

مباحث اخلاقی ویرایش ژنوم و ژن‌درمانی با تأکید بر سیستم CRISPR-Cas

هاجر یعقوبی^۱، محسن صفایی^{۲*}، علی شجاعیان^۳، سمیرا صنمی^۴

تاریخ دریافت: 98/6/12

تاریخ پذیرش: 98/9/28

تاریخ انتشار: 98/11/12

مقاله‌ی مروری

چکیده

ژن‌درمانی شامل ورود ژن‌های اختصاصی و عملکردی به درون سلول‌ها با هدف پیشگیری و درمان است. این فرایند ممکن است به صورت خارج بدنی (آزمایشگاهی) یا به صورت مستقیم از طریق داخل بدنی انجام شود. یکی از روش‌های نوین ژن‌درمانی و ویرایش ژنوم که در چند سال اخیر معرفی شده و در حوزه‌ی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری تحولات بزرگی ایجاد کرده، سیستم ویرایش ژنی CRISPR-Cas است. این سیستم سریع‌تر و ارزان‌تر و دقیق‌تر از شیوه‌های رایج ویرایش ژن مانند روش‌های TALEN و ZFNs است. در ارتباط با سیستم ویرایش ژنی، همانند هر فرایند نوظهور دیگری، چالش‌های اخلاقی و نگرانی‌هایی مطرح شده است؛ برای مثال، می‌توان از به‌کارگیری احتمالی این تکنیک برای اهداف هنجارشکن مانند بیوتورریسم، جهش‌های زیان‌بار وارده به موجود زنده، به‌هم‌خوردن تعادل اکولوژیک نام برد. در مقاله‌ی مروری حاضر، از پایگاه داده‌های Scopus، SID، Pub-Med، Science Direct و Web of Science استفاده و پس از انتخاب و مطالعه‌ی کامل مقالات مورد نیاز، اطلاعات لازم استخراج و خلاصه شد. با توجه به ملاحظات اخلاقی و حقوقی موجود در خصوص فرایندهای ژن‌درمانی، انتظار می‌رود شرایط مناسبی برای بهره‌گیری هرچه‌بہتر از ژن‌درمانی فراهم آمده و از نگرانی‌ها، لغزش‌های ممکن و سوءاستفاده‌های احتمالی کاسته شود. مقاله‌ی حاضر مباحث اخلاقی پیرامون ویرایش ژنوم و ژن‌درمانی را با تأکید بر سیستم CRISPR-Cas شرح می‌دهد.

واژگان کلیدی: اخلاق، ژن‌درمانی، ویرایش ژنی، CRISPR-Cas

1. استادیار بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده‌ی علوم پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
2. دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی، گروه زیست‌فناوری پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
3. دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، گروه پزشکی مولکولی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
4. دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی، گروه زیست‌فناوری پزشکی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

* نویسنده‌ی طرف مکاتبه: شهرکرد، رحمتیه، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، تلفن: ۰۲۸۳۳۳۳۱۴۷۱

Email: mohsensafayi@yahoo.com

مقدمه

در صورت بروز تغییرات اندک یا ایجاد موتاسیون‌های ژنی در اطلاعات ژنتیکی، ممکن است بیماری جدیدی ایجاد شود؛ بنابراین بررسی‌های ژنتیکی به منظور شناخت از سیستم ژنتیکی فرد مبتلا و شناسایی ژن مسئول ایجاد بیماری می‌تواند راهکارهای ژن‌درمانی^۱ را تسهیل کند (۱). ژن‌درمانی روشی برای درمان و بهبود وضعیت سلامت بیماران به وسیله‌ی تغییرات ژنتیکی در سلول‌های بیمار تعریف می‌شود. این روش شامل تکنیکی جالب به منظور درمان بیماری‌های ژنتیکی و غیرژنتیکی از طریق انتقال ژن هدف و عوامل تنظیم‌کننده‌ی مربوط به آن، به درون هسته عمل می‌کند؛ به عبارت دیگر، ژن‌درمانی موجب اصلاح ژنی می‌شود که عملکرد آن از بین رفته است؛ همچنین ژن‌درمانی به‌عنوان جایگزینی برای آنزیم/ پروتئین درمانی در نظر گرفته می‌شود (۲). ژن‌درمانی اولین بار در سال ۱۹۹۰ بر روی یک کودک مبتلا به بیماری نقص ایمنی مرکب شدید^۲ تجربه شد. در این بیماری نقص در آنزیم آدنوزین د آمیناز^۳ وجود دارد و سیستم ایمنی فرد به شدت ضعیف می‌شود و بدن در برابر عفونت‌های متداول ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌های ساپروفیت ناتوان است؛ بنابراین از طریق ژن‌درمانی، کمبود آنزیم مذکور جبران و سیستم ایمنی کودک فعال شد و سال‌ها به‌طور طبیعی به کار خود ادامه داد (۳).

مروری بر روش‌های ژن‌درمانی

ژن‌درمانی به دو شیوه انجام می‌شود: ژن‌درمانی سلول‌های بدنی^۴ و ژن‌درمانی سلول‌های زایا^۵. ژن‌درمانی سلول‌های سوماتیک تغییر در سلول‌های غیرجنسی است و به نسل‌های بعدی منتقل نخواهد شد و ژن‌درمانی سلول‌های زایا، تغییر ژن

در سلول‌های جنسی همانند اسپرم و تخمک است (۳). به نظر می‌رسد که بیشتر تأکید جوامع و پژوهشگران بر روش‌های ژن‌درمانی سوماتیک است که نسبتاً پذیرفتنی بوده و ژن‌درمانی بر پایه‌ی سلول‌های زایا موانع و چالش‌های اخلاقی بیشتری را به خود اختصاص داده است (۴).

ژن‌درمانی به سه روش انجام می‌شود: الف. جایگزینی ژن ناقص با ژن سالم، ب. اصلاح و تغییر یک ژن معیوب با کمک روش‌های علمی، تا آن ژن به‌صورت طبیعی و سالم عمل کند؛ از میان روش‌های نوین و امروزی روش CRISPR را می‌توان نام برد، ج. غیرفعال‌سازی یک ژن فعال یا فعال‌سازی یک ژن غیرفعال (۵). ورود یک ژن به داخل سلول امری دشوار است که برای این کار معمولاً از یک وکتور^۶ (ناقل)^۷ استفاده می‌کنند. در این مواقع، می‌توان از وکتورهای ویروسی و غیرویروسی به‌عنوان ناقل یا حامل ژن‌ها استفاده کرد (۶).

انواع روش‌های ویرایش هدفمند ژنوم عبارت‌اند از:

الف. مگانوکلازها^۸ که توالی‌هایی از DNA به طول چهارده تا چهل جفت باز را تشخیص می‌دهند و ابزار مفیدی برای ایجاد برش‌های دو رشته‌ای در کروموزوم‌ها برای مهندسی هدفمند ژنوم محسوب می‌شوند. از مگانوکلازها به‌طور وسیعی برای هدف‌گیری ژن‌ها در انواع سلول‌ها و ارگانیسم‌های متفاوت استفاده شده است.

ب. نوکلئازهای انگشت‌روی^۹ که از ناحیه‌ی انگشت‌روی که وظیفه‌ی شناسایی DNA و ناحیه‌ی آنزیمی FOK1 که وظیفه‌ی برش را بر عهده دارد، ساخته شده است.

ج. نوکلئازهای افکتور شبه فعال‌کننده رونویسی^۹ (TALEN) به‌عنوان ابزاری دیگر در ویرایش ژنوم مطرح است. در این گروه نیز مشابه با نوکلئازهای انگشت‌روی،

6. Vector
7. Meganucleases
8. Zinc Finger Nucleases (ZFN)
9. Transcription Activator-like Effector Nuclease (TALEN)

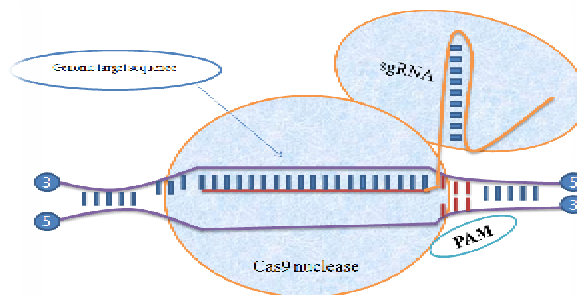
1. Gene Therapy
2. Severe Combined Immunodeficiency (SCID)
3. Adenosine Deaminase
4. Somatic Cells
5. Germ Cells

برخی از کاربردهای سیستم CRISPR-Cas

سیستم CRISPR-Cas قادر است DNA را به درون سلول زایای هر موجودی وارد کند و ژنهای سوماتیک را توسط ویرایش ژنومی تغییر دهد. این سیستم می‌تواند فاکتورهای رونویسی هدف را تغییر دهد و ژنهای خاصی را فعال یا غیرفعال کند (۱۰). همچنین می‌تواند ژنهایی را که رونویسی آنها توسط متیلاسیون DNA متوقف شده است فعال سازد (۱۱). تحقیقات در زمینه‌ی بیماری‌ها و همچنین مطالعات تکاملی مرتبط با ژنهای جهش‌یافته یا خاموش، با هدف تولید حیوانات مدل، می‌تواند کاربرد زیادی داشته باشد (۱۲). از این سیستم برای تولید مدل‌های سلولی از بیماری‌های انسانی نیز استفاده شده است (۱۳). همچنین، از CRISPR-Cas برای ایجاد تغییرات در ژنوم گیاهی، افزایش کیفیت محصولات، افزایش مقاومت به بیماری‌ها نیز به کار گرفته شده است (۱۴).

ژن‌درمانی روشی نوین در پیشگیری و درمان بیماری‌های ژنتیکی و ارثی، سرطان‌ها و... است و علمی جدید و نوپاست که اکنون در آغاز راه خود بوده و با توجه به عملکردهای متعدد و متنوعی که دارد ملاحظات، مباحث و چالش‌های گوناگونی را به همراه خواهد داشت. تأکیدات اخلاقی بیشتر بر توجه به حقوق بیماران، رعایت استقلال افراد، رضایت فرزندان آتی، سودمندی روش‌های ژن‌درمانی، رعایت موازین عدالت و توجه به کرامت انسانی استوار شده است (۱۵ و ۳). همان‌گونه که در بالا بیان شد ژن‌درمانی برای سلول‌های سوماتیک و زایا امکان‌پذیر است. درباره‌ی سلول‌های سوماتیک، انجام‌دادن روش‌های ژن‌درمانی نسبتاً پذیرفتنی بوده و ممنوعیت و دغدغه‌های اخلاقی کمتری دارد؛ اما آنچه بیش از همه ابهامات اخلاقی دارد، ژن‌درمانی سلول‌های زایا و جنینی است که استفاده از این روش را محدود کرده است. در این مقاله سعی شده است برخی از نکات و ملاحظات اخلاقی در بهره‌گیری از روش ژن‌درمانی برای سلول‌های زایا و

ناحیه‌ی آنزیمی FOKI به‌عنوان بخش برش‌دهنده‌ی DNA و به‌صورت دایمر عمل می‌کند؛ ضمن اینکه ناحیه‌ی شناسایی‌کننده‌ی DNA که از باکتری بیماری‌زای گیاهی از جنس گزانتوموناس^۱ مشتق شده است TALE نام دارد که با ناحیه‌ی کاتالیتیک و آنزیمی FOKI ادغام می‌شوند. د. سیستم^۲ CRISPR-Cas (v) یکی از روش‌های نوین ژن‌درمانی و ویرایش ژنوم که در چند سال اخیر معرفی شده و در حوزه‌ی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری تحولات بزرگی ایجاد کرده، سیستم ویرایش ژن CRISPR-Cas است. این سیستم مشتق از یک سیستم اکتسابی باکتریایی است که نوکلئازهای هدایت‌شده با میانجی‌گری RNA را برای برش عناصر ژنتیکی بیگانه استفاده می‌کند (۸). به‌طورکلی این سیستم شامل یک مجموعه ژن مرتبط با CRISPR تحت عنوان Cas، RNAهای غیرکدکننده و یک توالی مجزا از عناصر تکراری است (۹).



شکل شماره ۱- اجزای سازنده‌ی سیستم CRISPR
(منبع: پژوهشگر)

1. Xanthomonas
2. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats - CRISPR- Associated Protein

سیستم ویرایش ژنی CRISPR-Cas شرح داده شود.

دیدگاه کلی مباحث اخلاقی در ژن درمانی

گسترش روش‌های پیشرفته‌ی مهندسی ژنتیک و ژن درمانی به‌کارگیری و انجام این روش‌ها را همواره با چالش‌های اخلاقی و ابهاماتی روبه‌رو کرده است. در زیر به تعدادی از این دغدغه‌های اخلاقی خواهیم پرداخت:

الف. از آنجاکه بیشتر وکتورهای مورد استفاده در ژن درمانی ویروسی هستند و این ویروس‌ها قدرت بیماری‌زایی خود را از دست داده‌اند، ممکن است در درون بدن بیمار مجدداً فعال و موجب گسترش عفونت شوند و سلامت بیمار را به خطر بیندازند.

ب. با توجه به نوظهور بودن روش‌های ژن درمانی، شواهدی که نشان‌دهنده‌ی تأثیر مثبت این روش به‌صورت دائمی باشد وجود ندارد؛ بنابراین در صورتی که بیماران به‌ناچار چند مرحله ژن درمانی انجام دهند، ممکن است متحمل پرداخت هزینه‌های سنگین و خطرات احتمالی ناشی از ژن درمانی شوند؛ علاوه بر آن ممکن است در هر مرحله از ژن درمانی، سیستم ایمنی بدن نسبت به ژن جدید پاسخ دهد و خطراتی را برای بیمار به همراه داشته باشد.

ج. ممکن است ژن جدید در محل دیگری غیر از محل اصلی در ژنوم گیرنده درج شود (بین ۱٪ تا ۱۰٪ درج خارج از هدف^۱ وجود دارد)؛ به‌عنوان مثال احتمال دارد DNA جدید در محل یک ژن مهارکننده‌ی سرطان قرار بگیرد و آن را غیرفعال کند که ممکن است در بدن فرد میزبان تومور ایجاد شود و به بیمار آسیب برساند؛ در نتیجه این عمل می‌تواند در حوزه‌ی اخلاق پزشکی با اصل پرهیز از ضرررسانی به بیمار، منافات داشته باشد.

د. تهدید مهم دیگری که به‌عنوان چالش اخلاقی مطرح شده، امکان استفاده از روش‌های ژن درمانی به‌عنوان سلاح بیولوژیک و استفاده از آن در پروژه‌های نظامی است.

ه. چالش دیگر مربوط به تغییرات بهسازی نژادی^۲ و تقسیم‌بندی آن به دو دسته‌ی مثبت و منفی است. تغییرات بهسازی نژادی به‌صورت کلی به ویرایش و اصلاح ژنوم انسانی از بیماری‌ها و نواقص ژنی گفته می‌شود؛ اما درباره‌ی تقسیم‌بندی آن می‌توان گفت، بهسازی نژادی نوع مثبت مانند تمایل والدین به داشتن فرزندان باهوش‌تر و قد بلندتر، در جهت تقویت و تشدید عملکردهای طبیعی انجام می‌شود؛ اما بهسازی نژادی منفی به اقدامات پیشگیرانه و درمان بیماری‌ها مانند غربالگری‌های قبل از تولد یا شناسایی بیماری‌ها از طریق آزمایش‌های ژنتیکی مربوط می‌شود (۱۵۴،۱).

مباحث اخلاقی ژن درمانی پیرامون سلول‌های زایشی

ژن درمانی سلول‌های زایا (اسپرم و تخمک) سبب انتقال اطلاعات تغییر یافته به نسل بعد شده و ممکن است تبعاتی را برای جنین به همراه داشته باشد. ملاحظه‌ی اخلاقی مهم روش‌های بهسازی نژادی نوع مثبت یا تقویت‌شونده، ایجاد فرزندان سفارشی است؛ بنابراین امروزه ژن درمانی سلول‌های سوماتیک موانع کمی دارد؛ اما ژن درمانی سلول‌های زایا در آمریکا و انگلیس و اکثر کشورهای توسعه‌یافته غیر اخلاقی و نامطلوب شمرده می‌شود و تاکنون قوانین کشور آمریکا اجازه‌ی استفاده از روش‌های ژن درمانی سلول‌های زایا را نداده است (۴۰۱).

اولین چالشی که پیرامون ژن درمانی سلول‌های زایا مطرح می‌شود، مربوط به خطرات بالقوه‌ی بالینی از جمله نگرانی درباره‌ی امکان جهش‌های الحاقی، فعال شدن پروتون‌ها و دست‌کاری‌های جنین انسانی است. این نگرانی‌های ایمنی با مشکلات تجربی مانند ازدست‌رفتن گامت‌ها و جنین به‌وسیله‌ی تجهیزات و همچنین عدم بازدهی تکنیک‌های تولیدمثلی همچون IVF^۳ همراه می‌شوند. چالش بعدی مربوط به نگرانی گسترده از تغییر خزانه‌ی ژنی است که در این باره

2. Eugenesis

3. In Vitro Fertilisation

1. Off-Target

بعضی از کشورها مانند ایتالیا و آلمان محدود شده و با عنوان شرایط «خطرناک» از آن یاد می‌شود. در برخی کشورها چون: لهستان و سوئیس نیز به‌طور کامل ممنوع است (۱۸ و ۴).

ملاحظات اخلاقی استفاده از سیستم CRISPR-Cas

به‌عنوان یک سیستم ویرایش ژنی نوین

تکامل تکنیک ویرایش ژنوم CRISPR-Cas موجب شده اخیراً از آن در جنین‌های انسانی استفاده شود (۱۹). این تکنیک پیشرفت‌های زیادی را در علم پزشکی به همراه داشته است (۲۰). CRISPR-Cas به دانشمندان اجازه داده است که توالی‌های ژنوم را در موجودات عالی از موش گرفته تا میمون ویرایش کنند. همچنین گفتنی است که این سیستم در مقایسه با روش‌های قبلی ویرایش ژنوم همانند TALENs و ZFNs هزینه‌ی کمتر و سرعت و سهولت و دقت بیشتری دارد (۲۱). در آوریل ۲۰۱۵ دانشمندان چینی مقاله‌ای را بر مبنای کار با سیستم CRISPR-Cas بر روی جنین انسان منتشر کردند؛ آن‌ها از این تکنیک برای تعمیر ژن موتانت β -globin که موجب بیماری خونی تالاسمی می‌شود، استفاده کردند. انتشار این مقاله موجب شد مباحث اخلاقی جدیدی در زمینه‌ی استفاده از این تکنیک نوین مطرح شود (۱۹). بر مبنای جنبه‌های اخلاقی و قانونی و اجتماعی (ELSA Aspects)، استفاده از تکنیک CRISPR-Cas جهت ویرایش سلول‌های زایا، همواره سؤالاتی را پیرامون مباحث اخلاقی و چالش‌های قانونی به دنبال دارد و دیدگاه جدیدی را نسبت به استفاده از این سیستم به وجود آورده است (۲۲).

مباحث اخلاقی تکنیک CRISPR-Cas

در رابطه با مباحث اخلاقی سیستم CRISPR-Cas مسائل نگران‌کننده‌ای وجود دارد که باید به آن‌ها نیز توجه کرد. دغدغه‌های اخلاقی ژن‌درمانی پیش از این به‌طور کلی

باید نقص ژنتیکی فرد آزمایش‌شده تصحیح و دودمان شخص به حالت نرمال بازگردد (۱۶). نگرانی‌های اخلاقی دیگر مربوط به خطرات اجتماعی است؛ برای مثال می‌توان به ترس از اینکه ژن‌درمانی به سمت مهندسی ژنتیک تقویت‌شونده پیش رود اشاره کرد. این نگرانی نیز وجود دارد که امکانات درمانی فقط در اختیار ثروتمندان و افراد خاصی قرار گیرد و همه‌ی افراد نتوانند از این روش‌ها استفاده کنند (۱۷).

تأثیر ژن‌درمانی سلول‌های زایا بر آیندگان، نگرانی دیگر در حوزه‌ی اخلاق است؛ چراکه ویرایش سلول‌های زایا بر روی نسل‌های آتی تغییراتی ایجاد می‌کند؛ حال آنکه مشخص نیست افراد آینده نسبت به این تغییرات رضایت دارند یا خیر. در واقع بدون رضایت آگاهانه و داوطلبانه از فرد یا افراد نسل‌های آینده، تغییرات در ژنوم آن‌ها به وجود آمده و ساختار طبیعی ژن‌هایشان دست‌کاری شده است. این‌گونه مباحث برای روش IVF و تغییرات بر روی جنین انسانی شدت می‌گیرد و به ارزیابی صحیح از ایمنی و رضایت آگاهانه‌ی بیماران نیاز دارد. دو نکته‌ی بحث‌برانگیز در ارتباط با استفاده از ژن‌درمانی در مباحث تولیدمثلی، شامل خطرات ایمنی و تغییرات در سلول‌های زایاست که در تقابل با نظرات حامیان ویرایش ژنوم است. این تقابل‌ها به‌ویژه در مواردی مانند رفاه کودک و استقلال تولیدمثلی والدین پررنگ‌تر می‌شود. علی‌رغم دو نکته‌ی پیش‌گفته، ویرایش ژن می‌تواند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای تشخیص ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی یا PGD^۱ در نظر گرفته شود؛ به‌نحوی که استفاده از این روش می‌تواند بخشی از انتقادات اخلاقی مرتبط با PGD را نیز مرتفع سازد. PGD اجازه می‌دهد جنین‌هایی که با روش IVF تولید شده‌اند قبل از انتقال به رحم، از نظر ناهنجاری‌های ژنتیکی آزموده شوند. این فناوری در حال حاضر در بسیاری از کشورهای اروپایی قانونی است؛ البته در

این ممکن است کل جمعیت هدف توسط رانش ژن ناپدید شود که می‌تواند عواقبی زیان‌بار را برای اکوسیستم در حال تعادل ایجاد کند. برخی دانشمندان درباره‌ی خطرات رهاسازی تصادفی موجودات آزمایشگاهی به درون محیط، توسط پدیده‌ی رانش ژنی، هشدار داده‌اند (۲۵). به هر حال برای جلوگیری از انتشار موجودات آزمایشگاهی که ممکن است موجب آسیب اکولوژیکی یا تهدید سلامت انسان شوند اقدامات ایمنی ضروری به نظر می‌رسد.

- **تراربختگی محصولات:** پرسش این است که آیا فرآورده‌های حاصل از ویرایش CRISPR-Cas تراربختگی^۴ محسوب می‌شوند؟ این مباحث که بیشتر در حوزه‌ی روش‌های نوین به‌نژادی گیاه می‌گنجد در اتحادیه‌ی اروپا و آمریکا و ایران زیر نظر قوانین ایمنی زیستی کنونی قرار نمی‌گیرد و قانونگذار کشورهای مختلف برای رفع ابهامات و قانونمند کردن محصولات مذکور، باید تعریفی صحیح و فنی از «ویرایش ژن» ارائه دهند؛ بدون شک فقدان تعریف فنی مشخص از اصطلاح «ویرایش ژن» و فناوری CRISPR-Cas در اسناد حقوقی بین‌المللی منجر به برداشت و تفاسیر مختلف از آن در مقایسه با موضوع «تراربختگی یا موجودات تغییر شکل یافته‌ی ژنتیکی» خواهد شد (۲۶).

- **مقررات برای مصرف‌کنندگان و ثبت اختراع:** آژانس‌های نظارتی مانند سازمان غذا و داروی آمریکا^۵ موظف‌اند هرگونه ارگانسیم تغییر یافته‌ی ژنتیکی را برای مصرف‌کنندگان تصویب کنند. اینکه چگونه امکان توسعه‌ی بازار را توسط سیستم CRISPR-Cas مدیریت خواهند کرد، واضح نیست (۲۷). مسأله‌ی دیگر تنظیم مقررات ثبت اختراع^۶ با سیستم CRISPR-Cas است. در حال حاضر اختلاف نظر و جدال در میان بیوتکنولوژیست‌ها، مبنی بر ثبت اختراع سیستم

بازگو شدند؛ اما چالش‌های اخلاقی جدید مطرح شده در پیوند با CRISPR-Cas عبارت‌اند از:

- **استفاده برای اهداف هنجارشکن:** نگرانی‌هایی که در ارتباط با روش CRISPR-Cas وجود دارد این است که این تکنیک به منظور اهداف هنجارشکن و ضدفرهنگی مانند پدیده‌ی بیوتروریسم^۱ استفاده شود. به بیان دیگر، ممکن است افراد یا دولت‌ها از ژن‌درمانی به‌عنوان وسیله‌ای برای ترور یا سلاح کشنده یا از ژن‌درمانی سلول‌های زایا، برای خلق افراد خاص در جهت اهداف نظامی سوءاستفاده کنند. چالش اخلاقی دیگر اینکه با توجه به سادگی این روش، هر فردی در هر آزمایشگاه ساده و با دراختیار داشتن امکانات متوسط، می‌تواند برای مهندسی واکسن‌های تهاجمی و مضر اقدام کند (۲۳ و ۳).

- **تعادل خطرات و منافع:** در کنار مزایایی که CRISPR-Cas دارد، باید به جهش‌های احتمالی زیان‌باری که به موجود زنده وارد می‌کند نیز توجه شود. همچنین موجوداتی که دارای ژنوم پیچیده و بزرگ هستند، چون دارای توالی‌های DNA چندتایی^۲ هستند ممکن است با DNA موردنظر تشابه و همولوژی بالایی داشته باشند؛ در نتیجه احتمال می‌رود CRISPR-Cas مناطق غیرهدف را شناسایی کند و باعث موتاسیون‌های منجر به مرگ سلولی شود (۲۴). هرچند تلاش‌هایی برای کاهش موتاسیون‌ها صورت گرفته است، انجام مداخلات درمانی به دقت بیشتری نیاز دارد. بحث انتقال ایمن CRISPR-Cas به درون انواع سلول‌ها و بافت‌ها مسأله‌ی دیگری است که محقق با آن روبه‌روست (۲۴).

- **برهم‌خوردن تعادل اکولوژیک:** خطر انتقال ژن‌ها به گونه‌های دیگر و مسأله‌ی رانش ژن‌ها^۳ از جمله نگرانی‌هایی است که کنترل سیستم ویرایش ژن را دشوار می‌کند؛ علاوه بر

4. Genetically Modified Organism (GMO)
2. FDA
6. Regulation of Patenting

1. Bioterrorism
2. Multiple DNA Sequences
3. Gene Drives

بیمار به همراه خواهد داشت. رضایت آگاهانه از افراد شرکت‌کننده در تحقیقات آزمایشگاهی ضروری است؛ زیرا افراد باید خطرات و مزایای احتمالی مرتبط با ویرایش ژن را درک کنند؛ بنابراین برای استفاده از حضور افراد در تحقیقات پزشکی، تکیه بر اجبار و جهل جایز نیست. همچنین به علت نامشخص بودن مزایای درمانی تغییر بر روی سلول‌های زایا، باید هرگونه تحقیق در این حوزه با رضایت و آگاهی افراد شرکت‌کننده انجام شود. این مسأله درباره‌ی جنین انسانی و کودکان متولد شده در آینده نیز مطرح است. اینکه آیا کودکی که هنوز متولد نشده می‌خواهد در چنین روش‌های آزمایشگاهی شرکت کند یا خیر؟ و آیا از هرگونه عوارض احتمالی که ممکن است برای او اتفاق بیفتد رضایت دارد؟ (۳۰). اخیراً دانشمندان چینی ادعا کرده‌اند با استفاده از تکنیک CRISPR، اولین نوزادان ویرایش ژنی را تولید کرده‌اند که در برابر ویروس نقص ایمنی اکتسابی^۱ مصون است. آن‌ها همچنین اظهار داشته‌اند که مجوز کد اخلاق برای انجام این پژوهش را از یک بیمارستان خصوصی دریافت کرده‌اند. این خبر که بیشتر با عنوان «CRISPR-Baby» در محافل علمی بازتابی شایان توجه داشته، پیرامون مشروعیت علمی و اخلاقی، بحث‌های زیادی را به همراه داشته است. دولت چین پیش از این، به دلیل نگرانی‌های اخلاقی و علمی، ویرایش سلول‌های زایا بر روی جنین انسانی را ممنوع اعلام کرده است. تحقیقات این پژوهشگران نه تنها قوانین دولت چین را نقض کرده، بلکه ناهنجاری‌های اخلاقی و نظارتی دیگر از جمله ارزش علمی سؤال‌برانگیز، نسبت مزایا به خطرات نامعقول و رضایت آگاهانه‌ی نامعتبر را نیز به دنبال داشته است (۳۱).

CRISPR-Cas برای استفاده‌ی درمانی در انسان‌ها وجود دارد. دادگاه‌ها و اداره‌های مالکیت صنعتی در ثبت اختراعات CRISPR-Cas عمدتاً در احراز شرایط نوآوری و ملاحظات اخلاقی با مشکلاتی روبه‌رو خواهند بود. در بحث نوآوری باید عنوان کرد که آیا استفاده‌های قبلی از این تکنیک یا دیگر روش‌های ویرایش ژن، سطحی از توقعات معقول را در فرد ایجاد می‌کند؟ به بیان دیگر، شاهد توازن بین مهارت و ابتکار فرد از یک سو و توقعات و انتظارات آن از سوی دیگر هستیم؟ در رابطه با اخلاق حسنه نیز اداره‌های مالکیت صنعتی و ثبت اختراعات باید در خصوص دستاوردهای مربوط به ویرایش ژن در انسان، به کرامت انسانی توجهی ویژه داشته باشند (۲۶ و ۲۸).

CRISPR-Cas و تکامل جنین انسانی: هرچند روش ویرایش ژنی CRISPR-Cas کاربردهای فراوانی در زمینه‌ی مطالعات تکامل جنین انسان دارد، بسیاری از موانع عملی برای استفاده‌ی گسترده از این تکنیک باقی است. در بسیاری از حوزه‌های قضایی، روش‌های ویرایش ژن به علت کاهش زنده‌مانی و دورانداختن جنین‌های اولیه‌ی به‌دست‌آمده از روش IVF ممنوع شده است. همچنین در برخی حوزه‌های قضایی، روش‌های ویرایش ژن برای ایجاد تغییرات وراثتی ممنوع است؛ برای مثال در کشور کانادا، انجام ویرایش برای ایجاد تغییرات وراثتی، پیگرد قانونی دارد و جرم محسوب می‌شود. اینکه تا چه میزان تحولات ویرایش ژنی منجر به ایمنی و درمان‌های کلینیکی پذیرفتنی برای سلول‌های زایا خواهد شد، نامشخص است؛ به‌خصوص اگر این رویکردهای ویرایشی محدود به جنین‌ها و اووسیت‌ها باشد (۲۹).

مشکلات در اخذ رضایت آگاهانه: با توجه به گسترش استفاده از سیستم CRISPR-Cas در سطح آزمایشگاهی و ناآگاهی دانشمندان درباره‌ی برخی پارامترهای اساسی موجود در این سیستم، طبیعتاً مشکلاتی را هنگام اخذ رضایت‌نامه از

1. Human Immunodeficiency Viruses (HIV)

نتیجه‌گیری

امروزه بسیاری از افراد خواستار گفت‌وگوهای عمومی درباره‌ی جنبه‌های اخلاقی و اجتماعی و قانونی سیستم‌های ویرایش ژنومی سلول‌های زایای انسانی هستند. استفاده از سیستم CRISPR-Cas مباحثی اخلاقی و اجتماعی را مطرح کرده که نه تنها درباره‌ی انسان، بلکه در پیوند با دیگر موجودات و محیط زیست نیز بیان شده است؛ توجه به اصل عدم نقض حقوق بشر، مباحث ایمنی مربوط به جلوگیری از آسیب‌های اکولوژیکی و امکان استفاده از این تکنیک جهت افزایش عملکرد ژنتیکی برخی از مباحث مطرح‌شد هستند. با توجه به سؤالات علمی پاسخ‌داده‌نشده و به‌طورکلی مباحث اخلاقی ذاتی درباره‌ی ژن‌درمانی سلول‌های زایا، بررسی و گفت‌وگوهای عمومی در باب این‌چنین تکنیک‌های نوظهور ضروری به نظر می‌رسد.

تعدادی از آژانس‌های نظارتی در آمریکا، مقرراتی برای انسان، حیوانات، حشرات و محصولات کشاورزی تغییر ژنتیکی یافته وضع کرده‌اند. این آژانس‌ها چارچوبی از قوانین و مقررات را در سال ۱۹۸۶ برای بیوتکنولوژی تنظیم کرده‌اند که مفاد و رویکرد نظارتی برای آن تا سال ۱۹۹۲ بازنگری نشده بود (۳۲). همچنین آژانس‌های خصوصی نیز با همکاری سازمان‌های غذا و دارو یا آژانس حفاظت محیط زیست^۱ دستورالعمل‌های خود را برای برنامه‌های خاصی صادر کرده‌اند. در ایالت متحده آمریکا، مؤسسه ملی سلامت^۲، در ارتباط با تحقیقات DNA نوترکیب سرمایه‌گذاری می‌کند و CRISPR نیز یکی از آن‌هاست. در اروپا نیز آژانس ایمنی غذا^۳ نظارت متمرکزتری برای ارزیابی خطرات دارد؛ اما تأیید نهایی برای پذیرش یک حیوان یا گیاه تغییر یافته بر عهده‌ی

کمیسیون اروپاست^۴. در اروپا نیز همانند ایالت متحده آمریکا، آژانس دارویی اروپا^۵ برنامه‌های مرتبط با کاربردهای درمانی انسان را تأیید و تصویب می‌کند. دیگر کشورها نیز برای برنامه‌های تحقیقاتی پزشکی وسیع خود، طرح‌هایی نظارتی تنظیم کرده‌اند؛ اما در سطح بین‌المللی قوانین و رهنمودهای یکپارچه‌ای برای ارگانسیم‌های تغییر یافته‌ی غیرانسانی که به‌عنوان سلاح‌های شیمیایی و بیولوژیکی قلمداد می‌شوند، وجود ندارد؛ بنابراین لازم است که از تحقیقات در این زمینه و تکامل سلاح‌های بیولوژیکی جلوگیری شود (۲۳).

با این حال نگرانی این است که علی‌رغم نظارت همه‌جانبه از سوی کشورها، بدگمانی و بی‌اعتمادی عمومی نسبت به ارگانسیم‌های تغییر یافته‌ی ژنتیکی مانع پیشرفت علمی و استفاده‌ی بالقوه از روش‌های ویرایش ژنی همانند سیستم CRISPR-Cas شود. با توجه به اینکه مهندسی ژنتیک توان بالایی در تغییرات مثبت زندگی ما دارد، رد این فناوری جدید تنها بر این اساس که ذاتاً غیراخلاقی یا غیرطبیعی است پذیرفتنی نیست و باید با در نظر گرفتن قابلیت‌ها و توانایی‌هایی که این سیستم‌های ویرایش ژنی نوین دارند، راهکارهایی برای کم‌کردن حساسیت‌های عمومی و افزایش کارایی این روش‌ها اندیشیده شود؛ از جمله اینکه موجودات دست‌ورزی‌شده‌ی ژنتیکی، قبل از رهاسازی در محیط در شرایط ایزوله به‌طور دقیق بررسی و ارزیابی شوند (۱۴). همچنین آژانس‌های نظارتی باید قوانینی که در آن روش‌هایی برای متوقف‌ساختن آثار جانبی حیوانات و حشرات تغییر یافته‌ی ژنتیکی وجود داشته باشد، تنظیم کنند تا اثرات و خطرات احتمالی این موجودات تغییر یافته بر روی سایر موجودات، انسان و محیط را تأیید و اثبات کنند.

راهکار دیگری که بیشتر در بحث پدیده‌ی رانش ژنی مطرح می‌شود، استفاده از ژن‌های خاتمه‌دهنده یا ژن‌های

1. Environmental Protection Agency
2. National Institutes of Health
3. European Food Safety Agency

4. European Commission
5. European Medicines Agency

در آخر ذکر این نکته لازم است که با توجه به کاربردهای وسیع سیستم CRISPR-Cas در مهندسی و ویرایش سلول‌های زیای انسانی، انتظار می‌رود قوانین و راهنمایی‌هایی در سطح ملی و بین‌المللی در جهت استفاده‌ی مناسب از این تکنیک تنظیم شود.

خودمحدودشونده است که این‌گونه از ژن‌ها طول عمر میکروارگانیسم‌های تغییر یافته را محدود کرده و از بین بردن این‌گونه از میکروارگانیسم‌ها را آسان‌تر می‌کند. علاوه‌براین، حشرات و حیوانات ترانسژن^۱ باید علامت‌گذاری شوند تا هم از نظر ردیابی توسط محققان و هم از نظر پاسخ‌گویی و تعیین خسارت مشکلی ایجاد نشود.

1. Transgene

یک ژن یا محتوای ژنتیکی است که به صورت طبیعی یا توسط یکی از روش‌های مهندسی ژنتیک از یک موجود زنده به موجود زنده دیگر، منتقل می‌شود.

منابع

- 1- Bazmi S, Ardekani AMZ. Gene therapy and medical ethics. *Medical Ethics Journal*. 2016; 2(4): 189-99. [in Persian]
- 2- Ramamoorth M, Narvekar A. Non viral vectors in gene therapy- An overview. *Journal of Clinical and Diagnostic Research. JCDR*. 2015; 9(1): GE01.
- 3- Kiani M, Bazmi S, Azadi AS. Gene therapy, ethical considerations, challenges and solutions. *Medical Ethics Journal*. 2010; 4(11): 39-52. [in Persian]
- 4- Jalali A, Abbasi M. Gene therapy, ethics and future. *Medical Ethics Journal*. 2010; 4(12): 149-62. [in Persian]
- 5- Vaughn L. *Bioethics: Principles, issues, and cases*. Oxford: Oxford University Press; 2010.
- 6- Niidome T, Huang L. Gene therapy progress and prospects: Nonviral vectors. *Gene Therapy*. 2002; 9(24): 16-47.
- 7- Nuri-Dalooi MR, Abdollahzadeh R, Asadollahi K. Targeted genome editing with engineered nucleases a new approach in gene therapy. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2014; 21(1): 131-44. [in Persian]
- 8- Mojica FJ, García-Martínez J, Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*. 2005; 60(2): 174-82.
- 9- Marraffini LA, Sontheimer EJ. CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. *Science*. 2008; 322(5909): 1843-5.
- 10- Larson MH, Gilbert LA, Wang X, Lim WA, Weissman JS, Qi LS. CRISPR interference (CRISPRi) for sequence-specific control of gene expression. *Nature Protocols*. 2013; 8(11): 2180.
- 11- Shalem O, Sanjana NE, Hartenian E, Shi X, Scott DA, Mikkelsen TS, et al. Genome-scale CRISPR-Cas9 knockout screening in human cells. *Science*. 2014; 343(6166): 84-7.
- 12- Chin A. *CRISPR-Cas9 therapeutics: A technology overview*. Oxford: Biostars; 2015.
- 13- Freedman BS, Brooks CR, Lam AQ, Fu H, Morizane R, Agrawal V, et al. Modelling kidney disease with CRISPR-mutant kidney organoids derived from human pluripotent epiblast spheroids. *Nature Communications*. 2015; 6: 8715.
- 14- Xie K, Yang Y. RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. *Molecular Plant*. 2013; 6(6): 1975-83.
- 15- Rahnama H, Sanjariyan F. Bioethics in genetic engineering. *The Journal of Ethics in Science and Technology*. 2011; 6(3): 73-82. [in Persian]
- 16- Resnik DB, Langer PJ. Human germline gene therapy reconsidered. *Human Gene Therapy*. 2001; 12(11): 1449-58.
- 17- Elias S, Annas GJ. *Somatic and germline gene therapy*. Oxford: Oxford University Press; 1992.
- 18- Cavaliere G. Genome editing and assisted reproduction: Curing embryos, society or prospective parents?. *Medicine, Health Care and Philosophy*. 2018; 21(2): 215-25.
- 19- Liang P, Xu Y, Zhang X, Ding C, Huang R, Zhang Z, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes. *Protein & Cell*. 2015; 6(5): 363-72.
- 20- Cox DBT, Platt RJ, Zhang F. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. *Nature Medicine*. 2015; 21(2): 121.
- 21- Mussolino C, Mlambo T, Cathomen T. Proven and novel strategies for efficient editing of the human genome. *Current opinion in pharmacology*. 2015; 24: 105-12.
- 22- Baumann M. CRISPR/Cas9 genome editing—new and old ethical issues arising from a revolutionary technology. *NanoEthics*. 2016; 10(2): 139-59.
- 23- Caplan AL, Parent B, Shen M, Plunkett C. No time to waste: The ethical challenges created by CRISPR. *EMBO Reports*. 2015; 16(11):1421-6.
- 24- Feng Z, Zhang B, Ding W, Liu X, Yang D-L, Wei P, et al. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. *Cell Research*. 2013; 23(10): 1229-41.
- 25- Oye KA, Esvelt K, Appleton E, Catteruccia F, Church G, Kuiken T, et al. Regulating gene drives. *Science*. 2014; 345(6197): 626-8.
- 26- Parvin MR, Seyedin A. CRISPR-CAS9 Gene-Editing technology from intellectual property and biosafety law perspective. *Medical*

- Low Journal. 2017; 11(42): 191-228. [in Persian]
- 27- Ledford H. CRISPR, the disruptor. Nature News. 2015; 522(7554): 20-9.
- 28- Rodriguez E. Ethical issues in genome editing using Crispr/Cas9 system. J Clin Res Bioeth 2016; 7(2): 1-4.
- 29- Rossant J. Gene editing in human development: Ethical concerns and practical applications. Development. 2018; 145(16): dev150888.
- 30- Smolenski J. CRISPR/Cas9 and germline modification: New difficulties in obtaining informed consent. The American Journal of Bioethics. 2015; 15(12): 35-7.
- 31- Li JR, Walker S, Nie JB, Zhang XQ. Experiments that led to the first gene-edited babies: the ethical failings and the urgent need for better governance. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B. 2019; 20(1): 32-8.
- 32- Holdren JP, Shelanski H, Vetter D, Goldfuss C. Improving transparency and ensuring continued safety in biotechnology. New York: Office of Science and Technology Policy; 2015.

Ethical Issues in Genome Editing and Gene Therapy with Emphasizing on CRISPR-Cas System

Hajar Yaghoobi¹, Mohsen Safaei^{*2}, Ali Shojaeian³, Samira Sanami²

¹Assistant Professor of Medical Biotechnology, Clinical Biochemistry Research Center, Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

²PHD student of Medical Biotechnology, Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

³PHD student of Molecular Medicine, Department of Molecular Medicine, School of Advanced Technologies, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Abstract

Gene therapy entails the introduction of specific, functional genes into cells for therapeutic or preventive purposes. This process may be used in vitro or directly in vivo. One of the novel methods of gene therapy and genome editing that has been introduced in recent years and have made great changes in the field of genetic engineering and biotechnology is CRISPR-Cas gene-editing system. This system is faster, cheaper, more accurate and efficient than another genome editing one, such as TALEN and ZFNs. As with any other emerging process, the ethical concerns and challenges associated with the genome editing methods including the potential application of this technique for nefarious purposes, such as, bioterrorism, harmful mutations to the living being, and disrupting ecological balance. This review was prepared using the databases of Science Direct, Pub-Med, SID, Scopus, Web of Science, and then, the selected papers were fully reviewed and information was extracted and summarized. According to the ethical and legal considerations surrounding the processes in gene therapy, it is expected that appropriate conditions will be provided to make the best use of gene therapy and to reduce concerns and possible abuses. The purpose of this review was to investigate ethical issues of the genome editing and gene therapy with an emphasis on the CRISPR-Cas system.

Keywords: Ethics, Gene therapy, Gene Editing, CRISPR-Cas

* Corresponding Author: Email: mohsensafayi@yahoo.com