

# ژن درمانی

## Gene Therapy

ترجمه و تلخیص: عبدالحسین شیروی

دانشجوی دوره دکتری بیولوژی تکوینی

### Reference:

Verma, M. Inder. "Gene Therapy".  
*Scientific American*, Nov. 1990.  
PP. 34 - 41.

از هر یکصد تولد، یک نوزاد متولد شده دچار نقص‌های ژنتیکی است. آسیب‌های ژنتیکی غالباً ایجاد ناهنجاری‌های روانی یا فیزیکی می‌کنند که در نهایت منجر به درد و مرگ می‌شوند. تاکنون بیش از چهارهزار مورد بیماری‌های ژنتیکی شناخته شده است که برای اکثر آنها راه درمان کاملی وجود ندارد.

مدت زمان زیادی است که محققین در فکر درمان این بیماری‌ها از طریق وارد کردن ژن سالم به بدن بیماران می‌باشند. پیشرفت در تکنولوژی نو ترکیبی DNA، امکان جداسازی بسیاری از ژن‌ها را فراهم نموده و با توجه به یافته‌های جدید پیرامون پدیده تنظیم ژنی، محققین امیدوارند که مسئله فوق را که تاکنون ناممکن بنظر می‌رسد، میسر سازند.

در سال ۱۹۹۰، اولین آزمایشات بالینی «ژن درمانی» برای درمان بیماری‌های ژنتیکی در NIH جهت وارد کردن ژن مسئول ستر آتریم آدنوزین د آمیناز (ADA) در کودکانی صورت گرفت که دارای نقص ایمنی (SCID) بودند. تغییر در ساختمان این ژن منجر به اختلال در سیستم ایمنی شده و این ژن مسئول ایجاد ۲۵ درصد از تمام حالت‌های SCID می‌باشد.

گزارشات NIH نشان می‌دهد که درمان و وارد کردن ژن به بدن در طول زندگی باید تکرار گردد. در ضمن این شیوه یک راه درمانی مطمئن نمی‌باشد.

تحقیقات نشان می‌دهد که تا شروع قرن جدید، «ژن درمانی» خواهد توانست راهی مطمئن جهت درمان بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی باشد. ژن را می‌توان به سلول‌های زاینده جنسی و یا به سلول‌های سوماتیک وارد نمود. هنوز ژن درمانی از طریق سلول‌های زاینده مورد موافقت قرار نگرفته است. چرا که ژن‌های جدید از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌شوند و این نکته مسائل اخلاقی را دربردارد. آن دسته از بیماری‌هایی که در اثر تخریب یک ژن پدید آمده‌اند و می‌توان ژن مورد نظر را جدا، کلون و جایگزین نمود، از موادی هستند که شانس بیشتری در «ژن درمانی» دارند. درمان این بیماری‌ها ساده‌تر از درمان بیماری‌هایی است که در اثر تخریب چند ژن و یا نقایص کروموزومی پدید آمده‌اند. در جهان آینده بیماری‌های ژنتیکی برای یکبار و آن هم بدون عارضه جنبی، درمان خواهند شد. ژن سالم یا ژن درمان‌کننده باید دقیقاً جایگزین کپی آسیب‌دیده خود گردد. الحاق ژن با هدف و برنامه‌ریزی صورت می‌گیرد و بنابراین ژن به نحو صحیح عمل می‌کند. افزودن ژن هنگامی می‌تواند مفید واقع شود که آسیب

ژنتیکی باعث اختلال در تولید یک پروتئین شده باشد. اما اگر آسیب ژنتیکی منجر به تولید زیاد یک پروتئین و یا تولید یک پروتئین معیوب (مانند کم‌خونی داسی شکل) شده باشد، «ژن درمانی» نمی‌تواند مؤثر واقع شود.

محققین علاقمند به افزودن ژن، درصددند که سلول‌ها را از بدن بیماران جدا نموده، سپس با وارد کردن ژن سالم به این سلول‌ها آنها را دوباره به بدن فرد بیمار برگردانند. خوشبختانه لازم نیست که آسیب ژنتیکی در تمام سلول‌های بدن اصلاح گردد.

باید توجه داشت که سلول‌های سوماتیک بدن هر فرد، کروموزوم‌های یکسانی را حمل می‌نمایند. اما بیان ژن‌ها از سلولی به سلول دیگری متفاوت می‌باشند. بنابراین، ژن درمانی می‌تواند بر روی سلول‌های خاصی متمرکز گردد که مورد نظر هستند. هم‌چنین وقتی که آسیب ژنتیکی منجر به ستر ناکافی پروتئینی گردد که به طور معمول توسط همه سلول‌ها تولید می‌شود بسیاری از سلول‌ها می‌توانند این کمبود را جبران نمایند. برای مثال، آسیب در ژن ADA، بسیاری از سلول‌های سوماتیک را با درجانی تحت تأثیر

قرار می‌دهد، اما این آسیب، فقط منجر به تخریب بخشی از سیستم ایمنی بدن می‌گردد.

رها کردن ژن‌های بدون هدف<sup>۶</sup> به داخل سلول‌ها را می‌توان با روش‌های فیزیکی، شیمیایی و یا توسط ویروس‌ها امکان‌پذیر ساخت. در روش‌های شیمیایی تعداد زیادی از کپی DNA را که ژن‌های سالم را حمل می‌نمایند با یک ماده<sup>۷</sup> باردار که به طور معمول فسفات کلسیم و یا DEAE - دکستران یا لیپید است مخلوط نموده، سپس این مخلوط را به محیط سلول‌های گیرنده اضافه می‌نمایند. مواد شیمیایی منجر به بهم‌زدن نظم غشاء سلول و عبور DNA به داخل سلول می‌شوند.

روش کار آسان است اما، کارآیی ژن‌های رها شده به داخل سلول مطلوب نیست. به طور معمول یک سلول به تنهایی قادر است بین هزار تا یکصد هزار ژن را به ژنوم خود ضمیمه نماید. بنابراین لازم است تعداد بسیار زیادی از سلول‌های فرد بیمار را جدا نمایم تا بتوان تغییر مناسب را در میلیون‌ها عدد از آنها که برای درمان لازم است، ایجاد نمود. روش‌های فیزیکی برای وارد کردن ژن سالم به داخل سلول بیمار شامل تزریق توسط پیست‌های شیشه‌ای میکرو<sup>۷</sup> و قراردادن سلول‌ها در معرض شوک الکتریکی می‌باشد.

شوک الکتریکی<sup>۸</sup> باعث می‌شود که سلول‌ها نسبت به DNA موجود در محیط اطراف خود نفوذپذیر گردند، گو اینکه شوک نیز خود می‌تواند منجر به آسیب شدید سلول‌ها شود. بنابراین تزریق میکرو می‌تواند کارآیی بیشتری داشته باشد. با این روش، از هر پنج سلول، یکی به طور دائم ژن خارجی را دریافت می‌کند. به دلیل این که سلول‌ها یک به یک باید مورد تزریق قرار گیرند، این کار خسته‌کننده و پرهزینه است و برای درمان مناسب نمی‌باشد.

آخرین تکنیک، استفاده از ویروس‌هایی است که به طور طبیعی قادر به ورود به داخل سلول‌ها بوده و می‌توانند مواد ژنتیکی خود را به سلول ببرند. ویروس‌ها بر این اساس که ماده

ژنتیکی آنها DNA یا RNA است طبقه‌بندی می‌شوند. بسیاری از ویروس‌های DNA دار که قادر به قبول ماده ژنتیکی هستند، به طور قابل ملاحظه‌ای، هم از نظر تعداد نوکلئوتیدهایی که می‌توانند بپذیرند و هم از نظر تعداد انواع سلول‌هایی که می‌توانند آلوده نمایند، محدود می‌باشند. علاوه بر این، ویروس‌های DNA دار غالباً ماده ژنتیکی خود را به کروموزوم‌های سلولی که آن را آلوده کرده‌اند، متصل نمی‌نمایند.

از طرفی، بسیاری از ویروس‌های RNA دار نیز برای «ژن درمانی» مناسب نیستند. زیرا اگر RNA ویروس قادر نباشد به DNA سلول میزبان متصل شود به سرعت از بین می‌رود.

گونه‌هایی که تحت عنوان رتروویروس<sup>۹</sup> شناخته می‌شوند، از این خصوصیت مستثنی می‌باشند. آنها قادرند که در سلول میزبان RNA خود را به DNA تبدیل کرده و سپس DNA را به کروموزوم‌های سلول میزبان متصل نمایند. رتروویروس‌ها نسبت به بعضی از ویروس‌های DNA دار می‌توانند مقدار بیشتری ماده ژنتیکی خارجی را دریافت نمایند. هم‌چنین رتروویروس‌ها در طیف وسیعی از گونه‌های موجودات و انواعی از سلول‌ها می‌توانند آلودگی بوجود آورند. از این نظر، رتروویروس‌ها امیدبخش‌ترین سیستم رهاسازی ژن درمان‌کننده می‌باشند که تاکنون مورد مطالعه بوده‌اند.

البته رتروویروس‌ها نیز، خالی از اشکال نیستند. برای مثال این ویروس‌ها، DNA خود را فقط به کروموزوم سلول‌هایی متصل می‌نمایند که دارای فعالیت تقسیم سلولی باشند. از طرفی، این امکان وجود دارد که رتروویروس‌ها عامل سرطان شوند. به ویژه اگر به ویروس اجازه داده شود که تکثیر حاصل کرده و سلول‌های بیشتری را آلوده نمایند، این خطر افزایش می‌یابد.

گرچه رتروویروس‌ها قادرند در بسیاری از انواع سلول‌ها آلودگی بوجود آورند اما، فقط سلول‌های خاصی می‌توانند برای دست‌کاری ژنتیکی در نظر گرفته شوند. این گونه سلول‌ها باید

در برابر دستکاری ژنتیکی و هم‌چنین خارج کردن و بازگرداندن آنها به بدن مقاومت کافی داشته باشند. به علاوه این سلول‌ها باید از عمر طولانی برخوردار باشند، به طوری که برای ماه‌ها و سال‌ها و یا اینکه در تمام طول عمر بیمار، بتوانند زنده بمانند. سلول‌های مغز استخوان، پوست و کبد بیشترین ویژگی را در این رابطه دارا هستند. بنابراین، بیماری‌هایی که با دستکاری این‌گونه سلول‌ها قابل درمان می‌باشند از جمله امیدبخش‌ترین سلول‌ها برای «ژن درمانی» محسوب می‌شوند.

از نظر تئوری سلول‌های مغز استخوان که خون را می‌سازند برای درمان بیماری‌های ژنتیکی که به صورت اختلال در گلبول‌های قرمز و سفید تظاهر می‌کنند قابل استخراجند. از میان بیماری‌هایی که منجر به اختلال در گلبول‌های قرمز می‌شوند می‌توان به انواع تالاسمی‌ها اشاره نمود.

در این بیماری، ژن‌های سازنده ملکول هموگلوبین دچار اشکال است. گلبول‌های قرمز در بیماران مبتلا به بتا تالاسمی، دچار نقص در زنجیره بتا گلوبین هستند. سلول‌های سالم، فعالیت هر دو ژن را که مسئول سنتز زنجیره‌های آلفا و بتا هستند به طور دقیق تنظیم نموده و در نتیجه به مقدار مساوی از هر دو زنجیره، در داخل سلول ساخته می‌شود. فقدان زنجیره بتا گلوبین، نه تنها منجر به اختلال در تولید هموگلوبین می‌شود، بلکه باعث افزایش نسبی آلفا گلوبین نیز می‌گردد. که این افزایش، مرگ سلول را تسریع می‌کند و منجر به کم‌خونی می‌شود.

این بیماری و سایر بیماری‌های ارثی خونی را احتمالاً از طریق رهاسازی ژن‌های سالم به داخل سلول‌های اجدادی خونی<sup>۱۰</sup>، می‌توان درمان نمود. وارد کردن ژن مورد نظر، به صورت پایدار به درون سلول‌های اجدادی می‌تواند تولید سلول‌های خونی طبیعی را در طول عمر بیمار تضمین نماید. متأسفانه سلول‌های اجدادی خون انسان آن‌چنان کم هستند که جداسازی آنها غیرممکن خواهد بود.



بنابراین پژوهشگران ناچارند سلول‌های بسیاری را در مغز استخوان توسط رتروویروس‌ها آلوده نمایند، بدان امید که سلول‌های اجدادی به تعداد کافی ژن را دریافت کرده باشند.

مطالعات انجام شده بر روی بتا گلوبین، منجر به بدست آمدن شواهدی شد که نشان می‌دهد این روش از برتری‌های خاصی برخوردار است.

ژن بتا گلوبین انسانی را می‌توان توسط رتروویروس به صورت پایدار به داخل سلول‌های مغز استخوان موش وارد کرد. وقتی این‌گونه سلول‌ها به بدن موش پیوند زده شوند، ژن انسانی در این سلول‌ها بیان خواهد شد.

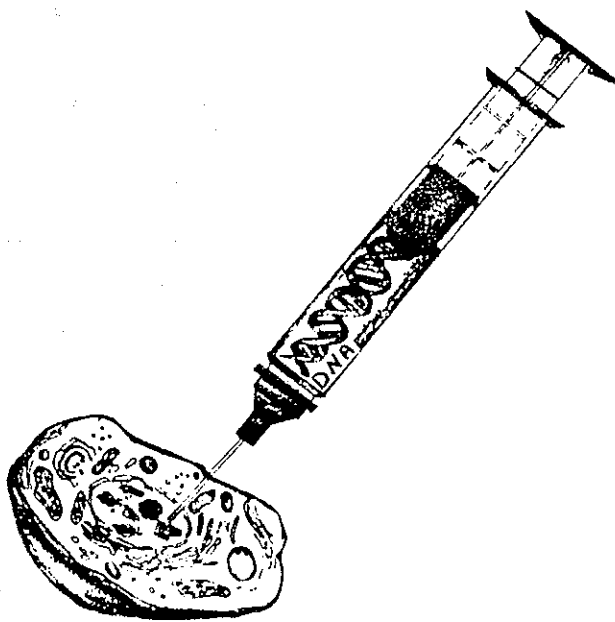
با بیان ژن در سطح قابل قبول، باید امید فعالیت درازمدت آن نیز وجود داشته باشد. به طوری که نشان داده شده است، بیان ژن بتا گلوبین انسانی در بدن موش برای یک دوره پنج ماهه که معادل تولید پروتئین به مقدار ۱۵ الی ۲۰ سال در بدن انسانی می‌باشد، صورت گرفته است. به همین شکل محققین توانسته‌اند ژن آلفا گلوبین را برای یک دوره ۱۰ ماهه فعال نگاهدارند.

برای بسیاری از بیماری‌ها از جمله SCID، تولید ساده مقادیری از پروتئین از دست رفته بهتر از هیچ است. اما این شکل تولید پروتئین برای بیماری تالاسمی درست نیست، زیرا که افزایش نسبی در مقادیر هر دو زنجیره آلفا و بتا می‌تواند منجر به آسیب سلول‌ها گردد. فعالیت ژن درمان‌کننده گلوبین بایستی دقیقاً منطبق با شکل فعالیت نرمال آن ژن صورت پذیرد. متأسفانه مکانیسم‌هایی که فعالیت این ژن‌ها را کنترل می‌نمایند به طور کامل برای ژن بتا گلوبین و بسیاری از ژن‌های دیگر شناخته نشده است.

سلول‌های پوست برای اهداف دیگری در دست مطالعه هستند. پیوند سلول‌های پوستی می‌تواند منجر به بهبودی بسیاری از اختلالات شود. از این دسته بیماری‌ها، می‌توان به هموفیلی (فقدان فاکتورهای انعقادی) و بیماری‌هایی که بدلیل تولید ناکافی هورمون‌های خاصی از جمله هورمون رشد بوجود می‌آیند، اشاره نمود. فیروبلاست‌ها جزء اصلی پوست بوده و مناسب‌ترین سلول‌ها برای درمان هستند.

افزودن ژن هنگامی می‌تواند مفید واقع شود که آسیب ژنتیکی باعث اختلال در تولید یک پروتئین شده باشد. اما اگر آسیب ژنتیکی منجر به تولید زیاد یک پروتئین و یا تولید یک پروتئین معیوب (مانند کم‌خونی داسی شکل) شده باشد، «ژن درمانی» نمی‌تواند مؤثر شود.

فیروبلاست‌ها از این نظر که قابل دسترس، مقاوم و دارای قدرت تقسیم در شرایط آزمایشگاه هستند، مناسب به نظر می‌رسند. مطالعات وسیعی بر روی ارزش فیروبلاست‌های پوست جهت درمان بیماری هموفیلی ناشی از فقدان فاکتور انعقادی IX صورت گرفته است.



تحقیقات نشان می‌دهند که فیروبلاست‌ها در اثر تحریک قادر هستند فاکتور IX را سنتز و ترشح نمایند، اگرچه به طور طبیعی این پروتئین را نمی‌سازند. علاوه بر این، محققین زمانی که از رتروویروس‌ها به منظور الحاق ژن فاکتور IX انسان، به داخل فیروبلاست‌ها استفاده نموده و سپس این فیروبلاست‌ها را به پوست موش پیوند زدند. پیوندها عروقی شدند و فاکتور IX را به داخل خون آزاد نمودند.

این مطالعه نه تنها ثابت می‌کند که بیان ژن فاکتور IX در موش امکان‌پذیر است بلکه، نتیجه مهم دیگری نیز دربردارد. در حدود پانزده روز بعد از پیوند سلول‌ها، فاکتور IX انسانی از خون موش ناپدید می‌گردد. موش‌ها پاسخ ایمنی شدیدی بر علیه پروتئین‌های انسانی از خود نشان می‌دهند. مفهوم ژن درمانی زمانی موفقیت‌آمیز خواهد بود که بیماران مقادیر ناچیزی از پروتئین‌های بیگانه را توسط سیستم ایمنی از بین ببرند.

هم‌چنین از فیروبلاست‌های تغییر یافته ژنتیکی می‌توان به منظور درمان اختلالات نرونی در مغز استفاده نمود. درمان مغز بسیار مشکل است زیرا که بسیاری از داروهای موجود در خون اجازه ورود به مغز را ندارند. به علاوه این که، برای

تغییرات ژنتیکی نمی‌توان مستقیماً نرون‌ها را از مغز برداشت.

از نظر تئوری فیروبلاست‌ها را می‌توان به منظور ترشح پروتئین‌های خاص و سپس نفوذ آنها به درون بافت نرونی، دستکاری ژنتیکی نمود. نتایج اولیه‌ای که در این خصوص بدست آمده دلگرم‌کننده می‌باشند. نشان داده شده است که فیروبلاست‌های تغییر یافته قادرند پس از پیوند به مغز موش صحرایی از خود هورمون رشد ترشح نمایند که باعث تحریک رشد سلول‌های عصبی مغز بشود. این روش می‌تواند در درمان بیماری «آلزایمر» که همراه با زوال حافظه است و یا در پارکینسون که در تولید دوپامین اشکال وجود دارد مؤثر واقع شود.

در مقایسه با سلول‌های مغز استخوان و پوست، سلول‌های کبدی اخیراً وارد میدان فعالیت ژن درمانی گردیده‌اند. اهمیت سلول‌های کبدی از این نظر است که می‌توانند برای درمان هر بیماری ژنتیکی که ناشی از اختلال در کار سلول‌های کبدی است، مورد استفاده قرار گیرند.

اخیراً محققین موفق شدند که ژن «سازنده گیرنده‌های لیوپروتئین با دانسیته پائین» (LDL<sup>11</sup>) را در سلول‌های کبدی رها نموده و این سلول‌ها را وادار نمایند که در محیط کشت، گیرنده‌های فعال تولید کنند. سلول‌های کبدی از نوعی خرگوش بدست آمدند که به طور ژنتیکی در تولید گیرنده‌های (LDL)<sup>12</sup> اختلال داشته و چنین اختلالی در انسان به صورت هیپرکلسترولمی خانوادگی دیده می‌شود، و یکی از عواملی است که باعث حملات قلبی می‌شود.

امید آن می‌رود که «سیستیک فیروز» که یک بیماری ریوی ارثی است، توسط بسته‌بندی ژن‌های سالم به درون رتروویروس‌ها و مصرف آن از طریق اسپری‌های آئروسول درمان گردد.

ژن درمانی محدود به درمان عوارض ناشی از ژن‌های آسیب دیده نمی‌گردد، بلکه با این روش

می‌توان خواص جدیدی به سلول‌ها داد تا در مقابل بیماری‌ها مقاومت و توان بیشتری داشته باشند. برای مثال، بعضی از محققین ثابت کردند که جدا کردن لئوسیت‌ها از تومور بیماران و کشت دادن آنها همراه با اینترلوکین ۲ (فعال‌کننده لئوسیت‌های T) می‌تواند موجب کوچک شدن بعضی از تومورهای سرطانی شود. این عمل توسط الحاق ژنی که فاکتور نکروزه کننده تومور را کُد می‌نماید بداخل لئوسیت‌ها امکان‌پذیر می‌باشد.

## ژن درمانی محدود به درمان عوارض ناشی از ژن‌های آسیب دیده نمی‌گردد، بلکه با این روش می‌توان جدیدی به سلول‌ها داد تا در مقابل بیماری‌ها مقاومت و توان بیشتری داشته باشند.

ایده «ژن درمانی» به منظور درمان بیماری‌های ارثی و سایر بیماری‌ها کمتر از یک انقلاب نیست. اما، تحقیقات در این زمینه آهسته‌تر از آنچه انتظار می‌رود پیشرفت می‌نماید. موجودات پیشرفته حاصل میلیون‌ها سال تکامل هستند. کسی نمی‌تواند انتظار داشته باشد که اولین اقدامات در جهت الحاق ژن بداخل سلول‌ها به آسانی منجر به بدست آمدن سلول‌های نرمال با بیان ژنی طبیعی شود. هنوز برای درمان بیماری‌ها محققین باید راه‌های مطمئن بیابند که اولاً ژن درمان‌کننده خوب بیان شود و دیگر آن‌که ژن در بدن استقامت و پایداری خوبی داشته باشد. در عین حال، بی‌ضرر بودن رتروویروس‌های ناقل ژن باید مورد تأیید قرار گیرد.

هدف از درمان بیماری‌های ژنتیکی یک بار درمان و درمانی بی‌خطر است و این هدف، ارزش تلاش و صرف وقت را دارد. اما باید به این نکته اشاره نمود که «ژن درمانی» نمی‌تواند تمام بیماری‌های انسان را درمان نماید. بسیاری از بیماری‌های انسان اساس ژنتیکی ندارند و ناشی از عوامل محیطی می‌باشند، مانند: عفونت‌های باکتریایی که خود به دلیل فقر بهداشت، خوردن آب آلوده، سوء تغذیه و سایر عواملی که خارج از حیطه عملکرد مهندسی ژنتیک هستند، بوجود می‌آیند. به هر حال این‌گونه بیماری‌ها نیز مستحق مطالعه بیشتریند.

1. Recombinant DNA
2. National Institutes of Health (NIH)
3. Adenosine deaminase
4. Severe Combined Immuno Deficiency
5. Therapeutic gene
6. Non target
7. Micro injection
8. Electro Poration
9. Retrovirus
10. Stem cells
11. Low - density lipoprotein (LDL)
12. Hypercholesterolemia

\* تعریف: ژن عبارت است از مجموعه پیام‌های وراثتی که در ساختمان DNA قرار گرفته‌اند. این پیام‌ها خصوصیات فیزیولوژی، آناتومی و ... فرد را تعیین می‌کنند.