ملانومای بدخیم: ژنتیك ملکولی، ژن درمانی و چشم اندازها

قسمت دوم

دکتر محمدرضا نوری دلویی[1] ، مونا حسینی[2]

خلاصه

ملانومای بدخیم پوستی (CMM=Cutaneous Malignant Melanoma) یا سرطان ملانوسیت های پوست، از جمله مهمترین و شایع ترین سرطان هاست که در سالهای اخیر فراوانی آن به نحو چشمگیری افزایش یافته است. وقوع ملانوما با نژاد و رنگ پوست ارتباط نزدیکی دارد، به طوری که در سفیدپوستان که اغلب دچار آفتاب سوختگی می شوند، معمولی تر بوده و شانس آنها برای ابتلاء به این سرطان ۴۰ برابر سیاه پوستان تخمین زده شده است. به علاوه، قرار گرفتن در معرض پرتو فرا بنفش نورآفتاب، به ویژه در دوران کودکی نیز استعداد ابتلاء به ملانوما را تقویت می نماید. بر این اساس، استرالیا، اسکاندیناوی، کالیفرنیا و جزایر هاوایی شایعترین مناطق ملانوما محسوب می گردند و برعکس در آسیا و آفریقا شیوع آن کمتر است.

بیش از ۸ تا ۱۲٪ موارد ملانومای بدخیم در افرادی که زمینهٔ ارثی ابتلاء به آن را دارند رخ می دهد. همچنین این بیماری اغلب در ارتباط با سندرم ارثی معروف به سندرم خالهای غیرطبیعی (Atypical Nae-vus syndrom) یا به اختصار ANS به وقوع می پیوندد. تغییر در اندازه شکل، رنگ، قوام و برآمدگی یک خال، یا به وجود آمدن یک خال غیرطبیعی جدید، از علائم هشدار دهندهٔ این سندرم و سرطان آن به حساب می آید. بررسی های ژنتیکی به روشنی نشان داده است که عامل اصلی پیدایش ملانومای بدخیم، رخداد حذف یا جهش در دو ژن بازدارندهٔ تومور به نامهای اختصاری MTS_1 و MTS_2 است که روی بازوی کوتاه کروموزوم ۹ ($9P_{21}$) قرار دارند. این ژنها، پروتئین هایی به نامهای P_{16}، P_{15} را رمزدهی می کنند که جزء مهار کننده پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین رده بندی می گردند و نقش آنها متوقف ساختن چرخه سلولی در نقطه یا ایستگاه بازرسی G_1 و ممانعت از عبور آن به مرحلهٔ S می باشد. این امر فرصت کافی برای تکمیل تقسیم پیشین، رشد سلول یا تعمیر اشتباهات همانندسازی DNA را فراهم می آورد. تغییرات دیگر نیز روی کروموزوم های متعددی از جمله ۹،۶،۱ و ۱۱ مشاهده شده است که البته نقش دقیق آنها در پیدایش این سرطان هنوز مشخص نشده است.

قسمتی از این مبحث در شماره پیش مورد بررسی قرار گرفت. حال می پردازیم به ادامه بحث.

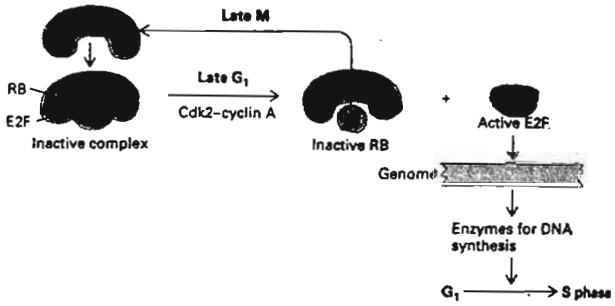
کلید واژه: ملانومای بدخیم، چرخهٔ سلولی، ژنتیک ملکولی، تشخیص ژنتیکی، ژن درمانی

هدف های CDK :

پاسخ این پرسش که فسفریله شدن پروتئین های هدف چگونه می تواند موجب تنظیم چرخه سلولی شود، آن است که فسفریلاسیون، زنجیره ای از رویدادها را آغاز می کند که منجر به فعال شدن عوامل نسخه برداری می گردد. این عوامل، نسخه برداری از ژنهای خاصی را فعال می کنند که فرآورده های آنها برای مرحله بعدی چرخهٔ سلولی لازم است. مسیر RB - E_2F در سلولهای پستانداران یک مثال مشخص از این شیوه عملکرد است. RB (Retinoblastoma) ، پروتئین هدف هترودایمر CDK_2-CyclinA می باشد و E_2 F (Elongation Factor 2) عامل نسخه برداری است که RB آن را تنظیم می کند (شکل شماره ۷).

از اواخر مرحله M تا اواسط مرحله G_1 ، پروتئین های RB و E_2F با ترکیب با یکدیگر، مجموعه ای پروتئینی که غیرفعال بوده و توانایی شروع نسخه برداری را ندارد، شکل می دهند. در اواخر G_1 ، مجموعه CDk_2-cycinA ساخته

۱- استاد و مدیر گروه ژنتیک پزشکی، دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران
۲- کارشناس ارشد ژنتیک؛ دانشگاه تربیت مدرس



شکل شماره ۷- سهم پروتئین های RB و عامل رونویسی E_2F در تنظیم مرحله G_1 به مرحله S در سلولهای پستانداران.

می‌شود و پروتئین RB را فسفریله می‌کند. این فسفریلاسیون، پروتئین RB را به نحوی تغییر شکل می‌دهد که دیگر قادر به اتصال به پروتئین E_2F نیست. در نتیجه، پروتئین E_2F آزاد شده و می‌تواند نسخه برداری از ژن های معینی را فعال کند. این ژنها، آنزیم های حیاتی برای سنتز DNA را رمزدهی می‌کنند. در نتیجه، سلول اجازهٔ ورود به مرحلهٔ S و شروع همانندسازی را به دست می‌آورد(۳۶). به شیوهٔ مشابه، سیکلین ها و CDK هایی که سوبستراهای مرحلهٔ M را فسفریله می‌کنند، در شروع میتوزوسیتوکینز دخالت دارند (۳۸) (شکل شماره۸).

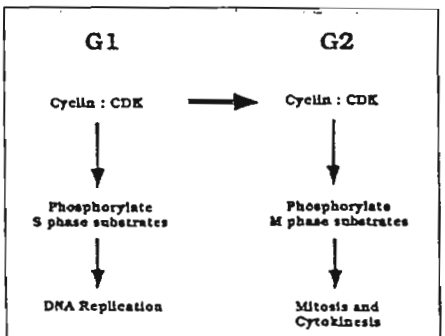
RB و E_2F در واقع نمایندهٔ دو خانوادهٔ پروتئینی هستند. دانشمندان عقیده دارند که هترودایمرهای مختلف CDK-Cyclin به طور انتخابی، پروتئین معینی از خانوادهٔ RB را فسفریله می‌کنند. این امر به نوبهٔ خود عضو خاصی از خانوادهٔ E_2F که به آن متصل است، آزاد می‌نماید. سپس این E_2F های متفاوت قادر هستند، نسخه برداری از ژن های مختلفی را فعال نمایند که مراحل متفاوت چرخهٔ سلولی را به وجود می‌آورند. به این ترتیب، چرخه ای از فعال شدن هترودایمرهای متفاوت CDK- Cyclin می‌تواند چرخه سلولی را ایجاد کند (شکل شماره۶، رجوع به قسمت اول).

کنترل منفی (مهار) فعالیت CDK :

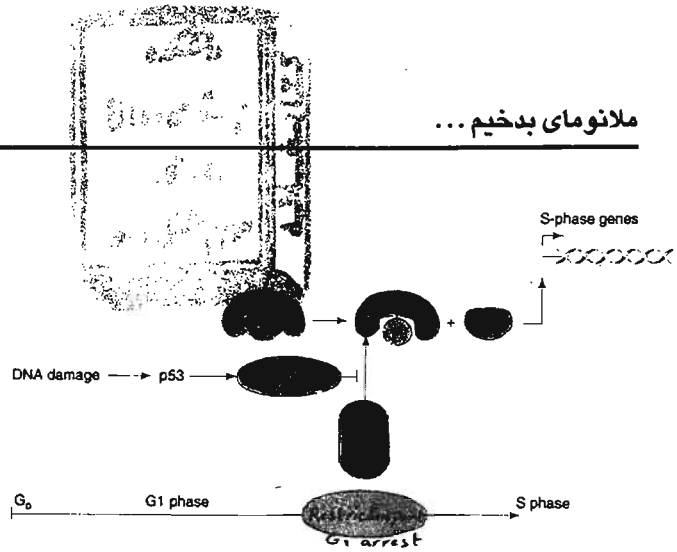
چرخه سلولی را می‌توان مانند یک اتومبیل در نظر گرفت که سیکلین ها نقش پدال گاز آن را داشته و موتور (CDK) را به حرکت درمی‌آورند. این دستگاه برای خوب کار کردن، طبیعتاً نیاز به یک ترمز دارد، تا در شرایط نامناسب، چرخهٔ سلولی را از فعالیت باز دارد. این ترمز را پروتئین های اتصالی CDK.- Cyclin فراهم می‌کنند که می‌توانند از فعالیت پروتئین- کینازی این هترو دایمر ممانعت به عمل آورند، پروتئین های اتصالی، مهار کننده های پروتئین - کینازهای وابسته به سیکلین نامیده می‌شوند که چرخهٔ سلولی را در نقطه یا ایستگاه بازرسی، نگه می‌دارند. این توقف تا زمانی است که مکانیسم های کنترل کننده چراغ سبزی نشان دهند که مفهوم آن، این است که سلول برای ورود به مرحله بعدی چرخه کاملاً آماده است.

یک نمونه روشن برای چگونگی عملکرد این سیستم، زمانی است که به DNA آسیب می‌رسد (شکل شماره ۹). زمانی که DNA در خلال مرحلهٔ G_1 آسیب می‌بیند (به طور مثال توسط پرتوایکس)، از فعالیت CDK در هترودایمر CDK-Cyclin جلوگیری می‌شود. به نظر می‌رسد که این مهار با واسطهٔ پروتئین P_{53} انجام می‌یابد. بخشی از پروتئین P_{53} می‌تواند انواع ویژه ای از آسیب های DNA را شناسایی کند. در حضور چنین آسیب هایی، P_{53}، پروتئین دیگری - به نام P_{21} را که از دسته مهارکننده های پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین (CKi) است - فعال می‌نماید. P_{21}، در غلظت های بالا قادر است با اتصال به هترودایمر CDK - Cyclin از فعالیت آنزیمی پروتئین - کینازی آن جلوگیری کند. با مهار فعالیت پروتئین - کینازی CDK - تا زمانی که آسیب DNA تعمیر گشته و سطح P_{53} پایین بیاید - چرخهٔ سلول بلوکه (سد) شده و پیشرفت آن متوقف می‌شود. آنگاه مهار فعالیت پروتئین کینازی _ CDK Cyclin از بین می‌رود و چرخهٔ سلولی ادامه می‌یابد (۳۶). این نوع کنترل منفی، در نقاط بازرسی سلول در مراحل G_1 و G_2 صورت می‌گیرد و می‌تواند به عنوان اهرم ترمزی عمل کند که صحت همانند سازی DNA و سایر اجزاء کلیدی سلول را تضمین نماید(۳۰). در مجموع، بیان و میانکنش این سه نوع ملکول: سیکلین ها، CDK ها و مهار کننده های آنها، تا حد زیادی در زمانبندی رخدادهای چرخهٔ سلولی و تصمیم گیری سلول برای همانندسازی و تقسیم دخالت دارند (۲۶ و ۳۲) (شکل شماره۱۰).

لازم به ذکر است که به غیر از P_{21}، پروتئین های دیگری نیز در خانوادهٔ مهارکننده های CDK (CKi) شناسایی شده ند که عبارتند از: P_{15}, P_{16}, P_{18}, P_{27}, P_{57}. در این میان، P_{16} و خویشاوند نزدیک آن P_{15} - که نقص یا فقدان آنها در بیماران ملانومایی مشاهده شده است - می‌تواند به طور اختصاصی فعالیت پروتئین کینازهای وابسته به Cyclin D یعنی CDK_4, CDK_6 و تا حد کمتری CDK_2 را مهار کنند (۲۶, ۲۹, ۳۹). پروتئین P_{16}، چنانکه پیش از این اشاره شد، به وسیله ژن



شکل شماره ۸- کنترل گذار چرخه سلولی توسط کینازهای وابسته به سیکلین.



شکل شماره ۹- مثالی برای شیوه کنترل بازدارندگی پیشرفت چرخه سلولی (شرح در متن).

$CDKN_2$ یا MTS_1 رمزدهی می شود و دارای ردیف های تکراری شبیه به پروتئین آنکایرین (Ankyrin) (۴۰) می باشد که ۸۸٪ از ساختار این پروتئین کوچک را تشکیل می دهد (۲۹, ۴۱). ردیف های تکراری آنکایرین از قطعاتی به طول تقریبی ۳۳ اسید آمینه تشکیل شده اند. اکثر این اسیدهای آمینه آب گریز بوده و به نظر می رسد که در میانکنش مستقیم پروتئین - پروتئین دخالت داشته باشند (۲۹, ۴۱). پروتئین P_{16} به وسیله همین ردیف ها به CDK_4 و CDK_6 متصل می شود و از فعالیت کینازی آنها و در نتیجه از فسفریله شدن پروتئین Rb و آزاد شدن عامل نسخه برداری E_2F جلوگیری می کند. در نتیجه ژنهایی که در گذر از مرحلهٔ G_1 به S نقش دارند، نسخه برداری نمی شوند و چرخهٔ سلولی متوقف می گردد (۲۶, ۳۹) (شکل شماره ۱۱).

آزمایش های بیوشیمیایی نشان داده اند که پروتئین Rb آزاد نیز یک عامل تنظیمی برای ژن $CDKN_2$ محسوب می شود: سلول های توموری که دارای تعداد زیادی Rb آزاد در سیتوپلاسم خود باشند، به ندرت P_{16} را بیان می کنند و برعکس سلول های توموری که P_{16} را بیان می کنند، پروتئین Rb چندانی ندارند. این ارتباط معکوس بین بیان P_{16} و پروتئین Rb ناشی از مشارکت همزمان آنها در نقطهٔ بازرسی G_1 است (۳۰).

با وجود شباهت بیوشیمیایی بین P_{16} و P_{15} و نحوه عملکرد آنها تفاوتهای بارزی در تنظیم فعالیت این دو پروتئین وجود دارد، از جمله و به ویژه:

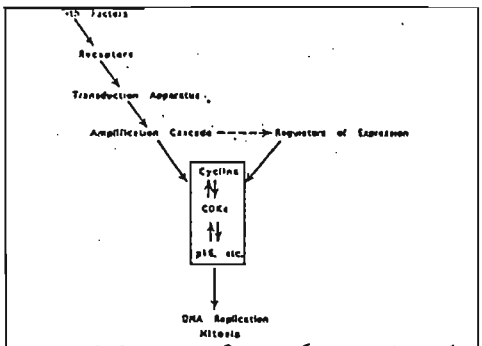
۱- بیان P_{15}، به طور عمده توسط آنتی میتوژنی به نام TGF (Transforming Growth factor - β) β -تنظیم می شود(۳۳). افزایش این عامل موجب بالا رفتن P_{15} در سلول می شود. در نتیجه، میزان آن از مقدار مجموعه CDK-Cyclin بیشتر می گردد. بر عکس علائم میتوژن مقدار این مهار کننده را به پایین تر از سطح مجموعهٔ CDK-Cyclin تقلیل می دهد که به نوبهٔ خود امکان فعالیت CDK و پیشرفت چرخهٔ سلولی را فراهم می آورد (۳۸).

۲- برخلاف P_{16}، بیان P_{15} تا حد زیادی مستقل از Rb است.

۳- P_{15} به ندرت در تومورزایی دخالت دارد. به علاوه، این پروتئین در راهی متفاوت از مسیر P_{16}، برای سرکوب تومورها شرکت می جوید، اگرچه اجزاء این مسیر هنوز به درستی شناخته نشده اند، اما ممکن است برخی از این اجزاء به فعالیت بیشتری نسبت به P_{15} در داخل بافت های سوماتیکی جهش یابند. سطح ثابت بیان P_{15} در خلال چرخهٔ سولی و القاء آن به وسیله TGF-β نشان دهندهٔ نقش P_{15} در توقف G_1 (G_1 arrest) - و نه لزوماً در تنظیم زمانبندی رویدادهای چرخه سلولی - است، بنابر این بررسی بیشتر اعمال P_{15} به عنوان یک ملکول تنظیم کنندهٔ رشد در in vivo و تجزیه و تحلیل نحوهٔ عملکرد آن از اهمیت خاصی برخوردار است.

پروتئین های مهارکننده ای که از آنها نام برده شد، صحت همانندسازی DNA و سلامت چرخه سلولی را تضمین می کند. بنابراین جهش در این پروتئین ها، یا پروتئین های دیگری که بیان یا فعالیت آنها را تنظیم می نمایند، می توانند موجب ایجاد دست کم بخشی از خصوصیاتی شود که با دگرگونی های سرطانی مرتبط هستند (۳۸). بسیاری از مبتلایان به ملانوما و خانواده های مستعد آنها دارای جهش در قسمتی از ردیف اسید آمینه ای P_{16} می باشند (۲۶, ۲۹, ۴۲).

آزمایش های in vitro, in vivo، همچنین نشان داده اند که افراد مبتلا یا مستعد ابتلا به سرطان ملانوما که دچار حذف یا جهش در پروتئین P_{16} خود هستند، عملاً توانایی مهار فعالیت CDK_4 و CDK_6 را از دست داده اند. در این افراد، P_{16} آسیب دیده، قادر نیست برای اتصال به این کینازها با Cyclin D رقابت کند (شکل ۱۱). در نتیجه، فقدان عملکرد P_{16} سبب رشد و تقسیم بی رویه سلولی و سرطانزایی می گردد (۴۱). در شکل ۱۲، عواملی که موجب به هم خوردن تنظیم چرخهٔ سلولی در ایستگاه بازرسی G_1 می شود، ارائه شده است. چنانکه به روشنی پیداست، بیان بیش از اندازه یا تقویت و ازدیاد ژنی (Gene Amplification) سیکلین های G_1، جهش در ژن های Rb, P_{16}, P_{53} و غیرفعال شدن Rb, P_{53}، به واسطهٔ انکوپروتئین های ویروس های DNA داری چون ویروس پا پیلومای انسانی، موجب برهم خوردن

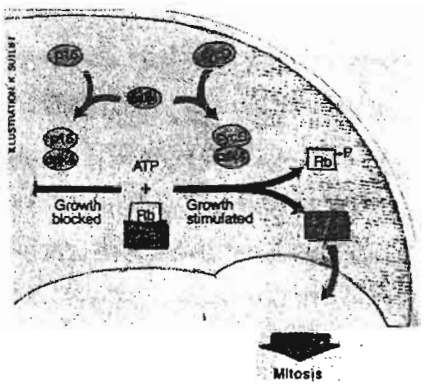


شکل شماره ۱۰- دیاگرام نمایانگر رده های ملکولی مختلفی که در تصمیمات رشد سلولی مشارکت دارند.

مهار G_1 در ایستگاه بازرسی آن و در نتیجه سرطانزایی و پیشروی تومورها می گردد. چنانکه در شکل ۱۲ نیز مشاهده می شود، نقص یا جهش در هر یک از اجزاء مسیرهای کنترل چرخهٔ سلولی می تواند با شکستن سد تنظیم سبب رشد بی رویه سلول ها و گسترش بافت های توموری در بدن گردد.

مروری گذرا بر مکانیسم ژنتیکی پیشرفت ملانومای بدخیم:

شماری از پژوهشگران عقیده دارند که مکانیسم ژنتیکی پیدایش ملانوما، در عمل شبیه به سرطان کولون است. سرطان کولون، در نتیجهٔ انباشته شدن یا تجمع ردیفی از تغییرات ژنتیکی ایجاد می شود و مکانیسم سرطانزایی آن از الگوی ویژه ای پیروی می کند. در الگویی که توسط Dracopoli برای سرطانزایی ملانومای بدخیم ارائه شد، نخستین رویداد ژنتیکی، غیرفعال شدن ژن MTS_1 و احتمالاً MTS_2 روی کروموزوم ۹ است. این رخداد، احتمالاً سلول های ملانوسیتی پوست را به خالهای پیش-سرطانی یا حتی خال های غیرطبیعی تبدیل می کند. از آن پس، جهش روی کروموزوم های ۱ و ۶ انگیزه پیشروی تومورها و تولید متاستاز را فراهم می آورد و سرانجام تغییرات کروموزوم های دیگری مانند ۷ و ۱۱ مراحل پایانی سرطانزایی را تکمیل می کنند.



شکل شماره ۱۱- (شرح در متن)

اگرچه Dracopoli، خود نیز خاطر نشان می سازد که این الگو هنوز در حد فرضیه است، به دلیل ماهیت ناهمگن یا هتروژن ملانوما دور از انتظار نیست که این رویداد ژنتیکی در همه مبتلایان با چنین نظم جدی رخ ندهد. به طور مثال ممکن است بیمارانی وجود داشته باشند که در یک زمان دچار جهش روی کروموزوم ۱ شده باشند، اما هیچ نوع تغییری در کروموزوم ۹ آنها رخ ندهد. اما در مجموع، پیشروی ملانوما در اکثر بیماران از الگوی ژنتیکی پیش گفته پیروی می کند (۲۰). علاوه بر این، بررسی های کاریوتایپی نشان داده است که در افراد دارای استعداد ارثی ابتلا به ملانوما یا کسانی که به سندرم خال های غیرطبیعی مبتلا هستند، افزایش جزئی در سطح ناهنجاریهای خود به خود کروموزومی چه عددی و چه ساختاری در لنفوسیت های خون محیطی و فیبروبلاستهای پوست مشاهده می شود که با پیدایش فنوتیپ سرطانی و پیشروی سرطان میزان این ناهنجاریها افزایش می یابد (۱۸، ۴۴).

موفقیت ها و چشم اندازها:

با وجود این که ملانوما به شرط تشخیص سریع و درمان به موقع، سرطان چندان کشنده ای به حساب نمی آید، همه ساله موارد متعددی مرگ در اثر آن گزارش می گردد. این موضوع در درجهٔ اول ناشی از کمبود اطلاعات عمومی دربارهٔ این سرطان و خطرات متاستاز دار شدن آن و در درجه دوم ناشی از ضعف روش های تشخیصی جاری است. مورد اول با آموزش اقدامات پیش گیری کننده به خانواده ها و افراد در معرض خطر، و همچنین معاینهٔ همه نقاط سر و بدن توسط فرد، دست کم ماهی یک بار، تا حد زیادی قابل رفع است. ولی حل اساسی مشکل دوم، تنها با انواع روش های تشخیصی ژنتیکی مناسب میسر است، روش هایی که به کمک آنها بتوان افراد مستعد مبتلا به ملانوما را به دقت شناسایی کرد و اقدامات پیشگیری کننده را به عمل آورد. به علاوه، با فراهم آوردن امکان تشخیص صحیح بیماران ملانومایی در ابتدایی ترین مراحل سرطان بتوان مراقبتهای پزشکی و درمانی لازم را به اجرا درآورد. امیدواری فزاینده ای وجود دارد که شناسایی همه جانبهٔ ناهنجاریهای ژنتیکی ملانوما، سرانجام به ابداع روشهای جدیدی برای درمان این سرطان منجر گردد (۲۰، ۴۵).

تشخیص ژنتیکی:

شناسایی جهش در خانواده هایی که ملانوما در آنها به صورت یک صفت غالب آتوزومی بروز می کند، می تواند زمینه ساز ابداع آزمون های DNA، جهت تشخیص سرطان، پیش از ظهور علائم بیماری گردد. بررسی جهش های $CDKN_2$، ابزار تحلیل مناسبی برای سرطان شناسان می باشد (۲۶). این پژوهشگران می توانند این جهش ها را با روش هایی مانند MASA (Mutant Allele Specific Amplification) در نمونه های بالینی بیوپسی شده از افراد مشکوک به ملانوما شناسایی کنند. این روش که بر تکثیر ویژهٔ آلل های جهش یافته به وسیله PCR (Polymerase Chain Reaction) و سپس جستجوی آنها با کمک کاوشگر مناسب، استوار است، از حساسیت خوبی برخوردار می باشد. با وجود این، چنانکه در بخش های پیشین اشاره شد، جهش در $CDKN_2$، رخدادی عادی نبوده و این ژن بازدارندهٔ تومور، اغلب در اثر حذف (چه هتروزیگوتی و چه هموزیگوتی) غیرفعال می شود. به علاوه، در صورت رخداد جهش، این رخداد اکثراً در مراحل پیشرفتهٔ ملانوماست و در نتیجه از ارزش تشخیصی زیادی برخوردار نیست، بلکه بیشتر نشانهٔ پیش آگهی ضعیف

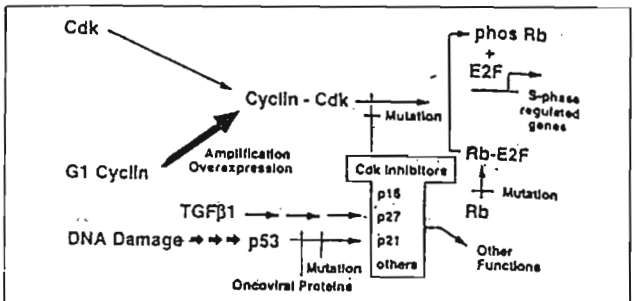
بیمار سرطانی و متاستاز اندازی به اندامهای داخلی بدن می باشد. بنابر این جهش $CDKN_2$ بیشتر ارزش پیش آگهی دارد.

اما در خانواده هایی که جهش جنسی برای ملانوما شناخته نشده است، می توان حذفهای آللی $CDKN_2$ را به روش MSI (Microsatelite Instability) و RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism) شناسایی کرد (۲۷). در روش MSI با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ای به بررسی LOH در آلل های ریز ماهواره ها می پردازند. بدین منظور، ابتدا ردیف های بازی ریز ماهواره هارا به کمک PCR تکثیر می کنند، آنگاه با استفاده از الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید جداسازی می کنند.

تغییرات ریزماهواره ها در DNA ی سلول های سرطانی، در مقایسه با DNA ی سلولهای طبیعی به صورت ازدیاد یا کاهش ژنی به چشم می خورد. کاهش یا LOH نشان دهندهٔ غیرفعال شدن یک ژن بازدارندهٔ تومور است. با این روش حذف های ژن MTS_1 , MTS_2 روی کروموزوم $9P_{21}$ هم در انواع ارثی و هم پراکنده (Sporadic) ملانوما آشکار شده است. MSI ، به طور معمول در ملانوم هایی به عمق ۰/۷ تا ۵ میلی متر دیده می شود، این امر حاکی از بروز این اختلال در مراحل اولیهٔ تومورزایی می باشد. بنابر این، با این روش می توان ملانوما را در ابتدایی ترین مراحل آن تشخیص داد. این خود یک مزیت این روش تشخیصی نسبت به روش های دیگر است(۲۵).

روش دوم یا RFLP روش دقیق تری است(۴۶). اما به دلیل نیاز به آنزیم های برش دهندهٔ خاص و محدودگر و کاوشگرهای ژنتیکی متعدد، روشی پرهزینه به حساب می آید و معمولاً برای تشخیص سرطانهایی مانند ملانوما (که با روش های کم خرج تر هم قابل تشخیص هستند) مقرون به صرفه نیست. این شیوه، به جهت دقت زیاد، بیشتر برای کشف سرطانهای اندامهای داخلی مورد استفاده قرار می گیرد.

پژوهشگران به طور جدی معتقدند که روش های دقیق تشخیصی ژنتیکی، در آینده ای نه چندان دور، جایگزین روش های ابتدایی و مرسوم کنونی (از جمله بررسی های بافت شناسی) خواهد شد. این روش امکان تشخیص سرطان را در ابتدایی ترین مراحل آن فراهم می آورند، که به نوبهٔ خود سبب کارایی بیشتر شیوه های درمانی می گردد (۴۷, ۴۸, ۴۹, ۵۰, ۵۱). علاوه بر این، بررسی های ژنتیکی سرطانهایی مانند ملانوما، طرح ریزی روش های مؤثرتری به ویژه ژن درمانی را برای درمان اساسی این بیماریها امکان پذیر می سازد.



شکل شماره ۱۲- نقص یا جهش در هریک از اجزاء مسیرهای کنترل چرخه سلولی، می تواند با شکستن سد تنظیم موجبات رشد بی رویه سلولها و گسترش بافتهای توموری در بدن را فراهم آورد.

ژن درمانی:

امروزه متداول ترین روش درمانی ملانومای بدخیم، عمل جراحی است (۵۳). اگرچه در مواردی که ملانوما عمیقاً به داخل پوست نفوذ کرده و به گروه های لنفاوی منطقه رسیده باشد، ۵۰ تا ۸۰٪ احتمال عود سرطان پس از عمل جراحی وجود دارد. به علاوه زمانی که متاستاز ایجاد شده باشد، ملانوما غیرقابل درمان است. این شرایط ضرورت مطالعهٔ روش های جدید - مانند ژن درمانی - را برای درمان ضایعات بزرگتر، یا برای پیشگیری از عود سرطان در پی عمل جراحی، فراهم آورده است.

برای استفاده از روشهای ژنتیک ملکولی در درمان سرطان، شناسایی ژنهای درگیر در هر سرطان و به وجود آوردن روشهای مناسب برای رفع آسیب های ژنتیکی، نقش تعیین کننده ای دارد (۱۵, ۱۶, ۱۷, ۴۷, ۴۸).

چنانکه اشاره شد، تعدادی از ژنها، که در سرطان زایی شرکت می کنند، وظیفهٔ تنظیم رشد سلول را بر عهده دارند (۵۴). یکی از مهمترین این ژنها، ژن MTS_1 یا $CDKN_2$ است که در ایجاد سرطان ملانوما دخالت دارد. برای این ژن - مانند سایر ژنهای بازدارندهٔ تومور - دو راه (ژن درمانی و تقلید عملی) به سوی ابداع روش های درمانی وجود دارد. چنانچه جهش یا حذف $CDKN_2$ در رشد سلولهای توموری نقش تعیین کننده داشته باشد، طبیعتاً جایگزین کردن یک ژن سالم $CDKN_2$ یا تقلید عملی از پروتئین آن (P_{16}) می تواند راه تازه ای به سوی درمان این سرطان بگشاید، این ژن در بسیاری از دگرگونیهای بدخیم دخالت دارد، بنابر این ترکیبات دارویی آن در درصد قابل توجهی از سرطان های انسانی مؤثر واقع خواهد شد (۲۶). به علاوه، کوچک بودن این ژن سبب می شود که برای مقاصد ژن درمانی، کار با آن به مراتب ساده تر از ژن هایی مانند P_{53} (با اندازه ای ۴ برابر ژن P_{16}) باشد(۲۱). اما از آنجا که مکانیسم عمل P_{16} در سلول های سرطانی با سلول های طبیعی یکسان است، بنابر این، هدف گرفتن انبوه سلول های توموری به طور انتخابی و اجتناب از آثار سوء جانبی با روش های رایج انتقال ژن، دشوار یا غیرممکن به نظر می رسد

(۲۶). از این رو بهتر است به جستجوی روش هایی اقدام شود که بدون نیاز به تکمیل ژن های ناقص یا حذفی در تمام سلوهای توموری، پاسخ های ضدتوموری را تسریع کنند.

یکی از این روش ها، ارائه پادگن های سطح سلولی به سلول های سرطانی است. وارد کردن پادگن های (آنتی ژن های) سازگاری نسجی می تواند، هدف مؤثری را برای ایجاد پاسخ ایمنی موضعی فراهم آورد. یکی از جمله مکانیسم های فرار پاسخ های ایمنی در سلول های سرطانی، عرضهٔ ناکافی پادگن های سازگاری سنجی نوع I روی سطح این سلول ها می باشد. در واقع فقدان یا کمبود بیان مولکول های ردهٔ یک MHC (MHC class I) روی سطح سلول های سرطانی موجب می شود که لنفوسیت های T سیتوتوکسیک که با گیرنده های CD_8 خود این لیگاندها را جستجو می کنند، در یافتن این سلول ها دچار شکست شوند و در نتیجه سلول های سرطانی از سیطرهٔ نظارت سیستم ایمنی درآیند (۵۲). این عوامل شیمیایی در مراحل پیشرفتهٔ سرطان به شدت کاهش می یابند، به طوری که مقدار ردهٔ یک MHC در کانون های متاستازی به مراتب کمتر از آسیب های توموری اولیه می باشد. دلیل این امر تغییر در اتصال عوامل نسخه برداری به نواحی افزایش دهنده (Enhancer) مربوط به ژن MHC، و یا بیان غیرطبیعی Microglobulin - β2 یا پروتئین های دخیل در پردازش و انتقال قطعات پپتیدی می باشد. بنابر این، ابداع روش مطمئن و عملی که بتواند مقادیر کافی از علائم فعال کننده سیستم ایمنی (MHC ها) را بدون سمیت زیاد به سلول های توموری متصل کند، گام بزرگی در جهت ژن درمانی ملانوما و سرطان های شبیه به آن به حساب می آید. بر این اساس اولین آزمایش ژن درمانی ملانومای انسانی به روش انتقال مستقیم ژنهای MHC در فوریهٔ ۱۹۹۲، در انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) با هدفهای کلی زیر تصویب و آغاز شد:

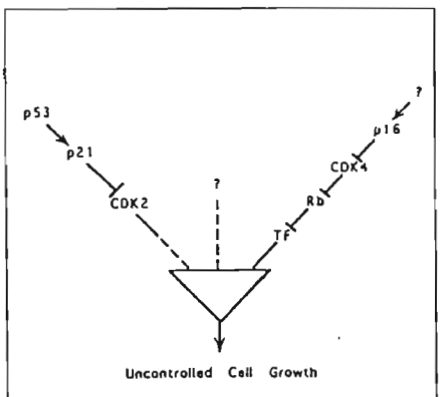
۱- مستقر کردن مقدار مؤثر و بی خطری از ژن نو ترکیب $HLA - B_7$ در سلول های توموری به روش انتقال DNA توسط ناقلین لیپوزومی.

۲- اثبات بیان ژن ردهٔ یک MHC در سلول های توموری به دنبال انتقال مستقیم ژن در شرایط in vivo.

۳- بررسی پاسخ ایمنی علیه $HIA - B_7$ و پادگن های توموری.

برای این منظور ۵ بیمار مبتلا به تومورهای زیرجلدی ملانوما و ملانومای متاستاز دار که به هیچ یک از درمان های معمول (از جمله جراحی، پرتودرمانی، شیمی درمانی، واکسن های توموری باواسطهٔ سیتوکین هایی مانند IL-2 و IFN-γ) پاسخ نداده بودند، انتخاب شدند. سپس، ژن ردهٔ یک MHC انسانی به نام $HLA-B_7$ به همراه ناقل لیپوزومی کاتیونی کلسترول - DC به داخل تومورهای آنها، به روش in vivo تزریق گردید. در یکی از بیماران که دارای متاستازهای ریوی بود، همزمان، درمان ریهٔ راست با انتقال ژن به وسیلهٔ کاتتر به شریان این ناحیه انجام گرفت.

هر ۵ بیماری که در این مرحلهٔ پروتکل شرکت داشتند، بدون هیچ نوع ناهنجاری سیستمیک به خوبی روند درمان را تحمل نمودند. در بیمار دارای متاستازهای ریوی، پس از انتقال ژن به کمک کاتتر، بهبود کامل ندول های پوستی و آسیب های متاستازی، بدون اینکه سمیت یا عوارضی، دنبال داشته باشد، مشاهده گردید.



شکل شماره ۱۳- دیاگرام سه مسیر موازی بازدارندگی توموری که به یک جلوگیر تنظیمی مرکزی تبدیل میشوند.

پس از بررسی لنفوسیت های سیتوتوکسیک ویژهٔ تومور در خون این بیماران معلوم شد که بیان ژن بیگانهٔ MHC پس از انتقال مستقیم ژن می تواند موجب افزایش واکنش سیستم ایمنی گردد. در هیچیک از بیماران، DNA ی پلاسمیدی در خون مشاهده نشد و هیچ افزایشی در پادتن های ضد DNA یا شاهدی برای پدیده های خود ایمن یافت نگردید. تجزیه و تحلیل مکانیسم های این پاسخ های ضد توموری همچنان ادامه دارد (۵۵).

در پی انجام موفقیت آمیز این پروتکل که نشان می داد، بیان MHC پس از تزریق مستقیم ژن، بدون هیچ خطری می تواند واکنش سیستم ایمنی در مقابل تومور را تقویت کند، پژوهشگران با استفاده از ناقلین لیپوزومی کارآمدتر، به بررسی انجام این شیوه درمانی در سطح وسیعتر پرداختند. بر این اساس، در سال ۱۹۹۴ پروتکل بالینی بعدی به وسیله انجمن ملی بهداشت آمریکا تصویب شد که هم اکنون در دست اجراست. این پروتکل، پیشرفت در چهار مورد تکنولوژی انتقال ژن را امکان پذیر می سازد:

۱- بهبود کارایی انتقال ژن با استفاده از ناقل لیپوزومی به نام DMRIE/DOPE که توانایی انتقال آن در in vitro ده برابر ناقل قبلی (DC- Cholesterol) می باشد (۵۵).

۲- بهبود بیان $HLA-B_7$ با افزودن یک ردیف شروع ترجمه و حذف یک اینترون، و با وارد کردن ژن Microglobulin β2- که ردهٔ یک MHC به طور طبیعی با آن پیوند برقرار کرده و ملکول کامل سازگاری سنجی را

می سازد. این دو فرآوردهٔ ژنی به طور طبیعی با هم به سطح سلول حمل می شوند. بنابر این، سلول های ملانومایی که β2 میکروگلوبولین را بیان نمی کنند، توانایی بیان پایدار پادگن های ردهٔ یک را نیز روی سطح سلول ندارند (۵۵).

۳- انتقال ژنهای نوترکیب به وسیلهٔ کاتتر، که امکان انتقال درصد بالاتری از سلول ها را در داخل تومور فراهم آورده و در نتیجه دامنه بیان ژن را وسیع تر می سازد.

۴- درمان سایر سرطان های انسانی مانند کولون، کلیه، پستان.

شایان ذکر است که بهترین و کارآمدترین شیوهٔ ژن درمانی روشی است که علاوه بر کارآیی و اثربخشی ، دارای ایمنی و بازده بالایی نیز باشد. پروتکل نخست، ایمنی و عملی بودن یک روش ژن درمانی را برای ملانوما ثابت کرد. بازده بالاتر این روش با استفاده از ناقلین لیپوزومی کارآمدتر قابل تضمین است. چنین ناقلینی در غلظت های بالا به صورت توده در نمی آیند. از این رو غلظت های بالاتری از DNA و لیپوزوم را می توان بدون هیچ سمیتی به بدن وارد کرد . برای درمان موفقیت آمیز ملانومای انسانی سطح انتقال و بیان ژن MHC باید ۱ تا ۵٪ باشد. در پروتکل قبلی که با استفاده از ناقل DC- کلسترول انجام گرفت، درصدی از سلول ها که پس از انتقال ژن، دارای DNA ی نو ترکیب شده بودند، تنها ۱٪ بود. اما به کمک ناقلین جدید که امکان استفاده از غلظت های بالاتر DNA را فراهم می آورد، می توان به سطح انتقال بالاتری نیز دست یافت (۵۴).

استفاده از ناقلین غیر ویروسی، برای ژن درمانی انسان مزایای زیادی دارد. اگرچه ویروس های تغییر یافته، به عنوان ناقلین ارزشمند برای انتقال ژن در وضعیت ex vivo به کار گرفته شده اند، اما توانایی آنها در میانکنش یا نو ترکیب شدن با ویروس های داخلی، نگرانی هایی دربارهٔ ایمنی استفاده از آنها برای انتقال ژن در in vivo فراهم آورده است. از این رو ناقلین غیرویروسی جایگزین های ایمن تری برای این منظور به حساب می آیند و شامل عواملی چون DNA ی برهنه، DNA- لیپوزوم و مجموعه هایی از DNA - ذرات طلا می باشند که می توانند واسطهٔ انتقال ژنها به بافتها قرار گیرند و جذب قطعات DNA توسط سلول را در in vivo تسهیل کنند (۵۵ و ۵۶).

مهمترین مزیت روش انتقال مستقیم ژن این است که می توان DNA را به طور مستقیم به داخل تومور وارد نمود. برخلاف سایر روش های انتقال ژن در سرطان، این شیوه به خارج کردن سلول ها از بدن بیمار و تکثیر آنها در محیط آزمایشگاهی نیازی ندارد. به علاوه، تأخیر بین زمان تشخیص و شروع درمان را کاهش می دهد. به طور خلاصه اصلاح روش استفاده از ناقلین پلاسمیدی و لیپوزومی می تواند به انتقال و بیان ژن های مورد نظر بهبود بخشد. همچنین، اضافه نمودن ژن β2 میکروگلوبولین، امکان سنتز هردو زنجیرهٔ پروتئین ردهٔ یک MHC را در سلول های توموری که توانایی تولید فرآورده این ژن را ندارد، فراهم می آورد (۵۵ , ۵۶).

یکی دیگر از روش هایی که برای درمان ملانوما و پیشگیری در بازگشت آن پیشنهاد شده است، استفاده از واکسن های سیتوکین (Cytokine mediated tumor Vaccines) می باشد. این شیوه، بر تولید موضعی به جای تزریق موضعی - سیتوکین ها در محلی که نیازمند به پاسخ ایمنی است استوار است (۵۷). در این روش ابتدا سلول های توموری یا فیبروبلاست های خودی را به وسیلهٔ عمل جراحی از بدن بیمار خارج می کنند، سپس آنها را به صورت کشت های سلولی رشد می دهند و ژنهای عوامل تحریک کنندهٔ سیستم ایمنی یا سیتوکین ها را به آنها وارد می کنند. پس از آن به منظور ایجاد پاسخ ایمنی موضعی قابل توجه، سلول ها دوباره به بدن بیمار تزریق می شود (روش ex vivo). پاسخ ایمنی، باید علاوه بر تخریب بافتهای ملانومایی، بیمار را در برابر عود دوبارهٔ این سرطان واکسینه کند. اشاره می شود که استفاده از فیبروبلاست ها به مراتب راحت تر از کشت سلول های توموری شمار زیادی از بیماران است.

Rosenberg , نخستین پژوهشگری بود که برای ترشح سیتوکین و ایمن سازی بیماران از سلول های توموری تغییر یافته استفاده کرد. بدین ترتیب که با کشت سلول های ملانومایی هر بیمار، ژن های IL-2 و یا TNF-α را به آنها انتقال داد و سپس - با روش ex vivo - از این سلول های تغییر یافته برای ایمن سازی شخص دهنده استفاده کرد (۵۷).

در آوریل ۱۹۹۶ مرحله نخست درمان بالینی ملانومای متاستاز دار، با تزریق موضعی نوعی ویروس نو ترکیب به داخل ضایعات توموری آغاز شد. ویروس واکسینیای نوترکیب، حاوی ژن عامل محرک گرانولوسیت و ماکروفاژ انسانی (GMCSF) بود. این سیتوکین پردازش پادگن را برای عرضه به CTL ها تشدید می نماید. این آزمایش، اولین آزمایش درمان ملانومای انسانی به روش in vivo می باشد که البته نتایج آن تاکنون منتشر نشده است (۵۷).

تاکنون این روش ژن درمانی با استفاده از ناقلین رتروویروسی که ژنهای TNF -α , (TUMER NEROSIS FACTOR-α) IL-4,(INTERLUKIN-2)IL-2,GRANULOCYTE MONOCYTE - COLONGY STIMULATING FACTOR (GM 0 CSF), (Interferon -γ) IFN -γ را حمل می کنند. در درمان تومورهای

ملانومایی در در in vitro موفق بوده است(۵۸).در in vivo نیز فرآورده های ژن هایی مانند IFN -γ می توانند موجب جلوگیری از تکثیر سلولی و القاء تشکیل ملانین در بیماران ملانومایی گردند. علاوه بر اثرات مستقیم مورد اشاره در بالا، اینتروفرون می تواند با تنظیم فعالیت لنفوسیت های T ، یا تنظیم بیان پادگن های سطح سلول توموری، موجب شناسایی بهتر سلول سرطانی و پاسخ مؤثرتر سیستم ایمنی علیه آن گردد.

در دو روشی که در بالا تشریح شد، واکسن های نو ترکیب حاوی عوامل خودی (Autologous Vaccines) ، برای درمان ملانوما مورد استفاده قرار می گرفتند. اما واکسن های دیگری نیز برای این منظور ساخته شده اند که حاوی عوامل بیگانه یا دگرزاد (Allogenic Vaccines) می باشند. این عوامل، پادگن های سطح سلول های توموری ملانوما هستند که پادگن های ملانومایی یا (Melanoma Antigene) MAGE نامیده می شوند. ژنهای بسیاری از این پادگن ها (از جمله gp100, gp75, GAGE, BAGE, Melan A, MART - 1) شناخته شده اند که با وارد کردن این ژن ها به سلول های ملانومایی فاقد پادگن، نتایج امیدبخشی به دست آمده است (۵۲ , ۵۹).

سلول هایی که با ویروس های نو ترکیب حاوی ژنهای رمزدهندهٔ پادگن های توموری، آلوده شده باشند، می توانند علاوه بر بیان این پادگن ها، پادگن های MHC میزبانی و پروتئین های ایمنی زایی ویروسی را نیز تولید نمایند که هر سه این عوامل آبشار سیتوکینی را به راحتی راه اندازی می کند (۵۷).

در مجموع، روش های ایمنی ژن درمانی، در درمان سرطان هایی مانند ملانوما و سرطان کلیه موفق تر بوده است. زیرا این دو نوع سرطان، ایمنی زایی بیشتری نسبت به دیگر انواع سرطانها دارند و به تنظیم عمل سیستم ایمنی بیشتر پاسخ می دهند. روش های جدیدتری نیز برای درمان بیماران مبتلا به ملانومای بدخیم متاستاز دار، بر مبنای وارد کردن ژنهای خودکشی (Suicide genes) به داخل سلول طراحی شده است. این ژنهای ویژه، سمومی را رمزدهی می کنند که موجب مرگ سلول می شود. در این روش برخلاف شیوه های پیشین، هدف، کشتن و نه تغییر سلول های بیمار (در حال تقسیم) است (۶۰) و کاربرد آن هیچ سمیتی برای سلول های سالم ندارد.

اثربخشی این شیوه درمانی در حیوانات آزمایشگاهی برای درمان تومورهای مغزی، متاستازهای کبدی، آدنوکارسینوم های کولون و ملانومای بدخیم به اثبات رسیده است و پژوهشگران در حال بررسی میزان کارایی این روش در درمان ملانومای انسانی هستند (۶۰).

امروزه با پیدایش ناقلین ویروسی و غیرویروسی کارآمدتر به جذابیت شیوه های ژن درمانی سرطان افزوده شده و کاربرد فنون زیست شناسی ملکولی در زمینه های بالینی تسهیل گردیده است. در سالهای آینده با پیشرفت های قابل توجهی که در روش های بی خطر و مؤثر انتقال ژن در in vivo مورد انتظار است، ژن درمانی سرطان با محدودیت های طب بالینی سازگار خواهد شد و این شیوهٔ درمانی جایگزین روش های کنونی در درمان سرطان خواهد گردید (۶۱,۵۴).

REFERENCES:

38- Roberts, J.M. et.al, Cyclins, Cdk's and cyclin kinase inhibitors, cold spring Harbor sympcsiaon of Quantitative Biology, 1994, LIX: 31-38.

39- Piccinin. S., Doglioni, C., Maestro, R., et al., P16/CDKN2 and CDK4 gene mutation in sporadic melanoma development and progression, Int. *J. cancer*, 1997, 74: 26-30.

40- Rawn, J.D., Biochemistry, Californian, Neil patterson Publishers, 19 89, 228-230.

41- Reymond, A., Brent, R., P16 proteins from melanoma prone families are deficient in binding to cdk4 *Oncogene*, 1995, 11: 1173-1178.

42- Liu, L., Germline PI6NK4A mutation and protein dysfunction in a family with inherited melanoma, *Oncogene*, 1995, 11:405-412.

43- Seykora, J., Elder, D., Dysplastic Nevi and other risk markers for melanoma, Semin, oncol, 1996, 23(6):682-687.

44- Parker, C., et.al. Metastasis - associated MTS1 gene expression correlates with increased P53 detection in the B16 murine melanoma, DNA cell Biol., 1994, 13(4): 343-351.

45- Petty, E.M., Genetic Risk Factors for melanoma, in Children, *J. pediat.*, 1994, 125 (6): 1015.

۴۶- اولیور، ا. ج.، وارد، ج. ام.، فرهنگ مهندسی ژنتیک، ترجمه همراه با اضافات؛ نوری دلویی، محمدرضا، خسروی نیا. سامیه، مجیدفر. فرهت،انتشارات مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی، تهران، پاییز ۱۳۷۳.

۴۷- نوری دلویی. محمدرضا، نظری بر ژن درمانی و چشم انداز آن، مجلهٔ اورولوژی ایران، سال اول شماره ۴، زمستان ۱۳۷۳، صفحات

۴۸- نوری دلویی. محمدرضا، نظری بر ژن درمانی و چشم انداز آن، مجلهٔ اورولوژی ایران، سال دوم شماره ۵، ۶، بهار و تابستان ۱۳۷۴، صفحات ۱۳-۲۱.

۴۹- نوری دلویی. محمدرضا، نظری بر حال و آیندهٔ مهندسی ژنتیک و پزشکی ملکولی، نبض، سال چهارم، شماره ۱۰، تیرماه ۱۳۷۴، صفحات ۴-۸.

۵۰- نوری دلویی. محمدرضا، نوروزی. آذین، جایگزین ژن نشانه گیری شده، رازی، سال ششم، شماره ۹، مهرماه ۱۳۷۴، صفحات ۲۶-۳۸.

۵۱- نوری دلویی. محمدرضا، نوروزی. آذین، جایگزینی ژن نشانه گیری شده، رازی، سال ششم، شماره ۱۰، آبان ماه ۱۳۷۴، صفحات ۲۴-۳۲.

52- Jones, V,E., Mitchell, M.S., Therapeutic Vaccines for melanoma: Progress and problems, TIBTECH, 1996, 14: 349-355.

53- Mortam, D. L. et.al., Malignant melanoma, In: Cancer medicine, Vol 2, Philadelphia, Lea & Febiger, 1993: 1810-1815.

54-Nabel, G.J., et.al. Molecular genetics interventions for cancer, cold spring Harb. symp, Quant. Biol., 1994, LIX, 699-705.

55- Nabel, G.J., Gordon, D., Bishop, D.K., Nickoloff, B.J., et al., Immune response in human melanoma after transfer of an allogenic class I major histocompability complex gene with DNA- liposome complexes, proc. natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93: 15388-93.

۵۶- نوری دلویی؛ محمدرضا، نوروزی آذین، واردسازی ملکول DNA به درون سلول، گزیده ای از تازه های پزشکی، سال دوم شماره دوم، دیماه ۱۳۷۵، صفحات ۱۳۷-۱۳۱.

57- Mastrangelo, M.J., Magnire, J.r., H.C., Sato, T. et al., Active specific immunization in the treatment of patients with melanoma, semin. oncol., 1996, 23(6): 773-81.

58- Culver, K.W., Blease, R.,M., Gene therapy for cancer, TIG, 1994, 10(5): 174-178.

59- Siders, W.M., Halloran, P.J., Fenton, R.G., Transcriptional targeting of recombinant Adenoviruses to human and murine Melanoma cells, cancer res., 1996, 56(15): 5638-46.

60- Klatzmann, P.D., Herson.S., Cherin.p. Chosidow., O., Baillet, F., Gene therapy for metastatic malignant melanoma: Evaluation of tollerance to intratumoral injection of cells producing recombinant retrovirus carrying Herpes simplex virus type1 thymidine kinase gene, to be followed by Gancilclovir administration, Hum. Gen.ther., 1996, 7:255-67.

۶۱- نوری دلویی. محمدرضا؛ حسینی. مونا، سرطان کولورکتال: ژنتیک ملکولی، ژن درمانی و چشم اندازها، مجله طب و تزکیه. شماره ۳۰. پائیز ۱۳۷۷، صفحات ۵۷-۷۴.

62- Robertson, G., Coleman, A., Lugo, T.G., A malignant melanoma tumor suppressor on human chromosome 11, can, Res., 1996, 56(1): 4487-4492.

63- Ray, M.E., Su, Y. A., Meltzer, P.S., Trent, J.M. Isolation and characterization of genes associated with chromsome 6 mediated tumor suppression in human malignant melanoma, *Oncogene*, 1996, 12:2 527-2533.

64- Lee, J.H., Micle, M.E., Hicks, D.J., phillips, K.K., Trent, J.M. Weissman, B.E., welch, D.R., kiss - l,A novel human malignant melanoma metastasis suppressor gene, *J. Natl. Can. Inst.* 1996, 88(23): 1731-1737.

Abstract

Cutaneous Malignat Melanoma:Molecular Genetics, Gene Therapy and Its Perspective

M.R. Noori _ Daloii [1], M. Hosseini [2]

Melanoma is a malignancy which originates from melanocytes (th pigment - producing cells in skin). It is one of the most important and frequent cancers which in recent years, is incressing rapidly in occurrence. Enviromnental factors, particularly sun exposure, have been strongly implicated in Melanoma risks. There is a close relationship between the race and the colour of the skin with the occurence of Melanoma (i.e. white - skinned people have 40 times more chance to Melanoma than the dark-skinned people).

In this regard, countries including Australia, Scandinavia, (U.S.A) California and Hawaiian islands are considered as the most prevalent regions of Melanoma, while in Asia and Africa, there is less prevalency of this disease.

More than 8 to 12% of malignant Melanoma cases occur in individuals who have more genetic predisposition to this disease.

Accumulated evidence points to a set of genetic change which underline the evolution from melanocytes to metastatic Melanoma. The most commonly observed abnormality in Melanoma is the loss of hetrozygosity (LOH) and homozygous deletion at $9P_{21}$. Studies also identified $9P_{21}$ as the site of tumorsuppressor genes involved in Melanoma susceptibility. For example, one of these genes encodes a negative growth regulator, P_{16}, the expression of which causes cell cycle arrest. P_{16} is part of a growth control pathway that involves cycline- dependent kinases, cyclines, and the retinoblastoma gene product Rb. The identification of genes involved in melanoma raises the possibility of gene - based tests for cancer prediction predisposition and for the calssification of tumors. P_{16}, as the primary genetic element, is an interesting case study in genetic testing. In this article, the most significant achievements of researchers, according to a large number of new, current resources, specially in the area of molecular genetics of Melanoma cancer, have been briefly discussed, emphasizing the genetical identifications, gene therapy as well as its perspectives and achievements.

Key words: Malignant Melanoma; Cell cycle; Molecular genetics; Genetic diagnosis; Gene therapy

1) Ph.D., Tehran University of Medical Sciences and Health Services
2) MSc, Modares University

اصلاحیه

مقاله ملانومای بدخیم : ژنتیک مولکولی، ژن درمانی و چشم اندازها (قسمت اول)

در قسمت پیشین مقاله ملانومای بدخیم، علی رغم ویراستاری متأسفانه نسخه ابتدائی اشتباهاً توسط واحد چاپ منتشر گردید. معهذا در این قسمت نظر خوانندگان را به اصلاحیه مقاله فوق جلب می نمائیم

مجله طب و تزکیه

نام صفحه	غلط	صحیح
ص۶۳، پاراگراف اول خط دوم(درقسمت خلاصه)	به مواد	به نحو
همان ص، پاراگراف دوم خط ششم	Mts_2	MTS_2
همان ص و پاراگراف خط هفتم	p15, p16	P_{15},P_{16}
ص ۶۴ ستون سوم، پاراگراف آخر خط دهم	اتوزومی	آتوزومی
ص ۶۵ ستون و پاراگراف اول، خط دوم	اتوزومی	آتوزومی
همان ص و ستون و پاراگراف ، خط ششم	پریمدین	پریمیدین
همان ص، ستون سوم، خط اول	مثلاً سطح	قبلاً مسطح
همان ص و ستون ، پاراگراف دوم، خط نهم	اتوزومی	آتوزومی
ص ۶۶، ستون دوم، پاراگراف اول خط هفتم	D953	D_9S_3
همان ص و ستون، پاراگراف دوم، خط دوم	سلولها	درتمام سلولها
همان ص، ستون سوم، پاراگراف دوم، خط ششم	$D9^S126$	D_9S_{126}
ص ۶۷، ستون اول، پاراگراف دوم، خط اول	MTS	MTS_1
همان ص، ستون دوم، پاراگراف دوم، خط چهارم	MTs1	MTS_1
همان ص، ستون سوم، پاراگراف دوم، خط دهم	ارائه شده	ارائه گردیده
همان ص و ستون و پاراگراف، خط سیزدهم	٪۳۵	٪۲۵
همان ص و ستون، پاراگراف سوم، خط ششم	به معنی	بد معنی
ص ۶۸، ستون اول، پاراگراف اول، خط پنجم	از این	از این رو
همان ص، ستون دوم، پاراگراف دوم،خط اول	p15, p16	P_{15},P_{16}
همان ص و ستون، پاراگراف سوم، خط اول	نظر یه	نظر به
همان ص، ستون سوم، پاراگراف دوم، خط ششم	G.	G_0
همان ص و ستون و پاراگراف، خط نهم	سلولی	سلول
همان ص و ستون و پاراگراف، خط چهاردهم	G.	G_0
ص ۶۹، ستون دوم، پاراگراف دوم، خط سوم	هر نوع	دو نوع
همان ص و ستون و پاراگراف، خط بیست و پنجم	نامیده می شود	cdc_2 نامیده می شود
ص ۷۰، منبع شماره ۳۷، انتهای آن	1242	1245

ص ۷۱، پاراگراف اول، خط اول	Melamoma	Melanoma
همان ص و پاراگراف، خط چهارم	inplication	implication
همان ص و پاراگراف، خط پنجم	ossurrence	occurrence
همان ص ، پاراگراف چهارم، خط دوم	Melamoma	Melanoma
همان ص و پاراگراف، خط سوم و چهارم	9P21	$9P_{21}$
همان ص و پاراگراف، خط پنجم	regulato	regulator
همان ص و پاراگراف، خط پنجم، ششم و نهم	P16	P_{16}
همان ص و پاراگراف، خط دوازدهم	melecular	molecular

زیر نویس شکلها و جداول به صورت زیر اصلاح گردد:

شکل شمارهٔ ۱- ایدیوگرام از کروموزومهای انسانی که شایعترین تغییرات در آنها در ملانوما مشاهده شده است. علامتها نشاندهنده نواحی و نوارهایی است که دارای بیشترین شیوع تغییر می باشد.

جدول شماره ۱- ناحیه یا نوع ناهنجاری کروموزومی

شکل شماره ۳- تصویر شماتیک ساختار ژنومی $CDKN_2$ و MTS_2 منسوب به آن

جدول شماره ۲- مقایسه جهش های مشاهده در دودمان های سلولی SCC و ملانوما و مطالعات جهش زایی توسط پرتوuv

شکل شماره ۴- چرخه رشد سلولی در سلولهای موجودات پیشرفته

شکل شماره ۵- تغییرات در فعالیت های cyclin- CDK در چرخه رشد S. cerevisiae

وَ انَ رَبکَ لَهُوَ العَزِیزُ الرَحیم

و همانا پروردگارت پیروزمند مهربان است.

قرآن کریم - سوره شعراء - آیه ۱۵۹