

Hệ thống vận chuyển chỉnh sửa gen CRISPR-Cas9 mới hứa hẹn điều trị ung thư không tác dụng phụ

Phạm Đức Hùng¹, Võ Đức Duy², Nguyễn Thái Minh Trần³

¹Bệnh viện Cincinnati (Hoa Kỳ)

²Đại học Uppsala (Thụy Điển)

³Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

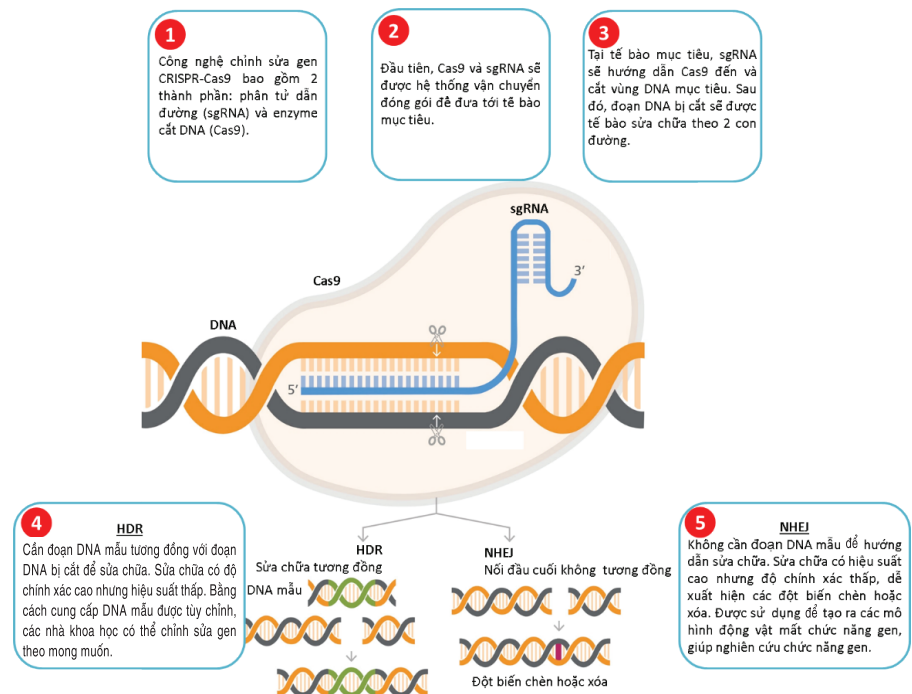
Vừa qua, các nhà nghiên cứu tại Đại học Tel Aviv (Israel) đã thử nghiệm thành công phương pháp điều trị ung thư ở loài chuột bằng công nghệ chỉnh sửa gen (CRISPR-Cas9). Bằng cách sử dụng hệ thống vận chuyển các hạt nano lipid, lần đầu tiên các nhà nghiên cứu nhận thấy, CRISPR-Cas9 giúp cải thiện đáng kể tỷ lệ sống sót của các con chuột bị u nguyên bào thần kinh đệm và ung thư buồng trứng di căn mà không để lại bất kỳ tác dụng phụ nào. Đây được xem là một dấu mốc quan trọng mở đầu cuộc cách mạng không chỉ trong điều trị ung thư mà ngay cả các bệnh di truyền hiếm gặp hay các bệnh mạn tính do vi rút gây ra như AIDS.

Giới hạn của CRISPR-Cas9 trong triển khai lâm sàng

Trong những năm gần đây, các chất ức chế phân tử trúng đích và liệu pháp miễn dịch được xem là những cách hiệu quả nhất cho điều trị ung thư. Tuy nhiên, tỷ lệ tái phát cao và sự gia tăng của tình trạng kháng thuốc đối với hầu hết các loại ung thư cho thấy sự cần thiết phải tìm ra các liệu pháp điều trị mới. Bên cạnh đó, hầu hết các loại thuốc điều trị ung thư hiện nay đều yêu cầu phải sử dụng lặp lại nhiều lần. Điều này làm tăng độc tính, chi phí điều trị và đặc biệt làm giảm nghiêm trọng chất lượng cuộc sống của bệnh nhân. Với khả năng phá hủy vĩnh viễn các gen chịu trách nhiệm cho khả năng sống sót của tế bào ung thư, công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR-Cas9 hứa hẹn sẽ là một liệu pháp hiệu quả giúp điều trị ung thư, khắc phục được

việc sử dụng lặp lại nhiều lần của các loại thuốc điều trị ung thư truyền thống cũng như cải thiện hiệu quả điều trị (hình 1).

Tuy nhiên, cho đến nay liệu pháp điều trị này vẫn chưa khả thi. Các hệ thống vận chuyển hiện nay thường sử dụng vi rút

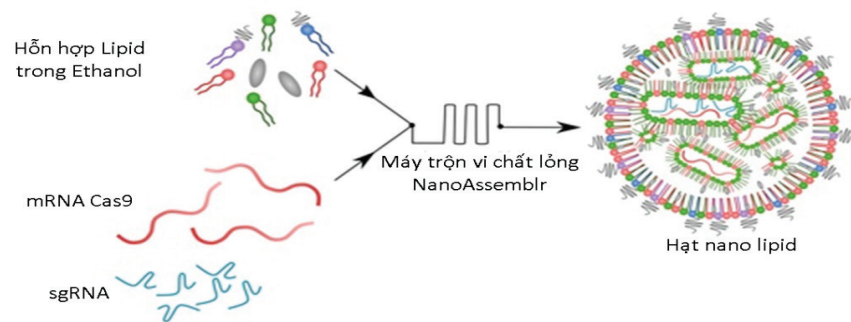


Hình 1. Cơ chế hoạt động của công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR-Cas9 [1].

để vận chuyển. Nó gặp khó khăn trong việc đóng gói các phân tử có kích thước lớn như Cas9 (160 kDa, 4300 base) và sgRNA (~31 kDa, 130 base). Một số vi rút được sử dụng để vận chuyển CRISPR-Cas9 tới tế bào mục tiêu có thể di chuyển sang nhiều loại tế bào khác, nên khả năng nhắm tế bào mục tiêu vẫn còn chưa chính xác. Bên cạnh đó, bản chất là vi rút nên nó có thể gây ra các phản ứng miễn dịch, làm giảm đáng kể sự hấp thu các hệ thống vận chuyển, dẫn đến hiệu suất chỉnh sửa gen thấp. Do đó, mặc dù CRISPR-Cas9 đã được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu, nhưng việc triển khai lâm sàng vẫn còn khá sơ khai. Để có một liệu pháp điều trị ung thư hiệu quả, cần thiết phải có một hệ thống vận chuyển mang CRISPR-Cas9 đến các tế bào ung thư mục tiêu một cách chính xác, an toàn và đặc biệt phải có hiệu suất chỉnh sửa gen cao [2, 3].

CRISPR-LNPs: mảnh ghép cuối cùng cho liệu pháp điều trị ung thư

Nhằm vận chuyển tối ưu CRISPR-Cas9 tới các tế bào ung thư mục tiêu, nhóm nghiên cứu tại Đại học Tel Aviv (TAU) đã phát triển một hệ thống vận chuyển dựa trên hạt nano lipid (LNP) có thể ion hóa, cho phép đóng gói nucleic acid phân phối tới tế bào mục tiêu và giải phóng nucleic acid một cách hiệu quả. Hệ thống này được gọi là CRISPR-LNPs (cLNPs), giúp mang mRNA Cas9 và sgRNA vào các tế bào ung thư mục tiêu (hình 2). Tại tế bào mục tiêu, mRNA Cas9 sẽ được dịch



Hình 2. Hệ thống vận chuyển cLNPs [2].

mã thành enzyme Cas9 để hoạt động như một chiếc kéo phân tử cắt vùng DNA mục tiêu của tế bào ung thư dưới sự hướng dẫn của sgRNA, từ đó làm vô hiệu hóa hoàn toàn sự phát triển của tế bào ung thư.

Ở nghiên cứu này, mRNA đã được chọn để vận chuyển thay vì DNA plasmid, nhằm hạn chế chỉnh sửa gen sai mục tiêu. DNA plasmid chứa gen sgRNA và Cas9, thường được sử dụng nhiều trong nghiên cứu do có giá thành rẻ và dễ thao tác. Tuy nhiên, sử dụng DNA plasmid có một nhược điểm lớn đó là thời gian tồn tại của nó trong tế bào tương đối dài, lên đến vài tuần. Bởi vì DNA plasmid tồn tại quá lâu, rất nhiều sgRNA và Cas9 sẽ được phiên mã và dịch mã, dẫn đến quá trình chỉnh sửa gen được diễn ra liên tục. Sau khi vùng DNA mục tiêu được chỉnh sửa lần đầu tiên, việc nhắm tới đúng vị trí vùng DNA mục tiêu này lần thứ hai để chỉnh sửa trở thành một điều không thể, thay vào đó nó sẽ nhắm vào các vị trí trình tự DNA chỉ khác trình tự DNA mục tiêu một vài nucleotide, từ đó có thể dẫn đến các biến đổi có thể gây hại cho

các tế bào hoặc sinh vật. Sử dụng mRNA Cas9 sẽ giúp khắc phục được nhược điểm này. Khi được đưa vào tế bào mục tiêu, mRNA Cas9 sẽ dịch mã thành enzyme Cas9. Quá trình chỉnh sửa gen sẽ hoạt động một thời gian ngắn trước khi enzyme và mRNA bị tế bào tiêu hủy [4, 5].

Để kiểm tra khả năng chỉnh sửa gen của cLNPs trong các tế bào ung thư, các nhà nghiên cứu đã chọn gen PLK1 làm đối tượng chỉnh sửa. PLK1 là một kinase cần thiết cho quá trình nguyên phân của tế bào. Các nhà nghiên cứu hy vọng rằng, việc phá hủy gen PLK1 sẽ giúp phá vỡ sự phân chia không kiểm soát của tế bào ung thư, gây chết tế bào và ngăn chặn sự phát triển của khối u. Kết quả cho thấy, khả năng chỉnh sửa gen của phức hợp sgPLK1-cLNPs lên đến 98% ở nhiều loại tế bào ung thư (tiến hành trong ống nghiệm), với tỷ lệ chỉnh sửa gen sai mục tiêu <0,1%. Để kiểm tra tính khả thi của việc sử dụng cLNPs trong điều trị ung thư, các nhà nghiên cứu đã chọn thử nghiệm trên mô hình chuột bị 2 loại ung thư nguy hiểm nhất, đó là u nguyên bào thần kinh đệm và

ung thư buồng trứng di căn.

U nguyên bào thần kinh đệm là loại ung thư não nguy hiểm nhất, với thời gian trung bình một người có thể sống sau khi được chẩn đoán là 15 tháng và tỷ lệ sống sót sau 5 năm chỉ có 3%. Các nhà nghiên cứu đã chứng minh rằng, một lần điều trị duy nhất với cLNP đã làm tăng gấp đôi tuổi thọ trung bình của những con chuột bị u nguyên bào thần kinh đệm, cải thiện tỷ lệ sống sót tổng thể của chúng lên khoảng 30%.

Ung thư buồng trứng là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở phụ nữ. Hầu hết bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn cuối của bệnh, khi mà di căn đã lan ra khắp cơ thể. Mặc dù có nhiều tiến bộ trong việc chẩn đoán và điều trị, nhưng chỉ có 1/3 số bệnh nhân sống sót khi mắc căn bệnh này. Điều trị bằng cLNP trên mô hình chuột bị ung thư buồng trứng di căn đã làm tăng tỷ lệ sống sót tổng thể của chúng lên 80%.

Ưu điểm của hệ thống phân phối mới cLNPs đó là nó không phải vi rút, không gây phản ứng miễn dịch, cho hiệu quả chỉnh sửa gen cao (98% ở nhiều tế bào ung thư trong ống nghiệm và 80% trong cơ thể sống), liều lượng hiệu quả tối thiểu thấp, không có độc tính, không có tác dụng phụ, khả năng nhắm mục tiêu khối u cao.

Tuy nhiên, điều quan trọng là những kết quả này mới chỉ là những nghiên cứu sơ bộ trên mô hình động vật và tế bào, đồng nghĩa với việc khi được thực hiện trên người thì hiệu quả có được

như vậy hay không thì vẫn chưa biết được. Ngoài ra, cỡ mẫu của nhóm đối chứng và nhóm bệnh vẫn còn ít, chỉ có tám con chuột cho mỗi nhóm, do đó cần tiến hành các nghiên cứu trên các cỡ mẫu lớn hơn để xác nhận xem tỷ lệ sống sót có đồng nhất hay không.

Tiềm năng lớn trong điều trị các loại ung thư khác nhau

Theo Giáo sư Dan Peer, trưởng nhóm nghiên cứu, đây là nghiên cứu đầu tiên trên thế giới chứng minh rằng chỉnh sửa gen bằng CRISPR/Cas9 có thể điều trị ung thư hiệu quả trên động vật sống. Cần phải nhấn mạnh rằng, đây không phải là hóa trị, không hề cho thấy bất kỳ tác dụng phụ nào. Hệ thống vận chuyển CRISPR-LNPs mà nhóm phát triển cho phép nhắm mục tiêu tới các DNA chịu trách nhiệm cho sự sống sót của các tế bào ung thư. Kéo phân tử bằng Cas9 sẽ cắt đứt hoàn toàn các DNA này, từ đó làm vô hiệu hóa và ngăn chặn vĩnh viễn sự nhân lên trở lại của các tế bào ung thư. Đây là một phương pháp điều trị đầy mới mẻ cho các bệnh ung thư nguy hiểm mà hiện nay vẫn chưa có một phương pháp điều trị hiệu quả. Nhóm nghiên cứu cũng cho rằng, tiềm năng của hệ thống vận chuyển cLNPs là rất lớn, hứa hẹn sẽ mở ra nhiều khả năng mới để điều trị nhiều loại ung thư khác nhau cũng như các bệnh di truyền hiếm gặp hay các bệnh mạn tính do vi rút gây ra như AIDS.

Về dự định trong tương lai,

Giáo sư Dan Peer cho biết thêm, ý định kế tiếp của nhóm là tiếp tục tiến hành các thử nghiệm trên các bệnh di truyền như bệnh ung thư máu hay chứng loạn dưỡng cơ Duchenne... Có thể sẽ mất một khoảng thời gian dài trước khi phương pháp điều trị mới này được áp dụng trên người, tuy nhiên nhóm nghiên cứu vẫn rất lạc quan về triển vọng của công nghệ này trong việc điều trị bệnh ung thư không tác dụng phụ cho con người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] <https://www.stemcell.com/design-considerations-for-the-arcitect-crispr-cas9-genome-editing-system.html/>.

[2] D. Rosenblum, et al. (2020), "CRISPR-Cas9 genome editing using targeted lipid nanoparticles for cancer therapy", *Science Advances*, **6(47)**, p. eabc9450.

[3] Jack Dunhill (2020), *CRISPR-based gene editing approach destroys cancer cells, boost survival from some cancers by 80 percent*, <https://www.iflscience.com/health-and-medicine/crisprbased-gene-editing-can-boost-survival-of-some-cancers-by-up-to-80-percent-study-suggests/>.

[4] Brittany Enzmann (2018), *The problems of using plasmids for CRISPR genome editing*, SYNTHOGO, <https://www.synthego.com/blog/crispr-plasmid-pitfalls>.

[5] Z. Glass, et al. (2018), "Engineering the delivery system for CRISPR-based genome editing", *Trends in Biotechnology*, **36(2)**, pp.173-185.