

Chương III

THAY THẾ CÁC GEN KIỂM CHẾ KHỐI U TRONG UNG THƯ

MỞ ĐẦU

Trước khi cơ sở di truyền của ung thư được chấp thuận và trên một nửa thế kỷ trước khi thuật ngữ gen kiểm chế khối u (tumor suppressor gene - TSG) được đặt tên, nhà sinh học Đức Theodor Boveri đã cho rằng khi kiểm chế các nhiễm sắc thể xác định sẽ làm ức chế sự phân chia tế bào. Theo bản dịch, xuất bản năm 1929 thì ngay từ năm 1914 Boveri đã mạnh dạn viết *các tế bào khối u với sự tăng trưởng không giới hạn sẽ xuất hiện nếu loại đi các nhiễm sắc thể bị ức chế*. Sau đó hơn một nửa thế kỷ, với việc phân tích phân tử các khối u ở người đã vạch rõ rằng: mỗi trường hợp ung thư đều có ít nhất là một biến đổi di truyền phức hợp trong một nhiễm sắc thể bị ức chế, ngày nay được hiểu chính là gen kiểm chế khối u (TSG). Trong những năm 1980, sinh học phân tử và di truyền học ung thư đã chuyển các NST bị ức chế theo thuyết của Boveri thành các công cụ sắc bén cho việc nghiên cứu sinh bệnh học phân tử (molecular pathogenesis) ung thư và tới những năm 1990 thì chúng được đẩy từ phòng thí nghiệm tới tận giường bệnh. Từ giữa 1994 đến cuối 2002 đã có trên 25 thử nghiệm lâm sàng về trị liệu thay thế TSG đã được thực hiện, những kết quả thu được đã vạch ra một tương lai đầy hứa hẹn của TSG trong việc quản lý ung thư.

Vì những kiến thức thu được về TSG người ngày càng nhiều nên trong chương này chúng tôi chỉ xin tóm lược về sinh học TSG đồng thời cũng đưa ra một số định hướng chi tiết. Hơn nữa, các dẫn liệu thu được từ các nghiên cứu tiền lâm sàng và lâm sàng ngày càng chông chát, vì thế trong khi thảo luận về các chiến lược gen trị liệu với việc thay thế TSG chúng tôi chỉ giới hạn ở một trong số các TSG đã bị biến đổi phổ biến nhất, đó là p53.

CÁC GEN KIỂM CHẾ KHỐI U

Sự tiến bộ nhanh chóng trong những lĩnh vực sinh học và di truyền học phân tử đã tạo ra các công cụ cho phép chúng ta can thiệp sâu vào những công việc bên trong các tế bào bình thường cũng như các tế bào ác tính, hay các mạng lưới phức tạp của các con đường hóa sinh. Quá trình thực nghiệm gỡ rối mạng lưới đó có liên quan tới việc chấp lại các đơn vị thông tin thu lượm được từ các dòng tham vấn khác nhau, một quá trình mà đôi khi dường như không nhận được các câu trả lời khẳng định về sinh hóa học ung thư. Watson đã tóm tắt vấn đề này trong chương kiểm soát sự tăng sinh của tế bào (xuất bản năm 1977) với cả sự lạc quan xen lẫn hoài nghi:

“Về vấn đề một số khác biệt có thể được sao chép lại đã nói với chúng ta rằng, các nghiên cứu về ung thư ở mức phân tử không còn là một khoa học viễn vọng theo kiểu đông - ky- sốt nữa. Mặt khác, chúng ta không được làm cho chính chúng ta phải thất vọng bởi vì chúng ta có thể đo được hàm lượng AMP vòng và nếu thông minh hơn nữa chúng ta sẽ khảo sát GMP vòng. Theo bất kỳ nghĩa nào chúng ta cũng đang tiến gần tới đỉnh của các vấn đề ung thư nhiều công trình nghiên cứu về ung thư vẫn đang tiếp tục tương tự như việc tìm kiếm một đồng xu bị mất ven một con đường mà đôi khi chỉ được rọi sáng bằng ánh đèn chiếu sáng của đường phố. Điều cần thiết là chúng ta phải được nhìn vào những vùng được chiếu sáng, còn nếu chúng ta có nhìn thật lâu đến đâu đi nữa trong bóng tối thì việc tìm kiếm cũng không bao giờ thành

công. Vì vậy hầu hết các thành phần của màng tế bào bình thường vẫn là những chiếc hộp đen, và hóa sinh học ung thư vẫn là sự huyền bí đối với các thế hệ tương lai.

Tuy vậy, chỉ vài năm sau đó các kỹ thuật đã được cải tiến cho việc thao tác các phân tử sinh học đã làm lóe sáng trên những chiếc hộp đen đó, dần dần người ta đã khám phá ra các thông tin chi tiết hóa sinh về mạng lưới các con đường chế ngự các quá trình tế bào và phát hiện ra rằng nhiều gen có liên quan tới việc điều hòa quá trình tăng trưởng của các tế bào bình thường (phân chia, biệt hóa và chết của tế bào) đã bị biến đổi ở các tế bào khối u.

Với việc so sánh giữa các tế bào bình thường và các tế bào ác tính ở mức độ gen đã nhanh chóng chỉ ra sự liên can của các gen ung thư trội trong việc suy diễn căn nguyên ung thư, nhưng thông tin về các thành viên của họ TSG thì vẫn còn rất khó hiểu. Mặc dầu đã có bằng chứng sinh học về sự tồn tại của gen kiểm chế khối u từ những công trình trong những năm 1970 và 1980, nhưng các công trình về hóa sinh, sinh học của TSG ở mức phân tử thì vẫn đòi hỏi phải có các chiến lược tiên tiến hơn nữa khi nghiên cứu sinh học gen ung thư và phải làm sáng tỏ vai trò của TSG trong các quá trình ở tế bào bình thường cũng như các tế bào ung thư. Trong những năm 1990, người ta đã phát hiện ra sự mất chức năng của một vài TSG ở khá nhiều dạng ung thư khác nhau, phúc đáp lại các câu hỏi về sinh bệnh học phân tử của ung thư và con đường dẫn tới các mẫu di truyền hiện tại: ung thư là kết quả của sự tích lũy đa tổn thương di truyền trong suốt thời gian sống của một cá thể. Khi mất chức năng ở TSG thì sẽ dẫn tới ung thư. Trong các ung thư có tính chất gia đình thì một alen biến đổi được di truyền lại như một đột biến mầm, còn alen kia là kết quả của sự biến đổi thu được sau này. Còn với ung thư rời rạc đó là kết quả của sự đột biến soma ở cả 2 alen gen nguy cấp của cá thể.

Mặc dầu cơ sở di truyền của sinh khối u đã được thừa nhận, nhưng việc trị liệu thay thế gen lại không được cân nhắc trước tiên với tư cách như một chiến lược điều trị ung thư, bởi vì việc hiệu chỉnh một trong số các đa tổn thương dường như không thể làm cho khối u thoái lui. Các nghiên cứu về sự thay thế TSG trong các dòng tế bào và trên các động vật thí nghiệm những năm cuối 1980 và đầu 1990 tuy đã cho thấy những sai sót đáng ngờ, nhưng 3 khảo sát lâm sàng về thay thế gen p53 trong ung thư kết tràng và ung thư phổi vẫn được khởi đầu vào năm 1994. Đến cuối 2002, 25 quy trình thay thế TSG đã được phê chuẩn bao gồm 7 khảo sát pha II và 2 khảo sát pha II-III. Những kết quả của các khảo sát lâm sàng đã nhanh chóng đưa ra bằng chứng của các nguyên lý bằng việc chứng minh có sự chuyển giao TSG tới các tế bào khối u, sự biểu hiện gen trong các tế bào đích, hiệu ứng gây độc tối thiểu và những bằng chứng sau cuối về thoái lui hay ổn định của các khối u đã được xử lý. Những khảo sát sau này đã chứng minh rằng việc thay thế TSG cũng hoàn lại cho các khối u sự nhạy cảm hơn đối với các hiệu ứng trị liệu DNA (bị hủy hoại), mở rộng ứng dụng việc thay thế TSG với các quy trình có sự kết hợp giữa trị liệu thay thế TSG với hóa trị liệu và xạ trị.

Nhờ những kết quả đầy hứa hẹn này trong lâm sàng mà đã đẩy nhanh tiến độ của các công trình thực nghiệm và kết quả của các nghiên cứu ở phòng thí nghiệm đã tạo điều kiện để đưa ra giả định mới là sự hủy hoại TSG xảy ra tương đối sớm trong diễn tiến của các tổn thương di truyền dẫn tới ung thư. Sự hủy hoại của TSG ứng viên phát hiện được ở biểu mô phổi bình thường và trong các tổn thương tiền u đã chứng minh rằng các TSG ngoài việc đem lại lợi ích trị liệu đối với các bệnh nhân ung thư nó còn có giá trị trong việc phòng ngừa và phát hiện sớm ung thư.

TÍNH CHẤT SINH HỌC VÀ HÓA SINH CỦA TSG

Người gác cổng (gatekeeper) và người quản gia (carekeeper)

Theo như bảng thống kê thì rõ ràng là chức năng chủ yếu của TSG là người gác cổng (gatekeeper) cho tế bào còn một số khác lại giống như người quản gia (caretaker) hơn (xem Bảng 3.1). Một số TSG như p53 lại biểu hiện cả chức năng người gác cổng cũng như là người quản gia. Nói chung, các TSG gác cổng sẽ điều hòa trực tiếp chức năng tế bào liên quan tới tăng trưởng, biệt hóa và chết của tế bào; các gen quản gia thì kiểm soát các quá trình tế bào liên quan tới việc sửa chữa các gen hư hỏng và duy trì sự toàn vẹn của hệ gen.

Các đột biến ở gen gác cổng sẽ trực tiếp dẫn đến ung thư, cho phép sự tăng sinh không kiểm soát và làm gián đoạn cảm ứng apoptosis; sự bất hoạt của các gen quản gia sẽ dẫn tới sự mất ổn định di truyền, kết quả là gây đột biến ở các gen khác kể cả các TSG gác cổng. Các ví dụ về gen gác cổng là *p53*, *p73*, *PTEN*, *Fhit* (Fragile histidine triad bộ ba histidine dễ gãy), *Rb* (retinoblastoma) (u nguyên võng mạc), *Von Lindau* (bệnh u mạch võng mạc di truyền có đặc điểm kết hợp với u mạch tiểu não bẩm sinh; cũng có thể có các tổn thương tương tự ở tủy sống và các u nang ở tủy, thận và các nội tạng khác. Triệu chứng thần kinh bao gồm: co giật, chậm phát triển trí tuệ), *APC* (adenomatous polyposis) và *NF1* (neurofibromatous type 1) (u xơ thần kinh type 1). Các gen quản gia bao gồm *ATM* (ataxia telangiectasia mutated) (đột biến mất điều hòa giãn mao mạch), *BRCA1*, *BRCA2*, *ATR* (*ATM* and *Rad3* related) và các gen sửa chữa những bất hợp lý. Tóm tắt chức năng của một số TSG hay biến đổi nhất trong ung thư và các bệnh liên quan với chúng được trình bày ở Bảng 1.

Những TSG có thể cảm ứng được apoptosis hoặc kiềm chế sự tăng trưởng khối u thường nhất là các gen gác cổng, đó là những đích hấp dẫn nhất đối với việc phát triển các chiến lược thay thế gen. Một số TSG rõ ràng gây cảm ứng apoptosis hay làm dừng chu kỳ tế bào khi được đưa vào các tế bào khối u như *APC*, *RB*, *p16*, *p21*, *E2F1*, *PTEN*, *Fhit*, *p73* và TSG được lưu ý nhất hiện nay là *p53*.

Các TSG, con đường làm ngừng sự tăng trưởng và chết theo chương trình của tế bào

Vô số chức năng quan trọng của các TSG trong tế bào bình thường chưa được đề cập một cách chi tiết trong chương này. Tuy nhiên, có thể tóm tắt vai trò của p53 trong các con đường (pathway) tế bào sẽ giúp chúng ta hiểu rõ hơn về những lý do phía sau của việc trị liệu thay thế gen p53 cũng như thay thế hợp lý của các TSG khác.

Sự biểu hiện của một số sản phẩm gen bao gồm các yếu tố tăng trưởng, các gen gây ung thư, các cyclin và kinase phụ thuộc cyclin (cyclin-dependent kinase CDK) hướng tế bào (TB) tới tăng sinh. Sự biểu hiện của các TSG và các chất ức chế khác của CDK sẽ cảm ứng chu kỳ TB ngừng lại khi thích hợp, duy trì số lượng TB ở mức thích hợp đối với một mô cá biệt. Sự tăng sinh TB của động vật có vú hầu hết được điều hòa bởi 2 con đường liên hệ với nhau, đó là con đường *Rb* và con đường *p53*, cả 2 con đường này đều được điều hòa ở mức độ protein bởi các gen ung thư (oncogene) và cả các TSG khác. Nhìn chung, protein *Rb* (sản phẩm TSG của u nguyên bào võng mạc) điều hòa sự duy trì, giải phóng pha G1 còn protein *p53* điều hành stress của TB và hủy hoại DNA hoặc gây ảnh hưởng tới sự ngừng tăng trưởng và sửa chữa hoặc là cảm ứng apoptosis. Khi hủy hoại một hoặc nhiều gen trong các con đường này có thể hướng TB tới việc sử dụng một con đường khác cho sự điều hòa tăng sinh, nếu không duy trì được con đường này nữa thì bắt đầu tăng sinh ngoài tầm kiểm soát.

Khi một TB bị stress do khởi động gen ung thư, suy giảm oxy mô hay hủy hoại DNA thì đó là nhiệm vụ của người bảo vệ hệ gen (guardian of the genome) p53, xác định xem TB sẽ nhận tín hiệu để tạm nghỉ ở giai đoạn G1 của chu kỳ TB hay sẽ nhận tín hiệu sửa chữa hoặc là sẽ tự hủy hoại mình thông qua apoptosis. Apoptosis giữ vai trò chính trong rất nhiều cơ chế của TB bình thường từ khi sinh phôi cho tới hủy hoại DNA gây bởi các đột biến ngẫu nhiên, bức xạ ion hóa và các chất hóa học gây hủy hoại DNA và cũng liên quan tới cơ chế chủ chốt trong chết theo chương trình của TB khi trị liệu ung thư (gây hủy hoại DNA) như hóa trị và xạ trị.

Sự cân bằng được duy trì một cách chính xác giữa 2 dạng tín hiệu nhận được bởi một TB ở một thời điểm bất kỳ - tiền apoptosis (proapoptosis) và tiền sống sót (prosurvival antiapoptotic) sẽ xác định apoptosis có bị cảm ứng hay không. Mặc dầu những tín hiệu này được xác định là do hoạt tính của protein p53, nhưng biểu hiện của nhiều gen sẽ nảy ra các tín hiệu nguy cấp mà các tín hiệu này lại được điều hòa bởi trạng thái hoạt hóa của p53, tạo nên vòng feedback phức tạp. P53 thực hiện nhiệm vụ giữ nhà (house keeping) bằng cách nhắm vào các gen tiền sống sót (prosurvival) hoặc kháng apoptosis (antiapoptotic), kể cả các proto -oncogene như *bcl-2*, *bcl-X2*, *bcl-w* và *CED9*, cũng như các gen proapoptosis như *bax*, *bad*, và *bid*. Bản sao của mỗi gen này có thể tương tác với nhau tạo nên các dimer dị loại (heterodimer) và tỷ lệ tương đối giữa proapoptosis với các protein prosurvival trong các heterodimer sẽ xác định TB đang sống hay sẽ hướng tới apoptosis.

Con đường p53 được điều hòa bởi mức protein của các TSG khác và bởi một số gen ung thư (oncogene). Chẳng hạn như *mdm2* (sản phẩm của proto -oncogene *mdm2*) gắn bình thường với N - terminal transactivating domain của p53, tiền ức chế hoạt hóa p53, dẫn tới phân rã nhanh của nó. Trong sự kiện stress gen độc tính kết quả là làm hủy hoại DNA do sự phosphoryl hóa serin trên p53, làm yếu liên kết với *mdm2* và làm mất ổn định tương tác p53 /*mdm2*. Kết quả là làm tăng hoạt tính liên kết DNA trong p53 dẫn đến chuỗi tín hiệu điều chỉnh xuống gây nên việc đóng hoặc mở các gen khác.

Bảng 3.1. Các TSG gây gián đoạn thường gặp trong ung thư: chức năng bình thường và các bệnh liên quan tới mất chức năng.

Gen	Chức năng	Các bệnh liên quan tới mất chức năng
Rb (retinoblastoma)	Ức chế phiên mã các gen cần cho tái bản DNA và phân chia TB, quan trọng trong cảm ứng apoptosis	U nguyên bào võng mạc, Sarcoma xương, UT tuyến TL, UT vú
p53	Yếu tố phiên mã nhằm vào p21, bax, PIG-18, mdm2, GADD45, DR5; kiểm chế biểu hiện bc102 và PCN; kiểm soát trạm kiểm soát G1 và G2; cảm ứng apoptosis qua sự hoạt hóa phiên mã các gen tiền apoptosis.	Di truyền mầm: hội chứng Li - Fraumeni (ung thư vú, UT phổi, các khối u mô mềm, u não, bệnh bạch cầu, sarcoma xương. Đột biến soma: các loại UT
P16/INK4a	Gen gác cổng, duy trì chức năng bình thường bằng cách ức chế CDK4 và CDK6, thúc đẩy chuyển tiếp G1/S, ổn định và hoạt hóa p53	Các bệnh di truyền dòng mầm: U hắc tố có tính gia đình. Đột biến soma: UT tụy, não
PTEN (cũng được hiểu như là MM AC1 và TEP1)	Gen gác cổng, duy trì mức thấp PIP-3 bằng cách tác động như lipid phosphatase	Di truyền dòng mầm: đa u lành tính, tăng nhạy cảm UT vú, tuyến giáp và UT não Đột biến soma: u nguyên bào đệm, UT nội mạc tử cung, UT tuyến tiền liệt, u hắc tố UT vú và UT buồng trứng
BRCA1	Gen lâm thời; biểu hiện tăng trong pha S của chu kỳ tế bào; tương tác với nhiều protein liên quan tới việc sửa chữa hủy hoại DNA	
BRCA2	Gen lâm thời; sửa chữa hủy hoại DNA	Ung thư vú ở nam và nữ giới
APC	Đa chức năng tế bào; chuyển nạp tín hiệu, kết dính gian bào, ổn định tế bào xương, có thể điều hòa apoptosis và chu kỳ tế bào	Ung thư kết tràng rải rác và di truyền đờc
Neurofibromatosis type 1 (u xơ thần kinh type 1)	Kiểm chế sinh trưởng tế bào bằng cách kiểm soát con đường tín hiệu wnt.	Đột biến di truyền dòng mầm: U bao thần kinh ngoại vi lành tính; hướng các khối u nguyên phát
gồm:		Phổi, dạ dày, vú, kết tràng, cổ tử cung, đầu và cổ; 80% u phổi TB nhỏ; 40% u phổi không biệt hóa TB nhỏ
FHIT	Chưa rõ	

UT: Ung thư

Ở các TB bình thường, mdm2 bị ức chế bởi proto -oncogene làm cảm ứng biểu hiện *p19ARF* - một TSG được mã hóa bởi cùng một locus gen như *p16INK4a*, nhưng lại đọc ở khung đọc luân phiên (alTeRNAtive reading frame).

Vì p53 hoạt hóa có bán phần sống rất ngắn (khoảng 20 phút) nên việc gắn của mdm2 phải được kiểm soát để đảm bảo chắc chắn rằng p53 hoạt hóa phải ở mức rất thấp trong TB bình thường, vì thế đòi hỏi phải duy trì cân bằng giữa tăng sinh và ngừng chu kỳ TB hoặc apoptosis. Cả *Rb* và *p53* đều bị biến đổi trong ung thư, vì thế một số TSG khác và proto -oncogene đều có liên quan tới các con đường này. Ví dụ như, khi loại bỏ TSG *p19ARF* sẽ dẫn đến tăng mức mdm2 và tiếp theo là bất hoạt p53 dẫn đến tiến triển không thích hợp xuyên qua chu kỳ tế bào.

THAY THẾ TSG TRONG UNG THƯ

Thành công của các chiến lược thay thế gen đối với ung thư trước hết phải kể đến là việc chuyển thành công các gen trị liệu vào trong các mô đích dự định rồi sau

đó biểu hiện được gen ở các mức độ thích hợp với độc tính thấp có thể chấp nhận được. Chỉ khi nào các đòi hỏi này đã được thỏa mãn thì mới định lượng được mức độ thoái lui của khối u và mới thỏa mãn được các ích lợi trị liệu. Một số TSG được đề cập ở đây đã tỏ rõ tiềm năng ứng dụng trong các thí nghiệm tiền lâm sàng tại phòng thí nghiệm và các nghiên cứu trên động vật và một số có thể được ứng dụng trong các thử nghiệm lâm sàng. Bởi vì hầu hết các thử nghiệm lâm sàng cho tới nay đều liên quan tới việc thay thế các TSG dễ bị biến đổi nhất trong ung thư như p53 chẳng hạn, vì vậy chúng ta sẽ bàn luận về các nghiên cứu tiền lâm sàng và sau đó là các thử nghiệm lâm sàng hướng vào gen này. Những tiến bộ đạt được khi thay thế gen p53 cũng tạo điều kiện cho chúng ta hiểu rõ hơn về các ứng dụng tiềm năng của các TSG khác đối với trị liệu ung thư.

Trị liệu thay thế TSG: trường hợp p53

Lý do cơ bản

Mất chức năng p53 quan sát thấy ở mức trên 50% với tất cả các u ác tính, đó là tổn thương di truyền thông thường nhất trong ung thư. Nếu sau đó ta cài một bản sao gen hoang dã thì cũng đủ để hoàn trả sự cân bằng bình thường giữa tăng sinh và chết theo chương trình của tế bào đối với một TB khối u. Hơn nữa, vai trò đặc biệt của p53 trong việc cảm ứng sự chết theo chương trình của TB chỉ rõ rằng việc thay thế gen này có thể làm hoàn trả hoặc tăng cường tính nhạy cảm đối với các tác nhân trị liệu như hóa trị, xạ trị - tùy thuộc vào sự hủy hoại DNA và apoptosis phụ thuộc p53. Nó được coi như một cơ chế phá hủy các TB khối u.

Các nghiên cứu tiền lâm sàng về thay thế gen p53

Các nghiên cứu trong phòng thí nghiệm trước đây ở mô hình ung thư phổi của người đã chứng minh rằng TSG p53 được chuyển giao qua vec tơ biểu hiện retrovirus đã hoàn trả sự kiểm chế tăng trưởng khối u. Tương tự như vậy, sự hoàn trả p53 chức năng đã kiểm chế tăng sinh của một số chứ không phải toàn bộ các dòng TB ung thư phổi trên người. Mặc dầu việc chuyển gen TB khối u kiểm chế tăng trưởng đã được chứng minh là thành công với các vec tơ biểu hiện retrovirus, nhưng hiệu ứng tải nạp của vec tơ này vẫn bị giới hạn như vốn có của nó. Khác với retrovirus, các adenovirus lại có thể được sản xuất ở các độ chuẩn cao và có khả năng thâm nhiễm cả TB đang phân chia cũng như không phân chia. Do vậy, những thí nghiệm tiếp sau đó đã được thực hiện với các vec tơ adenovirus.

Vì adenovirus không hợp nhất vào trong hệ gen nên biểu hiện của nó ngắn. Tuy nhiên, tình trạng này không được coi là bất lợi trong GTL ung thư vì sự phá hủy các TB ung thư mới là điểm mong muốn cuối cùng của trị liệu.

Lúc đầu người ta sợ rằng hiệu ứng GTL đối với ung thư có thể bị giới hạn vì khó có khả năng một vec tơ lại có thể tải nạp được mọi TB trong một khối u. Tuy nhiên, Fujiwara, Cusack và các đồng nghiệp đã chứng minh rằng trong cấu trúc 3 chiều chất kết dính (matrix) TB ung thư và ghép ngoại lai dưới da thì gen dùng để trị liệu dường như là được phát tán xa dần từ vị trí tiêm (trực tiếp tức thời vào khối u) tới các TB khối u không tải nạp thông qua hiệu ứng người ngoài cuộc (bystander). Việc giết chết người ngoài cuộc dường như có liên quan tới các cơ chế phức tạp hơn chứ không đơn thuần là sự trải rộng của các vec tơ ra ngoài vị trí tiêm. Một vài cơ chế giả định là sự tạo mạch (angiogenesis), điều hòa tăng miễn dịch và tiết các protein tiền apoptosis hòa tan.

Việc chuyển p53 vào các TB ung thư đã được Zhang và cộng sự chứng minh cũng như trong các nghiên cứu kế tiếp, phức hợp gen /vec to (Adp53) này đã cảm ứng apoptosis các TB ung thư (p53 đã mất chức năng) nhưng không tác động đáng kể tới tăng sinh của các TB bình thường.

Adp53 cũng ức chế tăng sinh khối u với mô hình ung thư phổi của người trên chuột và cảm ứng apoptosis cũng như kiềm chế sự tăng sinh các dòng TB gây ung thư tụy, ung thư trực - kết tràng và các khối u trên vú của người. Các nghiên cứu *in vivo* về chuyển gen p53 trong mô hình ghép ngoại sinh khối u trên chuột cũng cho thấy có kiềm chế đáng kể tăng sinh các khối u trên người. Các TSG khác cũng kiềm chế tăng sinh khối u trong nuôi cấy TB và trong các mô hình trên động vật.

Các thử nghiệm lâm sàng về thay thế gen p53

Từ những kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng về p53 retrovirus đã dẫn tới việc phê chuẩn một protocol thử nghiệm lâm sàng đầu tiên về thay thế gen p53. Một vec to retrovirus biểu hiện p53 hoang dã dưới sự kiểm soát của promoter - actin đã được đưa vào các khối u của 9 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ mà không thể phẫu thuật được (non small cell lung cancer NSCLC) và đã kháng lại các phương pháp điều trị khác. Người ta không thấy độc tính liên quan tới vec to và 3 trong số 9 bệnh nhân đã có bằng chứng là có hoạt tính kháng u. Điều đó đã chứng minh cho tính khả thi và độ an toàn của gen trị liệu. Vì những lý do đã nêu trên nên những thử nghiệm lâm sàng xa hơn về sự chuyển gen p53 người ta đã sử dụng vec to biểu hiện adenovirus.

Có 18 bệnh nhân NSCLC không đáp ứng với các phương pháp điều trị thông thường đã được tuyển mộ vào thử nghiệm lâm sàng pha I. 80% bệnh nhân được đánh giá là đã chuyển gen thành công. DNA p53 đặc hiệu vec to phát hiện thấy ở 46% bệnh nhân, apoptosis thấy ở tất cả các bệnh nhân, một trong số các bệnh nhân biểu hiện được gen này. Điều quan trọng nhất là mặc dù mỗi bệnh nhân phải tiêm tới 6 mũi nhưng không thấy xuất hiện hiệu ứng gây độc đáng kể liên quan tới sự chuyển vec to. Thêm vào đó là có 2 bệnh nhân giảm kích thước khối u tới 50%. Một bệnh nhân duy trì tình trạng không khối u trên 1 năm sau khi kết thúc trị liệu và trên thực nghiệm với khối u nội phế quản đã kháng lại hóa trị, xạ trị và laser đã cho kết quả tuyệt vời - các khối u dường như thoái lui hoàn toàn.

Một công trình nghiên cứu pha I trên 33 bệnh nhân bị ung thư vùng đầu, cổ tế bào vảy cũng cho kết quả là việc chuyển cấu trúc p53 tuy có gây độc tính nhẹ, nhưng lại có đáp ứng lâm sàng rõ ràng ở 9 trong số 18 bệnh nhân khảo sát. Thử nghiệm lâm sàng pha II tiếp theo với p53 cho trên 200 bệnh nhân bị ung thư vùng đầu, cổ tế bào vảy tái phát cũng cho kết quả: đáp ứng toàn phần hoặc từng phần với khoảng 10% bệnh nhân. Có một số bằng chứng cho thấy có hoạt tính kháng u ở 60% bệnh nhân.

Những nghiên cứu này cùng các công trình khác nữa đã chứng tỏ được rằng chuyển gen p53 là một chiến lược lâm sàng khả thi, kết quả là chuyển gen và biểu hiện gen thành công, độc tính thấp và được chỉ định chắc chắn cho việc làm thoái lui các khối u. Thử nghiệm lâm sàng về sự thay thế PSG đã được đăng ký bao gồm các thử nghiệm liên quan tới *p53*, *Rb*, *mda7*, *BRC1* và *p16* đã được tóm tắt trong Bảng 3.2. Lưu ý rằng, tất cả các thử nghiệm lâm sàng liên quan tới DNA tái tổ hợp được thực hiện ở các Viện nghiên cứu muốn nhận được quỹ của liên bang phải được Viện sức khỏe quốc gia (NIH), Hội đồng cố vấn DNA tái tổ hợp (RAC) phê chuẩn. Với các nghiên cứu không nhận được quỹ liên bang cũng phải trình protocol và các hiệu ứng phụ khi điều trị để tổng hợp vào kho số liệu của NIH.

Bảng 3.2. Các thử nghiệm lâm sàng về sự thay thế TSG

Protocol phê	TSG/ trị liệu khác	Vec tơ	Bệnh	Đường vào	Pha / năm chuẩn
9812-275	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	Ung thư tiến triển	Tĩnh mạch	1/1998
9601-195	<i>Rb</i>	Adenovirus serotype 5	UT bang quang	Phế nang	1/1990
9710-219	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT bang quang	Phế nang	1/1997
9808-263	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT não /u TK đệm	Trong khối u	1/1998
9709-216	<i>P53</i> /hóa trị	Adenovirus serotype 5	UT vú	Trong thương tổn	1/1997
9904-305	<i>P53</i> / thanh lọc các TB UT khỏi TB gốc	Tế bào gốc	UT vú	Tĩnh mạch cùng với TB gốc	1/1999
0101-455 1/2001	<i>P53</i> /hóa trị	Adenovirus serotype 5	UT vú	Trong khối u	
0104-171	<i>Mda7</i>	Adenovirus serotype 5	UT vú	Trong khối u	1/2001
9412-097 1/1994	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT kết tràng cùng	Trong gan / động	
9905-318 11/1999	<i>P53</i> /hóa trị	Adenovirus serotype 5	với di căn gan UT kết tràng cùng	mạch gan Trong gan / động	
9403-031 1/1994	<i>P53/gen UT Ras</i>	Adenovirus serotype 5	với di căn gan UT phổi	mạch gan Trong khối u	
9406-079 1/1994	<i>P53</i> / hóa trị	Adenovirus serotype 5	UT phổi	Trong khối u	
9710-220 11/1997	<i>P53</i> /hóa trị	Adenovirus serotype 5	UT phổi (không biệt	Trong khối u	
9804-250 /1998	<i>P53</i> / xạ trị	Adenovirus serotype 5	hóa TB nhỏ) UT phổi (không biệt	Trong khối u	I-II
9902-287 1/1999	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	hóa TB nhỏ) UT phổi (phế quản)	Đường hô hấp	
9902-288	<i>P53</i> /xạ trị	Adenovirus serotype 5	UT phổi (không biệt	Trong khối u	1/1999
0101-448 /2001	<i>P53</i> /xạ trị +hóa trị	Adenovirus serotype 5	hóa TB nhỏ) UT phổi (không biệt	Trong khối u	II-III
0201-513	<i>P53</i>	Phức hợp gen liposome	hóa TB nhỏ UT phổi (NSCLC)	Tĩnh mạch	1/2002
9603-149	<i>BRCA-1</i>	Retrovirus	UT buồng trứng	Trong màng bụng	1/1996
9806- 255	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT buồng trứng	Trong màng bụng	1/1998
9807 -262	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT buồng trứng (kháng hóa trị)	Trong màng bụng	1/1998
9901-280 1999	<i>P53</i> / hóa trị	Adenovirus serotype 5	UT buồng trứng	Trong màng bụng	II-III/
9909-339 1999	<i>BRCA-1</i>	Retrovirus	UT buồng trứng	Trong màng bụng	I-II/
9706-192	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT tuyến tiền liệt	Trong khối u	I/ 1997
9710-217 /1997	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT tuyến tiền liệt	Trong khối u	I-II
9909-338 2000	<i>P16</i> <i>P53</i> / cấy hạt	Adenovirus serotype 5 Adenovirus serotype 5	UT tuyến tiền liệt UT tuyến tiền liệt	Trong khối u Xuyên da / cấy qua	1/ 1999 II/
9412-096	phóng xạ <i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT đầu, cổ (TB vảy)	màng bụng Trong khối u	I/ 1994
9709-214 1997	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT đầu, cổ (TB vảy)	Trong khối u	II/
9712-226 1007	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT đầu, cổ (TB vảy)	Trong khối u	II/
9912-366 III/1999	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT đầu, cổ (TB vảy)	Trong khối u	
0009-412 2000	<i>P53</i> / hóa trị	Adenovirus serotype 5	UT đầu, cổ (TB vảy)	Trong khối u	III/
0101-445 I/III/2001	<i>P53</i>	Adenovirus serotype 5	UT đầu, cổ (TB vảy)	Trong khối u	
0101-454 II/2001	<i>P53</i> / hóa xạ	Adenovirus serotype 5	UT đầu, cổ (TB vảy)	Trong khối u	

Thay thế gen p53 kết hợp với các tác nhân gây hủy hoại DNA thông thường

Lý do cơ bản của trị liệu kết hợp

Nhiều bệnh nhân thất bại với các phương pháp thông thường bởi vì các khối u của họ đã kháng lại các tác nhân hủy hoại DNA như hóa trị, xạ trị. Một lần nữa ẩn ý là apoptosis như là một cơ chế bình thường của phá hủy tế bào trong đáp ứng với các tác nhân hủy hoại DNA, theo sau đó là khiếm khuyết trên con đường apoptosis bình thường có thể lại ban cho các tế bào ung thư một sức đề kháng lạ thường. Thường để làm mất chức năng các khối u đã kháng lại hóa trị và xạ trị thì p53 giữ vai trò rất quan trọng trong việc phát hiện sự hủy hoại DNA và định hướng cho sửa chữa hay phá hủy TB thông qua apoptosis. Sự liên hệ giữa p53 và apoptosis đã tạo dựng nên các chiến lược trị liệu kết hợp thay thế gen p53 và các phương pháp trị liệu hủy hoại DNA thông thường. Độc tính thấp (ít hơn 5% sự cố nghiêm trọng) của p53 trong các thử nghiệm khởi đầu đã chứng minh rằng gen trị liệu với p53 có thể được kết hợp cùng với các phương pháp trị liệu kháng ung thư khác mà không làm tăng độc tính trong quá trình trị liệu.

Các nghiên cứu tiền lâm sàng

Một vài nghiên cứu *in vitro* đã chứng minh rằng việc biểu hiện quá mức p53 trong các dòng TB thâm chuyển p53 dạng hoang dại có thể dẫn các TB tới apoptosis. Theo sau *in vitro* và các nghiên cứu trên động vật là kiểm tra apoptosis ở các TB ung thư đã được xử lý với các tác nhân xạ trị và hóa trị càng củng cố cho ý kiến cho rằng có sự liên kết giữa cảm ứng apoptosis và biểu hiện p53 chức năng.

Các nghiên cứu tiền lâm sàng và gen trị liệu p53 kết hợp cùng cisplatin trong nuôi cấy tế bào NSCLC và ghép ngoại lai người trên chuột nude đã chứng minh rằng khi thực hiện nối tiếp việc đưa cisplatin vào và gen trị liệu p53 sẽ làm tăng biểu hiện các sản phẩm gen p53. Trên 50% tế bào xử lý trước với cisplatin đã có apoptosis sau chuyển gen 12 giờ; trên 90% tế bào trải qua apoptosis sau 24 giờ. Những TB không được tiền xử lý với cisplatin trước khi chuyển gen thì chỉ có 19 và 68% tế bào apoptosis ở 12 giờ và 24 giờ. Các nghiên cứu trị liệu với cisplatin toàn hệ thống trước khi chuyển gen p53 vào chuột nude đã cho kết quả làm giảm ít nhất 50% kích thước khối u khi so sánh với chuột chỉ được chuyển gen p53 đơn thuần.

Tương tự như vậy, các nghiên cứu tiền lâm sàng về chuyển gen có sự kết hợp với xạ trị cho thấy chuyển gen p53 tới các TB khối u khiếm khuyết p53 thì cả *in vitro* và *in vivo* đều tăng độ nhạy cảm với xạ trị. Khi các TB ung thư trực kết tràng người nuôi cấy *in vitro* được chiếu tia gamma thì 55% các TB khối u vẫn còn sống sót; khi thâm chuyển các TB với p53 trước khi tia xạ thì hạ thấp tỷ lệ sống sót các TB ung thư tới 23% và tăng apoptosis. Sự kiểm chế khối u đáng kể cũng quan sát thấy ở mô hình khối u trên động vật khi chúng nhận p53, sau đó là xạ trị; tái tăng trưởng các khối u cũng chậm đi 2 ngày khi khối u chỉ được xử lý bằng xạ trị và 15 ngày khi xử lý bằng chuyển gen. Tuy nhiên, các khối u của động vật khi nhận gen p53 rồi sau đó xạ trị thì đòi hỏi phải mất 37 ngày mới đạt được kích cỡ ở thời điểm trước khi điều trị.

Rất nhiều công trình nghiên cứu khác đã được thực hiện càng ủng hộ ý kiến cho rằng có bằng chứng về sự liên hệ đặc biệt giữa độ nhạy cảm xạ trị và khả năng cảm ứng apoptosis của một tế bào. Tuy nhiên, độ nhạy cảm phóng xạ của một vài dạng u (chẳng hạn như u biểu mô) thì không thấy có sự liên quan tới trạng thái của p53.

Các thử nghiệm lâm sàng về thay thế TSG kết hợp với hóa trị liệu

Thử nghiệm p53 pha I phối hợp với cisplatin được tiến hành trên 24 bệnh nhân ung thư NSCLC trước đó đã không đáp ứng với các phương pháp điều trị thông thường. Về phần bệnh nhân, 75% tham gia thử nghiệm đã được chứng minh từ trước là khối u có tiến triển trong chế độ điều trị với cisplatin hay carboplatin. Sau liệu trình điều trị 6 tháng đưa cisplatin qua đường tĩnh mạch và cứ 3 ngày lại tiêm p53 vào khối u, kết quả là 17 bệnh nhân duy trì ổn định ít nhất 2 tháng, 2 bệnh nhân có đáp ứng

phần nào và 4 bệnh nhân vẫn tiếp tục ức chế được bệnh (một bệnh nhân không được đánh giá về tiến triển của bệnh). Phân tích hoạt tính apoptosis ở sinh thiết u cho kết quả 79% tăng số TB apoptosis, 14% không thay đổi và 7% giảm apoptosis.

Một nghiên cứu pha II nhằm đánh giá so sánh 2 tổn thương trên mỗi bệnh nhân có NSCLC di căn. Tất cả bệnh nhân được hóa trị hoặc 3 chu kỳ với carboplatin cộng với paclitaxel hoặc 3 chu kỳ cisplatin cộng với vinorelbine. P53 được tiêm trực tiếp vào trong một tổn thương, còn tổn thương kia được dùng làm đối chứng và không được tiêm thuốc. Mục tiêu của nghiên cứu này là chứng minh có tăng đáp ứng phóng xạ trong tổn thương được tiêm để so sánh với tổn thương không được tiêm. Việc trị liệu bằng p53 cho kết quả là độc tính liên quan tới vec tơ là nhỏ nhất và không tăng thêm các sự kiện đối nghịch liên quan tới hóa trị. Phân tích thống kê các số liệu đã hợp nhất cho thấy p53 không làm tăng lợi ích cho các bệnh nhân được hóa trị lần đầu. Kết quả kiểm tra cho thấy nếu chỉ sử dụng cisplatin hay vinorelbine đơn lẻ thì thành công rất thấp. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng sự thoái lui của khối u cục bộ khi đo kích thước thì thấy các tổn thương được tiêm p53 tốt hơn tổn thương đối chứng.

Một nghiên cứu lâm sàng pha I/II do Buller và cộng sự thực hiện trên các bệnh nhân ung thư buồng trứng tái phát đã chứng được độ an toàn và tính dung nạp đối với p53 liều đơn hay đa liều được đưa qua màng bụng kết hợp cùng hóa trị liệu với nền tảng platin. Một nghiên cứu dài hạn về các bệnh nhân này cho thấy: những cá thể nhận đa liều p53 cùng với hóa trị thì thời gian sống sót trong khoảng 12-13 tháng, còn các bệnh nhân được xử lý với liều đơn p53 thì thời gian sống sót chỉ khoảng 5 tháng. Sau hơn 20 tháng trị liệu với đa liều cho các bệnh tái phát đã có 10 người sống sót dài hạn, trong khi đó chỉ có 2 bệnh nhân nhận liều đơn p53 là sống sót dài hạn.

Các thử nghiệm lâm sàng về thay thế TSG kết hợp với xạ trị

Sự thành công trong các nghiên cứu tiền lâm sàng cho thấy việc thay thế gen p53 có thể tạo tính nhạy cảm phóng xạ đối với một số u, do đó dẫn tới việc khởi đầu thử nghiệm lâm sàng pha II về chuyển gen p53 qua trung gian adenovirus đi cùng với xạ trị. Những số liệu sơ bộ có được từ 19 bệnh nhân ung thư NSCLC đã cho thấy có đáp ứng đầy đủ ở 1 bệnh nhân (5%), đáp ứng từng phần ở 11 bệnh nhân (58%), bệnh ổn định ở 3 bệnh nhân (16%) và bệnh tiến triển ở 2 bệnh nhân (11%). Có 2 bệnh nhân (11%) không được đánh giá vì u tiến triển hoặc chết sớm. Sau 3 tháng hoàn tất trị liệu, các kết quả sinh thiết cho thấy khối u không còn tồn tại ở 12 bệnh nhân (63%) và khối u vẫn còn tồn tại ở 3 bệnh nhân (16%). Khối u của 4 bệnh nhân (21%) không được sinh thiết vì khối u tiến triển hoặc chết sớm hoặc bệnh nhân quá yếu. Tỷ lệ sống sót sau 1 năm u không tiến triển là 45,5%. Trong số 13 bệnh nhân được khảo sát thì 5 bệnh nhân (38%) có đáp ứng đầy đủ và 3 bệnh nhân (23%) đáp ứng từng phần hoặc bệnh ổn định. Hầu hết các trường hợp không thành công đều là do bệnh đã di căn, không còn tính chất cục bộ nữa.

PHƯƠNG HƯỚNG TƯƠNG LAI

Mặc dầu những thử nghiệm sớm này về thay thế TSG đã chứng minh rõ ràng gốc rễ của nguyên lý, nhưng việc trị liệu với TSG hiện nay vẫn chưa được áp dụng một cách rộng rãi. Các TSG hiện tại chỉ mới được chuyển tới các khối u bằng kim tiêm hay nội soi. Do vậy việc cải tiến hệ thống chuyển gen là trọng yếu cho sự phát triển tương lai. Hơn nữa, các chiến lược nhằm tận dụng hiệu ứng người ngoài cuộc cũng đang được triển khai và sự kết hợp giữa trị liệu TSG cùng với chuyển gen nhằm ngăn chặn tạo mạch hoặc tăng cường khả năng hệ miễn dịch cũng là một chân trời mở rộng. Những khám phá tiếp tục về thay thế TSG với tư cách là một công cụ hỗ trợ cho các phương

pháp thông thường như hóa trị, xạ trị và phẫu thuật vẫn được nhìn nhận một cách tích cực.

Hiệu ứng người ngoài cuộc

“Giết chết người ngoài cuộc các TB khối u chưa được tải nạp được coi như là một yếu tố quan trọng cho thành công của trị liệu thay thế, vì vậy cho đến nay các chiến lược nhằm tăng cường hiệu ứng này đang được nghiên cứu. Các cơ chế đã được chứng minh về giết người ngoài cuộc bao gồm: ức chế sự tạo mạch, điều hòa lên các thành phần của hệ miễn dịch và tiết các protein tiền apoptosis hòa tan.

Phát triển các vec tơ

Các phương pháp điều trị bằng gen đã được sử dụng cho đến nay trong các nghiên cứu lâm sàng với việc sử dụng các vec tơ là retrovirus, adenovirus và herpes để chuyển các gen vào trong khối u đang rất hứa hẹn. Nhưng vấn đề lớn trong ung thư là việc điều trị các bệnh đã lan tỏa rộng thuộc phổi, vú, trực tràng thì lại đòi hỏi sự phân phối gen toàn hệ thống. Các vec tơ virus bộc lộ được các vấn đề lý thuyết cũng như thực tế vì nó cảm ứng được các đáp ứng miễn dịch và các vấn đề liên quan tới độc tính. Những nghiên cứu sơ bộ cho thấy các liposom được bắn ra có đủ hiệu lực để chuyển các gen một cách hệ thống tới các vị trí xa, với độc tính vec tơ có thể chấp nhận được. Trong các nghiên cứu xa hơn về các liposome này thì 2 TSG (*p53* và *Fhit*) đã được chuyển tới các TB khối u *in vitro*, trong mô hình trên chuột cũng như trong các khối u lan tỏa của người. Biểu hiện gen chuyển trong mỗi khối u quan sát thấy là 25% số tế bào. Biểu hiện có ý nghĩa đáng kể cũng thấy cả trong ung thư phổi nguyên phát cũng như đã di căn. Lập lại các liệu trình trị liệu cũng cho kết quả là tăng 2, 5 lần biểu hiện gen, tăng hiệu quả trị liệu (khi so sánh với những cách điều trị đơn lẻ). Công trình nghiên cứu này đã chứng minh rằng việc chuyển giao qua trung gian liposom của ít nhất 2 TSG có thể kiểm chế được sự tăng trưởng khối u *in vivo* khi được phân phối theo cả hệ thống hay theo từng khu vực; không thấy các hiệu ứng gây độc liên quan tới cách trị liệu này và hệ thống chuyển gen này không bị giới hạn bởi gen hay dạng khối u. Hơn nữa, đã có những kết quả chứng minh về tiềm năng của đa trị liệu mà không gây hiện tượng đề kháng.

Mô đích

Một cách tiếp cận khác nhằm mở rộng ứng dụng GTL mà không cần sử dụng kim tiêm hay nội soi là sử dụng vec tơ adenovirus tái tổ hợp nhằm vào các dạng đặc biệt của TB bằng thao tác các thành phần gắn trên bề mặt TB của hạt virus. Các protein nối 2 chức năng này được cấu trúc bởi một đoạn kháng thể đặc hiệu với protein sợi virus và ligand, yếu tố tăng trưởng biểu bì. Khi cho thêm vào protein này một adenovirus đã làm tăng hiệu quả tải nạp của dòng TB ung thư biểu bì gấp 16 lần so với thâm nhiễm với vec tơ adenovirus tự nhiên.

Một cách tiếp cận khác để chuyển trực tiếp các gen đích tới các TB nội mô có liên quan tới một phân tử bề mặt TB là integrin $\alpha 3$ - có tiềm năng tiếp thu các adenovirus. Hạt nano cation gắn vào integrin targeting ligand có khả năng chuyển các gen một cách chọn lọc tới các mạch máu chuột đang mang khối u.

Thay thế TSG kết hợp với các chiến lược gen trị liệu khác

Các TSG bổ trợ được chuyển giao có thể hợp tác với nhau để cảm ứng apoptosis hiệu quả hơn. Nhờ các *TSGp16INK4* và *p53* trong một tổ hợp sẽ cho một hiệu ứng cộng lực cảm ứng apoptosis các TB gan ung thư (đột biến *p53*) và các TB ung thư trực tràng (*p53* biểu hiện rất thấp) *in vitro*. Việc chuyển giao TSG trong tổ hợp cùng với các gen ung thư khác cũng đang được khảo sát.

Nhận dạng các TSG mới

Các phương pháp sàng lọc những phân đoạn lớn của hệ gen cho các TSG ứng cử viên đã phát hiện được rất nhiều gen hữu ích như các chỉ thị cho sự tiên lượng hoặc chẩn đoán sớm trong việc theo dõi những nỗ lực phòng ngừa cũng như phát triển các chiến lược trị liệu mới. Nhiều gen kế cận nhau có thể gây ức chế hoạt tính kiểm chế khối u *in vitro* và *in vivo* đã được nhận dạng và nó cho phép giả định rằng các gen tại vùng đặc biệt 120-kb ở nhiễm sắc thể 3p21.3 của người có thể hợp tác như vùng kiểm chế khối u do hoạt hóa chức năng con đường kiểm chế khối u.

THỬ NGHIỆM LÂM SÀNG XA HƠN

Trị liệu thay thế gen được coi là một tiêu chuẩn đối với chăm sóc sức khỏe

Trị liệu thay thế gen nhanh chóng trở thành hiện thực với tầm ảnh hưởng tới cả một quần thể nói chung trong tương lai. Vì thế, dường như thời điểm giải quyết các vấn đề xã hội đã tác động mạnh mẽ tới thành bại của việc ứng dụng gen trị liệu. Việc thao tác DNA trong thập kỷ qua đã nảy nở các vấn đề mới và phức tạp thuộc các lĩnh vực xã hội, Y học và khoa học; và các vấn đề xã hội phải được giải quyết một cách thận trọng và toàn diện giống như các vấn đề của khoa học cơ bản và kỹ thuật nếu muốn gen trị liệu giữ vai trò như là phương pháp chuẩn cho việc chăm sóc ung thư. Công nghệ gen trị liệu dù có hoàn hảo đến đâu đi nữa mà công chúng không được biết tới nó thì việc ứng dụng cũng rất hạn chế và những lợi ích thực sự của nó cũng không dễ dàng được chấp nhận.

Để tiến tới việc chấp nhận công nghệ mới và đôi khi có tính ép buộc này chắc chắn sẽ phải vượt qua nhiều trở ngại khi phát triển các chiến lược khoa học. Có những dấu hiệu báo trước về sự lúng túng xung quanh mọi thao tác gen. Thậm chí ngay cả những vấn đề không liên quan gì tới việc chuyển gen tới người cũng vẫn bị chân chừ cho đến tận khi khoa học Y học đảm bảo chắc chắn với cộng đồng là gen trị liệu là an toàn và các nhà khoa học sẽ chịu trách nhiệm về những ứng dụng này. Việc ra các thông báo chính xác (cả dương tính và âm tính) các kết quả thử nghiệm lâm sàng và những tranh cãi trung thực về các giới hạn cũng như những hứa hẹn của gen trị liệu là rất quan trọng. Ở Hoa Kỳ, bước chính thức xúc tiến truyền thông này được thực hiện vào năm 1974 khi ủy ban cố vấn DNA tái tổ hợp (RAC) của NIH được thành lập để trả lời công chúng các vấn đề liên quan tới độ an toàn của thao tác gen. Tất cả các protocol lâm sàng của DNA tái tổ hợp muốn được thực hiện ở các học viện được nhận quỹ từ liên bang đều phải đệ trình tới RAC để được phê chuẩn. Các tác dụng phụ đối nghịch cũng phải đệ trình và phải được các nhà nghiên cứu, thầy thuốc và công chúng chấp thuận cho sử dụng.

Muốn sử dụng những thông tin này cũng như chấp nhận những bằng chứng từ các thử nghiệm lâm sàng đòi hỏi phải am hiểu cơ bản về các khái niệm sinh học phân tử - một cái gì đó mà nhiều bệnh nhân không thể có được. Am hiểu vấn đề này là rất cần thiết đối với bệnh nhân và gia đình của họ để đề xuất được các quyết định tại thời điểm chẩn đoán ung thư. Việc tuyên truyền giáo dục có thể được áp dụng với từng cá nhân để họ có thể hiểu và thông cảm về những ảnh hưởng tiềm ẩn của gen trị liệu đến chất lượng cuộc sống. Cũng cần phải thay đổi tư tưởng của công chúng, cộng đồng y học và những người làm công tác quản lý để có những quyết định đúng nhất về sự phát triển công nghệ gen trị liệu, sao cho phù hợp với đạo đức sinh học.

KẾT LUẬN

Mặc dầu những tiên đoán bước đầu về tiềm năng ứng dụng của trị liệu TSG đối với ung thư vẫn chưa lạc quan lắm, nhưng việc chuyển gen bằng virus cho thấy hiệu ứng ở các TB ung thư cao hơn các TB mô bình thường, các vec tơ virus lan tỏa rất nhanh xuyên qua khối u và gây chết TB theo cơ chế apoptosis. Biểu hiện gen sau khi

tiêm được ghi lại trong các tài liệu là nó xảy ra ngay cả khi có đáp ứng miễn dịch kháng adenovirus. Các thử nghiệm lâm sàng về thay thế gen p53 đã chứng minh rằng khi tiêm trực tiếp vào khối u có thể làm thoái lui chúng hoặc kéo dài sự ổn định các bệnh cục bộ. Với độ tính thấp của chuyển gen nên việc thay thế TSG có thể dễ dàng kết hợp cùng với các phương pháp điều trị khác. Những lo ngại ban đầu cho rằng sự đa dạng của các tổn thương trong các TB ung thư sẽ ngăn cản việc ứng dụng gen trị liệu ung thư là không có cơ sở. Ngược lại, việc sửa chữa các tổn thương do gen đơn có thể được lặp đi lặp lại nhiều lần thì sẽ làm thoái lui đáng kể các khối u. Những thắng lợi thu được ở các thử nghiệm lâm sàng trước đó về thay thế gen p53 đã cung cấp những thông tin hữu ích cho việc thiết kế các chiến lược gen trị liệu tương lai.

Mặc dầu đã có những kết quả hiển nhiên trong thử nghiệm lâm sàng về thay thế gen TSG, nhưng cũng cần phải nhận rõ rằng vẫn còn những lỗ hổng về kiến thức và kỹ thuật. Những lỗ hổng này cần phải lấp đầy thì mới có được các chiến lược trị liệu gen hay nhất. Những khối u không thể cắt bỏ được là vấn đề nổi cộm trong ung thư học, với các trị liệu đã được trắc nghiệm như xạ trị và hóa trị mới chỉ kiểm soát được dưới 50% ung thư phổi. Mặc dù hiện nay có vướng mắc về mặt kỹ thuật gây cản trở cho việc ứng dụng gen trị liệu đối với ung thư, nhưng với việc phát triển các vec tơ hiệu ứng hơn, các gen mới kết hợp với các phương thức tiếp cận mới thì đó vẫn là chân trời mới và là hy vọng trong việc ứng dụng gen trị liệu các bệnh ung thư. Nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh tiềm năng to lớn của việc kết hợp trị liệu TSG với dược phẩm, miễn dịch và trị liệu phóng xạ sẽ tiêu diệt các TB ung thư hiệu quả hơn với số lượng lớn hơn. Trị liệu thay thế TSG nhằm vào gốc rễ của bệnh nên có thể nó sẽ là chiến lược tiềm năng đối với việc phòng chống ung thư.