Archive of SID

Pancreatic Cancer: From Genome to New Therapies

Moshari M[1], Jebelli A[2*]

[1]Student of B.Sc., Department of Biological Science, Faculty of Basic Science, Higher Education Institute of Rab-Rashid, Tabriz, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Biological Science, Faculty of Basic Science, Higher Education Institute of Rab-Rashid, Tabriz, Iran

Abstract

Pancreatic cancer is ranked as the fourth leading cause of cancer related death. The survival rate of patients is very low and the mortality rate in men is higher than that of women. Various hereditary and non- hereditary factors are involved in the formation of pancreatic cancer; one of the important non- hereditary factors is smoking. Besides, it is known that the risk of pancreatic cancer in patients with diabetes mellitus is twice as high as in the non-diabetic population. Hereditary conditions also include genetic (activation of oncogenes and inactivation of tumor suppressor genes) and epigenetic changes (lncRNA). The mutation in KRAS oncogene is observed in 95% of the patients with pancreatic cancer. Despite the common use of ultrasound and tumor markers in diagnosing pancreatic cancer, their importance as powerful diagnostic tools has been challenged. An innovation in common therapeutic strategies such as chemotherapy, immunotherapy, and gene therapy based on genetic vectors has provided a promising tool for treatment. Using oncolytic viruses with selective proliferation in cancer cells and minimal adverse effects has opened a new perspective on the future of treatment of this cancer. In addition, novel technologies in gene editing including CRISPR have allowed the genome manipulation of cancer cells to identify and regulate the molecular pathways involved in pancreatic cancer. Considering that multiple genetic and epigenetic changes play a role in the pathogenesis of this cancer, simultaneous control of these pathways with multiple therapies can be a useful therapeutic strategy for pancreatic cancer.

Key words: Pancreatic cancer, Genetics, Oncolytic Viruses, CRISPR

Sadra Med Sci J 2019; 7(2): 211-224.
Received: Nov. 18th, 2018
Accepted: Apr. 4th, 2019

*Corresponding Author: **Jebelli A.** Assistant Professor, Department of Biological Science, Faculty of Basic Science, Higher Education Institute of Rab-Rashid, Tabriz, Iran, asiyehjebelli@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مجـــــله علـــــوم پزشکی صدرا
دوره ۷، شماره ۲، بهار ۱۳۹۸، صفحات ۲۱۱ تا ۲۲۴
تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۱/۱۵ تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۲۷

مقاله مروری
(Review Article)

سرطان پانکراس: از ژنوم تا درمان های نوین

مهسا مشاری[۱]، آسیه جبلی[۲*]

[۱] دانشجوی کارشناسی، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، موسسه آموزش عالی ربع رشید، تبریز، ایران
[۲] استادیار، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، موسسه آموزش عالی ربع رشید، تبریز، ایران

چکیده

سرطان پانکراس رتبه چهارم مرگ‌ومیرهای ناشی از سرطان را به خود اختصاص داده است. بقای مبتلایان به آن بسیار پایین بوده و میزان مرگ‌ومیر آن در مردان بیش‌تر از زنان می‌باشد. عوامل مختلف ارثی و غیرارثی در شکل‌گیری سرطان پانکراس دخیل هستند که از جمله عوامل مهم غیرارثی می‌توان به سیگار کشیدن اشاره نمود. علاوه بر این، مشخص شده است که خطر ابتلا به سرطان پانکراس در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس دو برابر افرادی است که دیابت ملیتوس ندارند. از شرایط ارثی نیز می‌توان به تغییرات ژنتیکی (فعال شدن آنکوژن‌ها و غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور) و اپی ژنتیکی (ncRNA) اشاره کرد. جهش در آنکوژن KRAS در ۹۵ درصد مبتلایان به سرطان پانکراس دیده می‌شود. علی‌رغم کاربرد معمول سونوگرافی و نشانگرهای تومور در تشخیص سرطان پانکراس، اهمیت آن‌ها به عنوان ابزار تشخیصی قدرتمند دچار چالش شده است. نوآوری در استراتژی‌های درمانی رایج مثل شیمی‌درمانی و ایمنی‌درمانی و نیز ژن‌درمانی بر پایه حامل‌های ژنتیکی ابزار نویدبخشی را برای درمان فراهم کرده است. استفاده از ویروس‌های آنکولیتیک با ویژگی تکثیر انتخابی در سلول‌های سرطانی و عوارض جانبی حداقل، چشم‌انداز جدیدی را برای آینده درمانی این سرطان گشوده است. علاوه بر این، فناوری‌های نوین ویرایش ژنی از جمله کریسپر دست‌ورزی ژنوم سلول‌های سرطانی را در جهت شناسایی و تنظیم مسیرهای مولکولی دخیل در سرطان پانکراس ممکن کرده است. با توجه به اینکه تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی متعدد در بیماری‌زایی این سرطان نقش دارد، کنترل همزمان این مسیرها با روش‌های درمانی متعدد می‌تواند استراتژی درمانی مفیدی برای سرطان پانکراس باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پانکراس، ژنتیک، ویروس آنکولیتیک، کریسپر

* نویسنده مسئول: **آسیه جبلی**، استادیار، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، موسسه آموزش عالی ربع رشید، تبریز، ایران، asiyehjebelli@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

۱- سرطان پانکراس

سرطان پانکراس (pancreatic cancer) یکی از کشنده ترین سرطان های سیستم گوارشی بوده و رتبه‌ی چهارم مرگ و میر ناشی از سرطان ها را به خود اختصاص می دهد (۱). تخمین زده می شود این سرطان تا سال ۲۰۳۰ دومین عامل مرگ و میر شود (۲). میزان مرگ و میر ناشی از سرطان پانکراس تقریبا با میزان بروز آن برابر می باشد (۳). میزان بقا تنها در کمتر از ۵ درصد از مبتلایان به سرطان پانکراس ۵ سال می باشد و برای اغلب بیماران مرگ در مدت ۶ ماه پس ازتشخیص سرطان رخ می دهد. درصد مرگ و میر سرطان پانکراس در مردان بیش تر از زنان است و رابطه مستقیمی نیز با افزایش سن دارد (۴).

۲- سرطان پانکراس در ایران

برخلاف شیوع بالای سرطان پانکراس در کشورهای صنعتی مثل آلمان، آمریکا، فرانسه و اسپانیا، در ایران این سرطان جزء ۱۰ سرطان شایع محسوب نمی شود (۵, ۶). متاسفانه در ایران اطلاعات اپیدمیولوژی جامع مبتنی بر جمعیت در مورد سرطان پانکراس موجود نمی باشد. با این وجود، براساس گزارش سازمان بهداشت مربوط به سال ۱۳۸۲، پانصد مورد مرگ بر اثر سرطان پانکراس و مجاری صفراوی در کشور تشخیص داده شده است. میزان بروز این سرطان در صد هزار نفر در ۵ استان کشور برای مردان ۱.۱۸ و برای زنان ۰.۸۴ محاسبه شد که پایین تر از بروز جهانی و هم سطح کشور اسلامی کویت است. یک علت احتمالی برای پایین بودن شیوع این بیماری در ایران مصرف پایین الکل در کشورهای اسلامی می باشد (۷).

۳- عوامل خطر

طیف گسترده ای از شرایط با افزایش خطر سرطان پانکراس همراه است که می توان آن ها را به طور کلی به دو گروه متمایز تقسیم کرد: شرایط غیرارثی و ارثی (۳).

مهم ترین شرایط غیرارثی که با افزایش خطر سرطان پانکراس همراه است شامل سیگار کشیدن، اضافه وزن، مصرف الکل، دیابت نوع ۱، پانکراتیت حاد، قرار گرفتن در معرض نیکل و زخم معده می باشد. از بین این عوامل، سیگار کشیدن مهم ترین عامل خطر برای سرطان پانکراس می باشد (۱). مواد شیمیایی زیادی در سیگار وجود دارد که خاصیت سرطان زایی آن ها تایید شده است (۸). استفاده از محصولات دودی دارای تنباکو نیز می تواند خطر ابتلا به این سرطان را افزایش دهد. مصرف زیاد قهوه، زایمان های متعدد، عوامل هورمونی، کلر موجود در آب لوله کشی و سایر عامل خطر محیطی نظیر کادمیم و سموم ارگانوکلرین نیز از دیگر عوامل محیطی و غیرارثی مرتبط با سرطان پانکراس می باشد. سن نیز یک عامل تعیین کننده مهم برای سرطان پانکراس است. در اکثر بیماران، تشخیص سرطان پانکراس در سنین بالای ۵۰ سال صورت می گیرد، گرچه اوج بروز این بیماری در دهه ی هفتم و هشتم زندگی است (۹). با این وجود، اشاره به این نکته حائز اهمیت می باشد که اغلب شرایط غیر ارثی پر خطر با تغییر سبک و عادات زندگی قابل اصلاح است. سابقه خانوادگی مهم ترین عامل ارثی سرطان پانکراس می‌باشد که در۱۰-۵ درصد بیماران مشاهده شده است (۳). خطر نسبی برای سرطان پانکراس در موارد پراکنده ۲/۴۱ است، در حالی که این میزان برای افرادی با دو یا بیشتر بستگان درجه اول مبتلا به ۶/۷۹ و ۱۷/۲ افزایش می یابد. بنابراین شناسایی سابقه خانوادگی در پیشگیری و تشخیص سرطان پانکراس بسیار مهم می باشد (۱۰).

۴- علایم بیماری

مبتلایان به سرطان پانکراس به ندرت علائم خاصی نشان می دهند. با این وجود، ویژگی های بالینی به اندازه تومور، محل و وضعیت متاستازی آن بستگی دارد. دردهای شکمی رایج ترین علت گزارش شده در ۳۱/۶ درصد موارد می باشد. زردی و کمردرد نیز به ترتیب در ۱۸/۹ و۸/۶ درصد بیماران رخ می دهد. بی اشتهایی، کاهش وزن، ادرار

www.SID.ir

Archive of SID

تیره، مدفوع روشن، ضعف، تهوع و استفراغ از سایر علائم مربوط به این بیماری می باشند (۱۰, ۱۱). معمولا تومورها مارکر های مخصوص و حساسی که به تشخیص بیماری کمک کند، نشان نمی دهند (۹).

۵- مکانیسم های مولکولی

تغییرات ژنتیکی و اپی ژنتیکی دو مکانیسم مولکولی مهم در پیشرفت سرطان پانکراس است. تغییرات ژنتیکی شامل جهش در ژن های کلیدی، فعال شدن انکوژن ها و غیر فعال شدن ژن های سرکوب کننده تومور می باشد که در حدود ۹۰-۷۰ درصد بیماران گزارش شده است. علاوه بر این، تنظیمات اپی ژنتیکی به خصوص از طریق RNA های غیرکدکننده (ncRNAs) نیز به طور فزاینده در شروع و پیشرفت این سرطان نقش دارد (۱۲, ۱۳).

الف- فعال سازی آنکوژن ها

پروتوآنکوژن *KRAS*: این پروتوآنکوژن با نام های c-K-ras، Ki-ras وK-ras2 نیز شناخته می شود و با توجه به شیوع بالای جهش های آن در سرطان پانکراس بطور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۳). پروتوانکوژن *KRAS* یک GTPase کوچک با وزن مولکولی ۲۰ کیلودالتون رمزگذاری می‌کند که با اتصال به گوانوزین تری فسفات و گوانوزین دی فسفات به ترتیب فعال و غیرفعال می شود (۱۴). پروتئین KRAS فعال سایر پروتئین کینازهای مسیر MAP کیناز شامل *BRAF*، *RAF*، *RAF1* و*ARAF* را فعال می کند. در یک مسیر درون سلولی آبشاری، RAF فعال شده باعث فسفریلاسیون و فعال شدن MEK1 و MEK2 می شود تا این دو پروتئین ERK1 و ERK2 را فسفریله و فعال کنند. کینازهای ERK با فسفریلاسیون پروتئین های سیتوزولی و هسته ای متفاوت مانند فاکتور رونویسی ELK1 و C-JUN تقسیم سلولی را القا می کنند. بنابراین، جهش های فعال کننده KRAS منجربه تکثیر کنترل نشده سلول ها و در نهایت پیشرفت و انتشار سرطان می شود (۱۲). *KRAS* در اغلب سرطان های انسان، بیشتر در سرطان های پانکراس (بیش از ۹۰ ٪)، کولورکتال، ریه و همچنین لوسمی، دچار جهش می شود. جهش های فعال کننده در کدون‌های ۶۱، ۱۳ و به ویژه ۱۲ این آنکوژن مهم ترین رویداد ژنتیکی مشاهده شده برای سرطان پانکراس می باشد (۱۵).

الف-۱- پروتوآنکوژن *MYC*: یک تنظیم کننده مهم سلولی در سلول های طبیعی و سرطانی است. با این وجود، تغییر ژن *MYC* به تنهایی برای توسعه تومورهای پانکراس کافی نیست. تغییر در بیان ژن *MYC* همراه با جهش های ژن *KRAS* عامل مهم تومورزایی سلول های پانکراس می باشد. ژن کدکننده *MYC* که در بازوی بلند کروموزوم ۸ قرار دارد، در ۳۰-۲۰ درصد از موارد سرطان پانکراس دچار تقویت ژنی می شود. عامل های هسته ای های سلول های T فعال شده (Nuclear factor of activated T-cells (*NFAT*)) نوعی فاکتور رونویسی هستند که با افزایش بیان ژن *MYC* مسئول رشد تومورهای پانکراس هستند (۱۳).

الف-۲- پروتوآنکوژن *MYB*: محصول ژن *MYB* با تحریک بیان بسیاری از ژن های تنظیم کننده تکثیر، تمایز و آپوپتوز به توسعه سرطان پانکراس کمک می کند. بررسی ها نشان می دهد که ژن *MYB* در حدود ۱۰ درصد نمونه های تومور پانکراس تقویت می شود. نکته جالب توجه این است که تقویت *MYB* به طور عمده در تومورهای پیشرفته گزارش شده است که نشان دهنده ارتباط قوی این ژن با پیشرفت و ویژگی های بدخیم تومورهای آدنوکارسینوم پانکراس است (۱۶).

الف-۳- پروتئین کیناز ۴ فعال شده با p21 (PAK4): ژن *PAK4* بر روی کروموزوم ۱۹، منطقه ای که اغلب در سرطان پانکراس تقویت می‌شود، قرار دارد. علاوه بر تقویت ژنی، این ژن در سرطان های مختلف از جمله پانکراس بیان بیش از اندازه نشان می دهد. پروتئین PAK4 به واسطه فعالسازی NF- κB توسط مسیرهای انتقال پیام

www.SID.ir

Archive of SID

AKT و ERK باعث تقویت تکثیر و بقا سلول های تومور پانکراس می شوند. علاوه بر این، PAK4 باعث مقاومت دارویی در سرطان پانکراس می شود (۱۷).

الف-۴- گیرنده ۲ عامل رشد اپیدرمی انسانی (HER2): پروتوآنکوژن دیگری است که در تنظیم فرآیندهای سلولی مهمی از جمله رشد، بقا و تمایز سلولی دخالت دارد. این پروتوآنکوژن در ۲ درصد موارد سرطان پانکراس توسط تقویت ژنی به آنکوژن تبدیل می شود. مسدود کردن HER2 بعنوان عامل درمانی برای بهبود بقا در چندین سرطان گزارش شده است (۱۸).

ب- غیر فعال شدن ژن های مهارکننده تومور

مهار کننده ۲A کیناز وابسته به سیکلین (p16INK4a/CDKN2A): این پروتئین سرکوبگر تومور که به اختصار p16 نیز گفته می‌شود، یکی از اعضای مهم خانواده مهار کننده‌های کیناز وابسته به سیکلین (CDK)است که در تنظیم چرخه سلولی نقش مهمی ایفا می کند. p16 با اتصال به CDK4 و CDK6 باعث قطع ارتباط آن ها با سیکلین D1 و در نتیجه مهار پیشروی چرخه سلولی از فاز G1 / S می شود. بنابراین، از دست رفتن عملکرد p16 منجر به پیشرفت چرخه سلولی از نقطه بازرسی G1 / S به طور نامحدود و افزایش تکثیر سلولی می شود. افراد حامل جهش در ژن p16 احتمالا مستعد ابتلا به سرطان پانکراس هستند (۱۹).

TP53: ژن *TP53* که با اسامی p53 و آنتی ژن NY-CO-13 نیز شناخته می شود، در بازوی کوچک کروموزوم ۱۷ قرار گرفته و در ۵۰-۷۵ درصد افراد مبتلا به سرطان پانکراس دچار جهش می شود (۱۲, ۱۳). پروتئین TP53 در پاسخ به استرس اکسیداتیو و آسیب DNA فعال شده و با فعال کردن رونویسی ژن های هدف باعث توقف رشد یا القا آپوپتوز می شود . TP53 همچنین با افزایش بیان مهار کننده ۱A کیناز وابسته به سیکلین موجب توقف پیشرفت چرخه سلولی می شود (۱۲).

ج- تنظیمات اپی ژنتیکی

پدیده اپی ژنتیک می تواند منجر به فعال سازی آنکوژن ها و نیز خاموش شدن ژن های سرکوب کننده تومور شود. چندین رویداد اپی ژنتیکی از جمله متیلاسیون، استیلاسیون و فعالیت ncRNAs شناسایی شده است که به پیشرفت سرطان پانکراس کمک می کنند. ncRNAs گروهی از مولکول های RNA می باشند که محصول پروتئینی تولید نمی‌کنند و نقش آن ها به طور گسترده در تنظیم بیان ژن های متعدد مورد مطالعه قرار گرفته است. miRNA یکی از انواع مهم ncRNAs می باشد. مطالعات بیوانفورماتیکی که با هدف بررسی تعامل بین mRNAو miRNA درایجاد سرطان پانکراس صورت گرفته است، نشان می دهد از بین ۲۱۷ ژنی که در سرطان پانکراس توسط ۱۵ miRNA تنظیم می شود، ۱۹۷ ژن توسط تنها چهار miRNA شامل miR-24، miR-210، miR-221 و miR-222 کنترل می شوند که از بین آن ها miR-24 مهم تر بوده و ژن های ACVR2B، GFRA1 و MTHFR بیش ترین نقش را در سرطان پانکراس داشته اند (۲۰). مشخصات، ژن های هدف و نقش تعدادی از ncRNAs مهم در تومور زایی سرطان پانکراس در جدول ۱ خلاصه شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. تعدادی از ncRNAs مهم در سرطان پانکراس (۱۳, ۲۱)

ncRNAs	هدف های مولکولی	نقش
H19	let-7 و HMGA2	متاستاز
HOTAIR	ژن های مرتبط با چرخه سلولی	تکثیر، تهاجم
HOTTIP	ژن های HOX	بقا، تکثیر و تهاجم
MALAT1	ژن ژن های مرتبط با چرخه سلولی	تکثیر، تهاجم
miR-367	SMAD7	تهاجم و متاستاز
miR-210	ویمنتین	تهاجم و متاستاز
miR-34	NOTCH و Bcl-2	حفظ و بقا سلول های بنیادی سرطان
miR-96	KRAS	رشد، تهاجم و متاستاز
miR-21	MMP-2 و MMP-9	متاستاز

۶- سرطان پانکراس و دیابت

دیابت شیرین یا دیابت ملیتوس (Diabetes Mellitus) به عنوان یکی از چالش های مهم بهداشت عمومی در هر دو گروه کشورهای صنعتی و در حال توسعه از جمله عوامل ابتلا به این نوع سرطان شناخته می شود (۲۲). بروز جدید دیابت یا تشدید دیابتی که قبلا پایدار بوده است، هرچند معمولا به علت سرطان نیست، ولی باید پزشک را به امکان وجود سرطان پانکراس مشکوک کند. دیابت ملیتوس در ۲۴ درصد بیماران مبتلا به سرطان پانکراس وجود دارد و مطالعات نشان می دهد که خطر ابتلا به سرطان پانکراس در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس دو برابر بیشتر از افرادی است که دیابت ندارند. علاوه بر این، در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس عوامل دیگری مثل سن بالای ۶۵ سال، سیگارکشیدن، سابقه بیماری سنگ های صفراوی، پانکراتیت مزمن به عنوان عوامل خطرساز برای ابتلا به سرطان پانکراس پیشنهاد می شود (۱, ۱۰). همچنین گزارش شده است که دیابت طولانی مدت عامل خطر مهمی برای سرطان پانکراس می باشد و بیماران مبتلا به دیابت بلند مدت ۱/۵ تا ۲ برابر بیشتر در معرض ابتلا به سرطان پانکراس هستند (۸, ۲۳).

۷- پیشگیری

با توجه به اینکه علائم اولیه در سرطان پانکراس معمول نیست، بنابراین این بیماری اغلب زمانی تشخیص داده می شود که در مراحل پیشرفته باشد (۲۴). بهترین راه پیشگیری برای این سرطان، اتخاذ سبک زندگی سالم از جمله ترک مصرف سیگار، رژیم غذایی غنی از میوه و سبزیجات، ورزش منظم و کاهش وزن توصیه می شود (۳).

۸- تشخیص

سونوگرافی شکم اغلب به عنوان یک تست تشخیصی اولیه برای بیماران مبتلا به درد ناحیه شکمی مورد استفاده قرار می گیرد (۱). نشان‌گرهای تومور در تمام موارد ابزار تشخیصی توانمندی برای سرطان پانکراس نیستند. نتایج غیرطبیعی در آزمایش های خون برای آنزیم های پانکراس در تعدادی از مبتلایان به سرطان پانکراس تشخیص داده شده است. پرکاربردترین نشانگرهای تومور مورداستفاده برای تشخیص این سرطان، آنتی ژن کربوهیدرات 19-9 (CA19-9) و آنتی ژن کارسینوم جنینی (CEA) می باشد. CA19-9 دارای حساسیت مثبت بالای ۷۰/۹ درصد در سرطان پانکراس و حساسیت ۵۲/۳ درصد در سرطان پانکراس جزیی می باشد (۱۰). گرچهCA 19-9 شایع ترین آنتی ژن مورد استفاده برای تشخیص سرطان پانکراس است، ولی در بسیاری از بدخیمی های دیگر نظیر سرطان اپی تلیوم مجاری صفراوی، سرطان کبد و سرطان کولورکتال و همچنین فرایندهای غیر بدخیم مثل

www.SID.ir

Archive of SID

پانکراتیت، کیست کاذب پانکراس، تشکیل سنگ در مجاری صفراوی و سیروز کبدی نیز مقدار آن افزایش می یابد. به نظر می رسد سطوح سرمی CA19-9، به جای تشخیص زودهنگام، برای مدیریت پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به سرطان مفید باشد. CEA به طور معمول در بافت جنین یافت می شود و پس از تولد مقدار آن در خون کاهش می یابد. میزان بیان CEA در افراد مبتلا به سرطان پانکراس افزایش یافته و ارتباط معنی داری با اندازه و تمایز تومور و نیز متاستاز به سیستم لنفاوی و بافت کبدی دارد (۲۵). جدول ۲ متوسط بقای مبتلایان به سرطان پانکراس را براساس افزایش میزان CA19-9 و CEA نشان می دهد.

جدول ۲. متوسط بقای بیماران پیش از عمل بر اساس افزایش مقادیر CA 19-9 و CEA (۲۵)

متوسط بقا (ماه)	مقدار CA 19-9 (یونیت/میلی‌لیتر)	مقدار CEA (نانوگرم/میلی‌لیتر)
۳۳/۳	≤ ۷۵	≤ ۳
۲۸/۵	≤ ۷۵	> ۳
	> ۷۵	≤ ۳
۲۳/۹	> ۷۵	> ۳

۹- درمان

جراحی، شیمی درمانی و پرتو درمانی از درمان های رایج برای سرطان پانکراس هستند. ترکیب این روش ها اغلب برای افزایش تاثیر درمان استفاده می شود (۲۴). آخرین پیشرفت ها در ژن درمانی شامل حساس‌سازی (مبتنی بر ژن) سلول های سرطانی به شیمی درمانی، واکسیناسیون و ایمنی درمانی انتخابی می باشد (۲۶).

الف- ژن درمانی

ژن درمانی یکی از روش های درمانی در حال توسعه برای سرطان پانکراس می باشد. برخلاف ژن درمانی براساس DNA برهنه که نتایج موثری در درمان سرطان پانکراس نشان نداده است، ژن درمانی براساس حامل های ژنتیکی (Genetic vectors) مزایای قابل توجهی دارد. تولید آسان حامل های مصنوعی، سمیت نسبتا کم آن ها، امکان انتقال انواع اسید های نوکلئیک مانند DNA پلاسمید، siRNA و shRNA توسط حامل ها از مهم ترین مزایای این روش می باشد. دو نوع اصلی از حامل های مصنوعی کارآمد شامل حامل های لیپیدی و حامل های پلی‌کاتیونی می باشد (۲۷). حامل های لیپیدی توانایی پوشاندن DNA و تسهیل عبور آن از دو لایه لیپیدی غشای سلول را دارند. با این وجود، این حامل ها برای انتقال ژن به درون سلول های آدنوکارسینوم مجاری پانکراس (Pancreatic ductal adenocarcinoma) (PDAC) موثر واقع نشده اند. توسعه حامل های لیپیدی به شکل حامل های مرکب که یک بخش لیپیدی و یک بخش کاتیونی مرتبط داشته باشند، باعث افزایش کارایی این حامل ها در PDAC شده است. در حامل های مرکب، بخش کاتیونی مجموعه ای از مولکول های با بار مثبت است که به طور موثر DNAی دارای بار منفی را پوشش داده و با آن ترکیب می شوند. بخش لیپیدی حامل عبور DNA را از غشا آسان کرده و بخش کاتیونی حامل باعث حفاظت DNA در طول حرکت از سیتوپلاسم به هسته می شود. حامل های پلی کاتیونی در حقیقت پلی‌مرهای مشتق شده از پلی لیزین هستند. این حامل ها در واقع یک پلیمر با پایه‌ی آمینواسیدی است که توانایی متراکم کردن DNA و حفاظت از آن در برابر آنزیم های لیزوزیمی را دارد. افزودن ترکیبات شیمیایی پلی اتیلن گلیکول و پلی اتیلن ایمین باعث افزایش ماندگاری حامل در خون و محیط داخلی و نیز کاهش سمیت آن می شود (۲۸, ۲۹).

www.SID.ir

Archive of SID

ب- درمان با استفاده از ویروس های آنکولیتیک

پیشرفت PDAC با تغییرات زیادی همراه است که به سلول های سرطانی مزیت رشد انتخابی و در نتیجه حساسیت بالا نسبت به عفونت ویروسی می‌دهد. ویروس های آنکولیتیک (oncolytic virus) ویروس های پاتوژن طبیعی یا اصلاح شده ژنتیکی هستند که با داشتن ویژگی تکثیر انتخابی، طیف گسترده ای از فعالیت ضد سرطانی و سمیت حداقل برای انسان، یک استراتژی درمانی جدید و امید بخش در حوزه سرطان ایجاد کرده اند. این ویروس ها به طور طبیعی و انتخابی سلول های سرطانی را برای تکثیر خود هدف قرار می دهند و باعث القا آپوپتوز در این سلول ها می شوند. ویروس های آنکولیتیک می توانند برای تولید سیتوکین ها، آنتی ژن ها یا ژن های خودکشی مهندسی شوند. محققان بیش از بیست سال در آزمایشگاه های تحقیقاتی و دارویی در حال مطالعه روی ویروس های آنکولیتیک هستند تا غلبه بر محدودیت ها و معایب آن ها بتوانند از این ویروس ها به طور گسترده در درمان سرطان ها به ویژه سرطان پانکراس استفاده کنند (۳۰, ۳۱). مهم ترین ویروس های آنکولیتیک مورداستفاده در درمان سرطان پانکراس آدنوویروس ها (AxE1Adb و Ad.DF3-E1)، هرپس ویروس ها (hrR3 و NV1020) و رتروویروس ها (Reovirus) می باشند (۳۰).

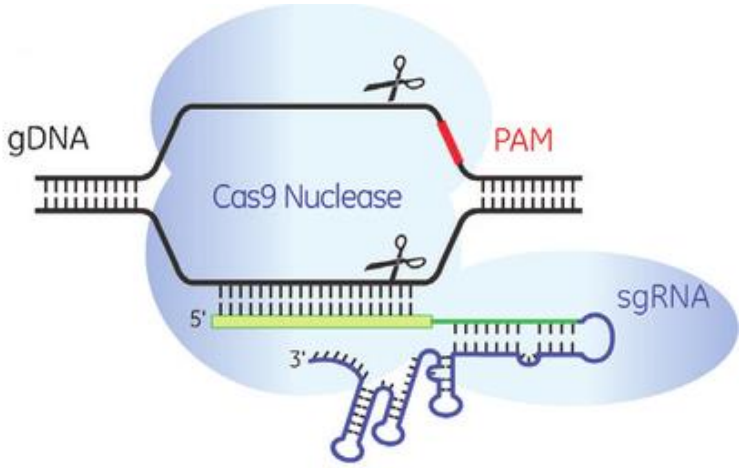
اولین ویروس آنکولیتیک که برای کاربرد بالینی مورد تایید قرار گرفته است، یک آدنوویروس مهندسی شده به نام آنکورین H101 است که با تکثیر انتخابی در سلول های سرطانی با جهش های *TP53* باعث مرگ این سلول ها می شود (۲۶). ویروس آنکولیتیک HF10 ویروس موتانت حاصل از ویروس HSV می باشد که ظرفیت همانندسازی آن بیشتر و سمیت آن در موش 10^4 برابر کمتر از ویروس وحشی HSV می باشد (۳۲). این ویروس آنکولیتیک در مطالعات بالینی بیماران PDAC عوارض جانبی مضری نشان نداد. هم چنین، این ویروس تاثیرات درمانی قابل توجهی بر میزان مارکرهای ویژه تومور و بقا سلول های سرطانی نشان داد (۳۳). ویروس کایمر ارتوپاکس CF33 نیز توانایی تکثیر و کشتن مجموعه ای از سلول های سرطانی پانکراس را *in vitro* نشان داد. مدل های موشی سرطان پانکراس نشان داد این ویروس به طور انتخابی و ایمن می تواند سلول های سرطانی را هدف قرار داده و مانع انتشار سلول های سرطانی در سایر سمت های بدن شود (۳۴).

ج- فناوری CRISPR/COS9

تکرارهای کوتاه پالیندرومی فاصله‌دار منظم خوشه‌ای (regularly interspaced short Clustered palindromic repeats)، یا به اختصار کریسپر، نام یک منطقه ژنی در باکتری ها و آرکی باکترها است که در شناسایی ویروسهای مهاجم و فعال کردن آنزیم های نوکلئاز برای نابود کردن ژنوم آنها، نقش دارد. دانشمندان با به کارگیری ابزارهای مولکولی مورداستفاده دراین سیستم دفاعی میکروبی، فناوری نوینی تحت عنوان CRISPR/COS9 برای هدف قرار دادن مناطق ژنی مختلف ابداع کرده اند. با استفاده از این فناوری می توان به روشن یا خاموش کردن ژن ها، دست ورزی، نشانه گذاری و ردیابی منطقه خاصی از DNA ژنومی موجودات زنده پرداخت (۳۵, ۳۶). در فناوری CRISPR/COS9، نوکلئاز COS9 با استفاده از یک RNA راهنمای تک رشته ای (single guide RNA) (sgRNA) باعث برش دو رشته DNA در جایگاه های ژنی خاص می شود (شکل ۱). اگر محل برش داخل یک ژن کد کننده باشد، با فعال شدن سیستم ترمیم، جهش های حذف و اضافه یا تغییر چارچوب باعث از دست رفتن عملکرد ژن موردنظر از جمله انکوژن ها می شود. وکتورهای لنتی ویروسی ابزار کارآمدی جهت انتقال COS9 و sgRNA به سلول های هدف در فناوری CRISPR/COS9 می باشند (۳۷).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. سیستم CRISPR/COS9. نوکلئاز COS9 در حضور sgRNA و توالی کمک کننده PAM قادر به شناسایی توالی خاصی از DNA و برش آن می باشد (۳۸).

مطالعات جدید نتایج امیدبخشی را جهت استفاده از فناوری CRISPR/COS9 در درمان سرطان پانکراس ارائه داده است. تزریق وکتورهای آدنوویروسی یا لنتی ویروسی حامل ژن *Cre* از طریق مجرای صفراوی به پانکراس موش های مدل PDAC انسانی منجر به مهار انتخابی رشد نئوپلاسم پانکراس به وضعیت متاستازی PDAC شد. علاوه بر این، هدف قرار دادن ژن *Lkb1* و انکوژن *Kras* با استفاده از فناوری کریسپر هدایت شده با وکتورهای لنتی ویروسی منجر به غیرفعالسازی ژنوم در مطالعات *in vivo* شد (۳۹). مولر و همکاران بعد از لاپاراتومی، برای به کارگیری این فناوری با استفاده از الکتروپوریشن انتقال کارآمد پلاسمید را به پانکراس موش گزارش کردند. نکته جالب توجه در این مطالعه انتقال همزمان چند sgRNA به سلول های هدف با استفاده از انتقال پلاسمید براساس الکتروپوریشن بود که با وکتورهای ویروسی قابل انجام نمی باشد. کلون sgRNA ها به وکتورهای پلاسمیدی pX330 به طور کارآمد باعث کارگیری موثر فناوری CRISPR/COS9 در مطالعات *in vitro* و *in vivo* شد. علاوه بر این، در نمونه های تومور پانکراس، جهش های حذف و اضافه در محدوده یک تا ۳۶۳ جفت باز با فراوانی بالایی توسط CRISPR/COS9 در ۱۵ ژن مرتبط با تومور القا شد. این فناوری حتی قادر به غیرفعال کردن کامل ژنوم در سلول های پلی پلوئیدی سرطان پانکراس شد. علاوه بر تغییر در سطح ژن، فناوری CRISPR/COS9 قادر به القا حذف های کروموزومی بزرگ برای مقابله با بازآرایی های کروموزومی مشاهده شده در سلول های سرطانی می‌باشد (۴۰).

علاوه بر نقش درمانی فناوری CRISPR/COS9، می‌توان از این تکنیک برای تشخیص ژن های مختلف موثر در مکانیسم های تومورزایی سلول های سرطانی استفاده کرد. FOXA2، به عنوان مثال، عضوی از خانواده ژنی HNF می باشد که نقش آن در سرطان پانکراس با استفاده از این فناوری شناسایی شد. اعضای مختلف خانواده HNF فاکتورهای رونویسی هستند که بیان آن ها در سرطان های مختلف تغییر می یابد (۴۱, ۴۲). مهار بیان ژن *FOXA2* با استفاده از فناوری CRISPR/COS9 نشان داد محصول این ژن یک سرکوبگر تومور می باشد که با مهار رشد سلولی، تشکیلی کلنی سلولی و تهاجم و متاستاز مانع توسعه و پیشرفت سرطان پانکراس می شود (۴۳). علاوه بر این، ناک اوت *GATA6* با به کارگیری فناوری CRISPR/COS9

www.SID.ir

Archive of SID

باعث مهار مسیر انتقال پیام Wnt در تومورزایی سرطان پانکراس می شود (۴۴).

نتیجه‌گیری

مرگ و میر ناشی از سرطان پانکراس نه تنها طی دهه های گذشته کاهش نیافته، بلکه پیش بینی می شود تا سال ۲۰۳۰ از مرگ و میر حاصل از سرطان سینه، کولورکتال و پروستات نیز پیشی بگیرد. بنابراین، تلاش برای توسعه استراتژی های درمانی جدید و موثر علیه سرطان پانکراس یک نیاز مهم و حیاتی در علم پزشکی است. مطالعات آزمایشگاهی و بالینی در زمینه ایمنی درمانی، ژن درمانی و ویروس درمانی نتایج امیدوار کننده ای در پی داشته است. ترکیبات جدید و نانوذرات نیز دریچه جدیدی در زمینه حامل های غیرویروسی گشوده است. در نهایت، چشم انداز امیدبخش فناوری ویرایش ژن از جمله کریسپر مقابله با تغییرات بدخیم در سلول های اولیه تشکیل دهنده تومور می باشد.

منابع

1. Kanji ZS, Gallinger S. Diagnosis and management of pancreatic cancer. CMAJ. 2013;185(14):1219-26.

2. Salem AA, Mackenzie GG. Pancreatic cancer: A critical review of dietary risk. Nutrition Research. 2018;52:1-13.

3. Del Chiaro M, Segersvärd R, Lohr M , Verbeke C. Early detection and prevention of pancreatic cancer: is it really possible today? World J Gastroenterol 2014;20(34):12118-30.

4. Pourshams A, Kazemi B, Kalantari S. A review of the etiology and biomarkers of pancreatic cancer, with emphasis on the role of diabetes: review article. Tehran Univ Med J. 2018;75(11):773-8.

5. Fazeli Z, Fazeli Bavandpour F, Abdi A, Pour Hosaingholi M, Bastaminezhad. Trend analysis of Pancreatic Cancer Mortality in Iran. JIUMS. 2013;20(4):239-45.

6. Pourhoseingholi MA ,Fazeli Z, Ashtari S, Bavand-Pour FSF. Mortality trends of gastrointestinal cancers in Iranian population. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2013;6(Suppl 1):52-7.

7. Taefi A, Noraee M, Ghorbani A, Fakheri H, Zaheri MJ, Semnani A, et al. Investigation of the incidence of pancreatic and bile ducts cancers in Iran: a population-based study. Govaresh. 2008;13(4):217-22.

8. Thomas C. Risk factors, biomarker and imaging techniques used for pancreatic cancer screening. Chin Clin Oncol. 2017;6(6):1-10.

9. Kleeff J, Korc M, Apte M, La Vecchia C, Johnson CD, Biankin AV, et al. Pancreatic cancer. Nat Rev Dis Primers. 2016;2:16022-35.

10. Kikuyama M, Kamisawa T, Kuruma S, Chiba K, Kawaguchi S, Terada S, et al. Early Diagnosis to Improve the Poor Prognosis of Pancreatic Cancer. Cancers. 2018;10(2):48-54.

11. Freelove R, Walling A. Pancreatic Cancer: Diagnosis and Management. Am Fam Physician. 2006;73(3):485-92.

12. Cicenas J, Kvederaviciute K, Meskinyte I, Meskinyte-Kausiliene E, Skeberdyte A, Cicenas J. KRAS, TP53, CDKN2A, SMAD4, BRCA1, and

www.SID.ir

Archive of SID

19. Asghar U, Witkiewicz AK, Turner NC, Knudsen ES. The history and future of targeting cyclin-dependent kinases in cancer therapy. Nat Rev Drug Discov. 2015;14(2):130-46.

20. Naderi E, Mostafaei M, Pourshams A, Mohamadkhani A. Network of microRNAs-mRNAs interactions in pancreatic cancer. Biomed Res Int. 2014;2014:1-8.

21. Moschovis D, Gazouli M, Tzouvala M, Vezakis A, Karamanolis G. Long non-coding RNA in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic neuroendocrine tumors. Annals of Gastroenterology. 2017;30(6):622-8.

22. Wang F, Herrington M, Larsson J, Permert J. The relationship between diabetes and pancreatic cancer. Mol cancer. 2003;2(1):4-9.

23. Mizuno S, Nakai Y, Isayama H, Yanai A, Takahara N, Miyabayashi K, et al. Risk factors and early signs of pancreatic cancer in diabetes: screening strategy based on diabetes onset age. Am J Gastroenterol. 2013;48(2):238-46.

24. Darmawan G, Simadibrata M. Pancreatic Cancer: Review of Etiology, Clinical Features, Diagnostic Procedures, Treatment and Mesothelin Role. Indo J Gastro Hepa Diges Endo. 2011;12(1):44-9.

25. Chang JC, Kundranda M. Novel diagnostic and predictive biomarkers in pancreatic adenocarcinoma. Int J Mol Sci. 2017;18(3):667-71.

BRCA2 mutations in pancreatic cancer. Cancers. 2017;9(5):42-7.

13. Khan MA, Azim S, Zubair H, Bhardwaj A, Patel GK, Khushman M, et al. Molecular drivers of pancreatic cancer pathogenesis: looking inward to move forward. Int J Mol Sci. 2017;18(4):779-86.

14. Eser S, Schnieke A, Schneider G, Saur D. Oncogenic KRAS signalling in pancreatic cancer. Br J Cancer. 2014;111:817-22.

15. Muzumdar MD, Chen P-Y, Dorans KJ, Chung KM, Bhutkar A, Hong E, et al. Survival of pancreatic cancer cells lacking KRAS function. Nat Commun. 2017;8(1):1090-101.

16. Srivastava SK, Bhardwaj A, Arora S, Singh S, Azim S, Tyagi N, et al. MYB is a novel regulator of pancreatic tumour growth and metastasis. Br J Cancer. 2015;113(12):1694-703.

17. Tyagi N, Marimuthu S, Bhardwaj A, Deshmukh SK, Srivastava SK, Singh AP, et al. p-21 activated kinase 4 (PAK4) maintains stem cell-like phenotypes in pancreatic cancer cells through activation of STAT3 signaling. Cancer lett. 2016;370(2):260-7.

18. Boeck S, Jung A, Laubender RP, Neumann J, Egg R, Goritschan C, et al. EGFR pathway biomarkers in erlotinib-treated patients with advanced pancreatic cancer: translational results from the randomised, crossover phase 3 trial AIO-PK0104. Br J Cancer. 2013;108(2):469-76.

www.SID.ir

Archive of SID

26. Rouanet M, Lebrin M, Gross F, Bournet B, Cordelier P, Buscail L. Gene Therapy for Pancreatic Cancer: Specificity, Issues and Hopes. Int J Mol Sci. 2017;18(6):1231-40.

27. 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.

28. Midoux P, Pichon C, Yaouanc JJ, Jaffrès PA. Chemical vectors for gene delivery: a current review on polymers, peptides and lipids containing histidine or imidazole as nucleic acids carriers. Br J Pharmacol. 2009;157(1):166-78.

29. Bertrand E, Gonçalves C, Billiet L, Gomez JP, Pichon C, Cheradame H, et al. Histidinylated linear PEI: a new efficient non-toxic polymer for gene transfer. Chem comm. 2011;47(46):12547-9.

30. Kasuya H, Takeda S, Nomoto S, Nakao A. The potential of oncolytic virus therapy for pancreatic cancer .Cancer Gene Ther. 2005;12:725-36.

31. Nishimoto T, Yoshida K, Miura Y, Kobayashi A, Hara H, Ohnami S, et al. Oncolytic virus therapy for pancreatic cancer using the adenovirus library displaying random peptides on the fiber knob. Gene Ther. 2009;16:669.۸۰-

32. Nakao A, Takeda S, Shimoyama S, Kasuya H, Kimata H, Teshigahara O, et al. Clinical experiment of mutant herpes simplex virus HF10 therapy for cancer. Curr Cancer Drug Targets. 2007;7(2):169-74.

33. Nakao A, Kasuya H, Sahin T, Nomura N, Kanzaki A ,Misawa M, et al. A phase I dose-escalation clinical trial of intraoperative direct intratumoral injection of HF10 oncolytic virus in non-resectable patients with advanced pancreatic cancer. Cancer Gene Ther. 2011;18(3):167-75.

34. O'Leary MP, Choi AH, Kim S-I, Chaurasiya S, Lu J, Park AK, et al. Novel oncolytic chimeric orthopoxvirus causes regression of pancreatic cancer xenografts and exhibits abscopal effect at a single low dose. J Transl Med 2018;16(1):110-8.

35. Butler K. Reviews of Science for Science Librarians: CRISPR-Cas9 Revolutionizes Gene Editing. Sci & Tech Libraries. 2016;35(3):221-7.

36. Garneau JE, Dupuis M-È, Villion M, Romero DA, Barrangou R, Boyaval P, et al. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA .Nature. 2010;468:67.

37. Shalem O, Sanjana NE, Hartenian E, Shi X, Scott DA, Mikkelson T, et al. Genome-Scale CRISPR-Cas9 Knockout Screening in Human Cells. Sci. 2013;343:84-7.

38. Kelley ML, Strezoska Ž, He K, Vermeulen A, Smith AvB. Versatility of chemically synthesized guide RNAs for CRISPR-Cas9 genome editing. Journal of Biotechnology. 2016;233:74-83.

39. Chiou S-H, Winters IP, Wang J, Naranjo S, Dudgeon C, Tamburini FB, et al. Pancreatic cancer modeling using

www.SID.ir

Archive of SID

retrograde viral vector delivery and in vivo CRISPR/Cas9-mediated somatic genome editing. Genes Dev. 2015;29:1-10.

40. Maresch R, Mueller S, Veltkamp C, Öllinger R, Friedrich M, Heid I, et al. Multiplexed pancreatic genome engineering and cancer induction by transfection-based CRISPR/Cas9 delivery in mice. Nat Commun. 2016;7:10777-86.

41. Lehner F, Kulik U, Klempnauer J, Borlak J. The hepatocyte nuclear factor 6 (HNF6) and FOXA2 are key regulators in colorectal liver metastases. The FASEB Journal. 2007;21(7):1445-62.

42. Li J, Zhang Y, Gao Y, Cui Y, Liu H, Li M, et al. Downregulation of HNF1 homeobox B is associated with drug resistance in ovarian cancer. Oncology reports. 2014;32(3):979-88.

43. Vorvis C, Hatziapostolou M, Mahurkar-Joshi S, Koutsioumpa M, Williams J, Donahue TR, et al. Transcriptomic and CRISPR/Cas9 technologies reveal FOXA2 as a tumor suppressor gene in pancreatic cancer. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 2016;310(11):G1124-G37.

44. Seino T, Kawasaki S, Shimokawa M, Tamagawa H, Toshimitsu K ,Fujii M, et al. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression. Cell stem cell. 2018;22(3):454-67.

Cite this article as:
Moshari M, Jebelli A. Pancreatic Cancer: From Genome to New Therapies. Sadra Med Sci J 2019; 7(2): 211-224.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir