



مروری بر کاربرد سیستم CRISPR/Cas9 در کاهش انکوژن زایی سرطان تیروئید آناپلاستیک



جواد یغموریان خوجینی^{۱*}، فریبا دهقانان^۲

گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

javad.yaghmoory021@yahoo.com

نتایج

سرطان آناپلاستیک تیروئید (ATC) یکی از انواع سرطان - با نرخ شیوع کم ولی بسیار تهاجمی و کشنده است؛ به طوری که پس از تشخیص، بیماران مبتلا معمولاً بیش از یک سال زنده نمی‌مانند. در حال حاضر علت اصلی این سرطان ناشناخته بوده و ارتباطی بین ATC و فاکتورهای رفتاری و یا سبک زندگی وجود ندارد و درمان موثری نیز برای آن شناخته نشده است. ATC علاوه بر تیروئید می‌تواند یک سری گیرنده‌های سلولی مهم از جمله گیرنده فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGFR)، گیرنده فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGFR)، گیرنده فاکتور رشد پلاکتی (PDGFR) و گیرنده فاکتور رشد کبدی (HGFR / c-Met) را درگیر کرده و اثرات مضر بر فرایندهای متابولیک بدن داشته باشد. علائم ATC می‌تواند شامل ایجاد تحولاتی در گردن هم‌چون درد گردن، توده ورم کرده در غدد لنفاوی و غده پارانشیما تیروئید نفوذ کرده به محیط اطراف گردن باشد. دیگر علائم ATC می‌تواند شامل کاهش وزن، تنگی نفس، تغییر در صدا و مشکل در بلعیدن باشد. سیستم CRISPR/Cas9 یکی از بهترین روش‌ها برای ویرایش ژنوم است که با شناخت یک سری توالی‌های ۲۰ الی ۲۴ نوکلئوتیدی، شکاف‌های مضعفی را در مناطق هدف ایجاد می‌کند. در ادامه یک سری فرایندهای ترمیم DNA هم‌چون الحاق، تغییر، حذف و جایگزینی روی می‌دهد. در این سیستم نوکلئازهای با RNA راهنما از یک سیستم ایمنی تطابق‌پذیر مشتق می‌شوند که در باکتری‌ها برای دفاع از هجوم پلاسمیدها و ویروس‌ها به کار گرفته می‌شود. فرایندهای Knock out مبتنی بر CRISPR/Cas9 به‌طور فزاینده‌ای برای تجزیه و تحلیل عملکرد ژن به‌کار می‌رود. مطالعات صورت گرفته اکثراً بر پایه حذف پروتئین دخیل در سرطان‌زایی تیروئید و کاهش فعالیت انکوژنی آن در محیط آزمایشگاهی طی استفاده از تکنیک CRISPR/Cas9 صورت می‌گیرد. در مطالعه‌ی صورت‌گرفته‌ی مبتنی بر این تکنیک، ترانسفکشن لنتی ویروسی را با تکنیک CRISPR / Cas9 برای آزاد کردن ناقل‌هایی که برای کد کردن پروتئین Cas9 و sgRNA به توالی DNA EGFR در یک سری سلول‌های معین شده، صورت می‌گیرد. بسط توالی EGFR و بیان بیش از حد ژن EGFR در بسیاری از سرطان‌ها هم‌چون سرطان پستان، ریه، معده و به-خصوص در سرطان تیروئید وجود دارد و مطالعات گسترده‌ای برای آن صورت‌گرفته است. از تکنیک CRISPR/Cas9 برای در هم گسیختن ژن‌ها از جمله EGFR استفاده شده که برای حذف بیان ژن EGFR در سلول‌ها به‌کار برده می‌شود. کارایی بالای ویرایش ژن در سیستم CRISPR/Cas9 می‌تواند در بسیاری از سرطان‌ها صدق کند و کارا باشد. استفاده از CRISPR / Cas9 مبتنی بر لنتی ویروس، برای اطمینان از راندمان بالای عفونت بر روی سلول‌های هدف است و می‌تواند در داخل بدن و در درمان بالینی بیشتر استفاده شود.

بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات

ویرایش ژنوم یکی از بزرگ‌ترین چالش‌هایی است که محققان علوم‌زیستی از گذشته تا آن روبرو بوده‌اند. سیستم CRISPR/Cas9 عصر بزرگی در ویرایش ژنوم بوده و موجب ابداع راهکارهای درمانی بسیار موثری شده است. این سیستم شامل یک پروتئین Cas9 است که به RNA (CRISPR) متصل است و توسط باکتری‌ها و آرکی باکتری‌ها برای جلوگیری از تهاجم عوامل ژنتیکی بیگانه همانند ویروس‌ها و باکتری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. ابداع این سیستم پیشرفت‌ها و درمان سرطان‌های رایج انسانی از جمله تیروئید را باعث گردید. با این حال یک سری محدودیت‌هایی در روش CRISPR/Cas9 وجود دارد؛ برای مثال می‌توان به نبود توالی PAM در بعضی بافت‌های بدن اشاره کرد که تنها جزء مورد نیاز برای عملکرد Cas است. یکی از محدودیت‌های دیگر سختی انتقال به درون بدن است. یکی دیگر از مهم‌ترین محدودیت‌هایی که در این سیستم وجود دارد Off Targeting بودن آن است؛ یعنی ممکن است خارج از آن ناحیه‌ای که باید عمل کند، اثر خود را بگذارد و در واقع در مناطق غیر اختصاصی در روی ژنوم نشسته و در آن مناطق برش‌های نابجا ایجاد کند و این می‌تواند عواقب غیر قابل پیش بینی بر روی عملکرد سلول‌ها داشته باشد. بنابراین این سری محدودیت‌ها باعث شده است که تکنیک CRISPR/Cas9 در حال حاضر به عنوان تکنیک گسترده‌ای در ویرایش ژنوم به کار برده نشود. با این وجود این تکنیک عصری جدید در ویرایش ژنی و درمان بسیاری از سرطان‌ها و بیماری‌ها بوده است.

سرطان آناپلاستیک (ATC) یکی از تهاجمی‌ترین و کشنده‌ترین تومورهای انسانی است. روش‌های شیمی درمانی و پرتودرمانی متعددی برای درمان این عارضه استفاده شده است ولی معمولاً موثر واقع نشده‌اند. پیشرفت‌های اخیر در فهم بیماری‌زایی ژنتیکی و مولکولی سرطان تیروئید آناپلاستیک، امید به درمان این بیماری را افزایش داده است. CRISPR/Cas9 به عنوان یکی از اکتشافات نوین بشری توانسته است با تغییر توالی ژنومی و اصلاح ژنی، درمان این نوع سرطان و بسیاری از سرطان‌های بدخیم دیگر را در مسیر هموارتری قرار دهد.

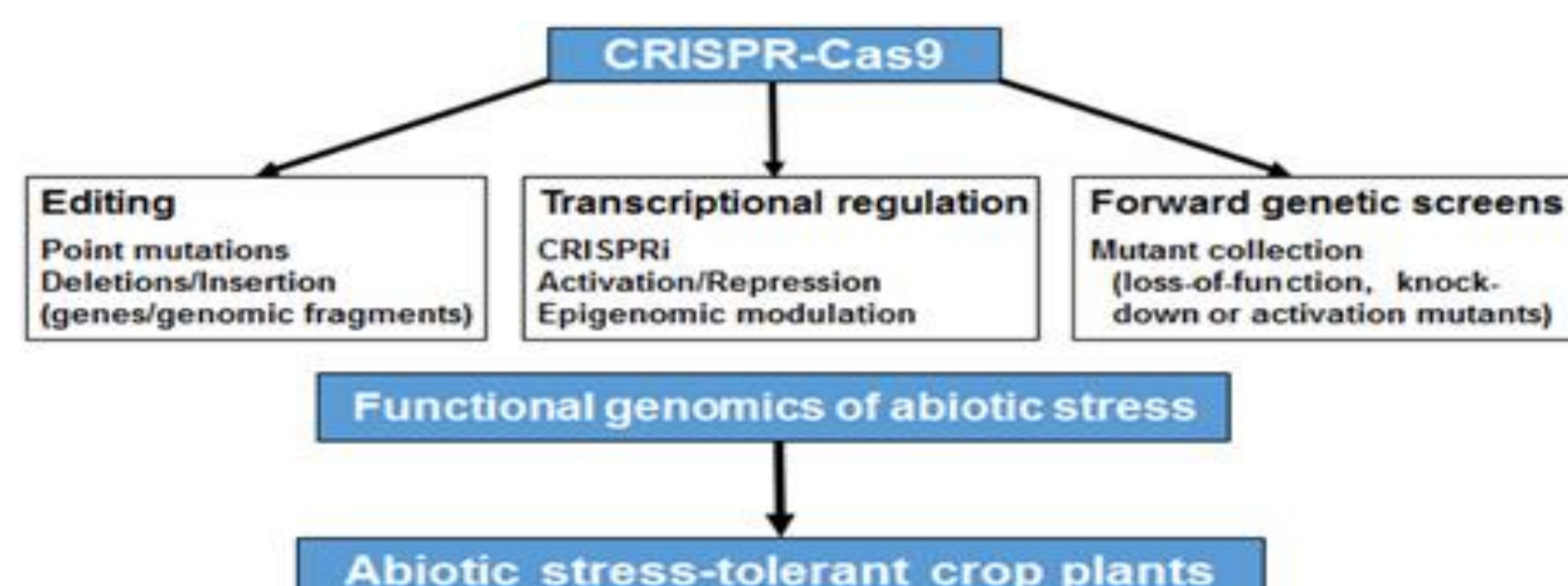
منابع

1. Cabanillas, M.E., D.G. McFadden, and C. Durante, Thyroid cancer. *The Lancet*, 2016. 388(10061): p. 2783-2795.
2. Huang, L.-C., et al., CRISPR/Cas9 genome editing of epidermal growth factor receptor sufficiently abolished oncogenicity in anaplastic thyroid cancer. *Disease markers*, 2018. 2018.
3. Hundahl, S.A., et al., A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the US, 1985-1995. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 1998. 83(12): p. 2638-2648.
4. Li, M., et al., Anaplastic thyroid cancer in young patients: a contemporary review. *American journal of otolaryngology*, 2013. 34(6): p. 636-640.
5. Ragazzi, M., et al., Update on anaplastic thyroid carcinoma: morphological, molecular, and genetic features of the most aggressive thyroid cancer. *International journal of endocrinology*, 2014. 2014.
6. Sanjana, N.E., O. Shalem, and F. Zhang, Improved vectors and genome-wide libraries for CRISPR screening. *Nature methods*, 2014. 11(8): p. 783.
7. Shalem, O., et al., Genome-scale CRISPR-Cas9 knockout screening in human cells. *Science*, 2014. 343(6166): p. 84-87.
8. Smallridge, R.C. and J. Copland, Anaplastic thyroid carcinoma: pathogenesis and emerging therapies. *Clinical Oncology*, 2010. 22(6): p. 486-497.

چکیده

سرطان آناپلاستیک تیروئید (ATC) به طور متوسط ۲٪ از کل موارد ابتلا به سرطان تیروئید را شامل می‌شود. این سرطان به عنوان یکی از تهاجمی‌ترین، کم‌تمایزترین و کشنده‌ترین انواع سرطان تیروئید محسوب می‌شود. تکنولوژی CRISPR/Cas9 به عنوان یکی از اکتشافات نوین بشری توانسته است با تغییر توالی ژنومی و اصلاح ژنی، درمان این نوع سرطان و بسیاری از سرطان‌های بدخیم دیگر را در مسیر هموارتری قرار دهد. این سیستم می‌تواند با استفاده از یک سری نوکلئازهای با RNA راهنما از یک سیستم ایمنی تطابق‌پذیر، باعث یکی سری فرایندها گردد. از جمله این فرایندها می‌توان به فرایندهای Knock out مبتنی بر این سیستم، در هم گسیختن ژن‌های دخیل در سرطان‌های مختلف و حذف آن‌ها و خاصیت بالای ویرایش ژنی اشاره کرد که سیستم CRISPR/Cas9 می‌تواند بدین طریق اثرات خود را در کاهش انکوژن زایی سرطان‌های مختلف از جمله سرطان تیروئید اعمال کند.

کلمات کلیدی: ATC, CRISPR/Cas9, EGFR, ویرایش ژن



Classification of Thyroid Cancers

Cancer type	Clinical characteristics	
Differentiated	Papillary	<ul style="list-style-type: none"> ~80% of thyroid cancers 10-year survival: 74–93%
	Follicular	<ul style="list-style-type: none"> Constitute ~10% of thyroid cancers 10-year survival 43–94%
	Hürthle cell	<ul style="list-style-type: none"> Constitute ~4% of thyroid cancers 10-year survival: ~76%
Anaplastic	<ul style="list-style-type: none"> Constitute ~2% of thyroid cancers Aggressive, rapidly invasive Median survival: 4–5 months from diagnosis 	

مقدمه

سرطان تیروئید یکی از شایع‌ترین تومورهای بدخیم غدد درون ریز بوده که بروز آن طی سال‌های متوالی افزایش یافته است. این سرطان شامل سرطان پاپیلاری (۷۵-۸۵٪)، سرطان فولیکولار (۱۰-۲۰٪)، سرطان مدولاری (۵-۸٪) و سرطان آناپلاستیک (کمتر از ۵ درصد) است. سرطان آناپلاستیک تیروئید (ATC) به طور متوسط ۲٪ از کل موارد ابتلا به سرطان تیروئید را شامل می‌شود. این سرطان جزء تهاجمی‌ترین، کمیاب‌ترین و کشنده‌ترین انواع سرطان تیروئید است. روش‌های درمانی متفاوتی شامل استفاده از ید رادیواکتیو (I¹³¹)، شیمی‌درمانی، رادیوتراپی به واسطه پرتو خارجی و سرکوب هورمون تحریک‌کننده تیروئید (TSH) به واسطه لووتیروکسین برای درمان این سرطان استفاده شده است، ولی در اغلب مواقع بی‌اثر بوده‌اند. در واقع تشخیص اولیه این سرطان بسیار مشکل بوده و درمان موثری برای آن وجود ندارد. بیماران مبتلا، سنی حدود ۶۰ الی ۷۰ سال داشته و معمولاً بیش‌تر از یک سال پس از تشخیص زنده نمی‌مانند. CRISPR/Cas9 یکی از قوی‌ترین، ارزان‌ترین گسترده‌ترین ابزارهای ویرایش ژنتیکی در عصر حاضر است. CRISPR، ابزاری برای برش DNA در یک نقطه خاص بوده که طی آن با حذف، تغییر و برگرداندن DNA به سلول‌های بیمار قدرت مبارزه با سرطان به شیوه‌ای بسیار کارآمدتر را فراهم می‌آورد. در این مطالعه به بررسی کاربرد سیستم CRISPR/Cas9 در درمان سرطان تیروئید آناپلاستیک و محدودیت‌ها و کاربردهای آن پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از روش گردآوری کتابخانه‌ای، جست و جو در متون مختلف و مقالات علمی معتبر استفاده شده است.