# ژن‌درمانی در بتاتالاسمی: *یک مقاله مروری*

حدیث سلیمان‌زاده[۱]، ناهید نصیری[۱و۲*]

*۱- گروه علوم آزمایشگاهی، بخش هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.*
*۲- مرکز تحقیقات علوم و فناوری تشخیص آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.*

*نویسنده مسئول: شیراز، خیابان مشکین‌فام، روبروی هتل هما، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پیراپزشکی.
تلفن: ۳۲۲۷۰۲۳۸-۰۷۱
E-mail: Nahid.nasiri89@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۰ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۱/۱۷ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۲/۲/۰۱

## چکیده

تالاسمی نوعی بیماری ارثی اتوزومال مغلوب است که به‌علت کاهش سنتز زنجیره‌های گلوبینی هموگلوبین رخ می‌دهد. در بتاتالاسمی تجمع زنجیره‌های α4 در پیش‌سازهای اریتروییدی به‌دنبال عدم تولید زنجیره بتا، منجر به خونسازی غیرموثر (عدم تعادل بین تکثیر و تمایز در پیش‌سازهای اریتروییدی مغزاستخوان) و در نهایت علایم بالینی ازجمله تاخیر و اختلال در بلوغ جسمی و جنسی، مشکلات قلبی، بدشکلی‌های استخوانی و هپاتواسپلنومگالی می‌شود. از محدودیت‌های درمان‌های رایج کنونی مانند ترانسفیوژن، شلاته‌کننده‌های آهن و پیوند آلوژن هماتوپوئیتیک استم سل می‌توان به گرانباری آهن، نبود اهداکننده سازگار و بروز بیماری پیوند علیه میزبان اشاره کرد. در ژن درمانی بیان مداوم زنجیره بتاگلوبین در سلول‌های بنیادی خود بیمار القا می‌شود. ایده ژن درمانی از اوایل سال ۱۹۷۰ مطرح شد و هدف از این روش درمانی، بیان ژن معیوب در سلول هدف است به‌صورتی که بتواند علایم بیماری را کاهش دهد یا به‌طورکلی رفع کند. برای ژن درمانی دو ویکرد کلی وجود دارد: روش Integrating که در این حالت ژن موردنظر به‌وسیله وکتور به‌داخل ژنوم سلول هدف الحاق می‌شود و بیان مادام‌العمر آن را به‌دنبال دارد و دیگری روش Non integrating است که ژن موردنظر بدون جای‌گیری در ژنوم سلول هدف و به‌صورت سیتوپلاسمی بیان ژن را ممکن می‌سازد. ژن درمانی بتاتالاسمی در سال ۲۰۲۲ از طرف سازمان غذا و دارو، برای بیماران ۱۲ سال به بالا که فنوتیپ Non β0/β0 دارند تاییدیه گرفته است، به‌نظر می‌رسد که این روش درمانی برای بیماران بتاتالاسمی وابسته به ترانسفیوژن خون، روش درمانی قطعی باشد.

***کلمات کلیدی:*** بتا-تالاسمی، ژن درمانی، پیوند هماتوپوئتیک استم سل، وکتور.

بتاتالاسمی (Beta thalassemia) نوعی بیماری ارثی است که نقص در تولید زنجیره بتاگلوبین هموگلوبین رخ می‌دهد. تالاسمی شایعترین بیماری ارثی تک‌ژنی است و تقریبا ۳٪ از مردم دنیا ناقل ژن بتاتالاسمی هستند. این بیماری در مدیترانه، خاورمیانه و آسیای جنوب شرقی بیشترین فراوانی را دارد و شیوع آن در اروپای شمالی و آمریکای شمالی به‌علت مهاجرت در حال افزایش است.[۱و۲] بیش از ۳۰۰ نوع جهش نقطه‌ای و تعدادی حذف به‌عنوان علت وقوع بتاتالاسمی شناخته شده است.[۳] بیشتر جهش‌ها شامل جایگزینی تک‌نوکلئوتیدی، حذف یا اضافه شدن چندین نوکلئوتید و تغییر چهارچوب خوانش می‌باشند، هرچند که حذف‌های بزرگتری نیز می‌توانند در ایجاد این اختلال نقش داشته باشند. ۱۸ نوع حذف بزرگ در ژن بتاگلوبین شناسایی شده است که بین ۲۵ جفت باز تا شش کیلوباز را شامل می‌شود. حذف ۶۱۹ جفت بازی از انتهای '3 ژن بتاگلوبین تقریبا رایج است اما محدود به جمعیت خاصی از پاکستان و هندوستان است که حدودا یک سوم از آلل‌های بتاتالاسمی را در برمی‌گیرند.[۴و۵] تالاسمی از نظر بالینی هتروژنوس است چرا که جهش‌های متنوعی می‌توانند



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19 ]

منجر به اختلال در تولید زنجیره‌های گلوبینی شوند، که در نهایت منجر به عدم تعادل بین زنجیره‌های آلفا و بتا و رسوب زنجیره‌های اضافی آلفا در پیش‌سازهای اریتروییدی می‌شود. آنمی به‌دنبال همولیز و اریتروپوئز غیرموثر تظاهر پیدا می‌کند.[۶] آهن و هم اضافی موجود درون گلبول‌های قرمز با آسیب به غشای آنها، طول عمر آنها را کاهش داده و منجر به لیز گلبول‌های قرمز می‌شوند.[۶و۷]

۱- روش‌های درمانی گذشته و پیش‌رو: روش‌های درمانی مختلفی برای کاهش علایم بیماری و بهبود اریتروپویز (Erythropoiesis) وجود دارد که از بین آنها پیوند آلوژن پیش‌سازهای مغز استخوان قطعی‌ترین روش درمان است ولی محدودیت‌هایی را به‌علت نبود اهداکننده سازگار و احتمال بروز بیماری پیوند علیه میزبان (Graft versus host disease, GVHD) به‌همراه دارد.[۸] از طرفی احتمال رد پیوند یا عود بیماری پس از پیوند مغزاستخوان، در تالاسمی نسبت به بدخیمی‌های دیگر بیشتر است و علت آن ترانسفیوژن مکرر، هپاتواسپلنومگالی، عدم دریافت شیمی درمانی پیش از پیوند و اریتروپوئز گسترده در مغز استخوان بیماران می‌باشد.[۹] ترانسفیوژن خون روش درمانی اصلی برای تالاسمی است. ترانسفیوژن مرتب و مناسب خون می‌تواند آنمی را اصلاح کند و اریتروپوئز غیرموثر را سرکوب کند، بنابراین چنانچه از کودکی آغاز شود می‌تواند از عقب ماندگی ذهنی و جسمی جلوگیری کند. یکی از معایب مهم ترانسفیوژن خون گرانباری آهن است که می‌تواند در نهایت آسیب به عضوهای داخلی مخصوصا قلب و کبد وارد کند.[۸] همچنین آسیب کبد به شکل سیروز کبدی می‌تواند تظاهر پیدا کند و به‌دنبال سیروز کبد در برخی بیماران مشکلات گوارشی ایجاد می‌شود.[۱۰] اصلاح تعادل بین زنجیره آلفا و زنجیره شبه بتا به‌وسیله استفاده از تر کیبات القاکننده بیان زنجیره گاما (همانند تالیدومایدو و سدیم بوتیرات) می‌تواند در بهبود علایم مبتلایان بتاتالاسمی موثر باشد. ترکیباتی مانند هیدروکسی اوره در افزایش بیان زنجیره گاما و افزایش هموگلوبین F و در نتیجه بهبودی کامل یا نسبی بیماران و کاهش عوارض ترانسفیوژن‌های مکرر نقش بسزایی دارد. همچنین مطالعات متعددی ثابت کرده‌اند که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در کنار هیدروکسی اوره می‌تواند به‌وسیله کاهش دوز مصرفی هیدروکسی اوره و کاهش عوارض آن، در بهبودی علایم تاثیرگذار باشد، هرچند که به‌دلیل دفع کلیوی هیدروکسی اوره، این دارو در افرادی که اختلال کلیوی و به‌دلایل مختلفی عفونت‌های مکرر ادراری دارند بایستی با احتیاط بسیارمصرف شود.[۱۱] بنابراین به‌نظر می‌رسد القاکننده‌های جدیدتر بیان زنجیره گاما و آنتی‌اکسیدان‌ها در درمان بتاتالاسمی حایز اهمیت باشند.[۱۲-۱۴]

استفاده از Luspatercept تحت نام تجاری REBLOZYL به‌تازگی از سمت Food and drug administration (FDA) تاییدیه گرفته است که می‌تواند با مهار لیگاندهای TGF-β در پیشبرد مرحله نهایی اریتروپوئز و درمان آنمی نقش بسزایی داشته باشد.[۱۵]

مطالعات گسترده‌ای نشان داده است که مهارکننده‌های JAK2 می‌توانند در اصلاح اریتروپوئز غیر موثر و تخفیف اسپلنومگالی موثر باشند. کارآزمایی بالینی با داروی Ruxolitinib روی بیماران تالاسمی وابسته و غیروابسته به ترانسفیوژن انجام شده است. نتایج حاصل از این تحقیقات نشان داد که اندازه طحال در بیماران به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد ولی در رابطه با کاهش میزان ترانسفیوژن نتایج امیدوارکننده‌ای به‌دست نیامد.[۱۶-۱۸]

داروی پیشنهادی دیگر، مهارکننده‌های فروپورتین (Ferroportin inhibitors) هستند که با هپسیدین برای اتصال به فروپورتین رقابت می‌کنند و در نهایت منجر به اینترنالیزه و یوبی‌کوییتینه شدن (Ubiquitination) فروپورتین می‌شوند.[۱۹و۲۰]

هدف از ژن درمانی بیان مداوم ژن موردنظر به میزانی است که بتواند علایم بیماری را کاهش دهد یا به‌طورکامل بیماری را درمان نماید. ژن درمانی در بتاتالاسمی به شیوه ExVivo و Integrating انجام می‌گیرد، به این صورت که هماتوپوئتیک استم سل‌های (Stem cells) بیمار جمع‌آوری شده به محیط کشت منتقل می‌شوند، وکتور در یک نوبت به محیط کشت این سلول‌ها اضافه شده و به درون ژنوم سلول هدف اینتگره می‌شود در نهایت سلول‌های اصلاح شده به بیمار بازگردانده می‌شوند.[۲۱]

۲- ژن‌تراپی: الف- طراحی وکتور: برای انتقال ژن موردنظر به سلول هدف از لنتی‌ویروس‌ها (Lentiviruses) استفاده می‌شود و از بین لنتی ویروس‌ها HIV-1 به‌علت اینتگره شدن موثر، کارآمدترین آنهاست. برتری HIV-1، به‌عنوان زیرگروهی از لنتی ویروس‌ها، نسبت به رتروویروس‌ها به این علت است که می‌توانند ژن را به هردو نوع سلول Dividing و Nondividing منتقل کنند و اهمیت این موضوع به خاطر Quiescent بودن HSC ها به‌عنوان سلول هدف است.[۲۲] از



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19 ]

طرفی ژنوم HIV-1 به‌صورت پایداری به ژنوم میزبان اینتگره می‌شود و توانایی انتقال ژنی به طول $10kbp\sim$ را دارد.[۲۳]

ترنسفورمیشن لنتی ویروس به لنتی وکتور مستلزم حذف برخی از ژن‌های غیرضروری و حفظ ژن‌های ضروری برای Packaging و تولید وکتور است.[۲۴] از بین ۹ ژن موجود در ژنوم HIV، ژن‌های کدکننده پروتیین‌ها حذف شده و تنها توالی‌های تنظیمی مورد نیاز برای چرخه سلولی ویروس باقی می‌مانند که شامل R/U5، Rev response element (RRE) و Central polyPurine tract (cPPT) توالی Packaging Ψ و 3'LTR می‌باشد.[۲۵]

اولین لنتی وکتوری که وارد کارآزمایی بالینی ژن درمانی بتا تالاسمی شد HPV569 نام داشت. این کارآزمایی بالینی در کشور فرانسه روی سه بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور انجام گرفت که یکی از بیماران ۱۲ ماه پس از ژن درمانی Transfusion independent شد.[۲۶] در دو انتهای '3 و '5 وکتور HPV569، توالی Long terminal repeat (LTR) ویروسی قرار دارد. این توالی متشکل از سه بخش است که کار تنظیم رونویسی از RNA ویروسی و در نهایت تولید پارتیکل جدید ویروسی را کنترل می‌کند. دو کپی از ژن Chicken High sensitivity (cHS4) درون LTR ویروسی، به‌منظور جلوگیری از فعال‌سازی ژن‌های مجاور توسط LCR جای گرفته است.[۲۷] این توالی به‌عنوان Insulator عمل می‌کند و از طریق تشکیل لوپ از واکنش بین Enhancer دور و پروموتور نزدیک، جایی که وکتور در آنجا اینتگره شده است، جلوگیری می‌کند، پس می‌تواند نقش حفاظتی داشته باشد.[۲۸] یک جهش نقطه‌ای (جایگزینی گلوتامین با والین) در اگزون دوم ژن بتاگلوبین در موقعیت اسیدآمینه ۸۷ طراحی شده است (T87Q). این جهش نقطه‌ای دو مزیت دارد، اول اینکه هموگلوبین حاصل از ژن درمانی را از هموگلوبین Wild-Type حاصل از ترانسفیوژن یا هموگلوبینی که خود فرد ساخته است (در صورتی که β+ باشد) افتراق می‌دهد و دوم اینکه در کاهش پلیمریزاسیون هموگلوبین داسی نقش دارد.[۲۹] زنجیره بتاگلوبین Wild Type مهارکننده ضعیفی برای پلیمریزاسیون است. هنگام کاهش فشار اکسیژن، اسیدآمینه‌های ۸۵ (فنیل‌آلانین) و ۸۸ (لوسین) در زنجیره بتا داسی با اسید آمینه والین ٦ در تترامر دیگر منجر به پلیمریزه شدن هموگلوبین می‌شوند. برعکس زنجیره بتا، زنجیره‌های گاما و دلتا مهارکننده‌های قوی برای پلیمریزاسیون هستند و طی مطالعاتی که انجام گرفته است نقش اسیدآمینه ۸۷ در این دو زنجیره مهم شناخته شده است.[۲۹و۳۰] وجود توالی‌های کوتاه شده LCR (HS2, HS3, HS4) بیان بالا و اختصاصی رده اریتروییدی را ممکن می‌سازد.[۳۱]

وکتور BB305 به‌دنبال تغییر و اصلاح HPV569 طراحی شد و اخیرا تحت عنوان Zynteglo از طرف Food and Drug Administration (FDA) برای درمان بیماران بتاتالاسمی non β0/β0 در افراد ۱۲ سال به بالا تاییدیه گرفته است.

از آنجا که مطالعات اخیر نشان داده‌اند که نقش حفاظتی سکانس cHS4 متغیر است و از طرفی وجود این توالی بیان وکتور را کاهش می‌دهد، در وکتور BB305 توالی‌های cHS4 از دوطرف حذف شدند. از طرفی پروموتور CMV جایگزین 5' LTR promotor شد تا بیان وکتور را افزایش دهد.[۲۷و۲۹و۳۲] با جایگزینی پروموتور CMV و حذف 400 bp از ناحیه 3' LTR، وکتور تحت عنوان Self inactivating (SIN) شناخته می‌شود. این ویژگی فعالیت انکوژن‌های سلولی را که ممکن است به‌وسیله promotor/enhancer موجود در LTR وکتور تحریک شود را کاهش می‌دهد.[۸]

توالی Central PolyPurin tract (cPPT) راندمان ترانسداکشن (Transduction) را از طریق تسهیل ورود cDNA به هسته افزایش می‌دهد.[۳۳] Rev با اتصال به Rev response element (RRE) خروج ترانسکریپت‌ها را از هسته تسهیل می‌کند و توالی Gag در مرحله Packaging نقش دارد.[۳۴]

ب- سیستم بسته‌بندی برای تولید وکتور: مرحله بسته‌بندی برای تولید وکتوری با قابلیت انتقال و ناتوان در همانندسازی، حایز اهمیت بالایی است. احتمال تولید Replication competent lentivirus (RCL) به‌دنبال ساخته شدن وکتور وجود دارد، بنابراین عدم تولید RCL مستلزم نبود توالی مورد نیاز برای همانندسازی در وکتور است. نسل سوم لنتی وکتور با استفاده از چهار پلاسمید انتقال ژن موردنظر به سلول هدف را بدون بیان پروتیین‌های ویروسی در سلول هدف میسر می‌سازد.[۲۴و۳۵]

دو پلاسمید Packaging به نام‌های Rev و Gag-pol در دسترس است که Rev پروتیین دخیل در خارج کردن ژنوم ویروسی را کد می‌کند Gag-pol به‌ترتیب پروتیین ساختاری کپسید و آنزیم‌های ترانس کریپتاز معکوس، اینتگراز و پروتئاز را کد می‌کند.[۲۴]

پلاسمید Envelope، گلیکوپروتیین مشتق شده از Vesicular stomatitis virus (VSV) را کد می‌کند. بیان این گلیکوپروتیین در



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19 ]

سطح وکتور به جای گلیکوپروتیین Gp160 توکسیسیته کمتری دارد و از طرفی گیرنده‌اش LDL-R است که می‌تواند طیف وسیعی از سلول‌ها را مورد هدف قراردهد. پلاسمید چهارم حاوی ژن موردنظر یعنی بتاگلوبین است که به فرم SIN درآمده است.[۳۶] این چهار پلاسمید به روش‌های مختلف فیزیکی (مثل Flow electroporation) یا شیمیایی (مثل استفاده از CaPo4, PEI, Lipofectamine,.) به رده سلولی Human embryonic kidney (HEK293) یا مشتقات آن مثل 293T انتقال داده می‌شود.[۲۴] جدا بودن ژن موردنظر از سایر توالی‌های موردنیاز برای بسته‌بندی، ایمنی را افزایش می‌دهد چرا که در این صورت توالی‌های بسته‌بندی به سلول هدف منتقل نمی‌شوند.[۳۷]

ج- جمع‌آوری، گسترش وانتقال وکتور به استم سل: به‌منظور جمع‌آوری هماتوپوئتیک استم سل‌ها، بیمار به‌مدت چهار روز ترکیبی از GCS-F و Plerixafor دریافت می‌کند و در انتهای روز چهار لکوفرزیس انجام می‌شود. به‌طوری که تقریبا CD34+ cells/kg ۱۰×۱۰^۶–۱۵ جمع‌آوری شده که CD34+cells/Kg ۲×۱۰^۶ بدون دستکاری به‌عنوان Back up ذخیره می‌شود تا در صورت پس زده شدن پیوند، سلول‌های تغییرنیافته به بیمار باز گردانده شود. سلول‌های CD34+ به‌روش Magnetic-activated cell sorting (MACS) جدا می‌شوند و تا پیش از ترانسداکت شدن به‌مدت دو روز در محیط Serum free media همراه با TPO, FLT3L و SCF به جهت گسترش استم سل‌ها کشت داده می‌شوند.[۳۸]

د- ایمنی و تاثیرگذاری روش: بررسی Efficacy درمان، با تعیین مقدار سلول‌های هماتوپوئتیک استم سل اصلاح شده از لحاظ ژنتیکی، اندازه‌گیری هموگلوبین، کاهش در حجم خون دریافتی و ایندکس Vector copy number (VCN) انجام می‌گیرد. دوز هر فرآورده دارویی برای سنجش Efficiency و Safety آن معیار مهمی است. در مورد ژن درمانی دوز دارو دو مفهوم دارد: درصد سلول‌های مودیفای شده (Modified) که به بیمار تزریق می‌شود (+LVV%) و تعداد وکتور الحاق شده در ژنوم به ازای هر سلول دیپلویید (VCN).[۳۹و۴۰]

Safety با بررسی تعداد و کیفیت هماتوپوئتیک استم‌سل‌های اصلاح شده پس از کشت، ژنوتوکسیسیتی (توانایی ایجاد آسیبی مانند جهش در ژنوم و نهایتا ایجاد سرطان)، میزان مرگ‌ومیر افراد درمان شده پس از ۱۰۰ روز، عوارض جانبی و یافتن Replication competent lentivirus (RCL) مطرح می‌شود.[۴۱]

ر- کارآزمایی بالینی: در دو کارآزمایی بالینی HGB204 و HGB205 نشان داده شد که سطح تولید HbAT87Q مرتبط با مقدار VCN بوده و ارتباطی با سن، ژنوتایپ و وضعیت اسپلنکتومی بیمار نداشته است.[۴۱] همچنین نشان داده شد که VCN بین ۰/۱ تا چهار به ازای هر ژنوم دیپلویید در لکوسیت‌های خون محیطی می‌باشد و نیز مقدار هموگلوبین بیماران پس از ژن‌درمانی بین ۹/۱ و g/dl ۱۳/۲ گزارش شده است. از ۲۲ بیمار وارد شده در مطالعه که همگی در دو سال گذشته حداقل هشت بار یا ml/kg ۱۰۰ گلبول قرمز متراکم دریافت کرده بودند، ۱۳ نفر از آنها فنوتایپ non β0/β0 داشتند که ۱۲ نفر از این افراد پس از ژن درمانی دیگر نیازی به ترانسفیوژن نداشتند، یک نفر به ترانسفیوژن ادامه داد ولی مقدار دریافتی خون در او کاهش یافت. سه نفر از ۹ بیمار با فنوتیپ β0/β0 یا موتاسیون B+ هموزیگوت (IVS-1-110) پس از درمان مستقل از ترانسفیوژن شدند. اما به علت پایینتر بودن هموگلوبین آنها، اریتروپوئز غیر موثر در آنها اصلاح نشد.[۲۷]

ز- انتخاب بیماران: می‌توان این روش درمانی را برای مبتلایان تالاسمی با فنوتیپ non β0/β0 که وابسته به ترانسفیوژن هستند و هرسال بیش از هشت بار گلبول قرمز متراکم دریافت می‌کنند، اتخاذ کرد. در مورد افرادی که فنوتیپ β0/β0 دارند، بهبودی اریتروپوئز غیرموثر و پایان وابستگی به ترانسفیوژن مستلزم VCN بالاتری است که این خود عاملی برای افزایش احتمال ژنوتوکسیسیتی است.[۳۱و۴۲]

روش‌های درمانی برای فنوتیپ β0/β0 Thalassemia :به‌دست آوردن نتایج رضایت‌بخش از لحاظ درمانی، برای تمامی فنوتیپ‌های تالاسمی چالش بزرگی است. افزایش VCN می‌تواند بازده بالایی داشته باشد اما به‌علت افزایش احتمال ژنوتوکسیسیتی وکتور، قابل اعمال نیست. به‌منظور افزایش کارایی ژن‌درمانی برای بیماران با فنوتیپ β0/β0، وکتوری به‌نام LVβ -shα2 طراحی شده است که می‌تواند همزمان با القا بیان bA-T87Q، بیان زنجیره α2 را کاهش بدهد، بنابراین به‌طور موثرتری نسبت به وکتور BB305، تعادل بین زنجیره آلفا و بتا را برقرار می‌کند. الحاق MiR-30-based short hairpin RNA (shRNA) درون اینترون دوم وکتور می‌تواند به‌طور انتخابی در کاهش میزان α2-globin mRNA موثر باشد بدون اینکه روی α1-globin mRNA تاثیری داشته باشد. طراحی این وکتور برگرفته از دانشی است که نشـان داده وراثت همزمان آلفا-تالاسمی با



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19 ]

بتاتالاسمی، می‌تواند علایم بالینی بتا-تلاسمی را کاهش دهد.[۴۳و۴۴]

معایب و مزایای ژن‌ترابی: نگرانی‌های مرتبط با پیوند آلوژن ازجمله پس زده شدن پیوند و بروز GVHD در مورد ژن درمانی وجود ندارد اما یک‌دست نبودن سلول‌های اصلاح‌شده از نظر ژنتیکی و هزینه بالای ژن درمانی از معایب این روش است.[۴۵]

نتایج حاصل از کارآزمایی بالینی HGB206 نشان می‌دهد که یکی از بیماران ۳۶ ماه پس از درمان مبتلا به سندرم میلودیس پلاستیک (Myelodysplastic syndrome, MDS) شده است. مطالعات مولکولی و ژنتیکی متعددی برای اتیولوژی MDS در این بیمار انجام گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که علت بروز MDS الحاق وکتور در نزدیکی انکوژن‌ها نبوده است و ارتباطی به LentiGlobin ندارد و احتمالا بخاطر رژیم آماده‌سازی (Conditioning regimen) بوده است.[۴۶] نتایج حاصل از کارآزمایی‌های بالینی انجام گرفته امیدوارکننده به‌نظر می‌رسند و حاکی از آن است که این روش درمانی می‌تواند بیان طولانی‌مدت و ایمن از ژن موردنظر را تضمین کند. اگرچه ژن‌تراپی بتا تالاسمی از طرف کمیسیون اروپا و FDA تاییدیه گرفته است اما چالش‌هایی مثل هزینه بالا، اثربخشی نتیجه درمان، خطرات ناشی از استفاده از ویروس به‌عنوان وکتور، احتمال جایگزینی وکتور در نزدیکی پروتوانکوژن‌ها و بروز سرطان وجود دارد که کاربرد این روش درمانی در سطح وسیع را محدود می‌کند.

## References


1. Kattamis A, Forni GL, Aydinok Y, Viprakasit V. Changing patterns in the epidemiology of β-thalassemia. *European Journal of Haematology* 2020;105(6):692-703.
2. Alizadeh S, Bavarsad MS, Dorgalaleh A, Khatib ZK, Dargahi H, Nassiri N, et al. Frequency of β-thalassemia or β-hemoglobinopathy carriers simultaneously affected with α-thalassemia in Iran. *Clin Lab* 2014;60(6):941–9.
3. Finotti A, Breda L, Lederer CW, Bianchi N, Zuccato C, Kleanthous M, et al. Recent trends in the gene therapy of β-thalassemia. Vol. 6, Journal of Blood Medicine. *Dove Medical Press Ltd* 2015. p. 69–85.
4. Varawalla NY, Old JM, Sarkar R, Venkatesan R, Weatherall DJ. The spectrum of β-thalassaemia mutations on the Indian subcontinent: the basis for prenatal diagnosis. *British journal of haematology* 1991;78(2):242-7.
5. Thein SL. Molecular basis of β thalassemia and potential therapeutic targets. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2018;70:54-65.
6. Rund D. Rachmilewitz E. b-thalassemia. *N Engl J Med* 2005;353(11):1135-46.
7. Tavazzi D, Duca L, Graziadei G, Comino A, Fiorelli G, Cappellini MD. Membrane-bound iron contributes to oxidative damage of β-thalassaemia intermedia erythrocytes. *British journal of haematology* 2001;112(1):48-50.
8. Origa R. β-Thalassemia. *Genetics in Medicine* 2017;19(6):609-19.
9. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, Bernaudin F, Bonanomi S, Cappellini MD, Dalle JH, Di Bartolomeo P, de Heredia CD, Dickerhoff R, Giardini C. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *haematologica* 2014;99(5):811.
10. Rahimkhani M, Ghofrani H. HELICOBACTER PYLORI AND PEPTIC ULCER IN CIRRHOTIC PATIENTS [Internet]. Vol. 24, *Pak J Med Sci* 2008. Available from: www.pjms.com.pk849Rahimkhani M, Nikfallah A, Saberian M, Mordadi A, Varmazyar S, Tavakoli A. Urinary tract infection in spinal cord injuries. Asian J Phama Clin Res. 2014;7:178–82.
11. Rahimkhani M, Nikfallah A, Saberian M, Mordadi A, Varmazyar S, Tavakoli A. Urinary tract infection in spinal cord injuries. Asian *J Phama Clin Res* 2014;7:178-82.
12. Fucharoen S, Siritanaratkul N, Winichagoon P, Chowthaworn J, Siriboon W, Muangsup W, Chaicharoen S, Poolsup N, Chindavijak B, Pootrakul P, Piankijagum A. Hydroxyurea increases hemoglobin F levels and improves the effectiveness of erythropoiesis in beta-thalassemia/hemoglobin E disease.۱۹۹۶
13. Algiraigri AH, Wright NA, Paolucci EO, Kassam A. Hydroxyurea for nontransfusion-dependent β-thalassemia: a systematic review and meta-analysis. *Hematology/oncology and stem cell therapy* 2017;10(3):116-25.
14. Alipour M, Nasiri N, Kazemi F, Zare F, Sharifzadeh S. Resveratrol plus low-dose hydroxyurea compared to high-dose hydroxyurea alone is more effective in γ-globin gene expression and ROS reduction in K562 cells. *Natural Product Research* 2023;37(6):985-9.
15. Cappellini MD, Taher AT. The use of luspatercept for thalassemia in adults. *Blood advances* 2021;5(1):326-33.
16. Motta I, Bou-Fakhredin R, Taher AT, Cappellini MD. Beta thalassemia: new therapeutic options beyond transfusion and iron chelation. *Drugs* 2020;80:1053-63.
17. Libani IV, Guy EC, Melchiori L, Schiro R, Ramos P, Breda L, Scholzen T, Chadburn A, Liu Y, Kernbach M, Baron-Lühr B. Decreased differentiation of erythroid cells exacerbates ineffective erythropoiesis in β-thalassemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2008;112(3):875-85.
18. Taher AT, Karakas Z, Cassinerio E, Siritanaratkul N, Kattamis A, Maggio A, Rivella S, Hollaender N, Mahuzier B, Gadbaw B, Aydinok Y. Efficacy and safety of ruxolitinib in regularly transfused patients with thalassemia: results from a phase 2a study. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2018;131(2):263-5.
19. Manolova V, Nyffenegger N, Flace A, Altermatt P, Varol A, Doucerain C, Sundstrom H, Dürrenberger F. Oral ferroportin inhibitor ameliorates ineffective erythropoiesis in a model of β-thalassemia. *The Journal of Clinical Investigation* 2020;130(1):491-506.
20. Richard F, van Lier JJ, Roubert B, Haboubi T, Göhring UM, Dürrenberger F. Oral ferroportin inhibitor VIT-2763: First-in-human, phase 1 study in healthy volunteers. *American journal of hematology* 2020;95(1):68-77.
21. High KA, Roncarolo MG. Gene Therapy. *N Engl J Med* 2019;381(5):455-464.
22. Sii-Felice K, Negre O, Brendel C, Tubsuwan A, Morel-à-l'Huissier E, Filardo C, Payen E. Innovative therapies for hemoglobin disorders. *BioDrugs* 2020;34(5):625-47.
23. Buchschacher Jr GL, Wong-Staal F. Development of lentiviral vectors for gene therapy for human diseases. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2000;95(8):2499-504.




[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19 ]

24. Martínez-Molina E, Chocarro-Wrona C, Martínez-Moreno D, Marchal JA, Boulaiz H. Large-scale production of lentiviral vectors: current perspectives and challenges. *Pharmaceutics* 2020;12(11):1051.
25. Johnson NM, Alvarado AF, Moffatt TN, Edavettal JM, Swaminathan TA, Braun SE. HIV-based lentiviral vectors: Origin and sequence differences. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development* 2021;21:451-65.
26. Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G, Hehir K, Fusil F, Down J, Denaro M, Brady T, Westerman K, Cavallesco R. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human β-thalassaemia. *Nature* 2010;467(7313):318-22.
27. Magrin E, Miccio A, Cavazzana M. Lentiviral and genome-editing strategies for the treatment of β-hemoglobinopathies. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2019;134(15):1203-13.
28. Lu XB, Guo YH, Huang W. Characterization of the cHS4 insulator in mouse embryonic stem cells. *FEBS Open bio* 2020;10(4):644-56.
29. Negre O, Eggimann AV, Beuzard Y, Ribeil JA, Bourget P, Borwornpinyo S, Hongeng S, Hacein-Bey S, Cavazzana M, Leboulch P, Payen E. Gene therapy of the β-hemoglobinopathies by lentiviral transfer of the βA (T87Q)-globin gene. *Human gene therapy* 2016;27(2):148-65.
30. Cavazzana M, Antoniani C, Miccio A. Gene therapy for β-hemoglobinopathies. *Molecular Therapy* 2017;25(5):1142-54.
31. Rattananon P, Anurathapan U, Bhukhai K, Hongeng S. The future of gene therapy for transfusion-dependent beta-thalassemia: The power of the lentiviral vector for genetically modified hematopoietic stem cells. *Frontiers in Pharmacology* 2021;12:730873.
32. Negre O, Bartholomae C, Beuzard Y, Cavazzana M, Christiansen L, Courne C, Deichmann A, Denaro M, De Dreuzy E, Finer M, Fronza R. Preclinical evaluation of efficacy and safety of an improved lentiviral vector for the treatment of β-thalassemia and sickle cell disease. *Current gene therapy 2015*;15(1):64-81.
33. Van Maele B, De Rijck J, De Clercq E, Debyser Z. Impact of the central polypurine tract on the kinetics of human immunodeficiency virus type 1 vector transduction. *Journal of virology* 2003;77(8):4685-94.
34. Poletti V, Mavilio F. Designing lentiviral vectors for gene therapy of genetic diseases. *Viruses* 2021;13(8):1526.
35. Sakuma T, Barry MA, Ikeda Y. Lentiviral vectors: basic to translational. *Biochemical Journal* 2012;443(3):603-18.
36. Hastie E, Cataldi M, Marriott I, Grdzelishvili VZ. Understanding and altering cell tropism of vesicular stomatitis virus. *Virus research* 2013;176(1-2):16-32.
37. Ferreira MV, Cabral ET, Coroadinha AS. Progress and perspectives in the development of lentiviral vector producer cells. *Biotechnology journal* 2021;16(1):2000017.
38. Soni S. Gene therapies for transfusion dependent β-thalassemia: current status and critical criteria for success. *American Journal of Hematology* 2020;95(9):1099-112.
39. Payen E. Efficacy and Safety of Gene Therapy for β-Thalassemia. *New England Journal of Medicine* 2022;386(5):488-90.
40. Paugh BS, Baranyi L, Roy A, He HJ, Harris L, Cole KD, Artlip M, Raimund C, Langan PS, Jana S, Orentas RJ. Reference standards for accurate validation and optimization of assays that determine integrated lentiviral vector copy number in transduced cells. *Scientific Reports* 2021;11(1):389.
41. Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J, Rasko JE, Ribeil JA, Hongeng S, Magrin E, Schiller GJ, Payen E, Semeraro M, Moshous D. Gene therapy in patients with transfusion-dependent β-thalassemia. *New England Journal of Medicine* 2018;378(16):1479-93.
42. Ikawa Y, Miccio A, Magrin E, Kwiatkowski JL, Rivella S, Cavazzana M. Gene therapy of hemoglobinopathies: progress and future challenges. *Human Molecular Genetics* 2019;28(R1):R24-30.
43. Nualkaew T, Sii-Felice K, Giorgi M, McColl B, Gouzil J, Glaser A, Voon HP, Tee HY, Grigoriadis G, Svasti S, Fucharoen S. Coordinated β-globin expression and α2-globin reduction in a multiplex lentiviral gene therapy vector for β-thalassemia. *Molecular Therapy* 2021;29(9):2841-53.
44. Al Qaddoumi AA. Co-inheritance of alpha and beta-thalassemia in a Jordanian family. *Clin Lab Sci* 2006;19(3):165-8.
45. Fibach E, Rachmilewitz EA. Pathophysiology and treatment of patients with beta-thalassemia–an update. *F1000Research* 2017;6.
46. Hsieh MM, Bonner M, Pierciey Jr FJ, Uchida N, Rottman J, Demopoulos L, Schmidt M, Kanter J, Walters MC, Thompson AA, Asmal M. Myelodysplastic syndrome unrelated to lentiviral vector in a patient treated with gene therapy for sickle cell disease. *Blood advances* 2020;4(9):2058-63.




[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19 ]

TUMJ Tehran University Medical Journal, May 2023; Vol. 81, No. 2: 95-101 Review Article

# Gene therapy in beta thalassemia: *a review article*

Hadis Soleimanzadeh Student of Laboratory Hematology and Blood Banking[1]
Nahid Nasiri Ph.D.[1,2*]

*1- Department of Medical Laboratory Sciences, Division of Laboratory Hematology and Blood Banking, School of Paramedical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.*
*2- Diagnostic Laboratory Sciences and Technology Research Center, School of Paramedical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.*

*Corresponding author: School of Paramedical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Opposite Homa Hotel, Meshkinfam St., Shiraz, Iran.
Tel: +98-71-32270238
E-mail: Nahid.nasiri89@gmail.com

## Abstract

Thalassemia is an autosomal recessive hereditary disease that occurs due to a decrease in the synthesis of Please recheck. In beta thalassemia, defects in β-globin synthesis lead to an imbalance of β- and α-globin chains and the accumulation of α4 chains in the erythroid precursor which leads to ineffective erythropoiesis, shortened red blood cell survival, and finally clinical symptoms such as delayed sexual and physical maturation, endocrine dysfunction, cardiomyopathy, liver disease, bone deformities and hepatosplenomegaly. Current treatments such as transfusion, iron chelating agents and allogeneic stem cell hematopoietic transplantation have limitations in their use, including iron overload, lack of a human leukocyte antigen (HLA) matched compatible donor, and graft versus host disease (GVHD). Gene therapy is a new therapeutic option for beta thalassemia patients that induces the continuous expression of beta globin chains in the patient's hematopoietic stem cells. The idea of gene therapy was first proposed in the early 1970s, and the ultimate goal of this treatment method is to express the defective gene in the target cell in a way that can reduce the symptoms of the disease or eliminate them (symptoms) altogether. There are two general methods for gene therapy: the integrating vector, in which the desired gene is inserted into the genome of the target cell and its lifelong expression follows, is the non-integrating method, in which the vector doesn't integrate into the genome of the target cell and the cytoplasmic form enables gene expression. The first beta thalassemia gene therapy was performed in France in 2006, and in this clinical trial, the first patient with the E/β0 thalassemia was treated at the age of 18. Gene therapy for beta-thalassemia has been approved by the food and drug administration in 2022 for patients aged 12 years and older who have a non β0/β0 phenotype. It seems that this therapeutic option is the definitive treatment method for blood transfusion-dependent beta-thalassemia patients. However, this treatment method still has limitations: high cost, sensitivity of lentiviral vector production, and the possibility of integration of the vector near the proto-oncogene and its activation are some of them.

Received: 30 Mar. 2023 Revised: 06 Apr. 2023 Accepted: 12 Apr. 2023 Available online: 21 Apr. 2023

***Keywords:*** beta-thalassemia, gene therapy, hematopoietic stem cell transplantation, vector.

Copyright © 2023 Soleimanzadeh et al. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.



[ Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19 ]