Autologous monocyte-derived DC vaccination combined with cisplatin in stage III and IV melanoma patients: a prospective, randomized phase 2 trial.	Boudewijns S	Stage III and IV Melanoma	Vaccinations of gp100 and tyrosinase mRNA-loaded monocyte-derived DCs with or without cisplatin	Combination of DC vaccination and cisplatin in melanoma patients is feasible and safe, but does not seem to result in more tumor-specific T cell responses or improved clinical outcome, when compared to DC vaccination monotherapy.	54	PHASE II	The Netherlands	24/1/2020
----	----------	--	--------------	---------------------------	---	---	----	----------	-----------------	-----------



18	28215654	Dendritic cell vaccination in combination with docetaxel for patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: A randomized phase II study	Kongsted P	Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer	mRNA encoding multiple tumor-associated antigens (TAAs)	The addition of DCvac was safe. Immune responses were detected in approximately half of the patients investigated.	43	PHASE II	Denmark	15/2/2017
19	31727154	Blood-derived dendritic cell vaccinations induce immune responses that correlate with clinical outcome in patients with chemo-naive castration-resistant prostate cancer	Westdorp H	Castration-Resistant Prostate Cancer (CRPC)	DCs were stimulated with protamine/mRNA and loaded with tumor-associated antigens NY-ESO-1, MAGE-C2 and MUC1	Immunotherapy with blood-derived DC subsets was feasible and safe and induced functional antigen-specific T cells. The presence of functional antigen-specific T cells correlated with an improved clinical outcome	21	PHASE II	The Netherlands	14/11/2019

20	23728352	Immunogenicity of dendritic cells pulsed with MAGE3, Survivin and B-cell maturation antigen mRNA for vaccination of multiple myeloma patients.	Hobo W	Multiple Myeloma (MM)	TAA-mRNA-loaded dendritic cell (DC) vaccination	Vaccination was well tolerated with limited toxicity. These findings illustrate that TAA-mRNA-electroporated mature DCs are capable of inducing TAA-T-cell responses in MM patients after SCT	12	PHASE I	The Netherlands	2/6/2013
21	28411378	Immune responses and long-term disease recurrence status after telomerase-based dendritic cell immunotherapy in patients with acute myeloid leukemia	Khoury HJ	Acute Myeloid Leukemia	hTERT-DCs were produced from patient-specific leukapheresis, electroporated with an mRNA-encoding hTERT and a lysosomal-	The generation of hTERT-DCs is feasible and vaccination with hTERT-DCs appears to be safe and may be associated with favorable recurrence-free survival.	22	PHASE II	USA	14/4/2017

targeting  
sequence

22	28830889	Dendritic cell vaccination as postremission treatment to prevent or delay relapse in acute myeloid leukemia.	Anguille S	Acute Myeloid Leukemia	Vaccination with dendritic cells (DCs) electroporated with Wilms' tumor 1 (WT1) messenger RNA (mRNA)	Vaccination of patients with AML with WT1 mRNA-electroporated DCs can be an effective strategy to prevent or delay relapse after standard chemotherapy, translating into improved OS rates, which are correlated with the induction of WT1-specific CD8+ T-cell response.	30	PHASE II	Belgium/ Japan/ Sweden/United Kingdom	22/8/2017
----	----------	--	------------	------------------------	--	---	----	----------	---	-----------

23	25548092	Long-term clinical outcome of melanoma patients treated with messenger RNA-electroporated dendritic cell therapy following complete resection of metastases.	Wilgenhof S	Stage III/IV Melanoma	Immunotherapy with mRNA-electroporated autologous monocyte-derived dendritic cells (DCs)	Adjuvant therapy following the resection of melanoma metastases with autologous mRNA-electroporated DCs, combined with interferon alfa-2b, is tolerable and results in encouraging long-term overall survival rates justifying further evaluation in a randomized clinical trial	30	PILOT	Belgium	30/12/2014
24	19530029	Clinical-grade manufacturing of autologous mature mRNA-electroporated dendritic cells and safety testing in acute myeloid leukemia	Van Driessche A	Acute Myeloid Leukemia	RNA-electroporated dendritic cell (DC)-based vaccines	Successful vaccine preparations were obtained in all AML patients. DC injections were well tolerated by all patients. The method yields a standardized, simplified and reproducible preparation of multiple doses of clinical-grade	10	PHASE I	Belgium	November 2009

patients in a phase I dose-escalation clinical trial

mRNA-transfected DC vaccines from a single apheresis with consistent mature phenotype, recovery, sterility and viability. Intradermal injection of such DC vaccines in AML patients is safe.

25	21187495	Immunogenicity of dendritic cells pulsed with CEA peptide or transfected with CEA mRNA for vaccination of colorectal cancer patients	Lesterhuis WJ	Colorectal Cancer	Transfection of DCs with RNA encoding a tumor-specific antigen	All patients showed T-cell responses against KLH upon vaccination. CEA peptide-specific T-cells were detected in 8 out of 11 patients in the peptide group, but in none of the 5 patients in the RNA group. In this study, DC CEA mRNA transfection was not superior to DC CEA peptide pulsing in the induction of a tumor-specific	16	PHASE I/II	The Netherlands	December 2010
----	----------	--	---------------	-------------------	--	---	----	------------	-----------------	---------------



However, a demonstration of clinical effectiveness of direct injection of copy mRNA for antitumor immunotherapy was not shown in this study and must be evaluated in subsequent trials

27	11923611	Induction of tumor-specific cytotoxic T lymphocytes in cancer patients by autologous tumor RNA-transfected dendritic cells	Nair SK	Metastatic Cancer	DCs transfected with mRNA encoding defined tumor antigens	DCs transfected with the total RNA content of autologous tumor cells stimulated antigen-specific T-cell responses that are capable of recognizing and lysing autologous, primary tumor cells in vitro. Tumor-specific immune responses were induced in a patient with a	3	PHASE I/II	USA	April 2002
----	----------	--	---------	-------------------	---	---	---	------------	-----	------------

					carcinoembryonic antigen-expressing adenocarcinoma after immunization with autologous DCs transfected with total tumor RNA					
28	21189474	Intradermal vaccinations with RNA coding for TAA generate CD8+ and CD4+ immune responses and induce clinical benefit in vaccinated patients	Rittig SM	Stage IV Renal Cell Cancer	mRNA-based vaccination	Vaccinations were well tolerated with no severe side effects and induced clinical responses	30	PHASE I/II	Germany	28/12/2010
29	20631300	Induction of complete and molecular remissions in acute myeloid	Van Tendeloo VF	Acute Myeloid Leukemia	Vaccination with WT1 mRNA-loaded	Further development of vaccination with WT1 mRNA-loaded dendritic cells as a postremission	10	PHASE I/II	Belgium	14/7/2010



					dendritic cells	treatment to prevent full relapse in AML patients			
30	23509826	Benteyn D	Metastatic Melanoma	TriMixDC-MEL	Functional TAA-specific CD8(+) T cells distribute both to the skin and peripheral blood of patients after TriMixDC-MEL therapy	14	PILOT	Belgium	3/1/2013

Πίνακας 4.3-13 Συνοπτικά Αποτελέσματα Συστηματικής Ανασκόπησης

## 4.4 Συζήτηση

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών που παρουσιάστηκαν στη παρούσα Συστηματική Ανασκόπηση παρατηρούμε ότι οι κλινικές δοκιμές έδειξαν πως τα εμβόλια mRNA μπορούν να είναι αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση διάφορων τύπων καρκίνου. Τα εμβόλια αυτά ουσιαστικά σχεδιάζονται για να εκπαιδεύουν το ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίζει και να επιτίθεται σε καρκινικά κύτταρα. Επίσης, προσφέρουν τη δυνατότητα εξατομικευμένης θεραπείας, καθώς μπορούν να προσαρμοστούν για να στοχεύουν συγκεκριμένες μεταλλάξεις του όγκου του ασθενούς. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει την ανάπτυξη θεραπειών που είναι πιο στοχευμένες και αποτελεσματικές. Προκαλούν ισχυρή ανοσοαπόκριση κατά των καρκινικών κυττάρων. Η ανοσοαπόκριση περιλαμβάνει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων, τα οποία μπορούν να αναγνωρίσουν και να καταστρέψουν τα καρκινικά κύτταρα. Οι παρενέργειες των εμβολίων mRNA κατά του καρκίνου ήταν γενικά ήπιες και περιλάμβαναν συμπτώματα όπως κόπωση, πόνο στο σημείο της ένεσης και ελαφρύ πυρετό. Οι σοβαρές παρενέργειες ήταν σπάνιες και οι κλινικές δοκιμές συνεχίζουν να παρακολουθούν την ασφάλεια μακροπρόθεσμα σε επόμενες φάσεις. Τα εμβόλια φαίνεται ότι αυξάνουν τους δείκτες PFS και OS στους περισσότερους μεταστατικούς καρκίνους. Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα από τις κλινικές δοκιμές ήταν ενθαρρυντικά, δείχνοντας ότι τα εμβόλια mRNA μπορούν να μειώσουν το μέγεθος των όγκων και να βελτιώσουν τη συνολική επιβίωση των ασθενών.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφερθούν και οι περιορισμοί που τίθενται στη συγκεκριμένη Συστηματική Ανασκόπηση. Αρχικά, η διαθεσιμότητα των δεδομένων είναι περιορισμένη. Οι κλινικές δοκιμές για τα εμβόλια mRNA κατά του καρκίνου είναι σχετικά νέες και ο αριθμός των μελετών είναι περιορισμένος, ενώ τα διαθέσιμα δεδομένα δεν καλύπτουν όλες τις κατηγορίες καρκίνου ούτε όλες τις πληθυσμιακές ομάδες. Επίσης, όλα τα δημοσιευμένα αποτελέσματα αφορούν τις φάσεις Pilot, Phase I και Phase II καθώς και προχωρημένες μορφές καρκίνου μόνο. Στη συνέχεια, η ετερογένεια που παρατηρείται στα είδη καρκίνου αλλά και στο χρήση του mRNA στο εμβόλιο, δυσχεραίνει την εξαγωγή συνολικών αποτελεσμάτων και το συσχετισμό τους. Ένα άλλο θέμα που προκύπτει κατά τη μελέτη των παρενεργειών και την εκτίμηση του συνολικού αποτελέσματος στην επιβίωση των ασθενών και στη βελτίωση του τρόπου ζωής τους είναι ότι οι κλινικές δοκιμές είναι πρόσφατες και δεν έχουν καταγραφεί μακροχρόνια αποτελέσματα. Στις περισσότερες μελέτες δεν αναφέρονται αρνητικά αποτελέσματα οπότε υπάρχει μεγάλη πιθανότητα αυτά να μην έχουν

δημοσιευτεί. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι η τεχνολογία mRNA είναι σχετικά νέα και εξελίσσεται συνεχώς. Οι τρέχουσες μελέτες μπορεί να μην αντικατοπτρίζουν τις πιο πρόσφατες εξελίξεις ή τις βελτιώσεις στις τεχνικές και τις μεθόδους παρασκευής των εμβολίων.

Στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, τα δεδομένα που υπάρχουν επιβεβαιώνουν τη παρούσα Συστηματική Ανασκόπηση. Συγκεκριμένα σύμφωνα με ανασκόπηση του 2022 από τη Lorentzen και τους συνεργάτες της, προκύπτει ότι τα θεραπευτικά εμβόλια κατά του καρκίνου που βασίζονται στο mRNA είναι καλά ανεκτά και το εγγενές πλεονέκτημα της ευκολίας παραγωγής, που ανταγωνίζεται τις καλύτερες διαθέσιμες συμβατικές μεθόδους παραγωγής εμβολίων, καθιστά τα εμβόλια mRNA μια υποσχόμενη επιλογή για την ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Οι τεχνολογικές εξελίξεις έχουν βελτιστοποιήσει τη σταθερότητα, τη δομή και τις μεθόδους χορήγησης των εμβολίων που βασίζονται στο mRNA και πολλαπλές κλινικές δοκιμές που διερευνούν τη θεραπεία με εμβόλια mRNA τώρα εντάσσουν ασθενείς με διάφορες διαγνώσεις καρκίνου. Αν και τα θεραπευτικά εμβόλια κατά του καρκίνου που βασίζονται στο mRNA δεν έχουν ακόμη εγκριθεί για τυπική θεραπεία, έχουν επιτευχθεί ενθαρρυντικά αποτελέσματα από πρώιμες κλινικές δοκιμές με τα εμβόλια mRNA ως μονοθεραπεία και σε συνδυασμό με αναστολείς σημείων ελέγχου.

Οι θετικές ενδείξεις από τις κλινικές δοκιμές αποδεικνύουν ότι η τεχνολογία mRNA μπορεί να είναι αποτελεσματική στη θεραπεία του καρκίνου, προσφέροντας μια νέα κατεύθυνση και καινοτόμες λύσεις στην αντικαρκινική θεραπεία. Τα επιτυχή αποτελέσματα ενθαρρύνουν περαιτέρω έρευνα και επενδύσεις σε mRNA θεραπείες, οδηγώντας σε επιταχυνόμενη ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών και εμβολίων και βελτίωση της τεχνολογίας mRNA, συμπεριλαμβανομένης της σταθερότητας του μορίου, των μεθόδων χορήγησης και της ανοσογονικότητας. Τα αποτελέσματα από συνδυασμούς εμβολίων mRNA με άλλες θεραπείες, όπως αναστολείς σημείων ελέγχου, ανοίγουν νέες δυνατότητες για συνδυαστικές θεραπείες, βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητα και ενδεχομένως μειώνοντας τις παρενέργειες. Εάν τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα συνεχίσουν, η τεχνολογία mRNA μπορεί να οδηγήσει σε νέα θεραπευτικά σχήματα που θα εγκριθούν για κλινική χρήση, επεκτείνοντας το οπλοστάσιο των διαθέσιμων αντικαρκινικών θεραπειών. Οι δυνατότητες εξατομικευμένων εμβολίων mRNA που μπορούν να προσαρμοστούν για να στοχεύουν συγκεκριμένες μεταλλάξεις σε καρκινικά κύτταρα ενισχύουν την εξέλιξη της

προσωποποιημένης ιατρικής. Η επιτυχία στην αντιμετώπιση του καρκίνου μπορεί να προωθήσει τη χρήση των mRNA εμβολίων και για άλλες ασθένειες, διευρύνοντας τις εφαρμογές αυτής της τεχνολογίας πέραν της ογκολογίας και της COVID-19. Τα νέα δεδομένα ενθαρρύνουν την ενσωμάτωση της γνώσης για τις mRNA θεραπείες στα εκπαιδευτικά προγράμματα για νέους επιστήμονες και επαγγελματίες υγείας, διασφαλίζοντας ότι η επόμενη γενιά ερευνητών είναι καλά προετοιμασμένη για να συνεχίσει τις προόδους στον τομέα αυτό. Συνολικά, τα αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών στα εμβόλια mRNA και τη θεραπεία του καρκίνου προσφέρουν μια νέα ελπίδα για την αντιμετώπιση του καρκίνου, ενισχύουν την καινοτομία στη βιοϊατρική έρευνα και διανοίγουν νέες προοπτικές για την ανάπτυξη προσαρμοσμένων και αποτελεσματικών θεραπειών. Οι ερευνητές συνεχίζουν να βελτιώνουν και να δοκιμάζουν τα εμβόλια mRNA σε διάφορους τύπους καρκίνου και στάδια της νόσου. Οι μελλοντικές δοκιμές θα επικεντρωθούν στην αύξηση της αποτελεσματικότητας, στη μείωση των παρενεργειών και στη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών.

## Βιβλιογραφία

### Ελληνόγλωσσες Βιβλιογραφικές Αναφορές

Καράσση, Φ. (2006). *Αρχές και μεθοδολογία της συστηματικής ανασκόπησης της βιβλιογραφίας*. Ελληνική Ρευματολογία, 17, 289–297

Κιάκου, Μ., Τόλια, Μ., Τσουκαλάς, Ν. (2015). *Ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Μια διαφορετική προσέγγιση στη θεραπεία της νεοπλασματικής νόσου*. Αθήνα. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2015, 32(4):461-466

Κομητοπούλου, Κ., Κουγιανού- Κουτσούκου, Α. (1999). *Μοριακή Βιολογία Ανάπτυξης*. Αθήνα: ΕΚΠΑ.

Μαργαρίτης, Λ.Χ., Γαλανόπουλος, Β.Κ., Κεραμάρης, Κ.Ε., Μαρίνος, Ε.Σ., Παπασιδέρη, Ι.Σ., Στραβοπόδης Δ.Ι. & Τρουγκάκος Ι.Π. (2004). *Βιολογία Κυττάρου*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας.

Μπελλάλη, Θ., (2011). *Βασικές αρχές και Μεθοδολογία της Συστηματικής Ανασκόπησης Ποσοτικών Μελετών*. Νοσηλευτική, 50(1), 10-22

Σαΐτης, Ι. (2023). *Νεότερες Εξελίξεις στα mRNA εμβόλια. (Αδημοσίευτη Μεταπτυχιακή εργασία)*. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα.

Σωτηροπούλου, Γ.(2008). *Κυτταρική Διαίρεση και Καρκίνος*. Εναλλακτικό Διδακτικό υλικό. ΕΑΠ.

### Ξενόγλωσσες Βιβλιογραφικές Αναφορές

Baylin, S. B., & Jones, P. A. (2016). *Epigenetic Determinants of Cancer*. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 8(9), a019505. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019505>

Cho W. C. (2007). *Contribution of oncoproteomics to cancer biomarker discovery*. Molecular cancer, 6, 25. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-6-25>

- Chung, C., & Christianson, M. (2014). *Predictive and prognostic biomarkers with therapeutic targets in breast, colorectal, and non-small cell lung cancers: a systemic review of current development, evidence, and recommendation*. *Journal of oncology pharmacy practice: official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*, 20(1), 11–28. <https://doi.org/10.1177/1078155212474047>
- Cooper, M. G. & Hausman, E. R. (2018). *The Cell: A Molecular Approach*. Μτφρ. Φριλίγγος Ε. Αλεξανδρούπολη: Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.
- Devlin, M. T. (2009). *Βιοχημεία-Κλινικοί συσχετισμοί*. Μτφρ. Παπαβασιλείου Α. Αθήνα: Εκδόσεις Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ.
- Diamandis EP. (2002). *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications*. Washington, DC: AACC Press
- Füzéry AK, Levin J, Chan MM, Chan DW. (2013) *Translation of proteomic biomarkers into FDA approved cancer diagnostics: Issues and challenges*. *Clin Proteomics*
- Goldman, B. (2020, December 22). *How do the new COVID-19 vaccines works*. Ανακτήθηκε 2/05/2024 από [How do the new COVID-19 vaccines work? - Scope \(stanford.edu\)](https://www.stanford.edu)
- Kalia M. (2015). *Biomarkers for personalized oncology: recent advances and future challenges*. *Metabolism: clinical and experimental*, 64(3 Suppl 1), S16–S21. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.027>
- Kochenderfer, J. N., Dudley, M. E., Feldman, S. A., Wilson, W. H., Spaner, D. E., Maric, I., Stetler-Stevenson, M., Phan, G. Q., Hughes, M. S., Sherry, R. M., Yang, J. C., Kammula, U. S., Devillier, L., Carpenter, R., Nathan, D. A., Morgan, R. A., Laurencot, C., & Rosenberg, S. A. (2012). *B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells*. *Blood*, 119(12), 2709–2720. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-384388>
- Kosmidis D. Theofanidis D. (2021). *Clinical Trials: Their Importance to Patients and Healthcare Organizations*. *Διεπιστημονική Φροντίδα Υγείας*. Τόμος 13, Τεύχος 1, 89-97.

- Linares-Fernández, S., Lacroix, C., Exposito, J. Y., & Verrier, B. (2020). *Tailoring mRNA Vaccine to Balance Innate/Adaptive Immune Response. Trends in molecular medicine*, 26(3), 311–323. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.10.002>
- Lehman, T. A., Reddel, R., Peifer, A. M., Spillare, E., Kaighn, M. E., Weston, A., Gerwin, B. I., & Harris, C. C. (1991). *Oncogenes and tumor-suppressor genes. Environmental health perspectives*, 93, 133–144. <https://doi.org/10.1289/ehp.9193133>
- Lorentzen L.C., Haanen J.B., Met O., Svane I.M., (2022) *Clinical advances and ongoing trials of mRNA vaccines for cancer treatment. Lancet Oncol* 2022; 23: e450–58. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(22\)00372-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(22)00372-2)
- Maruggi, G., Zhang, C., Li, J., Ulmer, J. B., & Yu, D. (2019). *mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases. Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 27(4), 757–772. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.01.020>
- Murff, H. J., Spigel, D. R., & Syngal, S. (2004). *Does this patient have a family history of cancer? An evidence-based analysis of the accuracy of family cancer history. JAMA*, 292(12), 1480–1489. <https://doi.org/10.1001/jama.292.12.1480>
- Pascolo S. (2015). *The messenger's great message for vaccination. Expert review of vaccines*, 14(2), 153–156. <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.1000871>
- Pollard, C., De Koker, S., Saelens, X., Vanham, G., & Grooten, J. (2013). *Challenges and advances towards the rational design of mRNA vaccines. Trends in molecular medicine*, 19(12), 705–713. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.09.002>
- Porcel J. M. (2013). *Pleural fluid biomarkers: beyond the Light criteria. Clinics in chest medicine*, 34(1), 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2012.11.002>
- Purkayastha, K., Dhar, R., Pethusamy, K., Srivastava, T., Shankar, A., Rath, G. K., & Karmakar, S. (2023). *The issues and challenges with cancer biomarkers. Journal of cancer research and therapeutics*, 19(Supplement), S20–S35. [https://doi.org/10.4103/jcrt.jcrt\\_384\\_22](https://doi.org/10.4103/jcrt.jcrt_384_22)
- Rosenberg S. A. (2011). *Cell transfer immunotherapy for metastatic solid cancer--what clinicians need to know. Nature reviews. Clinical oncology*, 8(10), 577–585. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2011.116>

Sedlacek, H. H., Hagmayer, G., & Seiler, F. R. (1986). *Tumor therapy of neoplastic diseases with tumor cells and neuraminidase. Further experimental studies on chessboard vaccination in canine mammary tumors*. *Cancer immunology, immunotherapy* : CII, 23(3), 192–199. <https://doi.org/10.1007/BF00205649>

Weinberg, R.A. (2014). *The Biology of Cancer*. United States of America: Garland Science.



## Παράρτημα Α: «Περαιτέρω Έρευνα»

Μετά την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας, την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της ΣΑ και πριν την ανάρτηση της κρίθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί η προσθήκη νέων κλινικών δοκιμών τους μήνες Μάιο έως και Σεπτέμβριο 2024 που πληρούν το ερευνητικό ερώτημα στη PubMed. Βρέθηκε μια εγγραφή που αφορά το πρωτόκολλο μιας κλινικής δοκιμής Phase I/II. Αφορά ασθενείς με επιθηλιοειδή κακοήγη υπεζωκοτικό μεσοθηλίωμα και η κλινική δοκιμή θα συμπεριλάβει 15 ασθενείς που δεν έχουν λάβει προηγούμενη θεραπεία. Θα υποβληθούν σε σχήμα χημειοθεραπείας που περιλαμβάνει σισπλατίνη και θα ενισχυθεί με την προσθήκη του αντι-PD-L1 αντισώματος atezolizumab και του εμβολίου από αυτόλογα δενδριτικά κύτταρα με mRNA όγκου Wilms (WT1/DC). Οι ασθενείς θα παρακολουθούνται έως και 90 ημέρες μετά την τελευταία δόση του atezolizumab ή/και τον εμβολιασμό WT1/DC ή για διάστημα 24 μηνών μετά τη διάγνωση, ανάλογα με το ποιο από τα δύο θα είναι μεγαλύτερο. Τα κύρια τελικά σημεία της δοκιμής είναι η ασφάλεια και η σκοπιμότητα, ενώ τα δευτερεύοντα είναι η κλινική αποτελεσματικότητα και η ανοσογονικότητα. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται παρακάτω.

PMID	Τίτλος	Πρώτος Συγγραφέας	Ασθένεια	Χρήση mRNA	Αποτελέσματα	Συμμετέχοντες	Φάση Κλινικής Δοκιμής	Τόπος	Χρόνος Δημοσίευσης
39008481	Integration of the PD-L1 inhibitor atezolizumab and WT1/DC vaccination into standard-of-care first-line treatment for patients with epithelioid malignant pleural mesothelioma- Protocol of the Immuno-MESODEC study	Jolien Van den Bossche	Epithelioid Malignant pleural Mesothelioma	Autologous Wilms' tumor 1 mRNA-electroporate d dendritic cell (WT1/DC) vaccination	No Results	15	Clinical Protocol for Phase I/II	Belgium	15/7/2024

## Παράρτημα Β: «Διπλώματα Ευρεσιτεχνίας»

Το παράρτημα Β προστίθεται προκειμένου να δώσει μια επιπλέον θεώρηση στο ζήτημα των εμβολίων mRNA εξετάζοντας πόσα σχετικά διπλώματα ευρεσιτεχνίας έχουν εγκριθεί αλλά και πόσες αιτήσεις έχουν καταχωρηθεί. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε το Google Patents το οποίο είναι μια ηλεκτρονική πλατφόρμα που δημιουργήθηκε από την Google για την αναζήτηση και την εξερεύνηση πατεντών και αιτήσεων ευρεσιτεχνίας από διάφορες χώρες. Πρόκειται για ένα εργαλείο το οποίο παρέχει εύκολη πρόσβαση, προσφέροντας μια απλή και φιλική προς τον χρήστη εμπειρία αναζήτησης. Η πλατφόρμα ενσωματώνει δεδομένα από πολλές χώρες, συμπεριλαμβανομένων των ΗΠΑ, της Ευρώπης, της Ιαπωνίας και άλλων διεθνών γραφείων ευρεσιτεχνιών.

Η Google Patents περιλαμβάνει δεδομένα ευρεσιτεχνιών και δημοσιεύσεων από μεγάλα γραφεία ευρεσιτεχνιών, όπως το USPTO (Ηνωμένες Πολιτείες), το EPO (Ευρωπαϊκό Γραφείο Ευρεσιτεχνιών) και το WIPO (Παγκόσμιος Οργανισμός Πνευματικής Ιδιοκτησίας). Η αναζήτηση μπορεί να γίνει με λέξεις-κλειδιά, τίτλους, ονόματα εφευρετών, αριθμούς πατέντας ή άλλες παραμέτρους ενώ υπάρχει δυνατότητα να μπει φίλτρο στα αποτελέσματα με βάση τη χώρα, τον τύπο της πατέντας (application ή granted), και τη χρονική περίοδο. Τέλος, τα έγγραφα των ευρεσιτεχνιών δύναται να εξαγονται σε μορφή PDF, περιλαμβάνοντας εικόνες και σχέδια, καθώς και την πλήρη περιγραφή.

Η αναζήτηση έγινε στον ιστότοπο <https://patents.google.com> όπου πληκτρολογήθηκε ο όρος «TI=(mRNA) AND TI=(vaccine) AND TI=(cancer) NOT TI=(COVID)» και πήραμε 38 αποτελέσματα ενώ με τον όρο «mRNA AND vaccine AND cancer NOT COVID» πήραμε πάνω από 100.000 αποτελέσματα, γεγονός που αποδεικνύει τη σημασία της αναζήτησης με τους κατάλληλους όρους «Boolean Operators». Από τα αποτελέσματα τα 4 δε συμπεριλήφθηκαν ως μη σχετικά, στα 3 δεν αναφέρεται το status έγκρισης, τα 7 έχουν εγκριθεί και έχουν λάβει δίπλωμα ευρεσιτεχνίας, 2 έχουν απορριφθεί και 22 είναι σε αναμονή. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα και αφορούν mRNA εμβόλια κατά διαφόρων μορφών καρκίνου και προέρχονται από την Ιαπωνία, τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, την Κίνα, την Χιλή, την Αργεντινή, τη Ταϊβάν και τη Γερμανία. Για τις πατέντες που έχουν περάσει από τη διαδικασία εξέτασης και έχουν εγκριθεί από τον αρμόδιο οργανισμό, ο εφευρέτης έχει αποκτήσει νομικά δικαιώματα για την εφεύρεσή του και έχει το δικαίωμα να εκμεταλλεύεται την εφεύρεση για μια συγκεκριμένη χρονική

περίοδο. Αυτό σημαίνει ότι κανένας άλλος δεν μπορεί να κατασκευάσει, να πουλήσει ή να χρησιμοποιήσει την εφεύρεση χωρίς τη συγκατάθεση του κατόχου. Επίσης, η έγκριση της πατέντας υποδεικνύει ότι η εφεύρεση είναι πλήρης ως προς τις απαιτήσεις της πρωτοτυπίας, της εφευρετικής δραστηριότητας και της βιομηχανικής εφαρμογής. Αυτό μπορεί να είναι ένα δείγμα της καινοτομίας και της τεχνικής σημασίας της εφεύρεσης. Τέλος, αποτελούν δημόσια πληροφορία, άρα μπορεί οποιοσδήποτε να μελετήσει τις τεχνικές λεπτομέρειες και τις εφαρμογές της. Αυτό μπορεί να είναι χρήσιμο για ερευνητές, επιχειρηματίες και άλλους που ενδιαφέρονται για τον τομέα.

Συνολικά, η έγκριση μιας πατέντας στο Google Patents υποδεικνύει ότι η εφεύρεση έχει υποβληθεί σε αυστηρή αξιολόγηση και έχει αναγνωριστεί ως καινοτόμος και νομικά προστατευμένη.

Στο τέλος της κάθε αναζήτησης υπάρχουν στατιστικά στοιχεία σχετικά με το είδος των πατεντών που έχουν καταχωρηθεί. Συγκεκριμένα αναφέρονται οι διεθνείς ταξινομήσεις πατεντών (International Patent Classifications - IPC), οι οποίες χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση τους. Έτσι, έχουμε τους εξής αριθμούς:

- A61K: Φαρμακευτικές συνθέσεις και προετοιμασία φαρμάκων με ποσοστό 7.6% σε αυτή την αναζήτηση.
- A61P: Θεραπευτική δραστηριότητα χημικών ενώσεων. Αναφέρεται στην ταξινόμηση φαρμάκων και σκευασμάτων ανάλογα με τη θεραπευτική τους χρήση (π.χ. αντιβιοτικά, αντικαρκινικά), με ποσοστό 5.1%
- C07K: Πεπτίδια με ποσοστό 5.1%
- C12N: Μικροοργανισμοί ή ένζυμα. Αναφέρεται στη βιοτεχνολογία, με έμφαση σε μικροοργανισμούς, γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς, ένζυμα και τις εφαρμογές τους, με ποσοστό 5.1%.
- Y02A: Τεχνολογίες προσαρμογής στην κλιματική αλλαγή, με ποσοστό 2.5%.

Τα ποσοστά που υπάρχουν σε κάθε κωδικό δείχνουν τη συχνότητα εμφάνισης πατεντών σε αυτή την κατηγορία εντός του συνόλου των πατεντών που εμφανίζονται στο αποτέλεσμα αναζήτησης.

Συνολικά, από το 2016 έως σήμερα το μεγαλύτερο ποσοστό αιτήσεων ευρεσιτεχνίας αφορά τους κωδικούς A61K και A61P, όπως συμβαίνει και στην αναζήτηση που έτρεξε παραπάνω, αποδεικνύοντας την κατεύθυνση της έρευνας προς νέα φάρμακα.

Publication Number	Title	Status	URL
JP7065907B2	Cancer vaccine containing mRNA encoding M-like protein	Active	<a href="https://patents.google.com/patent/JP7065907B2/en">https://patents.google.com/patent/JP7065907B2/en</a>
CN117883558B	Preparation method of personalized mRNA vaccine for targeting liver tumor	Active	<a href="https://patents.google.com/patent/CN117883558B/en">https://patents.google.com/patent/CN117883558B/en</a>
CN112245575A	Anti-tumor vaccine containing branched polymer and mRNA (messenger ribonucleic acid) with core-shell structure and application thereof	Active	<a href="https://patents.google.com/patent/CN112245575A/en">https://patents.google.com/patent/CN112245575A/en</a>
US11090332B2	Antigen specific mRNA cellular cancer vaccines	Active	<a href="https://patents.google.com/patent/US11090332B2/en">https://patents.google.com/patent/US11090332B2/en</a>
CN116983394B	mRNA vaccine and application thereof in intratumoral delivery for enhancing tumor treatment effect	Active	<a href="https://patents.google.com/patent/CN116983394B/en">https://patents.google.com/patent/CN116983394B/en</a>
CN117899240B	Tumor transplantation model suitable for mRNA tumor vaccine screening, construction method and application thereof	Active	<a href="https://patents.google.com/patent/CN117899240B/en">https://patents.google.com/patent/CN117899240B/en</a>
CN110418648A	A kind of mRNA cancer vaccine of encoding human GM-CSF and more series winding epitope fusions	Active	<a href="https://patents.google.com/patent/CN110418648A/en">https://patents.google.com/patent/CN110418648A/en</a>
EP4046651A1	Method for producing an mRNA tumor vaccine	Withdrawn	<a href="https://patents.google.com/patent/EP4046651A1/en">https://patents.google.com/patent/EP4046651A1/en</a>

DE102004035227A1	mRNA mixture for vaccination against tumor diseases	Withdrawn	<a href="https://patents.google.com/patent/DE102004035227A1/en">https://patents.google.com/patent/DE102004035227A1/en</a>
CN115920019A	mRNA vaccine for treating lung cancer and bone metastasis thereof, and preparation method and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN115920019A/en">https://patents.google.com/patent/CN115920019A/en</a>
CN114588255A	Tumor vaccine based on mRNA and preparation and combined anti-cancer method thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN114588255A/en">https://patents.google.com/patent/CN114588255A/en</a>
JP2023546133A	Pan-RAS mRNA cancer vaccine	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/JP2023546133A/en">https://patents.google.com/patent/JP2023546133A/en</a>
CN110882383A	Cationic liposome-protamine-mRNA tumor vaccine and preparation method and application method thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN110882383A/en">https://patents.google.com/patent/CN110882383A/en</a>
CN114288400A	mRNA tumor vaccine for improving incapability of tumor immune microenvironment DCs, preparation method and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN114288400A/en">https://patents.google.com/patent/CN114288400A/en</a>
CN105030825A	Vaccine for treating mRNA-DC lung cancer, enhanced preparation method of vaccine and CTL cell	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN105030825A/en">https://patents.google.com/patent/CN105030825A/en</a>
CN112915199A	Heterologous mRNA-DC tumor vaccine loaded with heat shock protein and preparation method and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN112915199A/en">https://patents.google.com/patent/CN112915199A/en</a>

CN117965488A	Cancer mRNA vaccine	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN117965488A/en">https://patents.google.com/patent/CN117965488A/en</a>
CN116023493A	Use of mRNA vaccine in combination with monoclonal antibody for treating cancer	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN116023493A/en">https://patents.google.com/patent/CN116023493A/en</a>
CN114736925A	Circular mRNA vaccine development platform for cancer caused by virus infection	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN114736925A/en">https://patents.google.com/patent/CN114736925A/en</a>
CN116286838A	mRNA vaccine for preventing and treating prostatic cancer and preparation method and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN116286838A/en">https://patents.google.com/patent/CN116286838A/en</a>
CN118147179A	Nucleic acid molecule, fusion protein and mRNA vaccine for treating liver cancer	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN118147179A/en">https://patents.google.com/patent/CN118147179A/en</a>
CN116019904A	mRNA vaccine specific to tumor and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN116019904A/en">https://patents.google.com/patent/CN116019904A/en</a>
CN118286410A	Preparation method of tumor mRNA vaccine coupled with CD8 antibody	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN118286410A/en">https://patents.google.com/patent/CN118286410A/en</a>
CN115944722A	Anti-tumor mRNA vaccine and preparation method and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN115944722A/en">https://patents.google.com/patent/CN115944722A/en</a>
CN117737072A	mRNA vaccine for preventing or treating tumor and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN117737072A/en">https://patents.google.com/patent/CN117737072A/en</a>
CN118302181A	Multigang TP53 and PAN-RAS mRNA cancer vaccine	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN118302181A/en">https://patents.google.com/patent/CN118302181A/en</a>

CN105031633A	MRNA-DC (Dendritic Cell) lung cancer therapeutic vaccine, preparation method thereof and CTL cell	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN105031633A/en">https://patents.google.com/patent/CN105031633A/en</a>
CN116196406A	mRNA tumor vaccine and carrying system, preparation method and application thereof	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN116196406A/en">https://patents.google.com/patent/CN116196406A/en</a>
CN116942803A	mRNA editing DC tumor vaccine based on patient tumor neoantigen	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN116942803A/en">https://patents.google.com/patent/CN116942803A/en</a>
CN118161603A	MRNA tumor vaccine, preparation method thereof and application thereof in treating tumor and preventing tumor recurrence	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN118161603A/en">https://patents.google.com/patent/CN118161603A/en</a>
CN115851896A	Primer probe set and method for detecting content of mRNA tumor vaccine in-vivo tissue	Pending	<a href="https://patents.google.com/patent/CN115851896A/en">https://patents.google.com/patent/CN115851896A/en</a>
CL2016000388A1	Composition of 6 mRNA coding for 5t4 (tpbg, survivin (birc5), ny-eso-1 (ctag1b), mage-c1, mage-c2 and muc1 and vaccine to make a useful medication to treat lung cancer	Unknown	<a href="https://patents.google.com/patent/CL2016000388A1/en">https://patents.google.com/patent/CL2016000388A1/en</a>
WO2023150588A1	A mRNA vaccine design using multiple interacting immunostimulatory pathways, for	Unknown	<a href="https://patents.google.com/patent/WO2023150588A1/en">https://patents.google.com/patent/WO2023150588A1/en</a>

	cancer and infectious diseases		
AR128562A1	mRNAs encoding checkpoint cancer vaccines and uses thereof	Unknown	<a href="https://patents.google.com/patent/TW202345864A/en">https://patents.google.com/patent/TW202345864A/en</a>