مجلهٔ دانشکدهٔ پزشکی تهران
۲۷، ۷۰۹، ۱۳۴۹

سرطانزائی آدنو ویروسهای انسانی برای حیوانات آزمایشگاهی

دکتر خسرو فرهی-دکترفخرالسادات محمدزادهٔ کیائی*

خلاصه : درحال حاضر آدنوویروسها تنها دسته از ویروسهای شناخته شده انسان میباشندکه اگر بنوزاد بعضی از جانوران تلقیح گردند در پیش آنها تولید غده سرطانی می‌نمایند .

تا سال ۱۹٦٤ فقط سروتیپهای دوازده و هیجده بداشتن قدرت تولید تومور شناخته شده بودند ولی بتدریج نشان داده شدکه سروتیپهای ۳و۷و ۱٤و ۲۱هم این خاصیت‌را دارا میباشند.

افرادی‌که روی خاصیت تومورزائی آدنوویروسها کار میکنند تا این‌اواخر متفقاً معتقد بودندکه آدنوویروسهای ۱و۲ و ٥ و٦ که برای انسان بیش از سروتیپهای دیگر بیماریزا هستند ، برای جانوران هیچ‌گونه‌خاصیت سرطان‌زائی ندارند ولی فریمن و همکارانش کشف کرده‌اند که آدنو ویروسهای ۲و ٥ و٦ میتوانند در سلولهای جنین موش که بطور in - vitro کشت داده شده باشند ، تحول ایجاد نمایند و آنهارا به یاخته‌های سرطانی مبدل‌سازند. نکته جالبی‌که در مشاهدات فریمن وجود دارد این‌است که آدنوویروسهای اخیر درصورتی میتوانند باعث ترانسفورماسیون سلولهای جنینی موش گردند که در محیط کشت یاخته‌های مزبور مقدارکلسیم خیلی کمتر از حد معمول باشد .

باین ترتیب میتوان پیش بینی کرد که در آینده با بکار بردن روشهای تازه و شرایط مناسب ، نشان دادن خاصیت سرطان زائی تعداد بیشتری از سروتیپهای آدنو ویروسها امکان پذیر خواهد شد.

---

* گروه میکربشناسی و ایمنی شناسی‌دانشکده پزشکی . دانشگاه تهران

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

درحال حاضرآدنوویروسها تنها دسته ازویروسهای شناخته شدهٔ انسان‌میباشند که اگر بنوزاد بعضی ازجانوران تلقیح گردند در آنها تولید غدهٔ سرطانی مینمایند.

تا سال ۱۹٦٤ فقط سروتیپ های ۱۲ [۲۳] و ۱۸ و [۱۱] بداشتن قدرت تولید تومور شناخته شده بودند ، ولی بتدریج نشان داده شد که سروتیپ‌های ۳، ۷، ۱٤ و ۲۱ هم این خاصیت‌را دارا میباشند.

کارشناسان متفق‌القول بودند ، که آدنوویروسهای ۱ ، ۲ ، ٥ و٦ که برای انسان بیش از سروتیپ‌های دیگر بیماری‌زا هستند، برای‌جانوران هیچگونه‌خاصیت سرطانزائی ندارند ، اما اخیراً ثابت‌شده است که سروتیپ‌های ۲ ، ٥ و ٦ می‌توانند درمحیط‌هائی که کلسیم آنها کم‌باشد ، سبب‌ترانسفورماسیون سلولهای جنینی موش گردند [۳-٤] .باین ترتیب می‌توان پیش‌بینی کرد که درآینده با بکار بردن‌روش‌های تازه و شرایط مناسب ، نشان دادن خاصیت سرطانزائی تعداد بیشتری از سروتیپهای آدنوویروسها امکان‌پذیر خواهد شد.

قبل ازشروع به بررسی خواص سرطانزائی آدنوویروسها ، لازم است توضیح مختصری در بارهٔ برخی از اصطلاحات موجود در مقاله و همچنین تقسیم بندی و خصوصیات ساختمانی این ویروسها داده شود.

کاپسید وکاپسومر : ـ ویروس کامل که اصطلاحاً ویریون (Virion) نامیده میشود ازدوبخش متمایزهسته وکاپسید تشکیل گردیده است. هسته منحصراًازاسید ریبونوکلئیک (RNA) یا اسید دزاکسی ریبونوکلئیک (DNA) ساخته شده و در داخل پوسته‌ای بنام کاپسید که ساختمان پروتئینی‌دارد کاملاً مستتر است . خود کاپسیداز اجتماع واحدهائی بنام کاپسومر بوجودآمده است.

سوش یاسویهٔ سلولی : ـ با بکاربردن محلولهای تریپسین یاورسن‌ویا کلاژناز میتوان سلولهای‌متشکله یک بافت جانوری‌راازهم جدا کرد. اگرسلولهای‌آزاد شده‌را در محیط های غذائی مناسب معلق کنند و بداخل شیشه های کتابی بریزند ، یاخته‌ها بسطح جداری شیشه که با مایع درتماس است می‌چسبند وشروع به تکثیر

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

می‌نمایند بطوری که در عرض چند روز تمام سطح مزبور از یک ورقهٔ سلولی پوشیده میشود. حال میتوان بازهم با هضم آنزیمی، سلولهای این ورقه را از هم جدا نمودو سوسپانسیون سلولی بدست آمده‌را حدافل در دو یا سه شیشه دیگر کشت داد، این عمل را پاساژ میگویند. اغلب کشت‌های سلولی بعد از چند پاساژ قدرت تکثیرخودرا از دست میدهند و از بین میروند ولی گاهی هم اتفاق می‌افتد که سلولهای موجود در محیط کشت بزندگی in - Vitro عادت مینمایند و در صورت پاساژ های مرتب و بموقع، سالهای متمادی بزندگی و تکثیرخود ادامه میدهند. این قبیل یاخته‌ها را سوش های سلولی(Cellules de Souche) و یا سلولهای ردهٔ پیوسته – Cellules en lignée continue = Continuous cell line) می‌نامند.

وقفه تماس : ـ سلولهای یک بافت عادی که بطرف بالا در داخل شیشه کشت داده شده باشند، وقتی که بر اثر تکثیر روی سطحی از شیشه‌را با یک ورقه منو سلولی کاملاً پوشاندند، لایهٔ دیگری در روی لایهٔ اولی بوجود نمیآورند.

این پدیده که به‌وقفه تماس معروف است در کشت سلولهای غدد سرطانی مشاهده نمیشود.

سیکل لیتیک:- یکی از صفات اصلی ویروسها این است که جزد داخل سلولهای زنده‌ای که قادر به میتوز باشند تکثیر حاصل نمیکنند. عده‌ای از ویروسها هنگام تکثیر در کشت برخی از سلولها، سبب استحاله و از بین رفتن یاخته‌ها میگردند. در این صورت مراحل مختلف تکثیر ویروس را که نتیجهٔ آن استحاله سلولهای میزبان می‌باشد سیکل لیتیک می گویند.

***

تاریخچه و تقسیم بندی : ـ نخستین سروتیپ آدنو ویروسها درسال ۱۹۵۳ توسط Rowe [۱۸] از یک قطعه لوزهٔ انسان که‌در طی عمل جراحی برداشته شده

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

بود جدا گردید . این دسته از ویروسها که ابتدا بنام ویروسهای A. P. C. (Adeno Pharyngo - Conjonctival) معروف بودند، درسال ۱۹۵۶ به پیشنهاد اندرس (Enders) آدنو ویروس لقب یافتند .

تا کنون ۳۱ سروتیپ آدنو ویروس از انسان جدا گردیده است . برحسب میزان قدرت سرطانزائی ، نسبت درصد مجموع مقدار گوانین و سیتوزین (G+C) موجود در اسید دزاکسی ریبونوکلئیک سروتیپ ها و امکان هیبریداسیون آسیدنوکلئیک ویرال با RNA های پیامبری که بتعاقب آلوده شدن سلول با آدنوویروس در یاخته میزبان بوجود میآیند، این ویروسهارا بسه گروه تقسیم میکنند [۹]:

الف گروه اول :شامل آدنوویروسهای ۱۲-۱۸-۳۱ میباشند که ازنظرقدرت توموزائی در مقام اول قرار دارند و مقدار (گوانین + سیتوزین) ، ۴۸ تا ۴۹ درصد DNA ی آنهارا تشکیل می دهد .

ب - گروه دوم مشتمل بر سروتیپ های ۳-۷-۱۱-۱۴-۱۶ و ۲۱ است که ازنظر خاصیت سرطانزائی ضعیف تر از گروه اول بوده و نسبت درصد (گوانین + سیتوزین) در DNA ی آنها بیش از ۵۰ تا ۵۲ میباشد .

ج - گروه سوم شامل ۲۲ سروتیپ بقیه است که در DNA ی آنها ۵۰ تا ۶۱ درصد (گوانین +سیتوزین)وجود دارد .سروتیپ های این گروه اونکوژن نیستند ولی اخیراً ثابت شده است که آدنو ویروسهای ۲ - ۵ - ۶ ازاین گروه قادرند در سلولهای جنینی موش که در محیط غذائی فقیر از کلسیم کشت داده شده باشند، تحول ایجاد کنند و آنهارا به یاخته های سرطانی مبدل سازند .

تقسیم بندی دیگری هم وجود دارد که متعلق به Rosen [۱۷] می باشدودران بر مبنای خاصیت هموآگلوتیناسیون، ۳۱ سروتیپ آدنوویروسها را به ۴ گروه تقسیم می کنند .

ساختمان فیزیکی و شیمیائی آدنوویروسها : - اندازهٔ آدنوویروسها در حدود

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

۷۰ میلی‌میکرون و کاپسید آنها بشکل کثیرالسطوحی میباشد که ازبیست مثلث متساوی‌الاضلاع تشکیل گردیده است .

خود کاپسید از اجتماع ۲۵۲ واحد ساختمانی مستقل بنام کاپسومر بوجود آمده که قطر هریک از آنها ۸ میلی‌میکرن میباشد . از نظر ساختمان مرفولوژیک و خواص آنتی ژنیک درکاپسید آدنوویروسها دو نوع کاپسومر میتوان تمیز داد : پنتون‌ها (Pentons) و هگزونها (Hexons) .

الف ـ پنتونها : ـ از هر کپسومری که یکی از رئوس کاپسید بیست وجهی آدنوویروسهارا تشکیل میدهد رشته باریکی‌بنام فیبریل بطول ۲ میلی‌میکرن خارج میشود و بیک جسم کروی بقطر ۴ میلی میکرن ختم میگردد . مجموع کاپسومرأس، فیبریل و جسم کروی انتهای آن پنتون نام دارد . بخش فیبریل پنتون، آنتی ژن C و جسم کروی انتهای فیبریل آنتی‌ژن B را تشکیل میدهد . هردوی این آنتی ژنها خاصیت هموآگلوتیناسیون دارند با این تفاوت که اولی‌اختصاصی برای هرسروتیپ و دومی اختصاصی برای سروتیپ‌های گروه ۳ می‌باشد .

ب ـ هگزونها : ۲۴۰ کپسومری که سطوح بیست گانه کاپسیدرا میسازند هگزون خوانده‌میشوندوآنتی‌ژن A راتشکیل می‌دهند . این آنتی‌ژن دربین تمام‌سروتیپ‌های آدنو ویروسهای انسان مشترك است . بعبارت دیگر آنتی‌ژن A که از یکی از سروتیپ‌ها بدست آمده است قادراست در آزمایش ثبوت مکمل با آنتی سرم تمام سروتیپ‌هارا کسیون بدهد .

در ساختمان شیمیائی‌آدنوویروسها بجز پروتئین و DNA ماده دیگری شناخته نشده است .

وزن ملکولی DNA ی این دسته از ویروسها درحدود ۲۳×۱۰^{۶} است که ۱۳ درصد وزن خشك ویروس‌را تشکیل میدهد . وزن ملکولی هگزونهای جدا شده‌را در حدود ۳×۱۰^{۵} محاسبه کرده‌اند .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

الف ـ آدنو ویروسهائی که قدرت سرطانزائی زیادی دارند :

اگر آدنوویروسهای ۱۲، ۱۸ و ۳۱ را بنوزادان هامستر تلقیح کنند، غالباً پس از یک تا دوماه دورهٔ کمون در محل تلقیح ویروس تومر ایجاد می گردد. [۲۲ - ۱۶-۲۳] چنانچه همزمان با تلقیح ویروس، ایمونوسرم مربوطه نیز بحیوان تزریق گردد از پیدایش تومر کاملاً ممانعت بعمل می‌آید. گرچه تلقیح دوده‌م‌میکروگرم از ویروس خالص برای ایجاد تومور در پیش اکثر نوزادان جانوران حساس کافی است ولی اگردز بیشتری بکار رود نتیجه صددرصد مثبت خواهد بود. [۸]

نوزادانی که سن آنها بیشتراز ۲ روزباشد نسبت به خاصیت توسرزائی ویروس مقاومت نشان میدهند باوجود این چنانچه در بدو تولد با برداشتن تیموس سیستم ایمونولوژیک جانوررا دچار اختلال سازند حیوان در دورهٔ بلوغ نیز حساسیت خودرا نسبت به آدنوویروسهای سرطانزا حفظ خواهد نمود [۱۹].

اگر تومری‌راکه براثر تلقیح آدنوویروس ایجاد شده است برداشته‌وسلولهای آنرا در خارج ازبدن(in Vitro) کشت دهند درصورت‌پاساژیاخته‌های مزبورمیتوانند سالهای متمادی تکثیر پیدا کنند و به زندگی ادامه دهند.

کاریوتیپ این چنین سلولهائی معمولاً تغییر می‌نماید ولی‌این تغییر از نوع معین و مشخص نیست [۲]

گرچه تومور بطور آزمایشی بر اثر تلقیح ویروس ایجاد گردیده است ولی‌عملاً در داخل غده سرطانی از ویروس مولد غده اثری مشاهده نمیگردد. تحریک غده مزبور بوسیلهٔ مواد شیمیائی نظیر اکتینومیسین D، میتومیسین C، پوروسیسین، کورتیزون، آب‌اکسیژنه و یا عوامل فیزیکی نظیر اشعهٔ مختلف سبب آشکار شدن ویروس درغدهٔ سرطانی نمیگردد [۱٤] باوجود این درخون جانوران حامل تومور برضد آنتی‌ژنهای ساختمانی آدنو ویروس مولد غده آنتی کوروجود دارد. آدنوویروسهای یاد شده میتوانند در پیش نوزادان موش های معمولی و موشهای آزمایشگاهی نیز

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

ایجاد تومور کنند ولی درجه حساسیت افراد نژادهای مختلف این جانوران درمقابل خاصیت سرطانزائی آدنوویروسها متفاوت می‌باشد. مثلاً بعضی از نژادها نظیر موش آزمایشگاهی به C3H, He مقاوم هستند وتلقیح آدنوویروسهای ۱۲، ۱۸ و ۳۱ توموری در پیش آنها بوجود نمی‌آورد. این مقاومت مطلق نیست یعنی اگرهمزمان باتلقیح ویروس، سرم آنتی لنفوسیتر نیز بجانور تزریق گردد در هشتاد درصد موارد حیوان درسن شش ماهگی بسرطان مبتلا میشود [۱].

ایجاد تحول درکشت سلولهای جنینی : چنانچه سلولهای جنینی جانورانی نظیر هامستر، موش خانگی و یا خرگوش را در خارج از بدن (in - Vitro) کشت دهند وسپس آنهارا با آدنوویروسهای سرطانزا مجاور سازند نتایجی که بدست میآید تعجب انگیزاست :

در بیشتر موارد ظاهراً هیچگونه تغییری درخواص فیزیکی، شیمیائی واعمال بیولوژیکی سلولها مشاهده نمیگردد، بقسمی که متابولیسم و بالاخره رشد و تکثیر آنها در مسیر عادی و طبیعی پیش میرود ولی در بعضی مواقع تلقیح آدنوویروس سرطانزا بکشت سلولهای جنینی جانوران نابرده باعث ایجاد تحول در یاخته‌ها میشود که تظاهرات آن عبارتند از :

۱- تغییرمرفولوژی یاخته‌ها.

۲- افزایش فعل و انفعالات اگزرگونیک و آندرگونیک که نتیجهٔ آن افزایش سرعت تکثیر سلولها می‌باشد.

۳ - یاخته‌های تحول یافته بصورت سوش در میآیند و وقفهٔ تماس رانیز از دست میدهند. گرچه درکشت سلولهائیکه براثر مجاورت با آدنو ویروسها تحول یافته‌اند، اثری ازخود ویروس ویا آنتی‌ژنهای آن مشاهده نمیشود مع‌الوصف اگراین سلولهارا به حیوان سالم دیگر تلقیح کنند تولید غده سرطانی مینماید که از هرنظر شبیه توموری‌است که با تلقیح خود ویروس ایجاد شده باشد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

میتوانند با DNA ی آدنو ویروس تیپ ۱۲ یک هیبریداسیون اختصاصی تولید کنند. این هیبریداسیون با DNA ی آدنو ویروسهای ۱۸ و ۳۱، که هردو شدیداً انکوژن می‌باشند بازهم صورت میگیرد ولی این کیفیت با DNA ی گروه دوم و سوم آدنو - ویروسها به هیچ وجه امکان پذیرنیست. RNA های پیامبری که با DNA ی آدنو - ویروسها هیبریداسیون تولید می کنند، هرگز در سلولهای سالم ویا درسلولهائی که بوسیله پلیوم و SV40 تحول یافته‌اند دیده نمیشوند بنابراین بدون تردید RNA های پیامبرمزبور معلول استقرار DNA ی آدنوویروس درهسته سلولهای تحول یافته میباشد.

ب- آدنوویروسهائی که قدرت سرطانزائی آنها کم است :

آدنو ویروسهای ۳، ۷، ۱۴، ۱۶، و ۲۱ هم انکوژن میباشند ولی قدرت تومرزائی آنها بمراتب کمتراز سروتیپ های ۱۲، ۱۸ و ۳۱ میباشد بطوری که اگر این گروه از آدنوویروسهارا به تعدادی ازنوزادان جانور حساس تلقیح کنند، پس از یک دورهٔ کمون نسبتاً طولانی (۱۵۰ الی ۳۰۰ روز) تقریباً در پیش بیست درصد آنها تومرایجاد می گردد. اگر عصارهٔ این تومرها بنوزادان دیگری تلقیح گردد بازهم فقط درحدود ۲۰٪ آنها بسرطان مبتلا خواهندشد. در اینجا نیز سلولهای تومورال حاوی آنتی ژن T می‌باشند که اختصاص به آدنوویروسهای ۳، ۷، ۱۴، ۱۶ و ۲۱ دارد. درسلولهای تومورهائی که براثر تلقیح آدنوویروسهای گروه دوم تولید میشوند، RNA های پیامبری وجود دارد که میتوانند با DNA ی سروتیپ های این گروه هیبریداسیون تولید کنند[۶].

RNA های پیامبر اخیر کاملاً از RNA های پیامبری که بر اثر آلوده شدن سلولها با آدنوویروسهای گروه اول در یاخته بوجود میآیند متمایز می‌باشند.

برخلاف آدنوویروسهای گروه یک، آدنوویروسهای گروه دونمیتوانند در کشت سلولهای جنینی تحول ایجاد کنند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]

ج ـ آدنوویروسهائی که خاصیت ایجاد تومور ندارند:

افرادی که روی خاصیت تومرزائی آدنوویروسها کار می کنند تا این اواخر متفقاً معتقد بودند که غیر از آدنو ویروسهای گروه‌های یک ودو ، سروتیپ‌های دیگر آدنوویروسها هیچگونه خاصیت تومرزائی ندارند، ولی بتازگی فریمن (Freeman) و همکارانش [۵] کشف کرده‌اند که آدنوویروسهای ۲، ۵ و ۶ که بعلت دارا بودن ۵۰ تا ۶۱٪ (گوانین + سیتوزین) در DNA ی خود، عدم قدرت انکوژنی آنها موردقبول واقع شده بود ، میتوانند درسلولها تحول ایجاد کنند .

نکتهٔ بسیار جالبی که در مشاهدات فریمن وجود دارد این است که آدنو ـ ویروسهای ۲ ، ۵ و ۶ درصورتی میتوانند باعث ترانسفورماسیون سلولهای جنینی موش های معمولی گردند که یاخته های مزبور در محیط غذائی فقیر از کلسیم، کشت داده شده باشند . تظاهرات تحولی که باین ترتیب درسلولها ایجاد میشود عبارتند از:

تغییرات مرفولوژیک سلولها، از بین رفتن وقفهٔ تماس ، تبدیل آنها بسلولهای ردهٔ پیوسته یعنی حصول قدرت تکثیر نامحدود در کشت ، حساسیت بکلسیم ، حضور آن نوع از آنتی‌ژن T که اختصاص بسروتیپ‌های ۱، ۲، ۵ و ۶ دارد وبالاخره وجود یکنوع RNA ی پیامبر در پلی ریبوزمهای سلولهای تحول یافته که مکمل DNA ی ویروس میباشد . گرین و همکارانش نشان داده‌اند که RNA ی بدست آمده از سلولهائی که بوسیلهٔ آدنوویروس ۲ تحول یافته‌اند، با DNA ی سروتیپ‌های ۱، ۲، ۵ و ۶ آدنوویروسها، هیبریداسیون اختصاصی حاصل می کند . درصورتی که این هیبریداسیون با DNA ی آدنوویروسهای گروه یک و دو بهیچوجه انجام نمیپذیرد . تا کنون نتوانسته‌اند با تلقیح آدنوویروسهای گروه سوم، بطور آزمایشی درپیش جانوران تومور ایجاد کنند .

اکنون که از خاصیت سرطانزائی آدنوویروسها برای حیوانات آزمایشگاه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-11-23]