

( دکتر مریم اسلامی )

## ژن درمانی موضعی برای اپیدرمولیز بولوزا

در این شماره از مجله، راهنما و همکاران 1 نتایج یک کار آزمایی بالینی فاز 3 برماژن ژپرپاوک B-VEc را به عنوان ژن درمانی موضعی گزارش می کنند. در برگه جدیدی برای اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک، یک بیماری تاول ژنتیکی نادر اما تهدید کننده زندگی باز می شود. در یک سرمقاله همراه، Schaffer2 پیامدهای این یافته ها را برای تحقیقات آینده مورد بحث قرار می دهد.

## اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک چیست؟

دیستروفیک اپیدرمولیز بولوزا، یک بیماری نادر که تقریباً 1 تا 3 نفر در هر میلیون را در ایالات متحده تحت تاثیر قرار می دهد، 3 ناشی از جهش در COL7A1 است که زنجیره آلفا-1 کلاژن نوع VII را کد می کند. در پروتئین زبانه جدید ( C7) باز می شود (به مفاهیم کلیدی مراجعه کنید) که فیبریل های لنگر پوست و غشاهای مخاطی را تشکیل می دهد (شکل 1).

پوستشان که با کوچکترین تماسی پاره می شود. ضربه های جزئی ناشی از فعالیت های روزمره به طور مکرر باعث ایجاد تاول و زخم در بافت های اپیتلیال می شود که منجر به تنگی های مری و ادراری تناسلی، بدشکلی انگشتی ناشی از چسبندگی انگشتان دست، سوء تغذیه، کم خونی و عفونت می شود. خارش و درد می تواند ثابت باشد و کیفیت زندگی را کاهش دهد. علاوه بر این، زخم های مزمن می توانند سرطان های سلول سنگفرشی تهاجمی را ایجاد کنند که عامل اصلی مرگ در بزرگسالان مبتلا به اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک است.

### چگونه جهش های COL7A1 باعث ایجاد تاول می شوند؟

C7 یک پروتئین میله ای شکل دراز است که به دور خود می پیچد و یک مارپیچ سه گانه را تشکیل می دهد، که به طور کووالانسی به یک مارپیچ سه گانه دیگر C7 در جهت مخالف می پیوندد و سپس انباشته می شود و فیبرهای لنگر را تشکیل می دهد. این فیبریل ها در یک الگوی U شکل در ناحیه غشای پایه اپیتلیال قرار می گیرند، جایی که با پروتئین های اطراف تعامل می کنند تا اپیتلیوم را به بافت همبند زیرین متصل کنند

شکل A.1

جهش های COL7A1 می توانند در یک الگوی مغلوب یا غالب به ارث برده شوند یا ممکن است به طور ناگهانی ایجاد شوند. شکل مغلوب اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک به دلیل از دست دادن عملکرد یا جهش های پوچ در نسخه های ارثی COL7A1 از مادر و پدر ایجاد می شود که منجر به نقص، کاهش یا عدم وجود C7 می شود. در شکل غالب،

جهش‌ها در یک کپی از ژن، پروتئین‌های فاسد C7 را ایجاد می‌کنند که مونتاژ طبیعی C7 را مختل می‌کنند و در تشکیل فیبریل لنگر دخالت می‌کنند. شدت بیماری بر اساس میزان درگیری پوستی و خارج پوستی تعیین می‌شود و با تأثیر جهش‌ها بر تعداد و عملکرد فیبرهای لنگر مرتبط است.

### B-VEC چیست؟

B-VEC یک ژن درمانی موضعی است که از دو نسخه از توالی کد کننده COL7A1 تشکیل شده است که درون یک ویروس هرپس سیمپلکس اصلاح شده نوع 1 ( HSV-1 ) کپسوله شده است. در وکتور تب جدید باز می‌شود. HSV-1 عامل سرماخوردگی است، اما تغییرات ناقل پاسخ‌های التهابی میزبان را محدود می‌کند و از تکثیر ویروس جلوگیری می‌کند، در نتیجه توانایی آن را برای ایجاد بیماری مسدود می‌کند.

برای دستیابی به تحویل ژن، پروتئین‌های روی پوسته بیرونی ناقل HSV-1 با پروتئین‌های بیان شده در سطح سلول‌های پوست تعامل می‌کنند تا ورود نوکلئوکپسید ویروسی را تسهیل کنند. هنگامی که داخل سلول قرار می‌گیرد، DNA ویروسی رونویسی و به C7 ترجمه می‌شود، که به فضای خارج سلولی ترشح می‌شود تا به فیبریل‌های لنگر متصل شود (شکل 1). (B) ژنوم ویروسی HSV-1 به طور دائم در DNA میزبان ادغام نمی‌شود - با هر تقسیم سلولی رقیق می‌شود. بنابراین، اثرات درمانی B-VEC گذرا است و برای کنترل طولانی مدت بیماری، تجویز مکرر مورد نیاز است.

اگرچه ژن درمانی تحت هدایت پوست به تظاهرات خارج جلدی اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک نمی پردازد، B-VEC دارای چندین مزیت به عنوان ژن درمانی برای این بیماری است. اول، وکتورهای مبتنی بر HSV-1 می‌توانند درج‌های ژنی بزرگی مانند COL7A1 را در خود جای دهند، که با اندازه 9 کیلوبایت از ظرفیت اکثر ناقل‌های دیگر مورد استفاده برای ژن درمانی فراتر می‌رود. دوم، چون B-VEC اپیزومی (یعنی خارج کروموزومی) در داخل سلول میزبان باقی می‌ماند، از خطر جهش زایی درج جلوگیری می‌شود. سوم، B-VEC در یک ژل متیل سلولز فرموله شده است که به بیماران اجازه می‌دهد تا دارو را به صورت موضعی برای بهبود زخم در محیط سرپایی استفاده کنند. این ویژگی باعث می‌شود B-VEC راحت‌تر از سلول‌درمانی‌های مهندسی شده با COL7A1 که شامل بی‌هوشی، روش‌های جراحی یا بستری شدن در بیمارستان برای درمان است.

### B-VEC چقدر خوب کار می‌کند؟

کارآزمایی انجام شده توسط گاید و همکاران. یک کارآزمایی فاز 3، دوسوکور، درون بیمار، تصادفی شده و کنترل شده با دارونما از B-VEC شامل 31 بیمار مبتلا به اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک (30 با فرم مغلوب و 1 با فرم غالب) بود. تقریباً 70 درصد از زخم‌هایی که در معرض B-VEC قرار گرفتند، در 6 ماهگی بسته شدند (از جمله در بیمار مبتلا به اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک غالب)، در مقایسه با تقریباً 20 درصد زخم‌هایی که در معرض دارونما قرار گرفتند. علاوه بر این، دوام

بهبود زخم (تعریف شده به عنوان بسته شدن کامل زخم در هر دو ماه 3 و 6) در 50٪ از زخم های در معرض B-VEC، در مقایسه با 7٪ از زخم های در معرض دارونما مشاهده شد. در یک مطالعه قبلی فاز 1-2، میکروسکوپ الکترونی نمونه های بیوپسی پوست به دست آمده از بیماران مبتلا به اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک مغلوب نشان داد که B-VEC بیان C7 را در رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس در ناحیه غشای پایه و تشکیل فیبریل های لنگر القا می کند. ژن درمانی موضعی با B-VEC ناهنجاری های هیستوپاتولوژیک و فراساختاری در پوست بیماران مبتلا به اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک را معکوس می کند (شکل 1.C)

### خطرات چیست؟

از نظر تئوری، واکنش های التهابی به B-VEC یا ژل وسیله نقلیه آن ممکن است رخ دهد، اگرچه تغییرات ناقل برای کاهش خطر التهاب طراحی شده است. در کارآزمایی توسط گاید و همکاران، 7 درصد از بیماران پس از تجویز B-VEC دچار اریتم یا بثورات پوستی شدند. با این حال، هیچ یک از کارآزمایی انصراف ندادند، و هیچ اثر سمی سیستمیک یا عوارض جانبی جدی مربوط به B-VEC گزارش نشد.

ایمنی زایی در برابر HSV-1 و C7 می تواند منجر به رد ایمنی سلول های ناقل یا انتقال یافته توسط ناقل شود و در نتیجه با درمان های مکرر کارایی کاهش یابد. علاوه بر این، آنتی بادی ها علیه C7 ممکن است نشان دهنده ایجاد یک اختلال تاول زای خود ایمنی ثانویه به نام اپیدرمولیز بولوزا اکویزیتا باشند که معمولاً درمان طولانی مدت سرکوب کننده ایمنی

را تضمین می‌کند. افزایش در تیتراژ آنتی‌بادی‌ها علیه HSV-1 و C7 تقریباً در تمام بیماران که در ابتدا سرم مثبت بودند مشاهده شد و آنتی‌بادی‌ها علیه HSV-1 (یا C7) در حدود 75 درصد از بیماران سرم منفی تا هفته 26 ایجاد شد. از درمان B-VEC، اگرچه هیچ ارتباطی بین ایمنی زایی و شکست درمان شناسایی نشد.

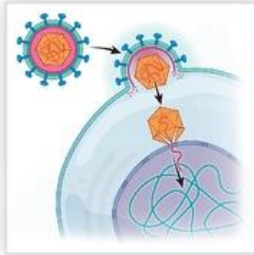
### بعدي چيه؟

فراتر از B-VEC، چندین رویکرد با هدف بازگرداندن عملکرد C7 وارد توسعه بالینی برای درمان اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک شده است. کارآزمایی‌های فاز 1-2 در حال حاضر در حال ارزیابی کراتینوسیت‌های اتولوگ مهندسی شده با COL7A1 هستند (شماره ClinicalTrials.gov، NCT04227106 در برگه جدید باز می‌شود) یا فیبروبلاست‌ها 7 (NCT04213261 باز می‌شود). در برگه جدید باز می‌شود) و درمان داخل وریدی در محل باز NCT502 پروتئین 2-C75 (همه رویکردها اثرات بیولوژیکی و درمانی اولیه را نشان داده‌اند). (تعریف شده به عنوان بسته شدن زخم  $\leq 50\%$ )، با برخی از زخم‌های پیوند کراتینوسیت اصلاح‌شده با COL7A1 که 75 درصد یا بیشتر بهبود زخم را نشان می‌دهند که تا 5 سال طول می‌کشد. 6 تداوم طولانی‌مدت اصلاح ژن سلول‌ها و پیامدهای ایمنی‌زایی نیاز به ارزیابی بیشتر در گروه بزرگتری از بیماران دارد.

نشان داده شده است که کاربرد موضعی یا داخل جلدی جنتامایسین باعث بیان C7 تمام قد، تشکیل فیبریل های لنگر، و بهبود زخم در بیماران مبتلا به اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک مغلوب از طریق پرش اگزون می شود، مکانیزمی که اثر یک جهش بیماری زا را سرکوب می کند. با القای برش آن (یا بهتر است بگوییم، بخشی که در آن قرار دارد) از RNA پیام رسان. این یافته منطق ارزیابی بالینی الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس موضعی را تقویت می کند که رد اگزون را برای درمان اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک القا می کنند، که در یک کارآزمایی در حال ارزیابی است ( NCT05529134 در برگه جدید باز می شود).

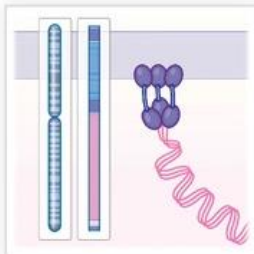
آیا موفقیت بالینی B-VEC به عنوان درمان اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک می تواند به سایر بیماری های ژنتیکی ترجمه شود؟ ملاحظات شامل ناتوانی ناقل HSV-1 در نفوذ به پوست دست نخورده، توانایی ژن درمانی های موضعی برای هدف قرار دادن سلول های مناسب برای بازگرداندن بیان عملکردی (متعادل در برابر خطر بیان پروتئین نابجا به دلیل انتقال سلول های هدف ناخواسته)، و اهمیت نسبی نجات عملکرد ژن در اپیتلیوم هدف در بیماری های ژنتیکی با تظاهرات سیستمیک با در نظر گرفتن این عوامل، ژنودرماتوزهای با مانع پوستی مختل، مانند مواردی که در ایکتیوزهای مادرزادی، درماتیت آتوپیک و اپیدرمولیز بولوزای جانکشنال به دلیل نقص در لامینین های ترشحي دیده می شود، به خط مقدم می رسند. فرمولاسیون برای زایمان چشمی، دهانی-گوارشی یا تنفسی برای پرداختن به تظاهرات خارج جلدی اپیدرمولیز بولوزا و سایر بیماری های ژنتیکی ارزش زیادی دارد، اگرچه تحویل ژن درمانی موضعی به اپیتلیوم ریه از نظر تاریخی به دلیل پاکسازی مخاطی، التهاب، چالش برانگیز بوده است. و عدم نفوذ به دلیل اتصالات محکم بین سلول های اپیتلیال راه هوایی. اخیراً، حامی B-VEC از ترخیص یک برنامه دارویی جدید تحقیقاتی برای یک ژن درمانی موضعی برای فیبروز کیستیک خبر داد که توسط یک نبولایزر در یک کارآزمایی در حال انجام ارائه می شود. NCT05504837 در برگه جدید باز می شود. در نهایت، تکمیل کارآزمایی های بالینی مانند این مورد برای تعیین اینکه آیا انتقال ژن با واسطه HSV-1 می تواند بیشتر از عمق پوست باشد، مورد نیاز است.

## Key Concepts



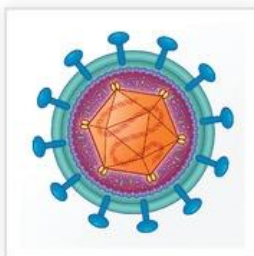
### Gene Therapy

A treatment that delivers fragments of DNA to cells to replace missing or defective DNA or to enhance cell function. Multiple approaches to gene therapy are under development, but currently approved gene therapies involve encapsulating DNA within the shell of a modified virus (called a vector) that allows it to enter cells efficiently. Gene therapies can permanently integrate into a patient's own DNA, which offers the potential for lasting therapeutic effect, or they can function temporarily within a cell (in episomal form), in which case they gradually dilute out as the cell divides.



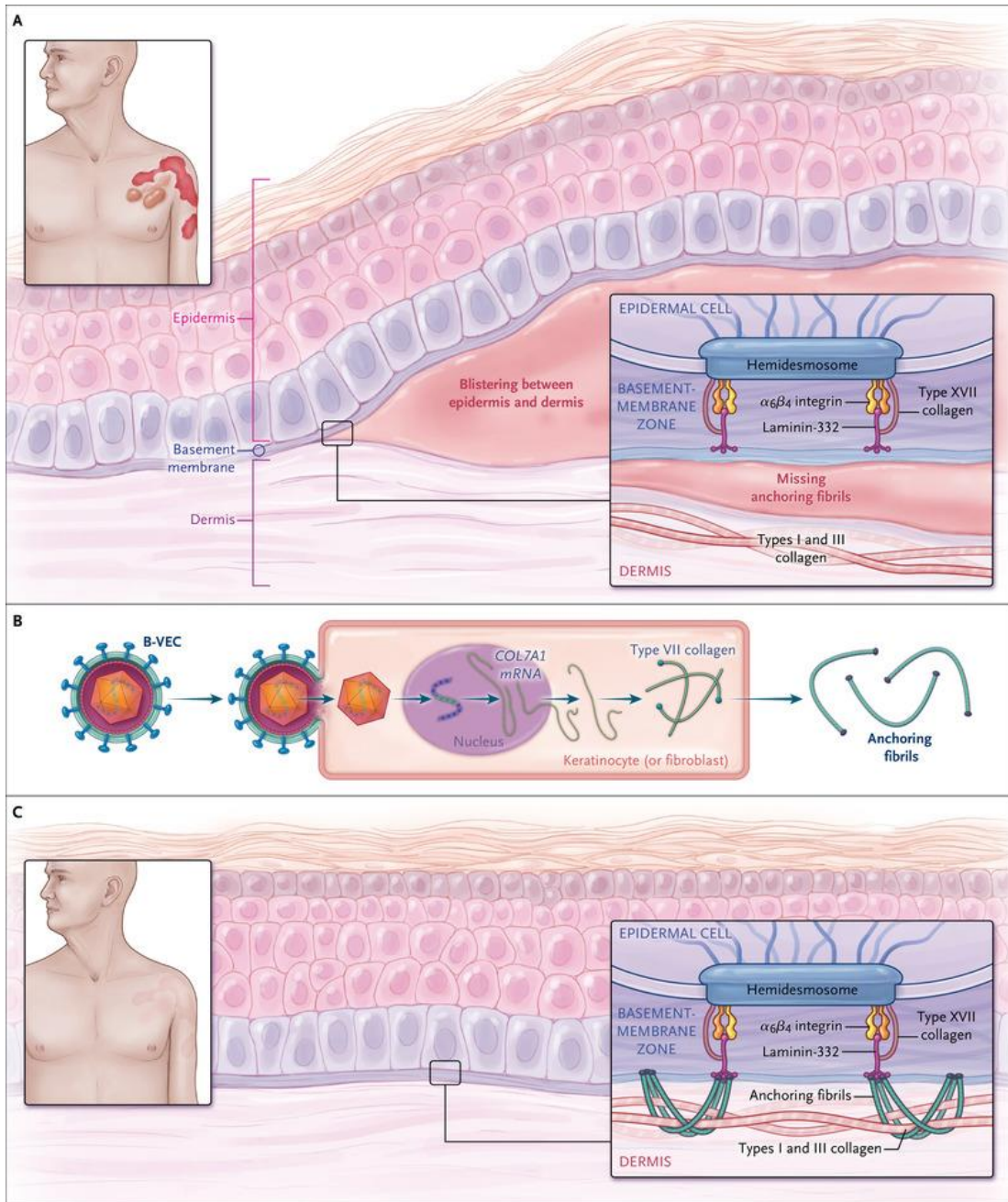
### Type VII Collagen

A protein encoded by the gene *COL7A1*. Type VII collagen forms the anchoring fibrils that attach the superficial layer of the skin known as the epidermis to the underlying dermal connective tissue. Damaging variants in *COL7A1* that compromise or ablate the type VII collagen protein cause the heritable blistering disease dystrophic epidermolysis bullosa.



### Herpes Simplex Virus 1 (HSV-1)

A DNA-containing virus that in its native form causes cold sores on the lips or face and, rarely, brain infections. Proteins expressed on the outer shell of HSV-1 allow it to fuse and enter cells, where the virus replicates to make more viral particles that subsequently spread to infect other cells. HSV-1 can be modified for gene therapy by insertion of DNA fragments of interest into the viral DNA and deletion of harmful parts of the native viral DNA to block its ability to replicate and cause inflammation and disease.



شکل 1. نقش ژن درمانی (B-VEC) Beremagene Geperpavec در اپیدرمولیز بولوزا دیستروفیک.

<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMe2213203?query=genetics>

