نگاهی به ژن درمانی، پیشرفت‌های اخیر و چشم انداز آینده

احمد غلامی: استادیار و متخصص بیوتکنولوژی دارویی، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران. gholami@sums.ac.ir

فاطمه روشن فرد: داروساز، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران. roshanfard@sums.ac.ir

* **یونس قاسمی:** استاد و متخصص بیوتکنولوژی دارویی، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران (*نویسنده مسئول). ghasemiy@sums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۷

چکیده

ژن درمانی به‌عنوان راهکاری نوید بخش برای درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌هایی غیر از اختلالات نادر وراثتی و تک‌ژنی توجه بسیاری را به‌خود جلب کرده است. بدین منظور می‌بایست اسیدهای نوکلئیک به سلول‌های هدف انسانی ارائه و بیان شود. این مقاله به مرور تاریخچه، مسائل پراهمیت، پیشرفت‌های اخیر و آینده‌ی ژن درمانی می‌پردازد.

نخستین کارآزمایی بالینی موفق ژن درمانی در دهه ۱۹۹۰ میلادی برای درمان یک اختلال ژنتیکی ارثی به نام (Severe CombinedImmunodeficiency- SCID) انجام گرفت. در سال های بعد تعداد کارآزمایی‌ها فزونی یافت. بااین حال مطالعات اولیه انتظارات را برآورده نکرد. پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌ی حامل‌های انتقال ژن موجب گردید رویای ژن درمانی بیماری‌های وخیم لاعلاج مجدداً به واقعیت نزدیک شود.

پیش از اینکه ژن درمانی بتواند به‌عنوان روشی مقبول جهت درمان بیماری‌ها عمومیت یابد ابتدا نیاز است برخی از موانع داخل سلولی و خارج سلولی برطرف شود. امروزه طیف وسیعی از حامل‌ها جهت انتقال ژن توسعه یافته‌اند. چندین وکتور ویروسی و غیرویروسی ایمن برای درمان موفقیت‌آمیز برخی بیماری‌های ارثی، نقص ایمنی، چشمی و سرطان ابداع و استفاده شده است. وکتورهای ویروسی برای ژن درمانیِ بیماری‌هایی که به بیان طولانی مدت ژن نیاز دارند مناسب است. اگرچه اثربخشی وکتورهای غیرویروسی کمتر از ویروسی‌هاست اما آن ها اختصاصیت بیشتر، ایمنی‌زایی کمتر و توانایی انتقال ژن های با طول بیشتر را دارند.

در مجموع، پیشرفت‌های اخیر راهکارهای مختلف ژن درمانی توانسته است تاحدودی انتظاری که سال هاست از ژن درمانی می‌رود را به واقعیت نزدیک کند و امیدواری فراوانی را برای موفقیت‌های بیشتر آینده فراهم آورد. به نظر می‌رسد ژن درمانی راه‌حل نهایی قرن حاضر برای درمان بسیاری از بیماری‌های انسانی است.

کلیدواژه‌ها: ژن درمانی، وکتورهای ویروسی و غیرویروسی، بیماری‌های نقص ایمنی، سرطان

مقدمه

امروزه تحقیقات گسترده در زمینه ژن درمانی دامنه تعریف این علم را بسیار وسیع نموده است؛ اما به‌طور کلی می‌توان آن را «منتقل کردن مواد ژنتیکی با استفاده از یک وکتور به درون هسته سلول، به منظور تغییر بیان ژن، جهت پیشگیری و درمان یک بیماری یا بهبود شرایط بالینی بیمار» تعریف کرد. در این مدل درمانی DNA درمانگر بسته به نوع وکتور مورد استفاده می‌تواند در کروموزوم میزبان الحاق شده یا به صورت یک وکتور اپی‌زومی باقی بماند. در نهایت هدف از انتقال ماده ژنتیکی اصلاح ژنوتیپ معیوب بیمار از طریق جایگزین کردن آلل معیوب یک ژن با نوع سالم و فعال آن یا حذف کامل آن آلل معیوب است (۱). انتقال مواد ژنتیکی در این روش می‌تواند به صورت درون تنی انجام گیرد یا اینکه به صورت ex vivo به سلول‌های اتولوگی که از فرد بیمار گرفته شده اند انتقال داده شده و سپس این سلول ها مجدداً به بیمار بازگردانده شود. به واسطه‌ی پیشرفت هایی که اخیراً در زمینه‌ی روش‌های مختلف ژن‌درمانی حاصل شده، ژن درمانی توانسته است برای درمان بیماری‌هایی که عامل آن‌ها کمبود یا معیوب بودن یک یا چند ژن است نتایج امیدبخشی به همراه داشته باشد.

برای نیل به اهداف ژن‌درمانی چندین راهکار کلی وجود دارد که ممکن است به صورت مجزا و

یا در ترکیب با هم به کار گرفته شوند. این راهکارها عبارتند از:

• وارد کردن یک ژن نرمال به منطقه‌ای غیراختصاصی در ژنوم و جایگزین شدن آن با یک ژن بدون عملکرد. این راهکار در حال حاضر مرسوم‌ترین روش مورد استفاده می‌باشد.

• تعویض ژن ناسالم با نوع سالم آن، از طریق نوترکیبی همولوگ (Homologous recombination)

• اصلاح ژن ناسالم و بازسازی عملکرد آن از طریق ایجاد جهش انتخابی معکوس (۲) (Selective reverse mutation)

• خاموش کردن ژن معیوب (Gene knock down) که ابزاری نوین برای تنظیم (Modulation) یک تک ژن منفرد یا شبکه‌ای از ژن‌های پیچیده است. در این تکنیک، ژن با استفاده از miRNA (Micro RNA) به صورت محیطی تنظیم می شود و یا اینکه برای حذف تقریبی محصولات ژن از قابلیت RNAi استفاده می‌شود (۳).

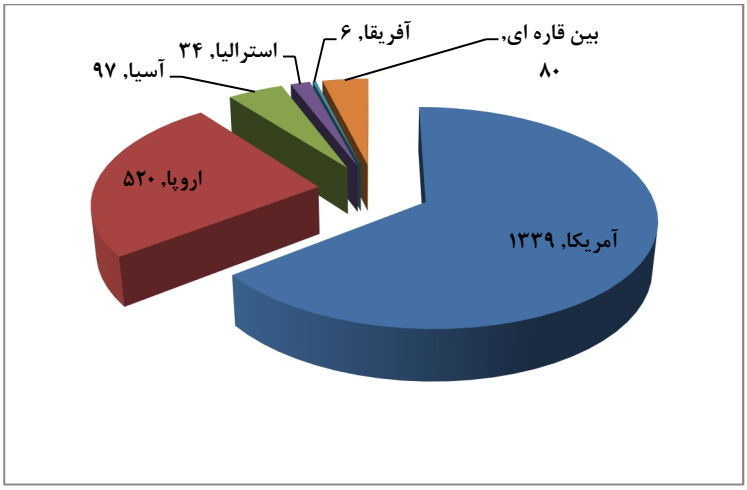
تکنیک RNAi (RNA interference) یا RNA مداخله‌گر فرآیندی است که طی آن، یک سری RNA دو رشته‌ای (Double stranded RNA-dsRNA) با توالی خاص وارد سیتوپلاسم سلول شده، باعث برش و تخریب mRNA هدف می‌شود که در نتیجه بیان ژن سرکوب می‌گردد. فرآیند RNAi برای خاموش کردن ژن از دو راهکار استفاده می کند: یا با بیان RNAهای کوچک سنجاقی (Small hairpin RNA-shRNA) پروسه ای را آغاز می کند که نهایتاً باعث تخریب RNA هدف می شود و یا با عرضه ی dsRNA هایی که دقیقاً مکمل توالی mRNA هدف هستند مانع از ترجمه ی RNA هدف به پروتئین می گردد. به این RNA های کوتاه دورشته‌ای مداخله گر که ۲۱-۲۵ نوکلئوتید طول دارند و توسط نوکلئازهای مرتبط با RNase III پردازش می‌شوند، siRNA (Small interfering RNA) گفته می‌شود (۴).

miRNAها نیز مولکول های RNA یی کوچک غیر کد کننده ای هستند که ژن‌ها را down regulate می‌نمایند. این ماکرومولکول‌ها، ژن‌ها را از طریق مسیرهای غیربرشی تخریب کرده (Non cleavage dependent degradation pathway) و یا روند ترجمه mRNA را کند می‌نمایند. برهم خوردن تنظیمات سیستم miRNA، می‌تواند علت یا یکی از علل بیماری‌های خطرناک انسانی باشد؛ بنابراین به کار گیری درمان مبتنی بر جایگزینی ژن که ترکیبی از عناصر غیر کدکننده و فاکتورهای کدکننده پروتئین باشد، احتمالاً در بیماری‌های پیچیده که منشا چندژنی گسترده ای دارند (مانند سرطان) مفیدتر خواهد بود (۵ و ۶).

• تغییر یا بازیابی عملکرد پروتئین‌های خاص با استفاده از RNAهای غیر کد کننده. این استراتژی از طریق اعمال تغییر در روند پیرایش (Splicing) (مانند پرش اگزونی-Exon skipping)، استفاده از آپتامرهای RNA یا به کارگیری RNAهای کوچکی که بیان ژن را up regulate می‌نمایند، انجام می‌گیرد (۷).

آپتامرها، RNAها یا پپتیدهای کوچکی هستند که از کتابخانه های بزرگ ژنی انتخاب شده و ساختار سه بعدی ویژه ای را به خود می گیرند. به علت دارا بودن همین ساختار سه بعدی، آپتامرها می توانند به پروتئین ها متصل شده و آن ها را فعال نموده یا در عملکردشان تداخل ایجاد نمایند. آن ها همچنین می‌توانند از طریق هدف گیری گیرنده های خاص سطح سلول، حامل‌های ماکرومولکولی (مانند SiRNA) را به درون سلول‌ها هدایت کنند (۸).

باوجود اینکه درمان های ژنتیکی هنوز فن‌آوری نوپایی است اما تاکنون دستاوردهای چشمگیری داشته است. انتظارات درمانی از این روش، معالجه‌ی گستره وسیعی از بیماری‌ها از جمله درمان بیماری‌های ژنتیکی، آهسته کردن روند پیشرفت سرطان‌ها، مقابله با عفونت‌های ویروسی مانند ایدز و متوقف کردن بیماری‌های تخریبگر سیستم عصبی (Neurodegerative disease) را در بر می‌گیرد (۹)؛ اما از آنجایی‌که نقایص ناشی از تغییر کد ژنتیکی، تقریباً در تمام سلول‌ها نمایان می‌شود، ژن درمانی بیماران خصوصاً در بیماری‌های وراثتی با مشکلات و محدودیت‌های فراوانی مواجه است؛ زیرا دسترسی و اصلاح تمام



شکل ۱- تعداد و درصد کارآزمایی‌های بالینی انجام گرفته در زمینه ژن درمانی به تفکیک قاره

سلول‌ها یا اندام‌های درگیر، نیازمند تمهیدات و روش‌های پیچیده است (۱۰).

به نظر می‌رسد ژن درمانی روش نهایی برای درمان بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی باشد. امروزه این نوع درمان در اقصی نقاط دنیا به صورت روزافزون در حال انجام است. شکل ۱ کارآزمایی‌های که تاکنون انجام گرفته را به تفکیک قاره را نشان می دهد. با این حال ژن درمانی هنوز در فازهای اولیه دوره حیات خود قرار دارد و انجام تحقیقات گسترده‌تر در این زمینه می‌تواند بسیاری از جنبه‌های نامکشوف این روش را مشخص نماید.

تاریخچه ژن درمانی

اولین تلاش‌ها در زمینه‌ی ژن درمانی، برای درمان یک بیماری ارثی بسیار نادر به نام نقص ایمنی مختلط حاد (Severe Combined -SCID ImmunoDifeiciency) صورت گرفت. در این بیماری، فرد به‌طور ذاتی فاقد سیستم ایمنی بوده و نوزادانی که با این نقص متولد می‌شوند، در اولین برخورد با عوامل عفونی دچار عفونت‌های شدید شده و در اثر آن می‌میرند. در اوایل دهه‌ی ۱۹۷۰ کودکی به نام David Vetter با لقب پسر حبابی (Bubble boy)، در آمریکا توجه عموم را به خود جلب کرد. وی کودکی مبتلا به SCID بود که پزشکان با تشخیص به موقع بیماری‌اش، او را در یک حباب پلاستیکی ویژه نگهداری می‌کردند. این حباب یک محیط استریل و ایزوله در مقابل هرگونه باکتری و ویروس ایجاد می‌کرد و در عین حال تماس فیزیکی دیوید را با جهان خارج قطع می‌نمود. او تقریباً تمام زندگی‌اش را درون حباب گذراند و با رشد وی، ابعاد اتاق شیشه‌ای نیز بزرگ‌تر می‌شد. تلاش‌های اولیه برای ژن درمانی این کودک با استفاده از پیوند مغز استخوان ناموفق بود و دیوید نوجوان علی رغم صرف هزینه های بسیار، در سن ۱۲ سالگی درگذشت (۱۱).

در سپتامبر ۱۹۹۰، French Anderson و همکارانش، دختری مبتلا به SCID را که چهار سال درون حباب زندگی کرده بود، با ژن درمانی نجات دادند. این بیماری تقریباً در ۲۵ درصد موارد، به‌علت کمبود ارثی یک تک آنزیم به نام آدنوزین دآمیناز (Adenosine Deaminase ADA) ایجاد می‌شود که مسئول کاتالیز کردن یکی از واکنش‌های مسیر کاتابولیسم پورین‌ها است. در فقدان این آنزیم، آدنوزین در سلول‌ها تجمع یافته و به میزان سمی خود می‌رسد. در این شرایط عمدتاً لنفوسیت T وB آسیب دیده و نابود می‌شوند. در فرآیند ژن درمانی، تیم دکتر اندرسون گلبول‌های سفید بیمار را از خونش استخراج کردند، آن ها را در آزمایشگاه کشت داده و ژن سالم ADA را به ژنوم سلول‌ها وارد کردند، سپس سلول‌های خونی را که قادر به بیان ژن ADA بودند، به جریان خون بازگرداندند (۱۲). بعد از این درمان او توانست به مدرسه برود و در برابر سیاه سرفه واکسینه شود؛ اما به‌علت کوتاه بودن عمر

سلول‌های خونی، فرآیند ژن درمانی باید به طور دوره‌ای تکرار می‌شد.

علی رغم نتایج امیدوارکننده‌ای که از این مطالعات به دست آمد، به مدت یک دهه انتظاراتی که از ژن درمانی می‌رفت، برآورده نشد؛ که مهم ترین علت آن عدم وجود یک حامل (vector) مناسب برای رساندن ژن به درون هسته سلول هدف بود. کارآزمایی بالینی انجام گرفته در سال ۱۹۹۹ بر روی Jesse Gelsinger، یک بیمار ۱۸ ساله آمریکایی مبتلا به کمبود ارثی آنزیم Ornithine transcarbamylase، منجر به مرگ او شد. مرگ جسی مورد توجه تمام کسانی که در زمینه ژن‌درمانی فعال بودند، قرار گرفت و باعث تعیین مقررات بسیار سخت گیرانه‌تری درباره لزوم بازبینی طراحی کارآزمایی‌ها برای محافظت از افراد شرکت کننده شد (۱۳).

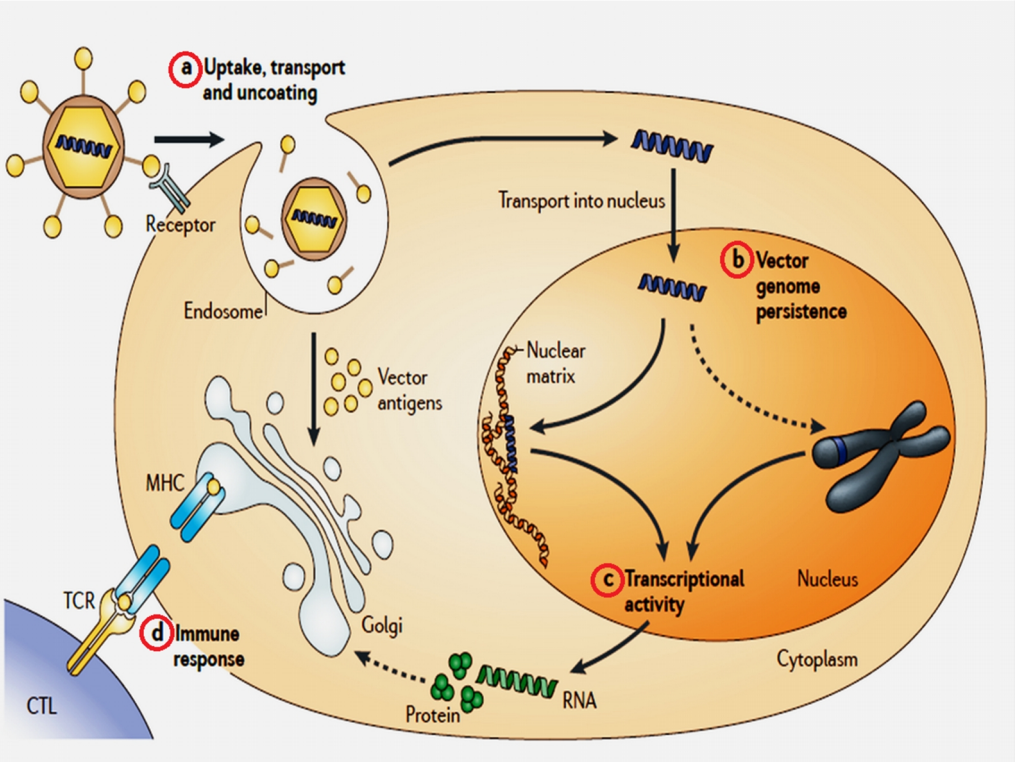
در آغاز هزاره جدید با پیشرفت‌های سریع ژن درمانی امیدها و خوش‌بینی‌ها مجدداً به محافل تحقیقاتی بازگشت. در اوایل این هزاره علائم روشنی از موفقیت‌آمیز بودن ژن‌درمانی در بیماری‌های متعدد مانند X-linked SCID، ADA-SCID، همو‌فیلی B، نقص لیپوپروتئین لیپاز و نابینایی ارثی Leber (Leber's congenital amaurosis) مشاهده شد (۱۴). طی سال‌های ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۵ ژن درمانی ژرم لاین (Germline) سلول‌های انسانی مورد مطالعه قرار گرفت و نظرات موافق و مخالف فراوانی پیرامون آن به وجود آمد (۱۵). در سال ۲۰۰۶ ژن درمانی گستره‌ی بیشتری پیدا نمود و برای درمان اختلالات مختلف ایمنی و سرطان مورد توجه قرار گرفت و نتایج موفقیت آمیزی به همراه داشت. در این سال اولین وکتور ویروسی جهت ژن درمانی توسط FDA مورد تایید قرار گرفت (۱۶) و مهم تر اینکه در همین سال برای نخستین بار در تاریخ، یک محصول تجاری ژن درمانی رسماً مورد تایید قرار گرفت. داروی Gendicine یک ویروس نوترکیب بیان کننده‌ی پروتئین P53 است که توسط سازمان غذا و داروی کشور چین جهت درمان نوعی سرطان سر و گردن مورد تایید قرار گرفت (۱۷). در سال های ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ چندین کارآزمایی بالینی درمان موفقیت آمیز نابینایی های مادرزادی و فیبروز کیستیک را گزارش دادند. مطالعات سمیت و عوارض جانبی ژن درمانی در سال های ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۱ به شدت مورد توجه قرار گرفت. در سال ۲۰۱۲ آژانس پزشکی اروپا برای نخستین بار فروش داروی ژن‌درمانی®Glybera را مورد تأیید قرار داد که جهت ژن‌درمانی نقص ژنتیکی لیپوپروتئین لیپاز مورد استفاده قرار می گیرد (۱۸). در این سال FDA انجام مطالعه‌ی ژن درمانی تالاسمی ماژور را مورد تایید قرار داد. تا سال ۲۰۱۴ بیش از ۲۰۰۰ کارآزمایی بالینی مصوب در زمینه‌ی ژن درمانی انجام گرفته است. شکل ۲ به طور خلاصه کارآزمایی‌های بالینی مصوب از ابتدای ژن درمانی تا ژوئن ۲۰۱۴ را جمع بندی نموده است.

ژن‌رسانی کارا و ایمن: اولین قدم در ژن‌درمانی

امروزه مهم‌ترین چالش در ژن‌درمانی، یافتن یک وکتور یا حامل مناسب برای رساندن ژن به داخل هسته سلول است. موانع اصلی در ژن‌رسانی موثر به هسته‌ی سلول عبارتند از: تخریب پلی‌نوکلئوتید درمانی در فضای خارج سلولی، عدم ورود حامل به درون سلول مورد نظر، مشکل در انتقال درون سلولی پلی‌نوکلئوتید از اندوزوم به لیزوزم و فرار آن از اندوزوم، جدا شدن پلی‌نوکلئوتید از وکتور و عدم ورود پلی‌نوکلئوتید به هسته. به‌علاوه در مطالعات in vivo معیارهای دیگری مانند خصوصیات فیزیکوشیمیایی (مانند اندازه‌ی ذره‌ای و پتانسیل زتا که بر روی پایداری حامل در محیط بیولوژیک دخالت دارند) و تأثیر سیستم ایمنی بر وکتور (مانند سیستم رتیکولواندوتلیال که حامل را به دام می‌اندازد) نیز باید مد نظر قرار گیرند (۱۹).

بر این اساس، مشکلات تکنیکی پیش روی ژن درمانی موفق را می توان در ۴ گروه جای داد (۲):

الف: برداشت وکتور، انتقال و جدا شدن ژن از وکتور (شکل ۳): برای انجام یک ژن درمانی موفق، ابتدا لازم است که وکتور تجویز شده به اندازه‌ای توسط بافت هدف برداشت شود که میزان بیان ژن انتقالی به محدوده درمانی برسد. انتشار بافتی وکتور پس از تجویز تحت تاثیر پارامترهای



شکل ۳- چهار مانع عمده ی فراروی درمان موفقیت آمیز بیماران با استفاده از ژن درمانی؛ a) برداشت، انتقال و جدا شدن ژن از وکتور، وکتورها به غشاء سلولی متصل شده و با مکانیسم های مختلف وارد سلول می شوند. در اکثر موارد این مرحله از طریق برهم کنش های لیگاند-گیرنده صورت می گیرد. اغلب وکتورها پس از ورود به سلول درون اندوزوم ها زندانی می شوند و تحت اثر دسته واکنش های پیچیده ای قرار می گیرند که می تواند موجب تخریب کامل یا جزیی ژن انتقال داده شده گردد. b) باقی ماندن ژنوم وکتور، زمانی که وکتور به هسته ی سلول دست پیدا کرد مورد پردازش های بیشتری قرار می گیرد. بسته به نوع وکتور، DNA می‌تواند به صورت یک مولکول اپی زومی (در تماس با ماتریکس هسته) باقی بماند یا اینکه (به صورت پیوند کووالانسی) وارد کروموزوم میزبان شود. c) ترجمه ی ژن وارد شده و نگهداری بیان ژن انتقال داده شده به عوامل مختلفی بستگی دارد. c) واکنش های ایمنی می تواند حیات سلول توانسداکت شده و درنتیجه بیان ژن محصول ترانسژن را تهدید نماید. در تصویر CTL سلول های لنفوسیتی T سیتوتوکسیک، MHC کمپلکس اصلی سازگاری بافتی و TCR گیرنده های سلولی T می باشد.

متعددی مانند میزان خونرسانی به بافت و موانع اندوتلیال یک ارگان خاص، اندازه وکتور و برهم‌کنش بین لیگاند های وکتور و گیرنده های سلول میزبان قرار دارد. در نهایت، مطلوب این است که وکتور مورد استفاده برای رسیدن به دسته ی خاصی از سلول ها به طور اختصاصی و هدفمند عمل نماید (۲۰).

علی رغم تلاش های فراوانی که انجام گرفته است، طراحی یک وکتور غیرویروسی با لیگاندهای اختصاصی یا وکتورهای ویروسی با کپسید مهندسی شده یا پروتئین های پوششی که وکتور را به سلول هدف اختصاصی می رساند هنوز از نظر تکنیکی موضوعی بحث برانگیز است. نهایتاً این گونه طراحی ها در کارآزمایی های بالینی موفقیت چشمگیری به دست نیاورده اند. این وکتورهای مهندسی شده بیش از حد بزرگ و بسیار ناپایدارند و از سوی دیگر قادر نیستند از سیتوپلاسم به هسته ی سلول انتقال پیدا کنند (۱۰و ۲۱). ویروس ها مکانیسم کارآمدی برای انتقال به سلول و هسته دارند اما به فرض اینکه وکتورهای غیرویروسی بتوانند از غشاء سلولی عبور نمایند، هنوز دو مانع جدی برای انتقال آن ها وجود دارد: عدم توانایی آن ها برای فرار از اندوزوم و ناتوانی آن ها برای عبور از غشاء هسته.

ب: ماندگاری ژنوم وکتور: در صورتی که مولکول DNA اگزوژن موجود در وکتور به صورت اپی‌زومی در هسته باقی بماند، پس از اولین دوره‌ی تقسیم سلولی از بین خواهد رفت. با این حال اگر این وکتورهای اپی‌زومی به بافت‌هایی نظیر کبد، مغز، قلب یا عضله که پس از بلوغ کمتر تقسیم می

شوند انتقال داده شوند می‌توانند در جوندگان در سرتاسر زندگیشان و در حیوانات بزرگ تر تا سال های سال باقی بمانند، زیرا این سلول ها در این ارگان ها چرخه حیات بسیار آهسته ای دارند (۱۱). وکتورهای ادغام شونده در کروموزوم میزبان برای ژن درمانی سلول هایی که دارای چرخه حیات سریع تری هستند (مثل سلول های هماتوپوئیتیک) انتخاب مناسب تری است؛ با این حال هنگام استفاده از این وکتورها به علت پتانسیل بروز جهش زایی الحاقی، خطر فعال کردن یا تخریب ژن های مجاور وجود دارد.

ج: بیان مداوم ژن: گاهی ممکن است به دلیل تغییرات اپی‌ژنتیکی که روی ژنوم وکتور صورت می گیرد بیان ژن انتقالی خاموش شود. به طور کلی مدت زمان بیان ژن انتقالی باید با دوره‌ی مورد نیاز برای درمان بیماری خاص مطابقت داشته باشد (۲۲و ۲۳). به عنوان مثال اغلب بیماری‌های ژنتیکی نیاز دارند که بیان ژن به صورت مادام العمر ادامه یابد که این امر می‌تواند از طریق تجویز چند باره‌ی وکتور و یا با بیان پایدار ژن پس از یک بار تزریق کسب شود؛ حال آنکه بیماری‌های عفونی یا انواع سرطان‌ها به دوره‌ی زمانی محدودتری از بیان ژن احتیاج دارند.

د: پاسخ سیستم ایمنی میزبان: سیستم ایمنی میزبان می تواند علیه محصول ترانس‌ژن یا خود وکتور واکنش نشان دهد؛ این مساله اساسی‌ترین مانع برای ژن‌رسانی تلقی می شود (۲۴و ۲۵). با تجمیع اطلاعات و کامل تر شدن دانسته ها پیرامون طیف وسیع پاسخ های ایمنی میزبان، ممکن است راهکارهای خلاقانه ای جهت آهسته رهش کردن انتقال وکتور و بیان ژن انتقالی در تنها یک گروه سلول هدف یا انواعی از سلول ها کشف شود تا میزان واکنش سلول های ایمنی نیز به آن ها کمتر شود. احتمالاً عدم توانایی پیش بینی پاسخ ایمنی ذاتی و وابسته به آنتی ژن در انسان بزرگترین مانع برای مورد استفاده قرار دادن فن آوری های نوین ژن رسانی است زیرا برخی از پاسخ های ایمنی انسان در حال حاضر قابل ارزیابی در مدل‌های حیوانی نیست (۲۶). یکی از علت های دیگر عدم موفقیت کارآزمایی های بالینی این است که ارتباط میان مطالعات حیوانی و انسانی در حوزه سیستم دقت قابل قبولی ندارد و در حال حاضر نمی‌توان با قاطعیت ادعا نمود که انتقال ژن به انسان با استفاده از یک وکتور خاص همان کارآیی را دارد که در گونه های غیرانسانی آزموده شده است. بنابراین مهم ترین چالش در ژن‌درمانی، یافتن یک حامل مناسب برای رساندن ژن به داخل هسته سلول است.

حامل های ابتدایی که در ژن درمانی مورد استفاده قرار می گرفتند بسیار ساده بودند. تاریخچه‌ی انواع مختلف وکتورها، نحوه تهیه آن ها و موارد استفاده درمانی از آن ها به کرات مورد بررسی قرار گرفته است (۲).

پیشرفت هایی که طی پانزده سال گذشته در زمینه انتقال ژن به سلول ها و یا بافت ها به صورت درون تنی حاصل شده است، عمدتاً مرهون ترقی تکنولوژی ساخت وکتورهاست. این تکنولوژی ها طیف وسیعی از پیشرفت ها در خالص سازی سیستم های وکتوری، بهبود روش های تولید، افزایش میزان ترانسداکسیون و بهبود پروفایل ایمنی وکتور-میزبان را شامل می شود (۲۷و ۲۸).

به طور کلی ژن‌رسانی با دو روش حامل‌های ویروسی و روش‌های غیرویروسی انجام می‌گیرد. حامل‌های ویروسی نسبت به روش‌های غیرویروسی قدیمی‌تر و کارآمدترند زیرا ویروس‌ها به‌طور طبیعی به مکانیسم‌های چندگانه برای عبور از موانع سلولی مجهز هستند (۲۱و ۲۹). علی رغم استفاده وسیع از این حامل‌ها، به خصوص در کارآزمایی‌های بالینی، امروزه روش‌های غیرویروسی به دلیل ایمنی بالاتر، تنوع بیشتر، سهولت تولید و قابلیت صنعتی شدن به عنوان یک جایگزین بهتر مورد توجه قرار گرفته اند (۱۹).

حامل‌های ویروسی

تاکنون انواع مختلفی از ویروس‌ها جهت ژن رسانی بررسی شده‌اند. برخی از مهم ترین آن ها عبارتند از:

Retroviruses (RV): این دسته از ویروس‌ها قابلیت کپی برداری از ژنوم تک رشته‌ای RNA را به‌صورت نسخه دو رشته‌ای DNA دارند. RV تنها

حامل موجود است که به‌طور انتخابی فقط سلول‌های در حال تقسیم را آلوده می‌کند. این ویژگی برای درمان تومور بسیار حائز اهمیت است. حامل‌های طراحی شده بر پایه لنتی‌ویروس‌ها (Lenti virus) (مانند Human immunodeficiency HIV-virus) می‌توانند سلول‌های ارگان‌های مختلفی مانند کبد، قلب، مغز و عضلات را آلوده کنند. این ویروس‌ها جزء دسته RV هستند اما توانایی آلوده کردن سلول‌های خاموش را نیز دارند (۳۰). ایمنی زیستی پایین و از دست رفتن توانایی تکثیر در رتروویروس‌ها که منجر به کاهش چشمگیر تیتر ویروس در بافت هدف می شود از محدودیت‌های اصلی این نوع حامل است.

تلاش های متعددی در جهت رفع این مشکل انجام گردیده که تاکنون موفقیت‌هایی نیز به دنبال داشته است (۳۱).

Adenoviruses (AD): ویروس‌هایی با ژنوم DNA دو رشته‌ای که در انسان عامل عفونت‌های ریوی، گوارشی و تنفسی هستند. ایمنی نسبی (حتی ویروس‌های ضعیف شده منجر به عفونت تنفسی خفیف می‌شوند)، آسانی تولید، خالص‌سازی و تغلیظ در مقادیر بالا و قابلیت ژن‌رسانی به سلول‌های خاموش علاوه بر سلول‌های در حال تقسیم از مزیت‌های این دسته و عدم ژن‌رسانی هدفمند به سلول‌های خاص، پاسخ‌های التهابی ضدویروسی سیستم ایمنی بدن و در نتیجه تداوم نداشتن بیان ژن محدودیت های استفاده از این دسته از ویروس‌هاست (۳۴-۳۲). علی رغم محدودیت‌های موجود، از سال ۱۹۹۰ AD گزینه انتخابی برای کاربردهای ژن‌درمانی (به‌خصوص در سرطان) بوده‌اند (۳۵) و اصلاحات برای رفع مشکلات این دسته، منجر به ایجاد نسل‌های مختلف AD شده است. هم‌اکنون نسل سوم AD که حامل‌های وابسته به یاور (Helper-dependent vector) یا بی‌جرئت (Gutless) خوانده می‌شوند، توسعه یافته است که عاری از پروتئین‌های ویروسی بوده و بنابراین علاوه بر کاهش قدرت تحریک سیستم ایمنی موجب بیان طولانی‌مدت ژن نیز می‌شوند (۳۶). در واقع تا سال ۲۰۰۳، ۶۰۰ پروتکل ژن‌درمانی بالینی گزارش شده که در ۲۷ درصد آن‌ها از AD به عنوان حامل استفاده شده است (۳۷).

Adeno-associated viruses (AAV): دسته‌ای از ویروس‌های کوچک با DNA تک رشته‌ای هستند که می‌توانند مواد ژنتیکی خود را در جایگاه خاصی در کروموزوم ۱۹ وارد کنند. علی رغم این‌که ۹۰٪ جمعیت انسانی آنتی‌ژن‌های این ویروس را در خون دارند (seropositive)، هیچ بیماری‌زایی عمده‌ای از آن گزارش نشده است (۳۸). به علاوه در مقایسه با سایر حامل‌های ویروسی،AAVها از نظر شکل فضایی پایدار بوده و به حرارت، شرایط اسیدی و بعضی شوینده‌ها و حلال‌ها نسبتاً مقاوم است. AAVهای نوترکیب کمتر سیستم ایمنی را تحریک می‌کنند و در عین حال ظرفیت ژن‌رسانی خود را حفظ کرده‌اند.

AAV نوترکیب قابلیت آلوده کردن گستره وسیعی از سلول ها را دارد و به علت مکانیسم خاص بیان طولانی مدت ژن‌های درمانی توسط این ویروس (بیان ژن بیشتر ناشی از اپیزوم های ویروس است تا وارد شدن ژنوم ویروس به میزبان)، احتمال ایجاد موتاسیون ناشی از ورود ژنوم ویروسی (Insertional mutagenesis) به کروموزوم انسانی بسیار اندک است. با توجه به ویژگی‌های جذاب AAV نوترکیب، این حامل امروزه برای کاربردهای ارتوپدی شامل ژن درمانی های مربوط به استخوان، رباط و غضروف و همین‌طور جراحی‌های سر و صورت بسیار مورد توجه است (۳۹).

Herpes simplex viruses (HSV): ویروس‌هایی با DNA دو رشته‌ای هستند که علاوه بر دارا بودن پروسه عفونت کشنده سلول، می‌توانند در سلول‌های نورونی در فاز نهفته باقی بمانند. این ویژگی،HSV را برای ژن‌رسانی به نورون‌ها بسیار مناسب کرده است. مزیت دیگر HSV، توانایی پذیرش و حمل قطعات بزرگ DNA است. به علاوه مکانیسم عفونت‌زایی ویروس، احتمال جهش‌زایی را بسیار کاهش می‌دهد (۳۱). امروزه پیشرفت‌هایی در زمینه پایین آوردن سمیت سلولی HSV به دست آمده است.

روش‌های غیر ویروسی

همان طور که اشاره شد وکتورهای غیرویروسی مزایای قابل توجهی نسبت به حامل‌های ویروسی دارند. پیشرفت های اخیر در زمینه تکنولوژی این روش‌ها، موجب برطرف شدن نسبی معایب آن (از جمله میزان کم انتقال ژن و بیان آن) شده و موجب گردیده تا وکتورها و تکنیک هایی ابداع گردند که به اندازه وکتورهای ویروسی کارایی داشته باشد (۴۰). در ادامه تعدادی از این روش ها به اختصار شرح داده می‌شود.

تزریق DNA برهنه: ساده‌ترین روش ژن‌رسانی غیر ویروسی است. انجام این روش نسبت به سایر

روش های ژن درمانی بسیار کم هزینه تر است، اما میزان بیان ژن ها در این روش در مقایسه با سایر روش ها بسیار پایین است (۴۱). روش‌های مختلفی برای تزریق ژن وجود دارد. چند روش مرسوم جهت دست‌یابی به این هدف عبارتند از:

الف) ژن‌رسانی هیدرودینامیک: تزریق سریع حجم زیاد محلول حاوی DNA برهنه به سیاهرگ دم در موش که عمدتاً باعث ژن‌رسانی به کبد می‌شود. این روش، نخستین تلاش برای رساندن DNAپلازمیدی از طریق تجویز سیستمیک بود (۴۲).

ب) تزریق حجم کم DNA برهنه به بزرگ سیاهرگ زیرین(Inferior vena cava): عمدتاً باعث تمرکز بیان ژن در سلول‌های اپی‌تلیال توبول نزدیک در کلیه می‌شود. این روش باعث بیان پایدار ۳۵روزه ژن بتاگالاکتوزیداز بدون هیچ گونه سمیت یا اثرات ناخواسته قابل ملاحظه شده است (۴۳).

ج) تزریق درون عضله ای DNA پلاسمیدی برهنه: این روش در کارآزمایی های بالینی موفقیت‌هایی را به همراه داشته است (۴۴).

ژن‌رسانی با کمک امواج الکتریکی (Electroporation): روشی است که از پالس‌های کوتاه با ولتاژ بالا جهت انتقال ژن به درون سلول استفاده می نماید (۴۵). به نظر می‌رسد این شوک الکتریکی منجر به ایجاد یک روزنه موقت در غشای سلولی شده و مولکول DNA را از عرض غشا عبور می‌دهد. این فرآیند به‌طورکلی روش کارآمدی محسوب می شود و برای طیف وسیعی از انواع سلول ها قابل استفاده است؛ اما به دلیل این‌که تعداد زیادی از سلول ها طی این روش از بین می‌روند، کاربرد آن به خصوص در کارآزمایی‌های بالینی به شدت محدود می شود.

تفنگ ژنی (Gene gun): یکی از روش‌های فیزیکی برای انتقال DNA، استفاده از بمباران ذرات یا تفنگ ژنی است. در این روش DNA را با ذرات طلا پوشش داده و سپس آن را درون وسیله‌ای می گذارند که به ژن نیرو وارد کرده و آن را به درون سلول نفوذ می‌دهد (۴۶). این روش علی‌رغم کارآمدی غیرقابل انکارش، دارای یک عیب عمده است: در صورتی که ژن به مکان اشتباهی در ژنوم سلول میزبان، مثلاً در ژن سرکوب کننده تومور، وارد شود؛ می تواند منجر به ایجاد تومور سرطانی شود. این اتفاق در کارآزمایی بالینی که روی بیماران X-SCID انجام گردیده بود، رخ داد (۴۷).

ژن‌رسانی با امواج صوتی (Sonoporation): این تکنیک از فرکانس های اولتراسونیک برای رساندن DNA به سلول استفاده می‌نماید. تصور می‌شود منافذی که توسط انرژی صوتی (acoustic) ایجاد می‌گردد، یکپارچگی غشاء سلولی را از بین برده و اجازه می‌دهد DNA به درون سلول نقل مکان کند (۴۸).

ژن‌رسانی با میدان مغناطیسی (Magnetofection): امروزه تحقیقات بسیاری در مورد این فرآیند در حال انجام است و واژه "مگنتوفکسیون" به کرات در مقالات علمی جهت فرآیند "انتقال اسیدهای نوکلئیک به هسته سلول تحت میدان مغناطیسی" مورد استفاده قرار گرفته است. در این روش، حامل حاوی اسیدهای نوکلئیک با (نانو) ذرات مغناطیسی تشکیل کمپلکس می‌دهد و به سوپرناتانت محیط کشت افزوده می‌شود، با قرار دادن یک میدان مغناطیسی در قسمت تحتانی بافت کشت داده شده، کمپلکس‌های DNA تحریک می‌شوند تا در تماس نزدیک با تک لایه سلولی قرار گرفته و وارد سلول شوند (۴۹). این روش از مفهوم دارورسانی هدفمند با استفاده از میدان مغناطیسی (Magnetic drug

targeting) که در دهه ۱۹۷۰ میلادی مورد توجه بود الگوبرداری نموده است. در این روش دارو به صورت کووالانسی یا غیرکووالانسی با (نانو) ذرات مغناطیسی باند شده و تحت تأثیر میدان شیب‌دار مناسب مغناطیسی، در جایگاه هدف تجمیع یا نگهداری می‌شود (۵۰ و ۵۱). نخستین مطالعه در مورد ژن‌رسانی با این روش، در سال ۲۰۰۲ توسط Mah و همکارانش، نشان داد که اتصال وکتور AAV به میکروسفرهای مغناطیسی موجب افزایش کارآمدی ترانس‌داکسیون (Transduction) وکتورمی‌شود (۵۲). برای اتصال وکتور به نانوذرات مغناطیسی، روش‌های متعددی وجود دارد که پرکاربردترین آن ها، اتصال از طریق برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک است. مکانیسم ورود وکتور به درون سلول طی فرآیند مگنتوفکسیون احتمالاً تفاوتی با ترانس‌داکسیون استاندارد ندارد (۵۳).

نانوذرات پگیله‌شده چندجزئی: این حامل‌ها در حال حاضر یکی از امیدبخش‌ترین روش‌های غیرویروسی برای ژن‌رسانی سیستمیک هستند (۵۴و ۵۵). اجزای این حامل‌ها عبارتند از:

الف) مولکول حامل کاتیونی: پلی‌مرهای کاتیونی که پلی‌نوکلئوتید را فشرده کرده و از آسیب نوکلئازها حفظ می‌نمایند مانند پروتامین و PEI(Polyethyleneimine).

ب) پلی‌مرهیدروفیل: عمدتاً شامل انواع PEG (Poly ethylene glycol) می‌شود که بار مثبت حامل کاتیونی را پوشانده و از تجمع حامل در خون و برداشت آن توسط RES (Reticuloendothelial Sysytem)، جلوگیری می‌نماید. پگیله کردن یک حامل ماندگاری در خون، پایداری فضایی و تجمع آن حامل را در بافت‌های غنی از رگ افزایش می‌دهد.

ج) لیگاندهای هدفمندساز: این مولکول‌ها موجب افزایش برداشت حامل از طریق فرآیند اندوسیتوز وابسته به رسپتور (Receptor mediated endocytosis) و اختصاصیت بافتی می‌شوند. نمونه‌های از این لیگاندها عبارتند از: آنتی‌بادی‌ها، PEI، RGD (Arginylglycylaspartic acid)، EGF (Epidermal Growth Factor)، DOPE (Dioleoyiphosphatidyl ethanolamine).

د) مواد پاره‌کننده اندوزوم: این مواد به علت جذب ترکیبات اسیدی، باعث پارگی اندوزوم و آزاد شدن پلی‌نوکلئوتید انکپسوله می‌شوند. مثال های از این مواد عبارتند از: DOPE و PEI.

ه) نشانگرهای تجمع هسته‌ای (Nuclear localization signal): این پپتیدها باعث هدایت پلی‌نوکلئوتید به درون هسته می‌شوند. مثال: Tat و Rev.

اولیگونوکلئوتیدها: از اولیگونوکلئوتیدهای سنتزی برای غیرفعال کردن ژن‌هایی که در روند ایجاد یک بیماری نقش دارند استفاده می گردد (۵۶). استفاده از آنتی‌سنس اختصاصی جهت توقف رونویسی از ژن معیوب، یا به کارگیری مولکول SiRNA برای تخریب توالی‌های مشخص رونوشت mRNAیی ژن معیوب و در نتیجه توقف بیان آن ژن، از راهکارهای مورد استفاده در این زمینه است. مشکل این روش دشواری تجویز سیستمیک اولیگونوکلئوتیدهاست که تاکنون راه‌های متفاوتی مانند اتصال کلسترول، کانژوگه کردن با پروتامین و لیگاندهدفمندکننده یا کمپلکس کردن با پلی‌مرکاتیونی و PEG، برای حل آن بررسی شده‌اند. به‌علاوه SiRNA شدیداً باعث تحریک سیستم ایمنی و برداشت درون سلولی می‌شود. اضافه نمودن یک نوکلئوزید ۲ '-O-methyl uridineیا 2'-O-methyl guanosine به انتهای یک رشته از دو رشته SiRNA به‌خوبی این مشکل را برطرف می‌نماید.

لیپوپلکس و پلی پلکس: پلی‌مرهایی هستند که از لیپیدهای طبیعی با بار منفی یا خنثی الگوبرداری شدند و بعدها انواع مصنوعی و پیچیده‌تر از آن ها طراحی و ساخته شد. این پلی‌مرها برای پوشش بار مثبت DNA و محافظت از آن در محیط بیولوژیک و طی ورود به سلول به‌کار می‌روند (۵۷). مشکل عمده لیپوپلکس‌ها فعال‌سازی سریع سیستم ایمنی ذاتی و افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی است. کاهش برهم‌کنش لیپوپلکس با سیستم ایمنی، استفاده از مواد سرکوب کننده سیستم ایمنی و حذف قسمت CpG از انتهای DNAپلازمیدی، سه راهکار کلی

برای رفع این مشکل هستند (۵۸).

دندریمرها: ماکرومولکول‌هایی با تعداد زیادی شاخه جانبی هستند که در مجموع یک شکل کروی به خود می گیرند. پوشاندن سطح این ماکرومولکول‌ها با گروه‌های عاملی متنوع، ویژگی‌های گوناگونی به آن ها می‌بخشد. در واقع خصوصیات منحصر به فرد یک دندریمر از طریق ویژگی خاص سطح آن تعریف می‌شود. دندریمرهای کاتیونی که در سطح خود دارای بارهای الکتریکی مثبت فراوان هستند، به‌طور موقت به اسیدهای نوکلئیک متصل شده و ایجاد کمپلکس می‌نمایند. این کمپلکس از طریق اندوسیتوز توسط سلول برداشت می‌شود (۵۹).

باکتوفکسیون (Bactofection): در این روش از باکتری به عنوان حامل اسیدهای نوکلئیک جهت ژن‌رسانی استفاده می‌شود. دسته‌های متفاوتی از باکتری های مهاجم با بیان پروتئین های مختلف به طور طبیعی توان ورود به سلول‌های یوکاریوتی را دارند. از این ویژگی باکتری‌ها جهت انتقال ژن استفاده می‌شود. تاکنون فرایند باکتوفکسیون بااستفاده از باکتری‌های متعددی از جمله *Shigella flexneri*، *Salmonella typhi*، *Listeria monocytogenes*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus* و سویه نوترکیب تهاجمی *Escherichia coli* به صورت *in vivo* و *in vitro* انجام گرفته است (۶۰و ۶۱). سادگی کاربرد و انتقال نسبتاً انتخابی ژن، مزیت اصلی باکتوفکسیون است اما مشکل اصلی آن احتمال بروز عوارض جانبی ناخواسته‌ای است که در اثر ارتباط میان باکتری و سلول میزبان به وجود می‌آید (۶۲).

روش‌های هیبریدی: از آنجا که روش‌های ژن‌رسانی هرکدام دارای مزایا و معایبی هستند برای افزایش کارآیی آن‌ها چند روش هیبریدی ابداع شده است که از ترکیب دو یا چند تکنیک به وجود آمده اند. ویروزوم‌ها از جمله‌ی این روش‌ها هستند که از ترکیب لیپوزوم‌ها با نوع غیرفعال‌شده ویروس HIV یا ویروس آنفلوآنزا به دست می آید (۶۳). این روش هیبریدی توانست نسبت به هر دو روش ویروسی و لیپوزومی، به شکل بسیار کارآمدتری، ژن‌رسانی را به سلول های اپی‌تلیال دستگاه تنفسی انجام دهد (۶۴).

علاوه بر وکتورهای مطرح شده در این بخش، وکتورهای دیگری نیز به صورت آزمایشی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که از نظر اهمیت بالینی چندان قابل توجه نیستند. به طور خلاصه وکتورهای مورد استفاده در کارآزمایی‌های بالینی تا سال ۲۰۱۴ در جدول ۱ لیست شده‌اند. همان طور که مشخص است هنوز محبوب‌ترین وکتورها برای استفاده‌ی بالینی در میان وکتورهای ویروسی قرار دارند.

ژن‌درمانی و کاربردهای بالینی

مطالعات بالینی ژن‌درمانی بیش از ربع قرن پیش آغاز گردید و در حال حاضر بیش از ۲۰۰۰ کارآزمایی بالینی بر روی محصولات متنوعی از ژن‌درمانی جهت درمان گستره وسیعی از بیماری‌ها، تحت نظارت موسسات مرتبط بین المللی در حال انجام است. در ابتدا به نظر می‌رسید محصولات ژن‌درمانی بتواند برای درمان بسیاری از بیماری‌های لاعلاج ثمربخش باشد؛ زیرا این روش دارای منطق و پشتوانه‌ی قوی علمی برای درمان بیماری‌های معین ژنتیکی بود. برخی محصولات ژن‌درمانی امیدواری‌های زیادی را برای درمان اختلالات نادر، ناتوان کننده و تهدید کننده به وجود آوردند و بنابراین شدیداً مورد استقبال عموم قرار گرفتند؛ اما علی رغم همه‌ی امیدواری‌ها، این رویکرد علمی هنوز موفق به تولید محصولی نشده است که بتواند تمام مراحل توسعه بالینی را طی نموده و شواهدی قوی مبنی بر کارآمدی و سلامت خود ارائه دهد تا FDA را جهت اخذ تاییدیه ورود به بازار راضی نماید. با این حال، به تازگی گزارش های موفقیت‌آمیز متعددی در زمینه‌ی ژن‌درمانی در کارآزمایی‌های بالینی مشاهده شده است. FDA رضایت‌مندی خود را از این نتایج موفقیت آمیز بر اساس داده‌های علمی اعلام نموده است (۱۳).

امروزه با پیشرفت در طراحی وکتورهای انتقال دهنده‌ی ژن، میزان موفقیت درمان های بالینی برخی بیماری‌های وخیم ژنتیکی با استفاده از این

جدول ۱- وکتورهای مورد استفاده در کارآزمایی های بالینی تا سال ۲۰۱۴

	تعداد کارآزمایی ها	درصد
Adenovirus	463	22.3
Retrovirus	406	19.6
Naked/Plasmid DNA	369	17.8
Vaccinia virus	119	5.7
Adeno-associated virus	117	5.6
Lipofection	113	5.4
Lentivirus	89	4.3
Unknown	71	3.4
Poxvirus	68	3.3
Herpes simplex virus	63	3
RNA transfer	35	1.7
Poxvirus + Vaccinia virus	32	1.5
Adenovirus + Modified vaccinia Ankara virus (MVA)	10	0.5
Adenovirus + Vaccinia virus	8	0.4
Flavivirus	8	0.4
Listeria monocytogenes	9	0.4
Saccharomyces cerevisiae	8	0.4
Sleeping Beauty transposon	8	0.4
Antisense oligonucleotide	6	0.3
Lactococcus lactis	6	0.3
Measles virus	7	0.3
Modified Vaccinia Ankara virus (MVA)	7	0.3
Gene gun	5	0.2
RNA virus	5	0.2
Salmonella typhimurium	4	0.2
Adenovirus + Retrovirus	3	0.1
E. coli	2	0.1
mRNA Electroporation	2	0.1
Naked/Plasmid DNA + Adenovirus	3	0.1
Naked/Plasmid DNA + Modified Vaccinia Ankara virus (MVA)	2	0.1
Naked/Plasmid DNA + Vaccinia virus	3	0.1
Naked/Plasmid DNA + Vesicular stomatitis virus	2	0.1
Semliki forest virus	2	0.1
Sendai virus	2	0.1
siRNA	2	0.1
Venezuelan equine encephalitis virus replicon	3	0.1
Vesicular stomatitis virus	3	0.1
Adenovirus + Sendai virus	1	0
Alphavirus (VEE) Replicon Vaccine	1	0
Bifidobacterium longum	1	0
Minimalistic, immunologically defined gene expression (MIDGE)	1	0
Newcastle disease virus	1	0
Poliovirus	1	0
Shigella dysenteriae	1	0
Simian Immunodeficiency Virus (SIVagm)	1	0
Simian virus 40	1	0
Streptococcus mutans	1	0
Vibrio cholera	1	0
Total	2076	

روش ها به طور قابل توجهی افزایش یافته است. بیماری‌هایی نظیر سندرم‌های نقص ایمنی، کوری ژنتیکی و برخی از انواع سرطان ها امروزه از طریق ژن درمانی به طور موثری مورد درمان قرار گرفته‌اند (۱) و مطالعات بسیاری برای درمان ایدز، واکسیناسیون برای پیشگیری از بیماری‌های عفونی، درمان دیابت شیرین از طریق عرضه فاکتورهای نسخه‌برداری سلول‌های بتا، بیان فاکتور IX برای بهبود هموفیلی، انجام کارآزمایی‌های بالینی برای درمان بیماری‌های چشمی از جمله نابینایی ارثی leber، بیان لیپوپروتئین لیپاز و نیز α_1 antitrypsin در موارد کمبود این دو فاکتور، بیماری‌های اسکلتی-عضلانی مانند DMD (Duchenne muscular dystrophy)، بیماری‌های

قلبی مانند انفارکتوس میوکارد و نارسایی قلبی و همچنین بیماری‌های تخریبگر سیستم عصبی مرکزی مانند پارکینسون در حال انجام است (۶۵).

شکل ۴ به طور خلاصه مجموع بیماری‌هایی که در کارآزمایی‌های مصوب هدف ژن درمانی قرار گرفته اند را به تصویر کشیده است. کماکان درمانی انواع مختلف سرطان در صدر همه‌ی کارآزمایی‌های ژن درمانی قرار دارد. در ادامه به طور ویژه، ژن درمانی سرطان و راهکارهای متنوع آن را مورد قرار می دهیم.

ژن‌درمانی و سرطان

ژن‌درمانی برای درمان سرطان از چندین راهکار کلی بهره گیرد:

✓ ارتقای سیستم ایمنی برای مقابله با پیشرفت سرطان (مانند انتقال ژن tumor necrosis factor، بیان آنتی‌ژن‌های قدرتمند، تولید سایتوکاین‌های موضعی)

✓ ژن‌درمانی القاکننده خودکشی (Suicide gene therapy) و استفاده از پیش‌داروهای ژن‌های خودکشی که باعث افزایش سمیت برای سلول‌های سرطانی می‌شود. این روش بر اساس بیان توکسین‌ها توسط سلول سرطانی و درنتیجه ریشه‌کن کردن انتخابی سلول‌های کارسینومایی طراحی شده است که می‌تواند به طور مستقیم یا غیر مستقیم مورد استفاده قرار گیرد. در روش مستقیم ژن‌های کدکننده توکسین مورد استفاده قرار می گیرند؛ در حالی‌که در شیوه غیرمستقیم، ژن کدکننده آنزیم‌های مسئول تبدیل پیش‌دارو به متابولیت‌های سمی به سلول‌های سرطانی عرضه می‌شود. در این روش پیش‌دارو می بایست به صورت جداگانه به بیمار داده شود (۶۶). معمول‌ترین نمونه استفاده ترکیبی از آنزیم و پیش دارو، ژن تیمیدین کیناز استخراج شده از HSV است که به همراه داروی ganciclovir تجویز می‌شود.

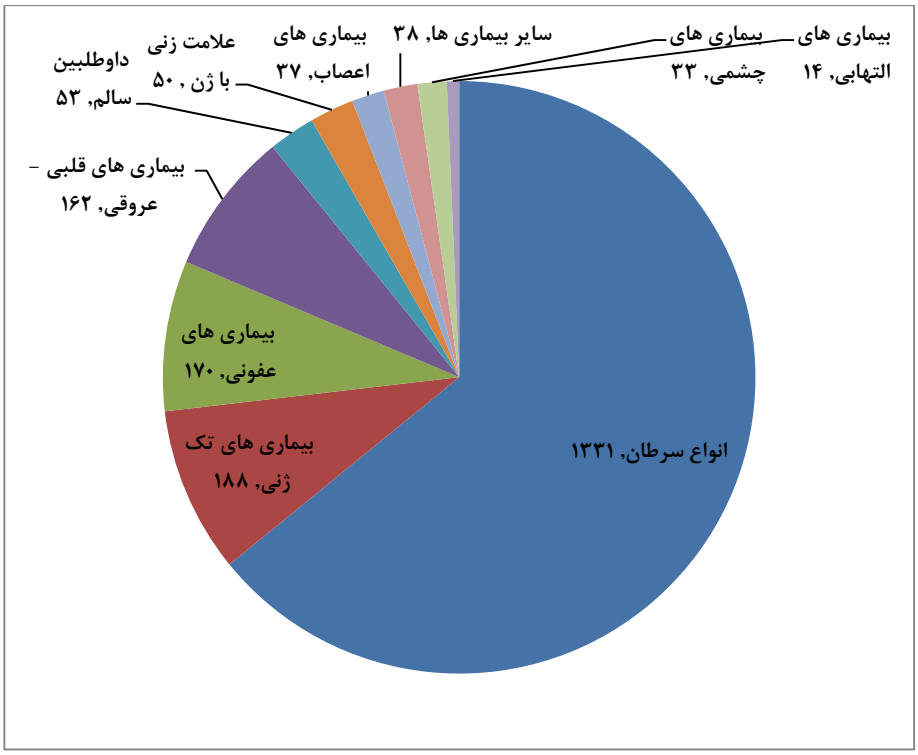
✓ استفاده از ژن‌های عمومی یا اختصاصی سرکوب کننده تومور (ژن P53)

✓ شکستن mRNA های کد کننده آنکوژنی از طریق RNAi

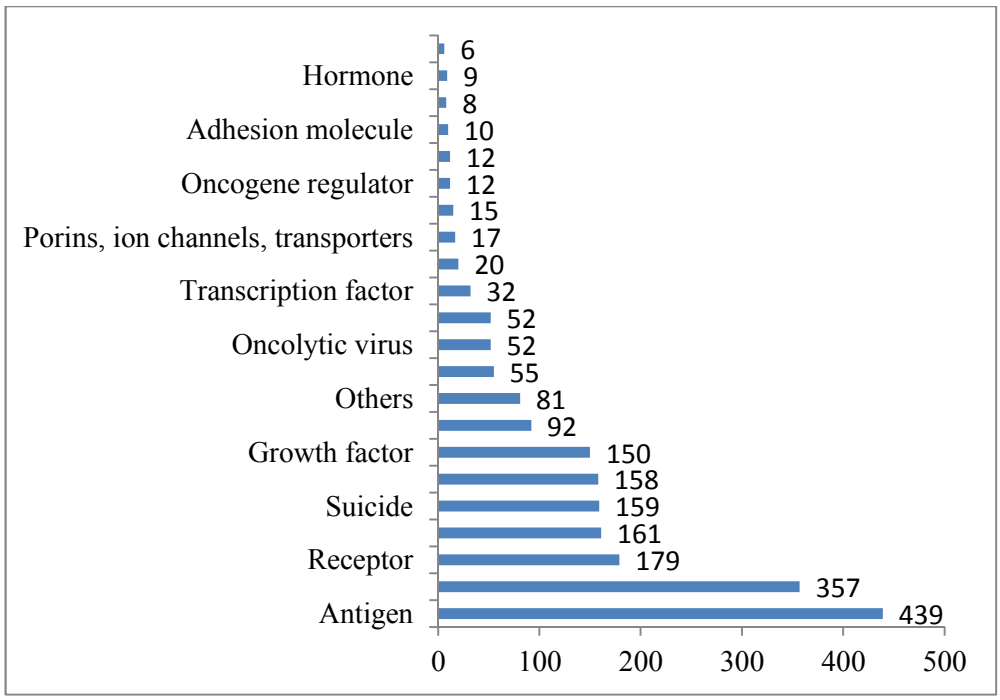
✓ القای تکثیر لیتیک (Lytic replication) در سلول‌های سرطانی و لیز نمودن آن ها

✓ بیان پروتئین‌های ضدرگ زایی

✓ بهره‌گیری از miRNA یا اسفنج‌های



شکل ۴- درصد و تعداد بیماری‌هایی که تاکنون در کارآزمایی‌های مصوب هدف ژن درمانی قرار گرفته اند.



شکل ۵- تکرر استفاده از استراتژی ها و ژن های مختلف در کارآزمایی های بالینی ژن درمانی

miRNA برای تنظیم عملکرد ژن‌های دچار اختلال. اسفنج های miRNA، مولکول‌های RNA غیرکدکننده‌ای هستند که به صورت اگزوژن به سلول تحویل داده شده یا در آن بیان می‌شوند. آن ها به صورت اختصاصی و وابسته به توالی، به miRNA هدف متصل شده و از طریق کاهش غلظت مؤثر miRNA، تولید پروتئین‌های کدشونده توسط mRNA هدف را افزایش داده یا بازیابی می‌نمایند (۶۷).

شکل ۵ استراتژی‌های مورد استفاده در ژن درمانی سرطان و میزان تکرّر ژن‌های مورد استفاده در کارآزمایی‌های بالینی را به تصویر کشیده است.

حامل‌های طراحی شده برای درمان سرطان می‌توانند از طریق اتصال لیگاندهای هدفمند کننده یا استفاده از پروموتورهای اختصاصی تومور، برای ژن‌رسانی به سلول‌های سرطانی اختصاصی شوند (۳۷).

در پایان سال ۲۰۱۴ بیش از ۱۳۰۰پروتکل ژن‌درمانی برای سرطان‌های مختلف پیشنهاد یا کارآزمایی شده است. اولین محصول تجاری مبتنی بر ژن‌درمانی در سال ۲۰۰۳ توسط کمپانی GeneTech عرضه شد. Gendicine® ویروس نوترکیب و تضعیف شده Ad5-p53 (Replication-incompetent recombinant human Ad5-p53) بود که بعداً توسط سازمان غذا و داروی چین برای درمان کارسینومای سلول‌های سنگفرشی سر و گردن، تأیید شد (۶۸). در سال ۲۰۰۶ نیز شرکت Biotech، Oncorine®، درمان مبتنی بر آدنوویروس تکثیرشونده بر اساس موقعیت (Conditionally replicative adenovirus) را به صورت تجاری عرضه کرد (۶۹).

ژن‌درمانی: محدودیت‌ها، پیشرفت‌ها و افق‌های پیش‌رو

زمانی که اولین کارآزمایی بالینی ژن درمانی در ابتدای دهه ۱۹۹۰ میلادی با موفقیت انجام شد این روش توجه بسیاری از دانشمندان و عموم را به خود معطوف کرد و نوید آینده‌ای درخشان در درمان بیماری‌های لاعلاج را می‌داد. با این حال سرعت پیشرفت‌ها خیلی کمتر از حد مورد انتظار بود. اجرای موفقیت آمیز ژن درمانی فرآیندی بسیار وقت گیر و فرسایشی بوده است. این روش نوین درمانی به دلیل زمان مورد نیاز برای انجام

آزمایش های ایمنی با تاخیری طاقت‌فرسا پیش می‌رود. تنها ژن‌های درمانی محدودی را می‌توان در کارآزمایی انسانی مورد استفاده داد. وکتورهای مورد استفاده در فرآیندهای بالینی هنوز کارآیی استاندارد و دائمی از خود نشان نداده‌اند. اگرچه برخی از وکتورهای ویروسی توانسته‌اند کارآیی جالب توجهی از خود نشان دهند اما هنوز از نظر ایمنی و سایر ملاحضات نتوانسته‌اند اعتماد متخصصین را جلب نمایند. با نگاهی به گذشته می‌توان دریافت که بسیاری از کارآزمایی‌های بالینی اولیه به صورت ناقص رها شده‌اند چرا که شواهد علمی و بالینی کافی برای موفقیت آمیز بودنشان مشاهده نشد. اینک پس از گذشت بیش از ۲۵ سال از شروع ژن درمانی، بالاخره شواهدی از موفقیت‌های بالینی مورد انتظار به‌دست آمده است و دست آوردهای پیش بالینی، آینده‌ی موفقیت آمیزتری را نوید می‌دهند. تحقیقات برای بهینه‌سازی روش‌های فیزیکیِ ژن‌رسانی هنوز ادامه دارد؛ پاسخ‌های ایمنی ایجاد شده توسط DNAپلازمیدی، siRNA و حامل‌های غیرویروسی مدیریت شده‌اند؛ چندین حامل برای بهبود ژن‌رسانی سیستمیک طراحی شده است؛ دانش مکانیسم انتقال درون سلولی DNAپلازمیدی در حال تجمیع است؛ چندین حامل پلازمیدی که برای بافت اختصاصی بوده و بیان طولانی‌مدت ژن را سبب شده‌اند، طراحی و بررسی شده‌است؛ لیگاندهای پپتیدی جدید از طریق تکنولوژی نمایش فاژی (Phage display) برای هدفمندسازی ژن‌رسانی طراحی شده و به‌زودی در ژن‌رسانی به‌کار خواهند رفت؛ از سال ۲۰۰۴ به بعد، محققان از تکنولوژی‌های جدید برای ژن‌رسانی غیرویروسی کارا و ایمن از طریق تجویز سیستمیک بهره گرفته‌اند؛ اما علی رغم این پیشرفت‌های چشمگیر، هنوز راهی طولانی برای یافتن یک حامل تمام عیار و قابل استفاده در بالین پیش‌رو است. هنوز مطالعات مکانیسمی زیادی برای درک بهتر موانع ژن‌رسانی درون تنی لازم است. تلاش فوری به منظور یافتن حامل مناسب و همچنین درک بهتر برهم‌کنش‌های میان حامل و میزبان انسانی نیز از نیازهای آشکارِ ژن درمانی است. طراحی روش‌هایی غیر از پگیله کردن برای محافظت از حامل‌ها در برابر RES کبدی ضروری است. به‌هرحال در آینده فناوری‌های پیشرفته مانند RNA aptamer و RNA display نقش کلیدی در توسعه لیگاندهای هدفمندساز با کارایی بالا خواهند داشت (۷۰). حیطه‌ی دیگری از ژن درمانی که نیاز به مطالعه‌ی دقیق‌تر دارد غلبه بر اثرات سمی حامل‌های انتقال ژن بر سلول‌ها و بافت‌هاست. احتمالاً بخش عمده‌ای از مطالعات پایه‌ی ژن درمانی در سال های آتی روی دو محور توسعه روش‌های انتقال ژن و غلبه بر پاسخ سیستم ایمنی میزبان متمرکز شود.

با نگاه دقیق‌تر به گذشته می‌توان اذعان داشت که پیوند اعضا نیز از بسیاری جنبه‌ها در اصل نوعی ژن درمانی اولیه محسوب می‌شود (۶۵). پیوند مغز استخوان برای درمان SCID یا پیوند کبد جهت درمان اختلالات متابولیک تهدید کننده‌ی زندگی نمونه‌های خوبی از این دست هستند. از سوی دیگر رویکرد جدید درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی و ژن درمانی نشان می‌دهند آن ها نیز هدف مشابهی را دنبال می‌کنند. انتقال ژن با استفاده از نانوذرات در ترکیب با سلول‌های بنیادی یقیناً چشم انداز آینده پزشکی است. به نظر می‌رسد تلاش‌های آینده‌ی ژن درمانی به سمت توسعه‌ی حامل‌هایی برای انتقال ژن به سلول‌های بنیادی پرتوان (Pluripotent stem cells)، سلول‌های بنیادی جنینی (Embryonic stem cell) یا سلول‌های تمایز یافته‌ی مشتق شده از این دو رده‌ی سلولی و بهینه سازی این سلول‌ها برای به دست آوردن یک ویژگی فنوتیپی جدید متمرکز شود (۶۵).

در آینده نوع نگاه محققین به فنوتیپ‌هایی که توسط ژن درمانی مورد توجه قرار می‌گیرد نیز احتمالاً دچار تغییراتی می‌شود. همه‌ی بیماری‌های ژنتیکی ارثی نیستند. بسیاری از صفات بیولوژیک و فنوتیپ‌های بیماری تحت تاثیر پارامترهای اپی‌ژنتیکی و از طریق تغییراتی که در هیستون، کروماتین و خود DNA به وجود می‌آید اتفاق می‌افتد. این اهداف ممکن است در آینده‌ی ژن درمانی مورد توجه بیشتری قرار گیرند.

منابع

1. Strachan T, Read AP. Gene therapy and other molecular genetic-based therapeutic approaches. Human Molecular Genetics. 2nd ed. New York: Wiley-Liss; 1999. p. 515-539.
2. Patil PM, Chaudhari PD, Megha S, Duragkar NJ. A review article on Gene therapy. Int J Genet 2012;4(1):74-9.
3. Zhou J, Rossi JJ. Aptamer-targeted cell-specific RNA interference. Silence 2010;1(1):4-11.
4. Nishitsuji H, Ikeda T, Miyoshi H, Ohashi T, Kannagi M, Masuda T. Expression of small hairpin RNA by lentivirus-based vector confers efficient and stable gene-suppression of HIV-1 on human cells including primary non-dividing cells. Microb Infect 2004;6(1):76-85.
5. Yang Y, Meng H, Peng Q, Yang X, Gan R, Zhao L, et al. Downregulation of microRNA-21 expression restrains non-small cell lung cancer cell proliferation and migration through upregulation of programmed cell death 4. Cancer Gene Ther 2014;In press.
6. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer 2006;6(11):857-66.
7. Urnov FD, Rebar EJ, Holmes MC, Zhang HS, Gregory PD. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. Nat Rev Genet 2010;11(9):636-46.
8. Sun H, Zhu X, Lu PY, Rosato RR, Tan W, Zu Y. Oligonucleotide aptamers: New tools for targeted cancer therapy. Mol Ther Nucleic Acids 2014;3(1): 182-8.
9. Huang W, Zheng W, Liu S, Zeng W, Levitt RC, Candiotti KA, et al. HSV-mediated p55TNFSR reduces neuropathic pain induced by HIV gp120 in rats through CXCR4 activity. Gene Ther 2014;21(3):328-36.
10. Thomas CE, Ehrhardt A, Kay MA. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. Nat Rev Genet 2003;4(5):346-58.
11. Berg LJ. The “bubble boy” paradox: an answer that led to a question. J Immunol 2008;181(9):5815-6.
12. Blaese RM, Culver KW, Miller A, Carter CS , Fleisher T, Clerici M, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. Science 1995;270(5235):475-80.
13. Takefman D, Bryan W. The state of gene therapies: The FDA perspective. Mol Ther 2012;20(5):877.
14. Herzog RW, Cao O, Srivastava A. Two decades of clinical gene therapy – success is finally mounting. Discov med 2010;9(45):105-11.
15. Melchiorri D, Pani L, Gasparini P, Cossu G, Ancans J, Borg JJ, et al. Regulatory evaluation of Glybera in Europe two committees, one mission. Nat Rev Drug Discov 2013;12(9):719-24.
16. Que-Gewirth NS, Sullenger BA. Gene therapy progress and prospects: RNA aptamers. Gene Ther 2007;14(4):283-91.
17. Pearson S, Jia H, Kandachi K. China approves first gene therapy. Nat Biotech 2004;22(1):3-4.
18. Yla-Herttuala S. Endgame: glybera finally recommended for approval as the first gene therapy drug in the European union. Mol Ther 2012;20(10):1831-2.
19. Li SD, Huang L. Gene therapy progress and prospects: non-viral gene therapy by systemic delivery. Gene Ther 2006;13(18):1313-9.
20. Pfeifer C, Himmel A, Geiger J-P, Aneja MK, Rudolph C. Efficient, specific and targeted delivery of genes to the lung. Ther Deliv 2010;1(1):133-48.
21. Yin H, Kanasty RL, Eltoukhy AA, Vegas AJ, Dorkin JR, Anderson DG. Non-viral vectors for gene-based therapy. Nat Rev Genet 2014;15(8):541-55.
22. Robbins PD, Ghivizzani SC. Viral vectors for gene therapy. Pharmacol Ther 1998;80(1):35-47.
23. Gould DJ, Favorov P. Vectors for the treatment of autoimmune disease. Gene Ther 2003;10(10):912-27.
24. Lu Y, Song S. Distinct immune responses to transgene products from rAAV1 and rAAV8 vectors. Proc Natl Acad Sci U S A 2009;106(40):17158-62.
25. Mingozzi F, High KA. Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy. Blood 2013;122(1):23-36.
26. Herzog RW. Immune Responses to AAV Capsid: Are Mice Not Humans After All? Mol Ther 2007;15(4):649-50.
27. Brunetti-Pierri N, Ng P. Progress and prospects: gene therapy for genetic diseases with helper-dependent adenoviral vectors. Gene Ther 2008;15(8):553-60.
28. Shaw A, Cornetta K. Design and potential of non-integrating lentiviral vectors. Biomedicines 2014;2(1):14-35.
29. Boulaiz H, Marchal JA, Prados J, Melguizo C, Aranega A. Non-viral and viral vectors for gene therapy. Cel mol biol (Noisy-le-Grand) 2004;51(1):3-22.
30. Rubinson DA, Dillon CP, Kwiatkowski AV, Sievers C, Yang L, Kopinja J, et al. A lentivirus-based system to functionally silence genes in primary mammalian cells, stem cells and transgenic mice by RNA interference. Nat Genet 2003;33(3):401-6.
31. Wu N, Ataai MM. Production of viral vectors for gene therapy applications. Curr Opin Biotechnol 2000;11(2):205-8.
32. Senesac J, Gabrilovich D, Pirruccello S, Talmadge JE. Dendritic Cells Transfected with Adenoviral Vectors as Vaccines. Cancer Vaccines. New York: Springer; 2014. p. 97-118.
33. Bauer G, Anderson JS. Principles of Gene Therapy. Gene Therapy for HIV. New York: Springer; 2014. p. 1-8.

A, Abootalebi N, Niroumand U, Ebrahimi N, et al. Magnetic properties and antimicrobial effect of amino and lipoamino acid coated iron oxide nanoparticles. Minerva Biotecnol 2016;28(4):177-86.

51. Ebrahiminezhad A, Ghasemi Y, Rasoul-Amini S, Barar J, Davaran S. Impact of amino-acid coating on the synthesis and characteristics of iron-oxide nanoparticles (IONs). Bull Korean Chem Soc 2012;33(12):3957-62.

52. Mah C, Fraites TJ, Zolotukhin I, Song S, Flotte TR, Dobson J, et al. Improved method of recombinant AAV2 delivery for systemic targeted gene therapy. Mol Ther 2002;6(1):106-12.

53. Mykhaylyk O, Antequera YS, Vlaskou D, Plank C. Generation of magnetic nonviral gene transfer agents and magnetofection in vitro. Nat Protoc 2007;2(10):2391-411.

54. Hatakeyama H, Akita H, Kogure K, Oishi M, Nagasaki Y, Kihira Y, et al. Development of a novel systemic gene delivery system for cancer therapy with a tumor-specific cleavable PEG-lipid. Gene Ther 2006;14(1):68-77.

55. Guo S, Huang L. Nanoparticles escaping RES and endosome: challenges for siRNA delivery for cancer therapy. J Nanomater 2011;2011:11.

56. Deleavey Glen F, Damha Masad J. Designing chemically modified oligonucleotides for targeted gene silencing. Chem Biol 2012;19(8):937-54.

57. Elouahabi A, Ruysschaert J-M. Formation and intracellular trafficking of lipoplexes and polyplexes. Mol Ther 2005;11(3):336-47.

58. Wang W, Li W, Ma N, Steinhoff G. Non-viral gene delivery methods. Curr Pharm Biotechnol 2013;14(1):46-60.

59. Dufès C, Uchegbu IF, Schätzlein AG. Dendrimers in gene delivery. Adv Drug Del Rev 2005;57(15): 2177-2202.

60. Palffy R, Gardlik R, Hodosy J, Behuliak M, Reško P, Radvánský J, et al. Bacteria in gene therapy: bactofection versus alternative gene therapy. Gene Ther 2005;13(2):101-5.

61. Ebrahiminezhad A, Davaran S, Rasoul-Amini S, Barar J, Moghadam M ,Ghasemi Y. Synthesis, characterization and anti-Listeria monocytogenes effect of amino acid coated magnetite nanoparticles. Curr Nanosci 2012;8(6):868-74.

62. Seow Y, Wood MJ. Biological gene delivery vehicles: beyond viral vectors. Mol Ther 2009;17(5):767-77.

63. Kaneda Y. Virosomes: evolution of the liposome as a targeted drug delivery system. Adv Drug Del Rev 2000;43(2):197-205.

64. Gargett T, Grubor-Bauk B, Miller D, Garrod T, Yu S, Wesselingh S, et al. Increase in DNA vaccine efficacy by virosome delivery and co-expression of a cytolytic protein. Clin Transl Immunol 2014;3(6):e18.

65. Kay MA. State-of-the-art gene-based

34. Miravet S, Ontiveros M, Piedra J, Penalva C, Monfar M, Chillón M. Construction, Production, and Purification of Recombinant Adenovirus Vectors. Adenovirus. New York: Springer; 2014. p. 159-73.

35. Alemany R, Balague C, Curiel DT. Replicative adenoviruses for cancer therapy. Nat Biotechnol 2000;18(7):723-7.

36. Burroughs KD, Kayda DB, Sakhuja K, Hudson Y, Jakubczak J, Bristol JA, et al. Potentiation of oncolytic adenoviral vector efficacy with gutless vectors encoding GMCSF or TRAIL. Cancer Gene Ther 2004;11(2):92-102.

37. Nadeau I, Kamen A. Production of adenovirus vector for gene therapy. Biotechnol Adv 2003;20(7):475-89.

38. Daya S, Berns KI. Gene Therapy Using Adeno-Associated Virus Vectors. Clin Microbiol Rev 2008;21(4):583-93.

39. Ke J, Zheng L, Cheung L. Orthopaedic gene therapy using recombinant adeno-associated virus vectors. Arch Oral Biol 2011;56(7):619-28.

40. Al-Dosari MS, Gao X. Nonviral gene delivery: principle, limitations, and recent progress. AAPS J 2009;11(4):671-81.

41. Herweijer H, Wolff JA. Progress and prospects: naked DNA gene transfer and therapy. Gene Ther 2013;10(6):453-8.

42. Suda T, Liu D. Hydrodynamic gene delivery: its principles and applications. Mol Ther 2007;15(12):2063-9.

43. Wu X, Gao H, Pasupathy S, Tan PH, Ooi LL, Hui KM. Systemic administration of naked DNA with targeting specificity to mammalian kidneys. Gene Ther 2005;12(6):477-86.

44. Danko I, Williams P, Herweijer H, Zhang G, Latendresse JS, Bock I, et al. High expression of naked plasmid DNA in muscles of young rodents. Hum Mol Genet 1997;6(9):1435-43.

45. Calvet CY, André FM, Mir LM. Dual therapeutic benefit of electroporation-mediated DNA vaccination in vivo: Enhanced gene transfer and adjuvant activity. Oncoimmunology 2014;29(3): 28540-8.

46. Ibraheem D, Elaissari A, Fessi H. Gene therapy and DNA delivery systems. Int J Pharm 2014;459(1):70-83.

47. Saraswat P, Soni R, Bhandari A, Nagori B. DNA as therapeutics; an update. Indian j pharm sci 2009;71(5):488.

48. H Sum C, Wettig S, A Slavcev R. Impact of DNA vector topology on non-viral gene therapeutic safety and efficacy. Curr Gene Ther 2014;14(4):309-29.

49. Gupta G, Arora S, Singh S, Singh N. Advances in magnetofection magnetically guided nucleic acid delivery : a review. J Pharm Technol 2013;1(7):19-29.

50. Gholami A, Rasoul-amini S, Ebrahiminezhad

therapies: the road ahead. Nat Rev Genet 2011;12(5):316-28.

66. Duarte S, Carle G, Faneca H, Lima MC, Pierrefite-Carle V. Suicide gene therapy in cancer: where do we stand now? Cancer Lett 2012;324(2):160-70.

67. Cross D, Burmester JK. Gene Therapy for Cancer Treatment: Past, Present and Future. Clin Med Res 2006;4(3):218-27.

68. Cheok CF, Verma CS, Baselga J, Lane DP. Translating p53 into the clinic. Nat Rev Clin Oncol. 2011;8(1):25-37.

69. Raty J, Pikkarainen J, Wirth T, Yla-Herttuala S. Gene therapy: the first approved gene-based medicines, molecular mechanisms and clinical indications. Curr Mol Pharmacol 2008;1(1):13-23.

70. Guo P, Haque F, Hallahan B, Reif R, Li H. Uniqueness, advantages, challenges, solutions, and perspectives in therapeutics applying RNA nanotechnology. Nucleic Acid Ther 2012;22(4):226-45.

A comprehensive review of gene therapy, recent progress and future prospects n

Ahmad Gholami, PharmD/PhD, Assistant Professor of Pharmaceutical Biotechnology, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. gholami@sums.ac.ir
Fatemeh Roshan fard, PharmD. Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. roshanfard@sums.ac.ir
***Younes Ghasemi**, PharmD/PhD, Assistant Professor of Pharmaceutical Biotechnology, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran (*Corresponding author). ghasemiy@sums.ac.ir

Abstract

Human gene therapy has attracted increasing attention as a highly encouraging therapeutic approach to treat wide variety of diseases, other than genetically inherited and monogenic disorders. This approach entails the introduction and expression of a variety of nucleic acids into human target cells for therapeutic purposes. In this article, we review the history, highlights, recently progresses and future of gene therapy approaches.

The first gene therapy clinical trial was successfully performed in 1990s for treating an inherited genetic disorder, Severe Combined Immunodeficiency (SCID). Subsequently, the number of gene therapy clinical trials was exponentially continued to increase over the years. However, the initial results of these trials did not meet expectations.

In the last decade, due to improvements in the gene transfer vectors, the dreams of treating severe immunodeficiency and genetic disorders and cancer by gene therapy products is again closer to reality. Before gene therapy becomes an extensively accepted approach for treating wide range of diseases, some limitative intracellular and extracellular barriers need to be overcome. Currently, a wide range of gene delivery vectors have been developed to do this. A number of safe viral vectors and non-viral methods were innovated and used for successfully treatment of some inherited and immune deficiencies, ocular diseases and cancer. Viral gene delivery vectors are appropriate for gene therapy purposes which are based on long-term gene expression. Although, non-viral vectors are less efficient than former in gene transduction, they have utilities owing to their high target cell specificity, low immunogenicity and ability to transfer large size genes.

In conclusion, recent progress in the gene therapy approaches is somewhat realizing expectancies made many years ago, providing bright hopefulness for further achievements in the next years. Gene therapy appears to be final selective approach for the treatment of many human diseases in this century.

Keywords: Gene therapy, Viral and non-viral vectors, Immune deficiency diseases, Cancer