

## سرطانزائی آدنوویروسهای انسانی برای حیوانات آزمایشگاهی

دکتر خسرو فرهی - دکتر فخرالسادات محمدزاده کیانی \*

خلاصه : در حال حاضر آدنوویروسها تنها دسته از ویروسهای شناخته شده انسان میباشد که اگر بنوزاد بعضی از جانوران تلقیح گردند در پیش آنها تولید غده سرطانی می نمایند .

تا سال ۱۹۶۴ فقط سروتیپهای دوازده و هیجده بداشتن قدرت تولید تومور شناخته شده بودند ولی بتدریج نشان داده شد که سروتیپهای ۳ و ۷ و ۱۴ و ۲۱ هم این خاصیت را دارا میباشند.

افرادی که روی خاصیت تومورزائی آدنوویروسها کار میکنند تا این اواخر متفقاً معتقد بودند که آدنوویروسهای ۲ و ۵ و ۶ که برای انسان بیش از سروتیپهای دیگر بیماریزا هستند ، برای جانوران هیچ گونه خاصیت سرطانزائی ندارند ولی فریمن و همکارانش کشف کرده اند که آدنوویروسهای ۲ و ۵ و ۶ میتوانند در سلولهای جنین موش که بطور *in-vitro* کشت داده شده باشند ، تحول ایجاد نمایند و آنها را به یاخته های سرطانی مبدل سازند. نکته جالبی که در مشاهدات فریمن وجود دارد این است که آدنوویروسهای اخیر در صورتی میتوانند باعث ترانسفورمسیون سلولهای جنینی موش گردند که در محیط کشت یاخته های مزبور مقدار کلسیم 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 سرو-تیپهای آدنوویروسها امکان پذیر خواهد شد.

در حال حاضر آدنوویروسها تنها دسته از ویروسهای شناخته شده انسان میباشند که اگر بنوزاد بعضی از جانوران تلقیح گردند در آنها تولید غده سرطانی مینمایند. تا سال ۱۹۶۴ فقط سروتیپ های ۱۲ [۲۳] و ۱۸ و [۱۱] بداشتن قدرت تولید تومور شناخته شده بودند، ولی بتدریج نشان داده شد که سروتیپ های ۷، ۳، ۱۴ و ۲ هم این خاصیت را دارا میباشند.

کارشناسان متفق القول بودند، که آدنوویروسهای ۱، ۲، ۳، ۵ و ۶ که برای انسان بیش از سروتیپ های دیگر بیماری زا هستند، برای جانوران هیچگونه خاصیت سرطانی ندارند، اما اخیراً ثابت شده است که سروتیپ های ۲، ۳، ۵ و ۶ می توانند در محیط هایی که کلسیم آنها کم باشد، سبب ترانسفورمسیون سلولهای جنینی موش گردند [۳-۴]. باین ترتیب می توان پیش بینی کرد که در آینده با بکار بردن روش های تازه و شرایط مناسب، نشان دادن خاصیت سرطانی تعداد بیشتری از سروتیپهای آدنوویروسها امکان پذیر خواهد شد.

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

**کاپسید و کاپسومر:** - ویروس کامل که اصطلاحاً **ویریون (Virion)** نامیده میشود از دو بخش متمایز هسته و کاپسید تشکیل گردیده است. هسته منحصراً از اسید ریبونوکلیئیک (RNA) یا اسید دزاکسی ریبونوکلیئیک (DNA) ساخته شده و در داخل پوسته ای بنام کاپسید که ساختمان پروتئینی دارد کاملاً مستتر است. خود کاپسید از اجتماع واحدهائی بنام کاپسومر بوجود آمده است.

**سوش یا سوبه سلولی:** - با بکار بردن محلولهای تریپسین یا ورسن و یا کلاژناز میتوان سلولهای متشکله یک بافت جانوری را از هم جدا کرد. اگر سلولهای آزاد شده را در محیط های غذایی مناسب معلق کنند و بداخل شیشه های کتابی بریزند، یاخته ها بسطح جداری شیشه که با مایع در تماس است می چسبند و شروع به تکثیر



می نمایند بطوری که در عرض چند روز تمام سطح مزبور از یک ورقه سلولی پوشیده میشود. حال میتوان بازهم با هضم آنزیمی، سلولهای این ورقه را از هم جدا نمود و سوسپانسیون سلولی بدست آمده را حداقل در دو یا سه شیشه دیگر کشت داد، این عمل را پاساژ میگویند. اغلب کشت های سلولی بعد از چند پاساژ قدرت تکثیر خود را از دست میدهند و از بین میروند ولی گاهی هم اتفاق می افتد که سلولهای موجود در محیط کشت بزندگی *in-Vitro* عادت مینمایند و در صورت پاساژ های مرتب و بموقع، سالهای متمادی بزندگی و تکثیر خود ادامه میدهند. این قبیل یاخته ها را سوش های سلولی (*Cellules de Souche*) و یا سلولهای رده پیوسته (*Cellules en lignée continue = Continuous cell line*) می نامند.

**وقفه تماس:** - سلولهای یک بافت عادی که بطرف بالا در داخل شیشه کشت داده شده باشد، وقتی که بر اثر تکثیر روی سطحی از شیشه را با یک ورقه منو سلولی کاملاً پوشانند، لایه دیگری در روی لایه اولی بوجود نمیآورند. این پدیده که به وقفه تماس معروف است در کشت سلولهای غدد سرطانی مشاهده نمیشود.

**سیکل لیتیک:** - یکی از صفات اصلی ویروسها این است که جز در داخل سلولهای زنده ای که قادر به میتوز باشند تکثیر حاصل نمیکند. عده ای از ویروسها هنگام تکثیر در کشت برخی از سلولها، سبب استحاله و از بین رفتن یاخته ها میگرددند. در این صورت مراحل مختلف تکثیر ویروس را که نتیجه آن استحاله سلولهای میزبان می باشد سیکل لیتیک می گویند.



**تاریخچه و تقسیم بندی:** - نخستین سروتیپ آدنوویروسها در سال ۱۹۵۳ توسط Rowe [۱۸] از یک قطعه لوزه انسان که در طی عمل جراحی برداشته شده

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

تا کنون ۳۱ سروتیپ آدنو ویروس از انسان جدا گردیده است . بر حسب میزان قدرت سرطانزائی ، نسبت درصد مجموع مقدار گوانین و سیتوزین (G+C) موجود در اسید دزاکسی ریبونوکلیئیک سروتیپها و امکان هیبریداسیون آسیدنوکلیئیک ویرال با RNA های پیاسبری که بتعاقب آلوده شدن سلول با آدنو ویروس در یاخته میزبان بوجود میآیند، این ویروسها را به سه گروه تقسیم میکنند [۹]:

الف گروه اول: شامل آدنو ویروسهای ۱۲-۱۸-۳۱ میباشد که از نظر قدرت تومورزائی در مقام اول قرار دارند و مقدار (گوانین + سیتوزین) ، ۴۸ تا ۴۹ درصد DNA ی آنها را تشکیل می دهد .

ب - گروه دوم مشتمل بر سروتیپهای ۳-۷-۱۱-۱۴-۱۶-۱۷-۲۱ است که از نظر خاصیت سرطانزائی ضعیفتر 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 . سروتیپهای این گروه اونکوژن نیستند ولی اخیراً ثابت شده است که آدنو ویروسهای ۲ - ۵ - ۶ از این گروه قادرند در سلولهای جنینی موش که در محیط غذائی فقیر از کلسیم کشت داده شده باشند، تحول ایجاد کنند و آنها را به یاخته های سرطانی مبدل سازند .

تقسیم بندی دیگری هم وجود دارد که متعلق به Rosen [۱۷] می باشد و در آن بر مبنای خاصیت هموآگلوتیناسیون، ۳۱ سروتیپ آدنو ویروسها را به ۴ گروه تقسیم می کنند .

ساختمان فیزیکی و شیمیائی آدنو ویروسها : - اندازه آدنو ویروسها در حدود



۷. سیلی میکرون و کاپسید آنها بشکل کثیرالسطوحی میباشد که از بیست مثلث متساوی-الاضلاع تشکیل گردیده است .

خود کاپسید از اجتماع ۲۵۲ واحد ساختمانی مستقل بنام کاپسومر بوجود آمده که قطر هر یک از آنها ۸ میلی میکرون میباشد . از نظر ساختمان سرفولوژیک و خواص آنتی ژنیک در کاپسید آدنوویروسها دو نوع کاپسومر میتوان تمیز داد : پنتون ها ( Pentons ) و هگزونها ( Hexons ) .

الف - پنتونها : - از هر کپسومری که یکی از رئوس کاپسید بیست وجهی آدنوویروسها را تشکیل میدهد رشته باریکی بنام فیبریل بطول ۲ میلی میکرون خارج میشود و بیک جسم کروی بقطرع میلی میکرون ختم میگردد . مجموع کاپسومر رأس، فیبریل و جسم کروی انتهای آن پنتون نام دارد . بخش فیبریل پنتون، آنتی ژن C و جسم کروی انتهای فیبریل آنتی ژن B را تشکیل میدهد . هر دوی این آنتی ژنها خاصیت همواگلوتیناسیون دارند با این تفاوت که اولی اختصاصی برای هر سروتیپ و دومی اختصاصی برای سروتیپ های گروه ۳ می باشد .

ب - هگزونها : ۲۴ کپسومری که سطوح بیست گانه کاپسید را میسازند هگزون خوانده میشوند و آنتی ژن A را تشکیل می دهند . این آنتی ژن در بین تمام سروتیپ های آدنوویروسهای انسان مشترک است . بعبارت دیگر آنتی ژن A که از یکی از سروتیپ ها بدست آمده است قادر است در آزمایش ثبوت مکمل با آنتی سرم تمام سروتیپ ها را کسبون بدهد .

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

وزن ملکولی DNA ی این دسته از ویروسها در حدود  $1.7 \times 10^6$  است که ۱۳ درصد وزن خشک ویروس را تشکیل میدهد . وزن ملکولی هگزونها جدا شده را در حدود  $1.3 \times 10^6$  محاسبه کرده اند .



### الف - آدنو ویروس‌هایی که قدرت سرطانزایی زیادی دارند :

اگر آدنو ویروس‌های ۱۲، ۱۸، ۱۹، ۳۱ را بنوزادان هاستر تلقیح کنند، غالباً پس از یک تا دو ماه دوره کمون در مجل تلقیح ویروس تومر ایجاد می‌گردد. [۲۲ - ۱۶] چنانچه همزمان با تلقیح ویروس، ایمونوسرم مربوطه نیز به حیوان تزریق گردد از پیدایش تومر کاملاً ممانعت بعمل می‌آید. گرچه تلقیح دودهم میکروگرم از ویروس خالص برای ایجاد تومر در پیش اکثر نوزادان جانوران حساس کافی است ولی اگر دز بیشتری بکار رود نتیجه صد درصد مثبت خواهد بود. [۸]

نوزادانی که سن آنها بیشتر از ۲ روز باشد نسبت به خاصیت تومرزایی ویروس مقاومت نشان میدهند با وجود این چنانچه در بدو تولد با برداشتن تیموس سیستم ایمونولوژیک جانور را دچار اختلال سازند حیوان در دوره بلوغ نیز حساسیت خود را نسبت به آدنو ویروس‌های سرطانزا حفظ خواهد نمود [۱۹].

اگر تومری را که بر اثر تلقیح آدنو ویروس ایجاد شده است برداشته و سلولهای آنرا در خارج از بدن (in Vitro) کشت دهند در صورت پاساژ یاخته‌های مزبور میتوانند سالهای متمادی تکثیر پیدا کنند و به زندگی ادامه دهند.

کاریوتیپ این چنین سلولهایی معمولاً تغییر می‌نماید ولی این تغییر از نوع معین و مشخص نیست [۲]

گرچه تومر بطور آزمایشی بر اثر تلقیح ویروس ایجاد گردیده است ولی عملاً در داخل غده سرطانی از ویروس مولد غده اثری مشاهده نمی‌گردد. تحریک غده مزبور بوسیله مواد شیمیائی نظیر اکتینوسیسین D، سیتوسیسین C، پوروسیسین، کورتیزون، آب اکسیژنه و یا عوامل فیزیکی نظیر اشعه مختلف سبب آشکار شدن ویروس در غده سرطانی نمی‌گردد [۱۴] با وجود این در خون جانوران حامل تومر بر ضد آنتی ژنهای ساختمانی آدنو ویروس مولد غده آنتی کور وجود دارد. آدنو ویروس‌های یاد شده میتوانند در پیش نوزادان موش های معمولی و موشهای آزمایشگاهی نیز



ایجاد تومور کنند ولی درجه حساسیت افراد نژادهای مختلف این جانوران در مقابل خاصیت سرطانزائی آدنوویروسها متفاوت می باشد. مثلاً بعضی از نژادها نظیر موش آزمایشگاهی به  $C3H, He$  مقاوم هستند و تلقیح آدنوویروسهای ۱۲، ۱۸ و ۳۱ توموری در پیش آنها بوجود نمی آورد. این مقاومت مطلق نیست یعنی اگر همزمان با تلقیح ویروس، سرم آنتی لنفوسیت نیز بجانور تزریق گردد در هشتاد درصد موارد حیوان در سن شش ماهگی بسرطان مبتلا میشود [۱].

**ایجاد تحول در کشت سلولهای جنینی:** چنانچه سلولهای جنینی جانورانی نظیر هامستر، موش خانگی و یا خرگوش را در خارج از بدن (in - Vitro) کشت دهند و سپس آنها را با آدنوویروسهای سرطانزا مجاور سازند نناجی که بدست میآید تعجب انگیز است:

در بیشتر موارد ظاهراً هیچگونه تغییری در خواص فیزیکی، شیمیائی و اعمال 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 ناسبرده باعث ایجاد تحول در یاخته ها میشود که تظاهرات آن عبارتند از:

۱- تغییر مورفولوژی یاخته ها.

۲- افزایش فعل و انفعالات اگزرونیکی و آندرگونیکی که نتیجه آن افزایش سرعت تکثیر سلولها می باشد.

۳- یاخته های تحول یافته بصورت سوش در میآیند و وقفه تماس رانیز از دست میدهند. گرچه در کشت سلولهاییکه بر اثر مجاورت با آدنوویروسها تحول یافته اند، اثری از خود ویروس و یا آنتی ژنهای آن مشاهده نمیشود مع الوصف اگر این سلولها را به حیوان سالم دیگر تلقیح کنند تولید غده سرطانی مینماید که از هر نظر شبیه توموری است که با تلقیح خود ویروس ایجاد شده باشد.



میتوانند با DNA ی آدنو ویروس تیپ ۱۲ یک هیبریداسیون اختصاصی تولید کنند. این هیبریداسیون با DNA ی آدنو ویروسهای ۱۸ و ۳۱، که هر دو شدیداً انکوژن می باشند باز هم صورت میگیرد ولی این کیفیت با DNA ی گروه دوم و سوم آدنو - ویروسها به هیچ وجه امکان پذیر نیست. RNA های پیامبری که با DNA ی آدنو - ویروسها هیبریداسیون تولید می کنند، هرگز در سلولهای سالم و یا در سلولهایی که بوسیله پلیوم و SV40 تحول یافته اند دیده نمیشوند بنابراین بدون تردید RNA های پیامبر مزبور معلول استقرار DNA ی آدنو ویروس در هسته سلولهای تحول یافته میباشد.

### ب- آدنو ویروسهایی که قدرت سرطانزایی آنها کم است :

آدنو ویروسهای ۳، ۷، ۱۴، ۱۶، ۱۹ و ۲۱ هم انکوژن میباشند ولی قدرت تومورزایی آنها بمراتب کمتر از سرو تیپ های ۱۲، ۱۸ و ۳۱ میباشد بطوری که اگر این گروه از آدنو ویروسها را به تعدادی از نوزادان جانور حساس تلقیح کنند، پس از یک دوره کمون نسبتاً طولانی (۱۰ الی ۳۰ روز) تقریباً در پیش بیست درصد آنها تومر ایجاد می گردد. اگر عصاره این تومرها بنوزادان دیگری تلقیح گردد باز هم فقط در حدود ۲٪ آنها ب سرطان مبتلا خواهند شد. در اینجا نیز سلولهای تومورال حاوی آنتی ژن T می باشند که اختصاص به آدنو ویروسهای ۳، ۷، ۱۴، ۱۶ و ۱۹ دارد. در سلولهای تومورهایی که بر اثر تلقیح آدنو ویروسهای گروه دوم تولید میشوند، RNA های پیامبری وجود دارد که میتواند با DNA ی سرو تیپ های این گروه هیبریداسیون تولید کنند [۶].

RNA های پیامبر اخیر کاملاً از RNA های پیامبری که بر اثر آلوده شدن سلولها با آدنو ویروسهای گروه اول در یاخته بوجود می آیند متمایز می باشند. برخلاف آدنو ویروسهای گروه یک، آدنو ویروسهای گروه دوم نمیتوانند در کشت سلولهای جنینی تحول ایجاد کنند.



### ج - آدنوویروسهائی که خاصیت ایجاد تومور ندارند:

افرادی که روی خاصیت تومورزائی آدنوویروسها کار می کنند تا این اواخر متفقاً معتقد بودند که غیر از آدنو ویروسهای گروه های یک و دو ، سروتیپ های دیگر آدنوویروسها هیچگونه خاصیت تومورزائی ندارند، ولی بتازگی فریمن (Freeman) و همکارانش [۵] کشف کرده اند که آدنوویروسهای ۲، ۵ و ۶ که بعلمت دارا بودن ۵ تا ۶۱٪ (گوانین + سیتوزین) در DNAی خود، عدم قدرت انکوژنی آنها مورد قبول واقع شده بود ، میتوانند در سلولها تحول ایجاد کنند .

نکته بسیار جالبی که در مشاهدات فریمن وجود دارد این است که آدنو - ویروسهای ۲ ، ۵ و ۶ در صورتی 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 در سلولها ایجاد میشود عبارتند از:

تغییرات مورفولوژیک سلولها، از بین رفتن وقفه تماس ، تبدیل آنها به سلولهای رده پیوسته یعنی حصول قدرت تکثیر نامحدود در کشت ، حساسیت به کلسیم ، حضور آن نوع از آنتی ژن T که اختصاص بسروتیپ های ۱، ۲، ۵ و ۶ دارد و بالاخره وجود یکنوع RNA ی پیامبر در پلی ریبوزمهای سلولهای تحول یافته که مکمل DNA ی ویروس میباشد . گرین و همکارانش نشان داده اند که RNA ی بدست آمده از سلولهای که بوسیله آدنوویروس ۲ تحول یافته اند، با DNA ی سروتیپ های ۱، ۲، ۵ و ۶ آدنوویروسها، هیبریداسیون اختصاصی حاصل می کند . در صورتی که این هیبریداسیون با DNA ی آدنوویروسهای گروه یک و دو بهیچوجه انجام نمیپذیرد . تا کنون نتوانسته اند با تلقیح آدنوویروسهای گروه سوم ، بطور آزمایشی درپیش جانوران تومور ایجاد کنند .

اکنون که از خاصیت سرطانزائی آدنوویروسها برای حیوانات آزمایشگاه