ژن درمانی در سرطان و پیشرفت‌های آن

دکتر محمدرضا نوری دلویی

گروه ژنتیک پزشکی ـ دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر برزو نیک‌پور

پزشک عمومی

خلاصه

ابداع روشهای ژن درمانی (که ظهور دانش و فن مهندسی ژنتیک در آن نقش تعیین کننده داشته است) با کاربردهای گسترده از اهمیت حیاتی برخوردار است. از همین رهگذر می‌باشد که امروزه شناسایی مولکولی و درمان بیماریهای انسان به وسیله انتقال ژن، از حوزه نظری به قلمرو علمی وارد شده است.

ژن درمانی، انتقال مواد ژنتیکی به درون سلولهای یک موجود برای مقاصد درمانی می‌باشد که به روشهای متفاوت و متنوع (فیزیکی، شیمیایی و زیستی) صورت می‌گیرد. در این روشها، به جای برخورد معلولی، برخورد نسبتاً اساسی با بیمار و بیماری صورت می‌گیرد و به جای تمرکز روی علایم بیماری یا رخدادهای ثانوی دخیل در مراحل بیماریزایی، به طور مستقیم روی ژنِ جهش یافته متمرکز شده است.

در این مقاله، با استفاده از بیش از صد منبع معتبر که اکثر آنها از جدیدترین دستاوردهای علمی و پژوهشی هستند و نیز با استفاده از تخصص و تجارب شخصی، ابتدا به طور مختصر به تاریخچه و سیر تکامل ژن درمانی پرداخته شده است و در ادامه، راه‌کارهای متفاوتی که تاکنون برای ژن درمانی سرطانها مورد استفاده قرار گرفته، ارایه شده است. از مهمترین راه‌کارهای قابل ذکر عبارتند از: استفاده از ژنهای خودکشی که در این روش ژنهایی که فرآورده‌های آنها برای سلولهای سرطانی کشنده است وارد سلولهای سرطانی می‌شود؛ تقویت سیستم ایمنی بر ضد سلولهای سرطانی با ورود ژنهای لنفوکین‌ها و سیتوکین‌های متفاوت به درون سلولهای سرطانی؛ استفاده از ژنهای مختلف برای مقاوم کردن مغز استخوان در برابر داروهای شیمی درمانی و مهار عملکرد انکوژنها و استفاده از ژنهای بازدارنده تومور.

در ادامه مطلب، پس از بیان خلاصه‌ای از نتایج جاری کار آزماییهای بالینی که در حال حاضر در سر تا سر دنیا برای بررسی اثربخشی این روشها در حال انجام است، مقاله با اشاره‌ای بر سیستمهای انتقال دهنده ژنهای مورد نظر به درون سلولهای متفاوت و نقاط ضعف و قوت هر یک به پایان می‌رسد.

ژن درمانی، امروزه روشی پر هزینه بوده و به فنون پیشرفته و تخصصی و مهارت‌های علمی و پزشکی بسیاری وابسته است و از این رو، اینک استفاده از آن در سطح بالینی به مراکز پژوهشی و پزشکی معتبر جهانی محدود می‌باشد اما مجموعه‌ای از شواهد وسیع بیانگر آن است که به‌زودی در پزشکی مولکولی و در مورد طیف وسیعی از بیماریها (سرطان) به کار خواهد رفت و بدون تردید تحولی اساسی را در پزشکی سدهٔ آینده نوید می‌دهد و بر توانایی فوق‌العاده انسان در پیش‌گیری و درمان هزاران بیماری خطرناک ژنتیکی و سرطان که در برابر درمان‌های رایج مقاومت نشان می‌دهند، مهر تأیید خواهد گذاشت.

مقدمه

شکوفایی و توسعه خیره کننده فنون و روشهای مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مولکولی در دو دهه اخیر، دگرگونی عظیمی را در زندگی انسان ایجاد کرده است. درمان بیماریها از راه دستکاری در ژنها یا ژن درمانی (gene therapy) نیز از جمله راههای جدیدی است که از اوایل دهه ۱۹۹۰ برای بسیاری از بیماریها، در میدان عمل مورد آزمون قرار گرفته است. ابداع و تکامل فنون و روشهایی فوق‌العاده موثر و جدید مانند واکنش زنجیره پلیمراز یا به اختصار PCR (polymerase chain reaction) که با تکثیر اختصاصی DNA، در زمانی بسیار کوتاه (کمتر از چند ساعت)، میلیونها نسخه از یک مولکول DNA را ایجاد می‌کند؛ همچنین افزایش مهارت در کار با آنزیمهای نوع دوم برش‌دهنده خاص و محدودگر (restriction endonuclease enzymes) که مولکول DNA را به شیوه‌ای دقیق و از نقاط ویژه برش داده و پیوستن قطعات DNA را به یکدیگر امکان‌پذیر می‌سازدو (restriction fragment length polmorphism) یا RFLP بستر مناسبی برای دستکاری در ژنها را فراهم آورده است (۵-۱).

فن PCR، کشف بسیار مهم علمی و در ردیف کشف ردیف یابی بازی مولکول DNA (DNA sequencing) و کلون سازی ژن به حساب می‌آید و بی‌دلیل نیست که از آن، به‌عنوان یک انقلاب در روشهای تجزیه و تحلیل DNA یاد می‌شود. از این فن در زمینه‌های بسیار متنوع مانند پزشکی مولکولی و تشخیص طبی، پزشکی قانونی، پژوهش‌های وسیع زیست‌شناسی مولکولی مانند تعیین روابط خویشاوندی ژنتیکی یا تکامل زیستی جانداران از بین رفته و موجودات کنونی کره زمین استفاده می‌گردد.

فن PCR، دارای کاربردهای بی‌شماری است که دسته بندی نشانگرهای ژنتیکی؛ الگوهای DNA برای غربال سازی جهش‌های نقطه‌ای؛ کلون سازی cDNA؛ کلون سازی DNA ژنومی، قدم زدن در طول کروموزوم؛ الگوهای DAN برای ردیف یابی بازها و جهش‌زایی در محیط خارج از موجود زنده از آن جمله هستند.

در واقع، در پژوهشهای استراتژیک زیست‌شناسی مولکولی و کاربردی، انقلاب PCR توانسته است سرعت، دقت و درستی شناسایی عوامل بیماریزا را به طور برجسته‌ای افزایش داده و هزینه‌ها و زمان رسیدن به پاسخها را به میزان قابل توجهی کاهش دهد (۷، ۶، ۵، ۴).

اساس ژن درمانی مبتنی بر این اندیشه است که بسیاری از بیماریها ریشه در اختلال در کارکرد ژنها دارند. بنابراین، قراردادن نسخه صحیحی از ژن معیوب (که تهیه آن به روشهای مختلف و متنوع امکان‌پذیر است) به کمک ناقل (vector) مناسب و ویژه در هسته سلول، موجب تصحیح عمل ژن و در نتیجه درمان اساسی بیماری می‌شود. علاوه بر انتقال ژن سالم به درون سلول (replacement therapy)، اصلاح ژن معیوب توسط رفع نقص و تغییر ژنو تیپ آن (correction therapy) یا مهار کردن بیان ژن معیوب نیز از جمله روشهای ژن درمانی به حساب می‌آید (۹، ۸، ۷، ۶).

اولین کارآزمایی بالینی (clinical trial) بر اساس ژن درمانی در سال ۱۹۹۰ بر روی یک دختر بچه مبتلا به کمبود ایمنی شدید و مرکب (Severe Combined Immunodeficiency - SCID) انجام گرفت. در این آزمون با قرار دادن نسخه

سالمی از ژن مربوط به آدنوزین دآمیناز (adenosine deaminase) یا به اختصار ADA که اختلال در آن موجب بیماری SCID می‌شود و با کمک ناقل ویروسی، سعی در درمان این بیماری گردیده است که نظر به اهمیت بیماری توضیح بیشتری داده می‌شود.

به لحاظ تاریخی، نخستین کارآزمایی بالینی ژن درمانی در ۱۴ سپتامبر ۱۹۹۰ صورت گرفت و طی آن، Ashanti Desilva که اندکی کمتر از چهار سال داشت، با مجوز قانونی به‌عنوان نخستین فرد بیمار، تحت ژن درمانی قرار گرفت. این دختر بچه که از بیماری کمبود ایمنی شدید و مرکب که به طور معمول کشنده است، رنج می‌برد و مستعد ابتلا به عفونتهای متفاوت شده بود، دچار کمبود آنزیم ADA بود که برای عملکرد صحیح سیستم ایمنی لازم است. ژن سالم مربوط به این آنزیم به لفنوسیت‌های T او انتقال یافت. لنفوسیتهای T بیشتر از دیگر سلولها مورد هدف این بیماری قرار می‌گیرند. در آزمایش بالا که در انستیتو ملی بهداشت آمریکا توسط گروهی مشتمل بر Blease، Culver و Anderson با موفقیت انجام پذیرفت، گویچه‌های سفید سیستم ایمنی از بدن او خارج شده و با استفاده از ناقلین رترو ویروسی، با وارد کردن نسخه‌های طبیعی از ژن مورد نظر به درون آنها، سلولهای تیمار گردیده به جریان خون وی بازگردانده شد. Ashanti پس از چهار ماه بهبود یافت (۱۱، ۱۰، ۹، ۸).

پس از نخستین ژن درمانی، تاکنون این شیوه در درمان بسیاری از بیماریها از جمله انواع سرطانها مورد توجه و بررسی قرار گرفته است. برای کنترل و درمان سرطانها، تصحیح ژن ناقص یا جهش یافته به کمک ژن درمانی یکی از راه‌کارهای مبارزه با این بیماری می‌باشد. راه‌کارهای دیگری نیز برای درمان و کنترل سرطانها پیشنهاد شده ولی اساس همه این روشها مبنی بر قرار دادن نسخه‌ای از یک ژن، در سلولهای سرطانی با کمک ناقلین متفاوت است.

در این مقاله، ابتدا اساس و مهمترین روشهای مختلف و متنوع ژن درمانی برای سرطانها توضیح داده شده و در پی آن، ناقلین متفاوتی که برای این کار به‌کار می‌رود و نیز مزایا و محدودیتهای آنها به اختصار مورد بررسی قرار گرفته است.

راه‌کارهای متفاوت برای ژن درمانی سرطانها

۱ـ استفاده از ژنهای خودکشی

یکی از روشها برای از بین بردن سلولهای سرطانی، استفاده از ژنهای خودکشی (suicide gene) است. اساس این روش بر مبنای قرار دادن ژنهایی در سلول سرطانی استوار است که فرآورده پروتئینی آنها قابلیت تبدیل پیش داروهای مختلف (prodrug) را به موادی که برای سلول کشنده است، دارند. معروفترین ژنی که برای این کار به کار می‌رود، ژن تیمیدین کیناز (thymidine kinase) متعلق به هرپس ویروس می‌باشد (HSV - TK) (۱۷، ۱۶، ۱۵، ۱۴، ۱۳، ۱۲). فرآورده این ژن یعنی آنزیم تیمیدین کیناز که به اختصار TK خوانده می‌شود، موجب فسفریله کردن داروی گانسیکلوویر (ganciclovir) می‌گردد. شایان ذکر است که این دارو به خودی خود اثری بر روی سلول ندارد اما متابولیت‌های فسفریله آن برای سلول کشنده بوده و آنها را از بین می‌برد (۵، ۴). سلولهای طبیعی

نسانی فاقد آنزیم لازم برای فسفریله کردن این دارو هستند. از این رو این دارو تنها بر روی سلولهایی اثر داشته و موجب مرگ آنها می‌شود که ژن TK در آنها فعالیت کند. آزمونهای اولیه این روش بر روی انواع رده‌های سلولهای سرطانی انسانی پیوند زده به جانوران آزمایشگاهی ماند سرطان ریه (۱۸)، مزوتلیوما (۱۹)، هپاتوسلولارکارسینوما (۲۰)، لوسمی (۲۱)، ملانوما (۲۲)، و تومورهای مغزی (۲۷، ۲۶، ۲۵، ۲۴، ۲۳) موفقیت‌آمیز بوده است.

بسیاری از مطالعات به عمل آمده بیانگر آن است که تعداد سلولهای سرطانی که با این روش از بین می‌روند، بسیار بیشتر از تعداد سلولهای آلوده شده با ژن TK می‌باشد (۲۹، ۲۸). به این پدیده اثر bystander می‌گویند. فرضیات زیادی برای توجیه این اثر پیشنهاد گردیده که مهمترین آنها بر احتمال انتشار متابولیتهای فسفریله گانسیکلوویر توسط هم پیوستگی شکاف (gap junction) بین سلولهای سرطانی مجاور دلالت دارد (۳۰، ۲۹). از فرضیات دیگر برای توجیه این پدیده می‌توان از تخریب آندوتلیوم در اثر ورود ژن TK و در نتیجه نکروز محدوده‌ای که از آن رگ تغذیه می‌کند (۱۴)، آندوسیتوز قطعات سلولهای مرده توسط سلولهای زنده و ورود متابولیتها به سلولهای دیگر (۳۲، ۳۱) و تحریک سیستم ایمنی (۳۳) نام برد.

برای ارزیابی این روش بر روی انسان، تا آوریل ۱۹۹۷، ۲۱ کارآزمایی بالینی در کشورهای مختلف مورد تایید رسمی قرار گرفته و در دست اقدام است که البته اکثر آنها بر روی بیماران مبتلا به سرطان مغزی، در حال انجام می‌باشد (۳۴، ۳۲). مجموع بیماران مورد اقدام، ۱۰۴ نفر هستند که نتایج منتشر شده اولیه مربوط به ۶۲ نفر از آنان حاکی از پسرفت قابل توجه تومور، در ۸ مورد می‌باشند. این کارآزمایی‌ها هم‌چنان ادامه دارد و نتایج آنها به تدریج تکمیل خواهد شد.

علاوه بر ژن TK، از ژنهای دیگری نیز به‌عنوان ژنهای خودکشی استفاده می‌شود. از این ژنها می‌توان از ژن سیتوزین دآمیناز (cytosine deaminase) نام برد که 5 ـ فلوئوروسیتوزین (5 - flurocytosine) را به 5 ـ فلوئورویوراسیل (5 - flurouracil) که متابولیتی سمی بوده و موجب مرگ سلول می‌شود، تبدیل می‌کند (۳۶، ۳۵). کارآزماییهای بالینی برای مطالعه اثربخشی این روش نیز در انسان در حال انجام می‌باشد (۳۷).

۲ ـ تقویت سیستم ایمنی (Immunopotention) بر ضد سلولهای سرطانی

سیستم ایمنی بدن به طور معمول واکنش خوبی در برابر سلولهای سرطانی به‌عنوان یک بافت با پادگنهای بیگانه از خود نشان نمی‌دهد. این شیوه رفتار علل مختلفی دارد که از جمله آنها می‌توان به عدم تحریک سیستم ایمنی توسط سلولهای سرطانی (به دلیل نمایان نکردن پادگنهای سطحی خود) و نیز تضعیف سیستم ایمنی کلی بدن اشاره کرد (۳۳). این عوامل موجب می‌شود تا سیستم ایمنی بدن به ویژه سلولهای زهرآگین T (T-cytotoxic) که دفاع در برابر سلولهای خارجی را به عهده دارند، نتوانند نقش مناسب خود را در از بین بردن سلولهای سرطانی ایفا کنند. بنابراین، تقویت سیستم ایمنی و تحریک آن بر ضد سلولهای توموری یکی از راه کارهایی است که می‌تواند در از بین بردن این سلولها مفید

واقع شود. یکی از این روشها، انتقال ژنهای سیتوکین‌های (cytokains) مختلف به بافتهای سرطانی یا فیبروبلاست‌های اطراف آنها به دو شیوه in vivo یا ex vivo می‌باشد. ترشح این سیتوکین‌ها و لنفوکین‌ها توسط سلولهای سرطانی (یا فیبروبلاستهای اطراف) موجب تحریک سیستم ایمنی بر ضد آنها و در نهایت از بین رفتن یا تحلیل بافت سرطانی می‌شود. برای این منظور در حیوانات آزمایشگاهی، ژنهای سیتوکین‌های مختلفی مورد آزمون قرار گرفته‌اند که نتایج اکثر آنها رضایت بخش بوده است. از جمله:

IL - 1 (۳۸)، IL - 2 (۳۹)، IL - 4 (۴۰)، IL - 6 (۴۱)، IL - 7 (۴۲)، IL - 12 (۴۳)، G - CSF (۴۴)، GM - CSF (۴۵)، TNF - α (۴۶)، IFN - γ (۴۷)، IFN - α (۴۸)، TGF - β9 (۴۹). در بسیاری از این آزمایشها ترشح سیتوکین‌ها نه تنها موجب تحلیل تومور اولیه گردیده بلکه تحلیل متاستازهای مختلف تومور را نیز در پی داشته است (۴۳، ۴۱، ۴۰، ۳۹، ۳۸).

علاوه بر انتقال ژن سیتوکین‌های مختلف به سلولهای سرطانی راه دیگری نیز که برای تقویت سیستم ایمنی بر ضد سلولهای سرطانی پیشنهاد شده است، انتقال ژنهای مربوط به پادگنهای عمده سازگاری بافتی (Major Histocompatibility Antigen) یا به اختصار MHC - 1 می‌باشد. ترکیب پروتئین‌های MHC - 1 با پادگنهای سلولهای سرطانی برای تقویت سیستم ایمنی لازم می‌باشد (۵۱، ۵۰). اکثر سلولهای سرطانی در بیان MHC - 1 که در سلولهای طبیعی وجود دارد، دچار نقصان می‌باشند (۵۲، ۳۲). بنابراین، انتقال ژن پروتئین MHC - 1 به ویژه از دسته B7 - 1 و B7 - 2 به سلولهای سرطانی موجب تقویت سیستم ایمنی بر ضد سلولهای توموری می‌گردد (۵۳، ۵۲، ۵۱).

تا آوریل ۱۹۹۷ حدود ۶۰ کارآزمایی بالینی در انسان به شکل رسمی شروع گردیده است که در مراحل اولیه بوده‌اند. ۳۷۶ بیمار در این کارآزمایی‌ها شرکت داده شده‌اند که از جمله این کارآزماییها می‌توان به کاربرد IL - 1 (interleukin 1 -) برای درمان ملانوما، سرطان کلیه، نوروبلاستوما و گلیوبلاستوما، IL - 4 برای ملانوما، عامل نکروز توموری (TNF) برای ملانوما، IFN - γ (Gamma - Interferon) برای ملانوم و عامل محرک کولونی GM - CSF برای سرطان کلیه اشاره کرد (۳۴، ۳۲).

۳ ـ استفاده از ژن درمانی برای مقاوم کردن مغز استخوان به شیمی درمانی

یکی از درمانهایی که هم اکنون جایگاه مشخصی را در درمان سرطانها به خود اختصاص داده است شیمی درمانی به کمک انواع داروها می‌باشد. متأسفانه حساسیت برخی از اندامهای بدن به ویژه مغز استخوان، به این داروها موجب می‌شود که نتوان تجویز آنها را از حد مجازی بیشتر کرد. چه، تجویز بیش از حد مجاز و به منظور پاکسازی بهتر بدن از سلولهای سرطانی، موجب از بین رفتن بافتهای حساس به ویژه مغز استخوان خواهد شد.

یکی دیگر از راه‌کارهای موجود در ژن‌درمانی برای مقابله با سرطان، انتقال ژنهای مورد نظر به بافتهای حساس مثل مغز استخوان است که آنها را در برابر شیمی درمانی مقاوم می‌کند. بنابراین می‌توان با آسودگی خاطر

نسبی از مقادیر بالاتر داروهای شیمی درمانی برای از بین بردن هر چه بیشتر سلولهای سرطانی بهره گرفت. مهمترین ژنی که هم اکنون برای این منظور به کار می‌رود ژن MDE1 (Multi Drug Resistance) است که فرآورده‌ای به نام P(pump) - glycoprotein یا P170 تولید می‌کند (۵۵، ۵۴). این پروتئین یک تلمبه سطحی سلولی بوده که موجب انتشار و به خارج راندن بسیاری از داروهای آب گریز از سلولها می‌شود (۵۶). این پروتئین موجب مقاومت مغز استخوان در موش‌ها در برابر بسیاری از داروهای شیمی درمانی مانند: anthreacycline etoposide, taxol, actinomycin, doxorubicn, vinca - alkaloid

تا ۱۷ ماه پس از انتقال ژن می‌گردد (۵۹، ۵۸، ۵۷، ۵۵).

علاوه بر ژن MDR1، می‌توان از ژنهای دیگر مانند O - Methylguanidine - methyltransferase برای مقاومت در برابر ترکیبات nitrosurea (۶۰) و dihydrofolate reductase مقاوم به متوتروکسات برای مقاومت در برابر متوتروکسات (۶۱) و Glutathion - s - transferase برای مقاومت در برابر ترکیبات آلکیله کننده (alkylating agent) نام برد (۶۲). بر اساس یافته‌های اولیه تا آوریل ۱۹۹۷، ۸ کار آزمایی بالینی برای ارزیابی این روش به ثبت رسیده است که نتایج ابتدایی آن هنوز منتشر نشده است (۳۴، ۳۲).

۴ ـ مهار عملکرد انکوژنها (Oncogenes) و استفاده از ژنهای بازدارنده تومور (Tumor suppresor genes)

مطالعات بسیار گسترده، سه گروه از ژنها را که به وفور در سرطان دستخوش جهش می‌گردند مشخص کرده است که در کنار ژنهای بازدارنده تومور و ژنهای جهش ساز یا جهش‌پذیر، انکوژنها نیز از مهمترین این ژنها به حساب می‌آید. انکوژنها که در آغاز به‌عنوان ژنهای دارای ویژگی ترا ریختی در ویروسها کشف شدند، شکلهای تغییر یافته ژنهای طبیعی به نام پروتو (پیش) انکوژن (proto - oncogene) هستند.

فرآورده‌های پیش انکوژنها که در خلال تکامل زیستی به شدت ابقا شده‌اند، به‌عنوان حوادث طبیعی چرخه سلولی، تقسیم سلولی و تمایز را تنظیم می‌کنند و در هماهنگ ساختن و تکثیر سلول نقش اساسی و ضروری دارند. انکوژنها در سلولهای سرطانی، فعالیت طبیعی نداشته و در مراحل سرطانزایی نقش اساسی را ایفا می‌کنند.

کنترل رشد طبیعی و تمایز سلولی با میانجیگری میانکش عوامل رشد و سیتوکین‌ها با گیرنده‌های متصل به غشا آنها صورت می‌گیرد. این رخدادها، ردیفی از علایم بیوشیمیایی درون سلولی را ایجاد می‌کند که در نهایت به فعال شدن یا مهار ژنهای متنوعی می‌انجامد.

فرآورده‌های پیش انکوژنی در مراحل حساس مسیرهای اشاره شده، ایفای نقش می‌کنند. این فرآورده‌ها شامل پروتئین‌هایی مانند سیتوکین‌های برون سلولی و عوامل رشد، گیرنده‌های عامل رشد، پروتیئن‌های سیتوپلاسمی که علایم را به هسته سلول انتقال می‌دهند و پروتئین‌های هسته‌ای مشتمل بر عوامل رونویسی و پروتئین‌های وارده در کنترل همانندسازی DNA هستند.

شکلهای جهش یافته انکوژنها ـ که با مکانیسم‌های متعدد و متنوع ایجاد می‌شوند ـ و معمولاً با الگوی غالب عمل می‌کنند، بیش از حد

طبیعی یا به طور نامناسب فعال می‌گردند. فرآورده‌های پروتئینی انکوژن فعال شده در شمار زیادی از سرطانها با همتای طبیعی خود تنها در یک اسید آمینه تفاوت دارد. به طور مثال شایعترین این نوع جهشها در ژن RAS رخ می‌دهد. به طور تقریب ۲۰٪ تا ۳۰٪ از تمام سرطانهای انسانی دارای یک ژن جهش یافته RAS است. شکل طبیعی پروتئین RAS به طور معمول در هدایت سلول به سوی تقسیم ایفای نقش می‌کند.

از نقطه نظر عملکرد، دست کم پنج رده از انکوژنها شناسایی شده است: عوامل رشد ترشح شده، گیرنده‌های سطحی سلول، اجزای علایم سیستمهای ترا رسانی درون سلولی، پروتئین‌های هسته‌ای اتصالی به DNA و اجزای شبکه سیکلین‌ها، کینازهای وابسته به سیکلین‌ها و بازدارنده‌های کینازی که در پیشرفت طبیعی در خلال چرخه سلول نقش دارند (۶۶، ۶۵، ۶۴، ۶۳، ۱۱، ۱۰).

با توجه به اهمیت فعالیت انکوژنها در پیدایش سلولهای سرطانی و از آنجا که فعال شدن این ژنها دلیل اصلی بسیاری از سرطانها است، روش‌های متعددی برای غیر فعال کردن آنها به کار گرفته شده یا در دست بررسی می‌باشد. از آن جمله، یکی از راه‌کارهای عمده برای از بین بردن سلولهای سرطانی ممانعت از فعالیت انکوژن‌ها در سطوح مختلف آن ـ از نسخه‌برداری از ژن تا ترجمه و فعالیت پروتئین نهایی ـ می‌باشد. بدین منظور، یکی از این فنون استفاده از الیگودزوکسی نوکلئوتید آنتی سنس [Antisense Oligodeoxynucleotide (ODN)] است (۶۸، ۶۷). در این روش ابتدا قطعه کوچکی از DNA تهیه می‌شود که ردیف بازی آن مکمل بازهای mRNA سنتز کننده انکوپروتئین (آنتی‌سنس) می‌باشد. با انتقال این ژن به سلولهای سرطانی و فعالیت آن، رشته‌های متعددی سنتز می‌شود که به دلیل مکمل بودن با mRNA مربوط به انکوژن‌ها به آن چسبیده و موجب تشکیل مولکول دورگه DNA - RNA می‌شود. این ترکیب با مکانیسم‌های متعدد مانع از ترجمه مولکول mRNA و تولید انکوپروتئین‌ها می‌شود (۶۹، ۶۸).

همچنین می‌توان ژنها را به شکلی طراحی کرد که RNA ی سنتز شده از آنها، مکمل mRNA انکوپروتئین‌ها باشد، در این حالت مولکول دورگه (Antisense)RNA - (Oncoprotein)mRNA به‌وجود آمده و از ترجمه مولکول mRNA و در نتیجه سنتز انکوپروتئین‌ها، جلوگیری می‌کند (۶۹).

از فناوری آنتی سنس برای ممانعت از فعالیت انکوژن‌های مختلف در رده‌های متفاوت سلول‌های سرطانی استفاده شده است که از جمله آنها می‌توان از موارد زیر نام برد: مهار انکوژن c - myc جهت مهار رشد human small lung cancer (۷۰)، لنفوم بورکیت (۷۱) و لوسمیهای مختلف (۷۲)، مهار K - ras جهت مهار رشد squamous cell carcinoma در ریه (۷۳). به‌علاوه، مهار CSF - 1 (۷۴)، C - fms (۷۵)، TGF (۷۶)، PDGF (۷۷)، p 120 (۷۸)، C - srs (۷۹) موجب مهار رده‌های مختلف از سلولهای سرطانی می‌گردد.

چنانچه ملاحظه شد، استفاده از فناوری جدید آنتی سنس اسیدهای نوکلئیک (Antisenes nucleic acids - DNA/RNA)، در درمان سرطان از اهمیت بالایی برخوردار است. از این رو، ارایه توضیحات بیشتری خالی از فایده نیست: آنتی سنس‌ها، ردیف‌های کوچکی از

نوکلئوتیدها ـ در اندازه حدود ۱۵ تا ۲۵ ـ هستند که به طور صناعی تهیه شده و مکمل ردیف‌های بازی ویژه در DNA یا RNA می‌باشند. کاربرد این مولکول‌ها، موجب توقف فرآیندهای نسخه‌برداری یا ترجمه از یک ژن خاص (به طور مثال شکل جهش یافته یک انکوژن یا ژن بازدارنده تومور)، می‌گردد. در نتیجه از تولید پروتئین‌های مضر (مانند پروتئین‌های مترشحه در سلولهای سرطانی یا پروتئین‌های تولید شده توسط باکتریها و قارچ‌ها و ویروسهای بیماریزا) جلوگیری می‌کند.

چنانچه می‌دانیم، عملکرد اکثر داروها متوقف ساختن عمل پروتئین‌های معین ـ مانند آنزیم یا گیرنده ـ در بدن است و البته یکی از مشکلات عمده آنها، عوارض کناری است.

در فناوری آنتی سنس، تولید یک پروتئین، به طور مثال با کنترل mRNA ویژه خود، مهار می‌شود. برای عملکرد آنتی سنس‌ها، مکانیسم‌های متعددی توسط پژوهشگران پیشنهاد شده است که شرح جزییات آن در محدوده این مقاله نمی‌گنجد.

شایان ذکر است، علی رغم اهمیت برجسته تکنولوژی آنتی سنس، این شیوه از درمان، هم‌اکنون دوران کودکی خود را می‌گذراند و در نتیجه با پیشرفت‌های روزافزون علمی، راه شناسایی و درمان سرطان هموارتر خواهد شد (۸۲، ۸۱، ۸۰، ۵، ۴).

علاوه بر تکنولوژی آنتی سنس از فنون دیگری برای ممانعت از فعالیت انکوژن‌ها (یا ژنهای بازدارنده تومور) استفاده گردیده که ریبوزیم‌ها (Ribozymes) از آن جمله است.

ریبوزیم‌ها مولکولهای کوچک RNA هستند که توسط آنها، mRNAs حاصل از ژنهای جهش یافته تخریب و تجزیه می‌شوند. اصطلاح ریبوزیم برای نشان دادن اسیدهای نوکلئیک به کار می‌رود که مانند بسیاری از پروتئینها، دارای فعالیت آنزیمی و کاتالیزوری هستند. بنابراین، این مولکولها برای تعدیل بیان ژنهای خاصی به کار می‌آیند و در نتیجه رفتار بیماریزایی تومور را سرکوب می‌کنند. به دلیل نقش مهم ریبوزیم‌ها در کنترل کردن بیان ژنهای ویژه در موجودات زنده و به ویژه انسان، پژوهش پیرامون خواص درمانی ریبوزیم‌ها به سرعت در حال انجام است (۸۰، ۱۲، ۳).

یکی دیگر از فنون مورد استفاده بهره‌گیری از پادتن‌های تک زنجیره‌ای است که بر ضد انکوپروتئین‌ها طراحی شده‌اند. این پادتن‌ها، همچنین قابلیت ترشح از سلول را نداشته و تنها در درون سلول باقی می‌مانند. وارد سازی و بیان ژن این پادتن‌ها به درون سلول سرطانی، پادتن‌های درون سلولی را تولید می‌کند که از خروج انکوپروتئینها از شبکه آندوپلاسمی جلوگیری کرده و در نهایت مانع از فعالیت آن می‌شوند (۸۳). از این فن برای ممانعت از فعالیت انکوژن‌های B - 2 erb و EGF استفاده شده و از رشد سلولهای واجد آنها جلوگیری گردیده است (۸۵، ۸۴).

علاوه بر مهار آنکوژنها، ژنهای بازدارنده تومور نیز در مبارزه با سلولهای سرطانی نقش کلیدی دارند، زیرا در بسیاری از رده‌های سرطانی، شکلهای جهش یافته این ژنها مشاهده شده است. بنابراین، قراردادن نسخه سالم از این ژن در سلولهای سرطانی موجب توقف رشد تومور و تحلیل آن می‌گردد. در واقع، شواهد بسیاری به روشنی نشان داده است که

بازگرداندن عملکرد طبیعی یک ژن بازدارنده تومور، می‌تواند فنوتیپ بدخیم را مهار کند.

به دلیل اهمیت فوق‌العاده این ژنها، توضیح بیشتری پیرامون آنها مناسب به‌نظر می‌رسد:

ژنهای بازدارنده تومور، دومین گروه از ژنهایی هستند که نقش مهمی در ایجاد یا جلوگیری از سرطان دارند. شکل‌های طبیعی این ژنها در کنترل رشد عادی سلول نقش دارند اما حذف یا غیر فعال شدن آنها با ایجاد بدخیمی همراه است. نقش‌های ـ احتمالی ـ ژنهای بازدارنده تومور عبارتند از: تأثیر نهادن بر تمایز، کنترل تماس سلول به سلول، عوامل مهارکننده رشد، میانکش با انکوژنها و تنظیم رونویسی. اگر چه عملکرد نسبتاً دقیق شماری از این ژنها در سطح مولکول روشن شده است، مکانیسم‌های دقیق‌تر مولکولی برای عموم این ژنها را باید در پژوهشهای آینده (که ظاهراً در راه هستند) خواند.

ژنهای P۵۳ و RB، دو مثال بارز از این ژنها هستند که فرآورده‌های پروتئینی بسیار مهمی تولید می‌کنند. پروتئین RB که نام خود را از رتینوبلاستوما گرفته است. فرآورده نخستین ژن بازدارنده کشف شده سرطان است و در تنظیم چرخه سلول نقش دارد. شکل فعال این پروتئین به ویژه به مشابه ترمزی در همانندسازی DNA عمل می‌کند. در حدود ۴۰٪ از سرطان‌های انسانی بررسی گردیده، جهش در ژن RB، فرآورده آن را غیرفعال می‌کند و در نتیجه تقسیم سلولی بی‌وقفه ادامه می‌یابد.

ژن P۵۳ در واقع معمولی‌ترین ژن جهش یافته در سرطان‌های انسانی است. این ژن روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۷ (17P) قرار دارد و فرآورده آن یک فسفو پروتئین هسته‌ای است که تنظیم کننده بسیار مهم و شاخص در فرآیند نسخه‌برداری می‌باشد که اغلب به نام محافظ و پاسدار ژنوم نامیده می‌شود. این پروتئین، در سلولهای طبیعی همانند سازی را در سلولهای آسیب دیده متوقف کرده و مرگ برنامه ریزی شده سلولی یا آپوتوزیس (apoptosis) را ارتقا می‌دهد. مولکول‌های جهش یافته P۵۳، به سلولهایی که DNA آنها آسیب دیده است اجازه بقا و همانندسازی می‌دهد و به تدریج با انباشت جهش‌ها در زاده‌های این سلولها، تومور شکل می‌گیرد. در اکثر سرطان‌های انسانی، شکل جهش یافته ژن P۵۳ حضور دارد (۸۷، ۸۶). جهش‌های P۵۳ نخستین بار در بافتهای سرطانی کولون انسانی کشف شد.

پروتئین P۵۳ به مولکول DNA متصل می‌شود و در مراحل خاصی از چرخه سلول عمل می‌کند. بنابراین، یکی از مهمترین نقش‌های احتمالی این پروتئین انجام وظیفه به عنوان تنظیم کننده منفی رشد از طریق کنترل رونویسی ژنهای وابسته به چرخه سلولی است. در نتیجه با وقوع جهش در این ژن، توانایی تنظیم ژنهای هدف از بین می‌رود و بنابراین، شرایط برای تکثیر کنترل نشده و بی‌رویه پیش آمده و در نهایت، سرطان شکل می‌گیرد.

لازم به تأکید است که ژن P۵۳ هم خصوصیات یک ژن بازدارنده تومور و هم ویژگیهای یک انکوژن را دارا می‌باشد (۸۹، ۶۵، ۶۴، ۶۳، ۱۱، ۱۰).

قراردادان نسخه صحیح از ژن P۵۳ در رده‌های سلولهای سرطانی پروستات (۸۷)، ریه (۹۰)، پستان (۹۱)، سر و گردن (۹۲)، کولون (۹۳، ۹۳)، موجب توقف رشد در این رده‌های سلولی شده است.

تا آوریل ۱۹۹۷، ۱۴ کارآزمایی بالینی برای ارزیابی این راه‌کارها (مهار فعالیت انکوژنها و افزایش فعالیت ژن‌های بازدارنده تومور) به ثبت رسیده است (۳۴، ۳۲)، و در مجموع ۷۸ بیمار را در برداشته‌اند. نتایج اولیه حاکی از تحلیل اساسی تومور در ۶ نفر از ۲۶ بیمار می‌باشد. این کارآزمایی‌ها تا رسیدن به نتیجه نهایی ادامه دارند.

ناقلین مورد استفاده برای انتقال ژن به درون سلول

کلید موفقیت برای ژن درمانی، استفاده از ناقلین (vectors) مناسب است. ناقل مناسب، ناقلی می‌باشد که بتواند با کارآیی مطلوب، ژن مورد نظر را در سلول ویژه‌ای که هدف است، قرار دهد. از ابتدای پیدایش این روشها، ویروسها به‌عنوان ناقل، بیشترین توجه را به خود جلب کرده‌اند. ویروسها به طور طبیعی توانایی ورود به درون سلولهای مختلف و تکثیر ژنهای خود را در سلولها دارا هستند. بنابراین، با ورود ژنهای مورد نظر به درون ژنوم ویروسی و نیز با حذف قسمتهایی از ژنوم آن که احتمالاً برای سلول مضر می‌باشد، می‌توان ناقل مناسبی برای ژن درمانی طراحی کرد. در ژنوم اکثر ویروسهایی که برای ژن درمانی استفاده می‌شود به نحوی حساب شده دستکاریهایی به عمل آمده است تا توانایی تکثیر درون سلولی از آنها گرفته شده و از آسیب‌های احتمالی آنها به بدن جلوگیری به عمل آید (۳۴).

از میان ویروس‌ها، مهمترین نمونه‌هایی که در حال حاضر برای ژن درمانی از آنها استفاده می‌شود، رتروویروس‌ها (retroviruses) هستند (۳۴، ۲). این ویروسها که دارای RNA هستند با ورود به درون سلول، RNA آنها با کمک آنزیم نسخه‌برداری معکوس (reverse transcriptase) به DNA تبدیل می‌شود (۳، ۲). این ناقلین برای ژن درمانی بیماریهایی مانند هموفیلی که در آنها نقص مادرزادی در ژنها وجود دارد، ایده‌آل می‌باشد (۹۴، ۹۳).

علی رغم مزایای متعدد، رترو ویروسها - به‌عنوان ناقلین - محدودیت‌های نیز دارند از جمله تنها زمانی قادر هستند وارد کروموزوم سلول شوند که غشای هسته ناپدید شود. این کار تنها در خلال تقسیم سلول صورت می‌گیرد. البته از این ویژگی در مواردی از جمله برای درمان تومورهای مغزی استفاده گردیده است. با ورود این ویروسها به مغز، در حالی که سلولهای توموری آلوده می‌شود اما سلولهای عصبی سالم که تقسیم نمی‌شوند، آلوده نمی‌گردند (۳۳، ۳۲). به علاوه، DNA این ویروسها به طور تصادفی در کروموزوم میزبان ادغام می‌شود. بنابراین، می‌تواند موجبات انهدام یک ژن ضروری (با احتمال رخداد جهش) یا تغییر آن را به سمت سرطانی گردیدن فراهم آورد (۹۶، ۳۲).

امکان وارد شدن ژنهای ویروسی به کروموزومهای انواع مختلفی از سلولهای ناخواسته و در نتیجه آلوده کردن آنها به نوبه خود، انتقال ژن به سلولهای مورد نظر را نیز کاهش می‌دهد. توانایی در تولید این ویروس با تعداد زیاد نیز محدود می‌باشد. شایان ذکر است که در اثر پژوهش‌های وسیع، در تمام موارد مذکور، پیشرفت‌های مهمی حاصل گردیده است. ویروس دیگری که به‌عنوان ناقل برای ژن درمانی به کار می‌رود، آدنوویروس می‌باشد. ژنوم این ویروس درکروموزوم میزبان وارد نشده و تنها

در سیتوپلاسم سلول آن هم به شکل موقت فعالیت می‌کند.

بنابراین در درمان بیماریهایی که فعالیت ژن به طور موقت مورد نظر است (مانند ژن درمانی در سرطانها) بیشتر کاربرد دارد (۹۶). به علاوه، به دلیل عدم ورود به کروموزوم سلولی، احتمال بروز جهش در ژنوم میزبان و سرطانزایی بسیار نادر می‌باشد (۹۷، ۹۶، ۳۲). این ویروس قادر است سلولهای انسانی را به راحتی آلوده کند و به سلولهایی که تقسیم نمی‌شود نیز، وارد گردد. همچنین به جز سرماخوردگی و چند بیماری جزیی دیگر خطر چندانی برای انسان ندارد و قابلیت تولید آن با تیترهای بالا امکان‌پذیر است. از جمله معایب این ویروسها به‌عنوان ناقل، موقت بودن اثر آن در سلولها، فقدان ویژگی اختصاصی سلولی و فعالیت زیاد سیستم ایمنی بر ضد آن که موجب خنثی کردن آن، پیش از ورود به سلول خواهد شد، اشاره کرد (۳۴، ۳۲).

ویروس دیگری که اخیراً به‌عنوان ناقل، اهمیت ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است، ویروس مجتمع با آدنو یا Adeno Associated Virus (A.A.V) می‌باشد. در طبیعت، این ویروس در سلولها به تنهایی قادر به تکثیر نبوده و به ویروس دیگری برای تکثیر نیاز دارد. همچنین، موجب بیماری خاصی در انسان نمی‌شود (۳۲).

از دیگر ویژگیهای این ویروس آن است که قادر می‌باشد ژنوم خود را به درون کروموزمهای سلول انتقال دهد. بنابراین، ژن منتقل شده تا مدتهای طولانی به فعالیت خود ادامه می‌دهد. به علاوه، به دلیل کوچکی این ویروس به ندرت سیستم ایمنی را بر علیه خود تحریک کرده و از این رو احتمال خنثی شدن آن، پیش از انتقال ژن به سلولها، پایین می‌باشد. شایان ذکر است که نقص عمده این ویروس به‌عنوان ناقل، کوچکی آن می‌باشد و در نتیجه توانایی انتقال ژنهای بزرگ را ندارد (۳۴، ۳۲).

از ویروسهای دیگری مانند واکسینیا (vaccinia) و پاکس ویروس (Poxvirus) نیز به‌عنوان ناقل استفاده شده است.

استراتژیهای غیر ویروسی برای ژن درمانی

بیان گردید که ویروسها ـ به‌عنوان ناقلین ـ برای انتقال ژن به درون سلول مؤثر هستند اما مشکلات و محدودیتهایی را نیز دارند که مورد تهاجم قرار دادن DNA سلول توسط برخی از ویروسها و امکان به دست آوردن دوباره فعالیت آسیب زایی توسط ویروسهای ضعیف شده در درون بدن از آن جمله هستند. به علاوه، احتمال پاسخ ایمنی در برابر آنها نیز وجود دارد که می‌تواند یا خود ویروس را تخریب کند یا سلولهای آلوده را، پیش از فراهم آوردن هر فرصتی برای ژن درمانگر در کمک به بیمار، از بین ببرد. از این رو، پژوهشگران تلاش کرده‌اند با روشهای تکمیلی ژنهای درمانگر را بدون استفاده از ویروسها به سلول مورد نظر انتقال دهند. به ویژه که برای بسیاری از موارد قابل درمان توسط ژن درمانی، استفاده مکرر، ضروری است و روشهای غیر ویروسی برای این منظور می‌توانند مفید باشند، زیرا پاسخ ایمنی را که قادر به از بین رفتن ناقلین ویروس است، بر نمی‌انگیزند (۹۸، ۸۰، ۷، ۶، ۳، ۲).

روشهای غیر ویروسی مورد استفاده، متعدد و متنوع است که در زیر برخی مورد اشاره قرار می‌گیرد:

استفاده از لیپوزومهای تکامل یافته ـ به‌عنوان ناقل ـ توجه شماری از پژوهشگران را به طور جدی به خود جلب کرده است. لیپوزومهای حبابهای کوچک لیپیدی هستند که مولکول DNA در مرکز آنها قرار می‌گیرد. این ناقلین به دلیل ماهیت لیپیدی خود و غشای سلول، به سهولت با غشای سلولها ترکیب و ادغام شده و ژن مورد نظر را وارد سلول می‌کنند. از آنجا که لیپوزومها فاقد هر ژن اضافه‌ای هستند، احتمال بروز بیماری و خطر برای سلولها در حد صفر می‌باشد. البته، انتقال ژنهای درمانگر با لیپوزومها نسبت به ویروسها کارآیی کمتری دارد. با استفاده از لیپوپلکس (Lipoplex) که شکل تکامل یافته لیپوزمهای ساده هستند. اخیراً پژوهشگران، نخستین اقدام درمانی را در انسان انجام داده‌اند که به دلیل اهمیت آن ذکر خلاصه‌ای از این عملیات مفید به نظر می‌رسد: در این روش، لیپوپلکس‌های واجد ژنی برای یک پروتئین مربوط به سیستم ایمنی به نام HLA - B7 که با پادگن سازگاری بافتی مهاد (Major histocompatibiltiy Antigen) موسوم است، مورد استفاده قرار گرفت. هنگامی که سلولهای سرطانی این پروتئین را تولید کنند، سیستم ایمنی بیمار تحریک شده و موجب می‌گردد که سیستم ایمنی این سلولها را بیگانه قلمداد کرده و به طور گزینشی آنها را تخریب کند. در پروتکل‌های بالینی، محلولهای حاوی لیپوپلکس‌های شامل ژن رمز دهنده HLA - B7 به سلولهای سرطانی بیش از ۹۰ بیمار که در مقابل درمانهای استاندارد سرطان پاسخی نداده بودند، تزریق شد.

در اکثر موارد، پژوهشگران نشان دادند که این درمان، تولید پروتئین HLA - B7 را تحریک کرده است. ۶۰ نفر از بیماران از ملانومای بدخیم رنج می‌بردند. در حدود $\frac{1}{3}$ موارد از تومورهای مورد تزریق لیپوپلکس، کوچک شد یا اساساً ناپدید گردید.

ملانومای پیشرفته، به طور معمول، به طرزی گسترده در تمام بدن پخش می‌شود. بنابراین، تزریق داروها به درون تومورهای مربی، در بیشتر موارد ممکن است به درمان قطعی منجر نشود اما یافته‌های اولیه نویدبخش بوده و نشان داده که لیپوپلکس‌ها ممکن است به درمان ملانوم کمک کنند. در برخی موارد، این شیوه درمان، حتی موجب کوچک شدن سلولهایی که مورد تزریق واقع نگردیده‌اند، نیز می‌شود. در مطالعات دیگری، نیز از لیپوپلکس‌های واجد ژن HLA - B7 به منظور تثبیت ایمنی و تاثیر درمانهای مشابه برای سرطان‌های کولون، کلیه و پستان که قابل جراحی نیستند، استفاده شده است.

در آزمون دیگری، لیپوپلکس واجد ژن دیگری مربوط به یک پروتئین دیگری مربوط به یک پروتئین سیستم ایمنی، اینترلوکین ۲(IL-2)، به منظور درمان سرطان کلیه به بیماران تزریق شد.

اینترلوکین ۲، در مواردی جهت درمان سرطان کلیه به بیماران تزریق می‌شد که البته اثرات جانبی سمی بسیار داشت اما در این آزمون، نشان داده شد که تزریق این لیپوپلکس به درون تومور در حالی که از بسیاری اثرات سمی جانبی جلوگیری می‌کند، ممکن است سیستم ایمنی را نیز توسط ایجاد غلظت بالایی از IL-2 به‌طور موضعی تحریک کند.

شایان تأکید است علی‌رغم نتایج امیدبخش مورد اشاره در بالا، هنوز میزان مؤثر بودن دو سیستم استفاده از ناقلین ویروسی و لیپوپلکس‌ها،

تفاوت اساسی دارد. برخی از ویروسها در تحویل ژنوم خود به سلولها از بازدهی تقریباً صد در صد برخوردارند به گونه‌ای که ۱۰۰۰ ویروس تقریباً می‌توانند ۱۰۰۰ سلول مناسب را آلوده کنند، در حالی که برای آلودگی همین تعداد سلول توسط لیپوپلکس‌ها به حدود ۱۰ میلیون نسخه از ژن مورد نظر در تقریباً همین تعداد لیپوپلکس، نیاز هست. این مشاهدات نمایانگر آن است که بازدهی لیپوپلکس، نسبت به ناقلین ویروسی، حدود ۱۰/۰۰۰ بار کمتر است. البته، تلاشهایی جهت بهبود بخشیدن بازدهی و اثربخشی لیپوپلکس در جریان می‌باشد که نتایج اولیه آن مثبت بوده است.

در کنار استفاده از روشهای اشاره شده در ژن درمانی و به موازات تلاش برای ابداع روشهای جدید و پربازده، کوششهای وسیعی به منظور استفاده از DNA ی ـ برهنه (naked DNA) نیز صورت گرفته است، زیرا تزریق آن به عضلات حیوانات آزمایشگاهی و بیماران می‌تواند موجب بیان (کم یا زیاد) پروتئین مربوط گردد. این روش، طراحی واکنشهای جدید را نوید می‌دهد (۹۶، ۹۵).

از روشهای دیگر مانند ریز تزریق (Microjection) و ایجاد منافذ توسط الکتریسیته (Electroporation)، نیز برای انتقال DNA به درون سلولها کمابیش استفاده شده یا می‌گردد (۹۸، ۸۰، ۳، ۲).

در آینده نزدیک یکی از هدفهای مهم ژن درمانی غیر ویروسی، سازمان دادن سیستمهای تحویل دهنده ژنی خواهد بود که با تزریق آنها به خون، ردیف‌های بازی خود را به بافتهای مناسب مانند ریه، کبد، طحال، یا مغز استخوان، تحویل دهند. سیستمهای تحویل دهنده ژنی، که بتوانند مانند یک قرص بلعیده شوند، موجب تسهیل روند ژن درمانی خواهد شد و چنانچه این سیستمها طوری طراحی گردند که به طور کاملاً اختصاصی سلولهای توموری را مورد هدف قرار دهند، در درمان سرطان، به شیوه‌های مختلف مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

روشی که هدف‌گیری ژنی (Gene targeting) نامیده می‌شود، از جمله روشهای احتمالی تحقق چنین خواسته‌ای است. استفاده از این روش یا لیپوپلکس‌ها در محیط کشت موفقیت‌آمیز بوده است. بر اساس این فناوریها و رشد راه‌کارهای متنوع غیر ویروسیِ تحویل ژن، در دهه‌های آینده، فرآورده‌های بی‌شماری برای درمان و پیش‌گیری از سرطان و بیماریهای ژنتیکی در دسترس خواهد بود (۱۰۰، ۹۹، ۸۰، ۵، ۴).

انتخاب و طراحی ناقلین مناسب برای ژن درمانی

انتخاب و طراحی ناقلین متفاوت برای ورود ژن‌ها به رده‌های اختصاصی سلول‌ها، حایز اهمیت کلیدی است. در بسیاری از راه‌کارهای ژن درمانی (مانند استفاده از ژنهای خودکشی)، محدود بودن فعالیت ژن درمانگر در سلولهای سرطانی از جمله ضروریات می‌باشد و لازم است که از ورود یا فعالیت آن در سلولهای سالم جلوگیری شود.

برای اختصاصی کردن فعالیت ژن‌ها در بافت‌های خاص، از سوی پژوهشگران، راههای متنوعی پیشنهاد و طراحی شده است که اشاره کوتاهی به آنها مناسب و مفید به نظر می‌رسد:

۱ ـ بسیاری از ویروسهایی که به‌عنوان ناقل از آنها استفاده می‌شود گرایش به بافت خاصی دارند. به طور مثال، آدنو ویروسها که در طبیعت موجب

عـــفونتهای خـفیف دسـتگاه تـنفسی فـوقانی می‌گردند، گرایش به درگیری بـافتهای ریـه و کـبد دارند (۱۰۱).

ویروسهای هرپس (Herpes Simplex Virus) نیز بـه‌عنوان یکی از نـاقلین مـهم در ژن درمـانی، تمایل به بافتهای عصبی دارنـد و بـنابرایـن، بـرای درمان ناهنجاریهای عصبی و نورولوژیک مناسب هستند، زیرا مـی‌توانـند در شکل نـهفته و دایـمی، جذب نورونها شوند (۱۰۲).

همچنین، رتـرووویروسها تـنها وارد سـلولهای در حـال تـقسیم شـده و تکثیر مـی‌یابند. از ایـن ویـژگیها و چـنانچه اشـاره شـد بـرای درمـان سرطانهای مغزی با کمک ژن HSV - TK اسـتفاده مـی‌شود. انـتشار ایـن نـاقل در درون مـغز، تـنها موجب انتقال این ژن به درون سلولهای سـرطانی می‌شود و سلولهای سالم از آسیب این ژن مصون می‌مانند.

۲ ـ چنانچه پیشتر اشـاره شـد، نـاقلین لیـپوزومی به‌عنوان غشاهای لیپیدی ساده توجه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده‌اند. بسیاری از بافتها دارای گـیرنده‌های خـاص بـه خـود و مـربوط بـه لیگـاند (ligand) ویژه‌ای می‌باشند. با اتصال لیگـاند ویـژه بافت، به غشا لیـپوزومی مـی‌توان DNA ی درون لیپوزومها را به نحو اختصاصی وارد بافتها کـرد. به طـور مـثال، سـلولهای سـرطان تـخمدان دارای تـعداد زیـادی گـیرنده فـولات (folate receptor) می‌باشند. با ترکیب اسید فولیک در غشا لیپوزومی می‌توان ژن درون لیپوزومها را به طـور ویـژه بـه این سلولها وارد کرد (۱۰۳).

مثال دیگر گلیکوپروتئینی بـه نـام اخـتصاری ASOR (glycoprotein asialooro somucoid) می‌باشند که سلولهای کبدی دارای تـعداد زیـادی گیرنده مخصوص به آن هسـتند و بـا تـرکیب ایـن ماده با لیپوزومها مـی‌توان لیـپوزوم اخـتصاصی رده‌های سلولی کبد را تهیه کرد (۳۲).

۳ ـ راه‌کـار دیگـری کـه بـرای فـعالیت ژن‌هـا در بـافتهای خـاص پـیشنهاد شـده است، اسـتفاده از آغـــازگرهای (promotors) اخـتصاصی بـافتی (tissue - specific promotor) می‌باشد.

آغازگرها، قسمتی از رشته DNA هسـتند کـه در مـوجودات پـیشرفته، مـعمولاً پـیش از ژنـهای ساختاری و مـنشا نسـخه بـرداری در سـمت بـالا دست آن ـ در ناحیه تنظیم کنندگی ژن ـ قرار داشته و فـــعالیت آنـــها را کـنترل مـی‌کنند. در واقـع، ردیف‌های بازی آغازگر در جایی روی DNA قرار دارند که ابتدا آنزیم DNA پلی مراز بـه آن مـتصل می‌شود. اگر چه در برخی از موجودات پـیشرفته، آغازگرها در پایین دست منشا نسخه‌برداری قرار دارند (۳، ۲).

بسیاری از آغازگرها تنها در بافتهای خـاصی فعال شده و اجازه فعالیت به ژنـهای تـحت کـنترل خود را می‌دهند. بـا قـرار دادن آغـازگرهای ویـژه بافتی در ناحیه مناسب خود از ژنـهای مـوردنظر، می‌توان فعالیت ژنها را با بـافتهای خـاص مـحدود کرد و از فعالیت آن در بافتهای دیگر جلوگیری بـه عمل آورد. به طور نمونه، آغـازگر پـادگن جـنینی کارسینوم (Carcino Embryonic Antigene) که به اختصار CEA نامیده می‌شود اجازه فعالیت به ژن تحت نظر خود را تنها در بافتهایی که دارای قابلیت تـرشح ایـن پـروتئین هسـتند (مـانند پـانکراس) می‌دهد. بنابراین، قرار دادن ایـن آغـازگر در مـحل مربوط به خـود یـعنی پـیش از قسـمت سـاختاری ژن‌های درمانگر، موجب محدود کردن فعالیت ژن به بافت‌های خاص ترشح کننده این پروتئین (مانند

کولون پانکراس) می‌شود (۱۰۴).

هم چنین، از آغازگر پروتئین A سورفاکتانت (human surfactant protein A) برای اختصاصی کردن فعالیت ژن‌ها در سلولهای سرطان ریه سلولهای بزرگ (non - small cell lung cancer) استفاده می‌شود (۱۰۵).

۴ - روشهای دیگری نیز برای اختصاصی کردن عمل ژن‌ها پیشنهاد گردیده که در مراحل نخستین پژوهش می‌باشد. از جمله آنها می‌توان به ترکیب ژن لیگاندهای مختلف با ژنوم ویروسها اشاره کرد که در نتیجه این ترکیب، لیگاند خاص در سطح ویروس پدیدار می‌شود و بنابراین، ویروس گرایش اختصاصی به بافتهای واجد گیرنده آن لیگاند را پیدا می‌کند (۱۰۶). پژوهش‌های گسترده درباره این روش و روش‌های دیگر هم چنان ادامه دارد.

جمع‌بندی برخی نکات اساسی و چشم اندازها

با استفاده از روش‌های مولکولی می‌توان به پیشگیری، تشخیص به موقع، پیش آگهی و درمان بهتر سرطان‌ها دست یافت. در تمام این محورها، پژوهش‌های بسیار وسیع و حایز اهمیت صورت گرفته است که به طور فزاینده ادامه دارد. البته، استفاده بالینی وسیع از روش‌ها و فنون متنوع و بسیار قدرتمند ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک جهت اتخاذ راه کارهای خاص و مناسب برای اغلب سرطان‌ها، گرچه هنوز در ابتدای راه است، چشم انداز آن، بسیار روشن و نوید بخش به نظر می‌رسد. روش‌های حساس‌تر و دقیق‌تر به سرعت در حال توسعه هستند و همگام با این پیشرفت‌ها، انکوژن‌ها و ژن‌های بازدارنده تومور بیشتری -که هدف‌های مهم بالقوه‌ای برای ژن درمانی محسوب می‌شوند - شناسایی می‌شود. اگر چه کاربرد وسیع روش‌های مولکولی، مستلزم آن است که فنون مناسب برای جستجوی هر ژن خاص به دقت طراحی و در نظر گرفته شود و نشانگرهای جدید و بیشتری نیز در اختیار پژوهشگران قرار گیرد.

به دلایل بسیار روشن و متعدد، توجه جدی به درمان سرطان با روش‌های جدید انتقال ژن، روز به روز در حال افزایش است. در خلال حدود دو دهه اخیر، روش‌هایی که امکان انتقال ژن‌های کار آمد را به سلولهای پستانداران فراهم می‌آوردند، در حد بالایی توسعه یافته‌اند.

چنانچه اشاره شد در ژن درمانی سرطان‌ها، راه کارهای متعددی از اهمیت ویژه برخوردار است که مهار انکوژنهای فعال و بیش از حد تکثیر یا بیان شونده، جایگزین کردن ژن سالم با ژن ناقص (مانند شکل‌های جهش یافته ژن‌های بازدارنده تومور)، وارد سازی ژنی کارآمد به درون سلولی که یا به طور طبیعی آن ژن را بیان نمی‌کند یا به میزان کمی بیان می‌کند و به منظور القا پاسخ مطلوب (مانند وارد کردن ژن‌های سیتوکین‌ها به داخل لنفوسیت‌ها و یا سلولهای سرطانی برای افزایش پاسخ ایمنی علیه تومور) از جمله مهم‌ترین این راه کارها به حساب می‌آید.

اگر چه ژن درمانی بعد تازه و بسیار مهمی به درمان سرطان بخشیده است، همواره بایستی در نظر داشت که سرطان زایی یک فرآیند بسیار پیچیده و چند مرحله‌ای است و در نبرد با سرطان، پژوهشگران با حوصله و صرف وقت فراوان، در جستجوی راههای درمانی جدید، به طور مستمر تلاش می‌کنند و برای پیشگیری همه جانبه و درمان اساسی، ضرورت دارد که چالش نبرد با

سرطان از تمام جنبه‌های آن، به طور هماهنگ مورد توجه قرار گیرد.

این پرسش کلیدی که ژن درمانی در پزشکی مولکولی چه نقشی را ایفا خواهد کرد، در گرو تحولات آینده است. شیوه‌های ژن درمانی، پیش از آن که مورد کارآزمایی‌های گسترده بالینی قرار گیرد، برای پرسش‌های فراوانی باید پاسخ درست یا دست کم مناسب پیدا کند.

در نتیجه نقش تعیین کننده این شیوه از درمان در قلمروهای پزشکی، بهداشت و سلامت جامعه، زمانی در عرصه وسیع ظهوری چشمگیر خواهد داشت که در کنار دیگر ملزومات، ناقلین ژنی کارآمد، اعم از رتروویروسی، ویروسی، صناعی یا آمیزه‌ای از هر سه، به ویژه به شکلی طراحی گردند که بتوانند با توانایی به مراتب بیشتر و خطرات احتمالی به مراتب کمتر از امروز ـ مانند سایر داروها همچون انسولین ـ به طور مستقیم به بیمار تزریق شوند. به علاوه، از نقطه نظر تخصصی و فنی، فرآیند ژن درمانی بتواند از وابستگی شدید کنونی به فن‌آوری بسیار تخصص یافته، هزینه بسیار بالا و مراکز بسیار پیشرفته پزشکی رها شود.

تحقق مطلوب شرایط مورد اشارهٔ بالا در آینده و با کمک روشهای شگفت‌انگیز و پر توان مهندسی ژنتیک و ژنتیک مولکولی که به طرزی فزاینده و مستمر در حال تحول و تکامل هستند، دور از دسترس نیست. در این راستا، طراحی و ایجاد تغییرات مناسب در ناقلین به نحوی که انواع ویژه‌ای از سلولها را با بازدهی مطلوب مورد هدف قرار دهند؛ اطلاعات ژنتیکی خود را در ناحیهٔ بی‌خطری از ژنوم وارد کنند و با علایم فیزیولوژیک طبیعی سلول را به راحتی تنظیم گردند؛ در کنار عدم ایجاد جهش یا تحریک سیستم ایمنی؛ از جمله ضروریات به شمار می‌آید (۱۰۹، ۱۰۸، ۱۰۷، ۹۸، ۹۷، ۱۲، ۱۰، ۷، ۵، ۴).

در چنان شرایطی، ژن درمانی خواهد توانست، در پزشکی مولکولی و از جمله مقابله اساسی با سرطان‌ها نیز، دگرگونی‌های عمیق و راه‌بردهایی ایجاد کند. با نگرشی پویا، فراگیر و واقع بینانه، هم اکنون به روشنی پیش بینی می‌شود که فناوری ژن درمانی در سدهٔ آینده، تحول اساسی و چهارمین انقلاب را در پزشکی رقم خواهد زد.

منابع:

۵ ـ نوری دلویی، محمدرضا و نوروزی آذین؛ جایگزینی ژن نشانه‌گیری شده، رازی، سال ششم، شماره ۹، مهرماه ۱۳۷۴، صفحات ۲۶ ـ ۳۸.

۶ ـ نوری دلویی، محمدرضا؛ نظری بر ژن درمانی و چشم‌انداز آن، مجله اورولوژی ایران، سال دوم، شماره ۵ و ۶، بهار و تابستان ۱۳۷۴، صفحات ۱۳ ـ ۲۱.

۷ ـ نوری دلویی، محمدرضا؛ نظری بر ژن درمانی و چشم انداز آن، مجله اورولوژی ایران، سال اول، شماره ۴، زمستان ۱۳۷۳، صفحات ۶۵ ـ ۷۵.

8. Anderson W.F. "Human Gene therapy" Science, 236: 129- 42, 1992.

9. Roemer K. and Friedman T. Concepts and strategies for human gene therapy. Eur J Biochem.

1. Kitchin PA. The polymerase chain reaction. Advance in Gene Technology. 1991; 2: 1 - 67.

۲ ـ طباطبایی م. نوری‌دلویی م ر. تقی بیگلو چ (مترجمین). بیوتکنولوژی ملکولی. چاپ اول. تهران: انتشارات مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی، ۱۳۷۲.

۳ ـ اولیور، استفن جی ـ واردجان ام «فرهنگ مهندسی ژنتیک» (ترجمه، همراه با اضافات: دکتر محمدرضا نوری دلوئی، دکتر سامیه خسروی نیا، فرهت مجیدفر). انتشارات مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی، چاپ اول، پاییز ۱۳۷۳.

۴ ـ نوری دلویی، محمدرضا و نوروزی، آذین؛ جایگزینی ژن نشانه‌گیری شده، رازی، سال ششم، شماره ۱۰، آبانماه ۱۳۷۴، صفحات ۱۴ ـ ۳۲.

208: 211 - 25, 1992.
۱۰ ـ نوری دلویی، محمدرضا؛ سرطان و ژنهای سرطانزا، مجله رشد آموزشی زیست‌شناسی، شماره ۲۳، بهار ۱۳۷۰، صفحات ۶ـ۱۳.
۱۱ ـ نوری دلویی، محمدرضا؛ سرطان و ژنهای سرطانزا، مجله رشد آموزش زیست‌شناسی، شماره ۲۴، تابستان ۱۳۷۰، صفحات ۶۵ـ۷۵.
13. Moolten FL "tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes thymidine kinase genes: Paradigm for a prospective cancer control strategy." Cancer Res, 46: 5276 - 5281, 1986.
14. Ram Z, Culver KW, et al. "In situ retroviral - mediated gene transfer for treatment of brain tumor in rats." Cancer Res, 53: 83 - 88, 1993.
15. Moolten FL "Curability of tumors bearing herpes thymidine Kinase genes transferred by retroviral vectors." J Natl Cancer Inst, 82: 297 - 300, 1990.
16. Borrelli E, Heyman R, et al. "targeting of an inducibletoxic phenotype in animal cells." Pro Nat Acad Sci USA, 85: 7572 - 7576, 1988.
17. Culver KW, et al. "In vivo transfer with retroviral vector cells for human brain tumor." Science, 256: 1550 - 1552, 1992.
18. Hasegawa Y, et al. "Gene transfer of herpes simplex virus type I thymidine kinase gene as a drug sensitivity gene in to human lung cancer cell lines using retroviral Vectors" Am. J. Resqir. Cell. Mol. Biol, 8: 655 - 661, 1983.
19. Smythe WR, et al. "Use of recombinant adenovirus to transfer the HSV - thymidine Kinase Gene to Thoracic Neoplasms: An Effective In Vivo drug Sensitization System." Cancer Res, 54: 2055 - 2059, 1994.
20. Caruso M, et al. "Regression of established macroscopic liver metastasis after in situ transduction of suicide gene" Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7024 - 7028, 1993.
21. Abe A, et al. "Thransduction of a drug - sensitive toxic gene into human leukemia cell lines with a novel retroviral vector" Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 203 (3): 354 - 359, 1993.
22. Golumbek TK, et al. "Herpes simplex virus thymidine Kinase gene is unable to completely eliminate live, nonimmunogenic tumor cell vaccines. "Journal of Immunotherapy, 12: 224 - 230, 1992.
23. Mykle bust AT, et al. "Targeting therapy with Immunotoxic in a nude rat model for leptomeningeal growth of human small cell lung cancer" Cancer Research, 54: 2146 - 2150, 1994.
24. Barba D, et al. "Thymidine Kinase - mediated Killing of rat brain tumors" J.Neurosurgery, 79: 729 - 735, 1993.
25. Barba D, et al.: Develompemnt of anti tumor immunity following thymidine kinase mediated killing of experimental brain tumors. Proc Natl. Acad. Sci. USA, 91: 4348 - 4352, 1994.
26. Takamiya Y, et al. "Gene therapy of malignant brain tumors: a rat glioma line bearing herpes simplex virus typel thymidine kinase gene and wild type retro virus kills other tumor cells."
27. Chen SH, et al. "Gene therapy for brain tumors: Regressinon of experimental gliomas by aenovirus - mediated gene transfer in vivo." Proc. Nat. Acad. Sci, 91: 3054 - 57, 1994.
28. Freemas SM, et al. "The by stander effect tumor regression when a fraction of the tumor mass is genetically modified." Cancer Res, 53: 5274 - 83, 1993.
29. Bi WI, et al. "In vitro evidence that metabolic cooperation is responsible for the by stander effect observed with HSV - tk retroviral gene therapy." Hum. gene. Ther, 4: 725 - 31, 1993.
30. Mesnil M, et al. "by stander killing of cancer cells by herpes simplex virus thymidine kinase gene is mediated by connexins." Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 1831 - 5, 1996.
31. Mack N, et al. "Gene therapy and Ovarian cancer: a review." Obstet. Gynecol, 89(1): 145 - 155, Jan 1997.
32. Jack A.Ruth, et al. "Gene therapy cancer. what have we done and where are we going?. "J.Natl. Cance. Ins, 89 (1): 21 - 39, Jun 1997.
33. Bemaim El, et al. "Gene therapy in pediatric oncology." Investigation New drugs, 14: 87 - 99, 1996.
34. Blaese RM. "Gene therapy for cancer." Scientific American, 111 - 115: June 1997.
35. Hirschowitz EA. "In vivo adenovirus - mediated gene transfer of the E. coli cytosine deaminas gene to human colon Carcinoma derived tumors induce chemosensitivity to 5 - fluorocytosin" Hum. Gene. ther, 6: 1055 - 63,

1995.
36. Khil MS. "Radiosensitization by 5 - fluorocytosine of human colorectal carcinoma, cells in culture transduced with cytosine - deminase gene. "Clin. cancer Res, 2: 53 - 7, 1996.
37. Crytal RG, et al. "Phase I study of direct administration of a replication deficient adenovirus vector containing the E. coli Cytosine deaminase Gene to metastatic colon carcinoma in association with the oral administration of the pro - drug 5 - fluorocytosine" Hum. Gene. Ther, 8: 985 - 1001, 1997.
38. Douvdeuani A, et al. "Reduced tumorigenicity of fibrosarcoma which constitutively generate IL - 1 either spontaneously for following IL - 1 gene transfer" Int. J. Cancer, 51: 822 - 830, 1992.
39. Uchiyama A. "transfection of IL - 2 gene into human melanoma cells augment immune response" Cancer Res, 53: 949: 952, 1993.
40. Yu JS, et al. "Treatment of glioma by engineered IL - 4 secreting cells" Cancer Res, 53: 3125 - 3128, 1993.
41. Mullen CA, et al. "Fibrosarcoma cells transduced with the IL - 6 gene exhibit reduced tumorigenicity increased immunogenicity, and decresed metastatic potentials. "Cancer Res, 52: 6020 - 6024, 1992.
42. Hock H, et al. " IL - 7 induces CD4 + T - cell - dependent tumor rejection: J. Exp. Med, 174: 1291 - 1298, 1991.
43. Tahara H, et al. " Fibroblasts genetically engineered to secrete IL - 12 can suppress tumor growth" Cancer Res, 54: 182 - 189, 1994.
44. Colombo MP, et al. "Granulocyte colony - stimulating factor gene trasnfer tumorigenicity of a murine adenocarcinoma in vivo." J.Exp. Med, 173: 889 - 897, 1991.
45. Dronoff G, et al. " Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte macrophage colony stimulating factor stmulating potent, specific and long term antitumor immunity." Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 3539 - 3543, 1993.
46. Blankentein T, et al. "Tumor suppression after tumor cell - targeted tumor necrosis factor alpha gene transfer" J. Exp. Med, 173: 1047 - 1052, 1991.
47. Gansbacher B. "Retroviral vector - mediated gamma - interferon gene transfer into tumor cells generated potent and lasting anti tumor immunity." Cancer. Res, 50: 7820 - 7525, 1990.
48. Ferrantini M, et al." Alpha1 - interfeon gene transfer into metastatic friend leukemia cells abrogated tumorgenicity in immunocompetent mice." Cancer Res, 53: 1107 - 1112, 1993.
49. Torre G, et al. "A highly immunogenic tumor transfected with a murine transforming growth factor type beta1 cDNA escapes immune surveillance." proc. Natl. Acad. sci. USA, 87: 1486 - 1490, 1990.
50. Townsend SE, et al. "Tumor rejection after direct co - stimulation of CD8 + T cells by B7 - transfected melanoma cells." Science, 259: 368 - 370, 1993.
51. Harding FA. "CD28 - B7 interaction allow the induction of CD8 + cytotoxic T lymphocytes in the absence of exogenous help." J. Exp. Med, 177: 1791 - 1791 - 1796, 1993.
52. Sanda MG, et al. "Molecular characterization of defective antigen processing in human prostate cancer." J. Natl. Cancer.Inst, 87: 280 - 5 , 1995.
53. Schwaertz RH. "Co - stimulation of T lympolycytes: the role of CD28, CTLA - 4 and B7/BB1 in IL - 2 production and immunotherapy." Cell, 71: 1065 - 8, 1992.
54. Mickisch GH, et al. "Transplantation of bone marrow cells from transgenic expressing the human MDR1 gene result in long - term protection against the myelosuppressive effect of chemotherapy in mice." Blood, 79: 1089 - 93, 1992.
55. Sorrentino BP, et al. "Selection of drug resistant bone marrow cells in vivo after retroviral tranfer of human MDR1." Scinece, 257: 99 - 103, 1992.
56. Endicott J. "The biochemistry of p - Glycoprotein mediated drug resistance." Annu Rev. Biochem, 58: 137 - 71, 1989.
57. Mckish GH, et al. "Transplantion of bone marrow cells from transgenic mice expressing human MDR1 gene result in long - term protection against the myelosuppressive effect of chemotherapy in mice." Blood, 79 (4): 1087 - 1093, 1992.
58. Pastan I, et al. "Multidrug resistance." Annu. Rev. Med, 42: 277 - 286, 1991.

59. Hanahia EG, et al. "Resistance to taxol chemotherapy produced in mous marrow cells by safety - modified retroviruse containing a human MDR - 1 transcription unit." Gene. Ther, 2: 1 - 6, 1995.

60. Moritz T, et al. "Retrovirus - mediated expression of a DNA repair protein in bone marrow protects hematopoietic cells from nitroseurea - induced toxicity in vitro and in vivo. "Cancer Res, 55: 2608 - 14, 1995.

61. May C. "Protection of mice from letal doses of methotroxate by transplantation with transgenic - marrow - expressing drug - resistant dihydrofolate - reductase activity." Blood, 86: 2439 - 48, 1995.

62. Greenbaum M, et al. "Retrovirus - mediated gene transfer of glutathione S - transferase confers resistance to alkylatiny agents." proce. Am. Assoc. Cancer Res, 35: 373, 1994.

۶۳ـ نوری دلویی، محمدرضا و حسینی، مونا؛ ژنتیک مولکولی، ژن درمانی و چشم اندازهای آن در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال، مجله طب و تزکیه، پاییز ۱۳۷۷، شماره ۳۰، صفحات ۸۰ـ۵۷ (مقاله بازآموزی).

۶۴ـ نوری دلویی، محمدرضا و حسینی، مونا؛ ژنتیک مولکولی، ژن درمانی و چشم اندازهای آن در بیماران مبتلا به ملانوهای بدخیم؛ مجله طب و تزکیه، (پذیرفته شده برای چاپ).

65. Kern S, Kinzler K. "Molecular genetics of colorectal carcinoma." Lippincott - Raven, 413 - 20, 1995.

66. Vogelstein B, Park M, et al. "Oncogenes: The Genetic vasis of human cancer." 205 - 28, 1998.

67. Helene C. "Rational design of sequence - specific oncogene inhibitors based on antisence and antigene oligonucleotide." Eur. J. cancer 27: 1466 - 1471, 1991.

68. Atif MH. "The potential application of Gene transfer in the treatment of patients with cancer. A concise review." Cancer Inv, 14(4): 343 - 352, 1996.

69. Calabreha B. "Inhibition of proto - oncogene expression by antisense oligodeoxynucleotide: biological and therapeutic implications." Cancer Res, 51: 4505 - 10, 1991.

70. Van Waardenburg RC, et al. "Inhibition of c - myc oncogene expression with c - myc antisense oligonucleotide and its effects on proliferation and drug sensitive and resistant human small cell lung cancer cells." Proc. Am. Assoc. cancer Res, 35: 615, 1994.

71. Jushi SS, et al. "Growth inhibition of human Burkitt's lymphoma cells by c - myc antisense oligodeoxynucleotides in vitro." Proc. Am. assoc. cancer Res, 35: 817, 1994.

72. Bergan RC. "Electroporation of lymphoma cells with c - myc antisense oligonucleutiedes." proc. Am. Assoc. cancer Res, 35: 308, 1994.

73. George RN, et al. "Prevention of orthotopic human luman lung cancer growth by intratracheal instillation of a retroviral antisense K - ras construct." Cancer Res 53: 1743 - 6, 1993.

74. Bichenall MC, et al "Inhibition of murine monocyte by a colony stimualting factor - 1 antisense oliodeoxynucleotide: evidence of autocrine regulation. "J. Immunol, 145: 3290 - 3296, 1990.

75. Wu J, et al. "The role of c-fms oncogene in the regulation of HL - 60 cell differention" Oncogene, 5: 873 - 877, 1990.

76. Becker D, et al "Proliferation of human malignant melanomas is inhibited by antisense oligodeoxy nucleotides targeted against basic fibroblast growth gactor "EMBO J, 8: 3685 - 3691, 1989. (ABS.)

77. Wismeth C. "Specific PDGF - antisense oligonucleotide therapy in malignant gliomas" Pro.AM.Assoc. Cancer Res, 35: 617, 1994.

78. Dunn M, P 120 - antisense mediated inhibition of breast cancer cell growth Proc. Am. Assoc. Cancer Res, 35: 530, 1994.

79. Staley SC, et al "Inhibition of the growth of HT - 29 human colon adenocarcinoma cell lines by an antisense oligonucleotide to C - Src (PP 60)" Proc. Am. Assoc. Cancer Res, 35: 530, 1994.

80. Felgner PL. "Nonviral strategies for gene therapy" scientific American. 86 - 90, June 1997.

81. Friedmann T. "Overcoming the obstacles to gene therapy" scientific American. 80 - 85, June 1997.

82. Sidransky D. "Advances in cancer detection" scientific American. 70 - 75 , sept. 1996.

83. Richardson JH, et al. "Intracelllar antibodies develompemt and therapeutic potential "Trend Biotechnol, 13: 306 - 10, 1995.

84. Beeril R, et al. "Intracellular expression of

single chain antibodies reverts erbB-2 transformation" J. Biol. chem, 269; 23931 - 6, 1994.
85. Beeril R, et al. "Autocrine inhibition of epidermal growth factor receptor by intracellular expression of a single - chain antibody" Biochem. Biophys. Res. Commun, 204: 666 - 72, 1994.
86. Porter P, et al. "Widespread P53 overexpression in human malignart tumors" Am. J. Pathol, 140: 145 - 53, 1992.
87. Yang C, et al. "Adenovirus - mediated wild type P53 expression induces apoptosis and suppresses tumorgenesis of prostatic cancer" Cancer. Res, 55: 4210 - 3, 1995.
۸۸ ـ نوری دلویی، محمدرضا؛ ژنهای بازدارنده تومور: کلید معمای سرطان، مجله علوم پایه الزهرا (س) سال سوم شماره ۵ و ۶، ۱۳۷۲، صفحات ۵۰ـ۵۸.
89. Fearson ER. "Tumor suppressor genes: The Genetic basis of human cancer" (Volgeistein, B. et al), 229 - 236, 1998.
90. Zhang W, et al. "High - efficiency gene transfer and high - level expression of wild type P53 in human lung cancer cells mediated by recombinant adenovirus" cancer Gencer. Ther, 1: 5 - 13, 1994.
91. Lessoon - wood, et al. "Systemic gene therapy with P53 reduces growth and metastasis of a malignant human breast cancer in nude mice" Hum. Gene Ther, 6: 395 - 405, 1995.
92. Liu T, et al. "Growth suppression of human head and neck cancer cells by the introduction of a wild type P53 gene via a recombinant adenovirus" Cancer Res, 54: 3662 - 7, 1994.
93. Hirota Y, et al. "P53 - antisense *oligonucleotides inhibit* growth of human tumor cell lines" Pro. Am. Assoc. Cancer Res, 35: 609, 1994.
94. Francis. R, et al. "In Vivo adenovirus - mediated P53 tumor supressor gene therapy for colorectalcer" Antr. Cancer Res, 16: 3415 - 3422, 1996.
95. Hong xing Q, et al. "Cancer gene therapy using tumor cells infected with recombinant Vaccinia Virus expressing GM - CSF "Hum. Gene Ther, 7: 1853 - 1860, 1996.
96. Tursz T, et al. "Phase I study of a recombinant adenovirus - mediated gene transfer in lung cacer Patients" J. Nat. Can Ins. 88 (4): 1857 - 1863. 1996.
97. Oliff A. Gibbs GB and McCormick F. "New molecular target for cancer therapy" Scientific American, 110 - 115, June 1997.
98. Smith J.G.et al. "Liposomes as agent for DNA transfer" BBAm, 1154, 327 - 90, 1993.
99. Nahel EG.et al "Gene trnsfer invivo with DNA - liposome complexes: lack of autoimmunity and gonadal loclisation "Hum.gene Ther. 3: 649 - 56, 1992.
100. Atif M. et al. "The potential application of gene transfer in the treatment of patient with cancer: A review" Cancer Investigation, 14(4): 343 - 52, 1996.
101. Li QT. et al. "Assessment of recombinant adenovirus vectors for hepatic gene therapy" Hum. Gene Ther, 4: 403 - 9, 1993.
102. Latchman DS. "Herpes simplex virus vectors for gene therapy" Mol. Biotechnol, 2: 179 - 95, 1994.
103. GOttschalk S. "folate receptor mediated DNA delivery and expression in vitro" Gene ther. 10" 185 - 91. 1994.
104. Di Maio JM. et al. "Directed enzyme prodrug gene therapy for pancreatic cancer in vivo" surgery, 116: 205 - 13. 1994.
105. Smith MJ. et al. "Surfactant protein - A directed toxin gene kills lung cancer cells in vitro" Hum. Gene ther, 5: 29 - 35. 1994.
106. Kasahara N. et al. "Tissue speciffic targeting of retro - viral vectors through ligand - receptor interaction" Science, 266: 1373 - 6, 1994.
107. Gutlerrez AA. et al. "Gene therapy for cancer" Lancet, 339: 715 - 727, 1992.
108. Blease R.M. "Gene therapy therapy for cancer" Scientific American, 91 - 95, June 1997.
109. Burdette WJ. "Cancer, etiology, diagnosis and treatment" McGraw - Hill, 1998.