

Đột phá trong điều trị bệnh Herpes với kỹ thuật chỉnh sửa gen

Phạm Đức Hùng¹, Võ Đức Duy², Nguyễn Thái Minh Trần³,
Võ Phạm Thủy Tiên⁴, Trần Thị Quỳnh Hoa⁵

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

⁴Đại học Bang Iowa (Hoa Kỳ)

⁵Trường Đại học Y Dược Hải Phòng

Herpes là một căn bệnh xã hội mà tới nay vẫn chưa có phương pháp chữa trị triệt để. Vừa qua, các nhà khoa học của Viện Ung thư Fred Hutchinson (Hoa Kỳ) đã mang đến một tín hiệu tích cực khi tìm ra một phương pháp giúp loại bỏ hơn 90% lượng vi rút gây bệnh Herpes nằm tiềm ẩn trong chuột thí nghiệm - mức độ đủ để các nhà nghiên cứu tin rằng nó sẽ ngăn chặn sự hoạt động trở lại của loại vi rút này.

Herpes - Nỗi ám ảnh vẫn chưa có phương pháp chữa trị triệt để

Herpes còn được gọi là mụn rộp, là một căn bệnh xã hội rất phổ biến nhưng đến nay vẫn chưa có phương pháp chữa trị triệt để. Điều này đồng nghĩa với việc, một khi đã bị nhiễm Herpes, người bệnh phải sống với nó suốt phần đời còn lại. Căn bệnh này gây ra bởi vi rút Herpes Simplex (HSV) loại I (HSV-1) hoặc vi rút HSV loại II (HSV-2). Cả 2 loại vi rút này xâm nhập vào cơ thể thông qua tiếp xúc da kề da với vùng bị nhiễm (thường là qua tiếp xúc môi kề môi hoặc qua đường tình dục với người đã bị nhiễm Herpes). Sau đó, vi rút này sẽ nhanh chóng di chuyển tới các tế bào thần kinh nằm ở tai hoặc tủy sống, nơi chúng thiết lập nơi trú ẩn suốt đời. Phần lớn thời gian, HSV sẽ ở trạng thái ngủ đông trong các tế bào thần kinh. Chỉ khi có các tác nhân kích thích (như sốt, căng thẳng, kinh nguyệt hay ức chế miễn dịch) hoặc theo định kỳ (trung bình từ 2 đến 7 lần một năm), HSV sẽ bắt đầu tái hoạt động, di chuyển thuận chiều theo dây thần kinh để quay trở lại bề mặt da, nơi chúng bắt đầu nhân lên và gây ra các triệu chứng lâm sàng như mụn rộp rỉ nước, lở loét,

gây đau đớn cho người bệnh. Nếu vùng xuất hiện mụn rộp là trong hoặc xung quanh miệng, môi hoặc cổ họng, thì sẽ được gọi là Herpes miệng, còn nếu vùng bị nhiễm là trên hoặc xung quanh bộ phận sinh dục (bao gồm âm hộ, âm đạo, cổ tử cung, hậu môn, dương vật, bìu, đùi, móng hoặc đùi trong) thì sẽ được gọi là Herpes sinh dục. Thông thường, sau khoảng 2 đến 3 tuần, hệ miễn dịch của chúng ta sẽ tự tiêu diệt các đợt bùng phát mụn rộp này. Các vết loét sau đó sẽ bắt đầu đóng vảy, tự lành lại và biến mất. Tuy nhiên, HSV vẫn còn tồn tại bên trong các tế bào thần kinh, nên các đợt bùng phát mụn rộp này sẽ vẫn còn tái diễn, tiếp tục gây ra đau đớn cho người bệnh. Ở một số ít người, việc HSV tái hoạt động có thể gây ra các hậu quả nghiêm trọng như mù lòa hoặc viêm não, đe dọa đến tính mạng người bệnh. Đặc biệt, đối với phụ nữ mang thai, nó còn có thể gây ra ung thư cổ tử cung, sẩy thai, sinh non hoặc thậm chí truyền căn bệnh này sang con. Đối với những người bị nhiễm Herpes sinh dục, ngoài việc chịu đựng các đau đớn và khó chịu từ các triệu chứng do Herpes tái phát định kỳ, họ còn phải chịu đựng sự miệt thị từ xã hội,

ảnh hưởng sâu sắc đến sức khỏe sinh sản và tình dục, cùng với nguy cơ mắc HIV cao, loại virus gây ra hội chứng suy giảm miễn dịch AIDS. Do đó có thể nói căn bệnh Herpes để lại hậu quả nặng nề cho xã hội [1, 2].

Cho đến nay, các thuốc kháng vi rút, như Acyclovir, Famciclovir và Valacyclovir là những loại thuốc hiệu quả nhất trong điều trị bệnh Herpes. Mặc dù các loại thuốc này có thể làm giảm mức độ nghiêm trọng và tần suất hoạt động của HSV, nhưng chúng lại không thể loại bỏ hoàn toàn HSV. Điều đó là do cơ chế hoạt động của các loại thuốc này chỉ cho phép chúng tấn công HSV khi vi rút hoạt động bằng cách ngăn chặn sự nhân lên của vi rút. Có nghĩa là, nếu HSV dừng hoạt động, chuyển sang trạng thái ẩn và ngủ đông trong các tế bào thần kinh thì phương pháp này sẽ hoàn toàn vô hiệu. Phát triển vắc-xin cho HSV là một trong những tham vọng mà Tổ chức Y tế thế giới (WHO) và nhiều đối tác đã và đang nỗ lực theo đuổi trong nhiều thập kỷ, tiêu tốn hàng trăm triệu USD nhưng vẫn chưa có kết quả cuối cùng. Có 2 nguyên nhân cơ bản nhất dẫn đến điều này. Thứ nhất, vi rút HSV có

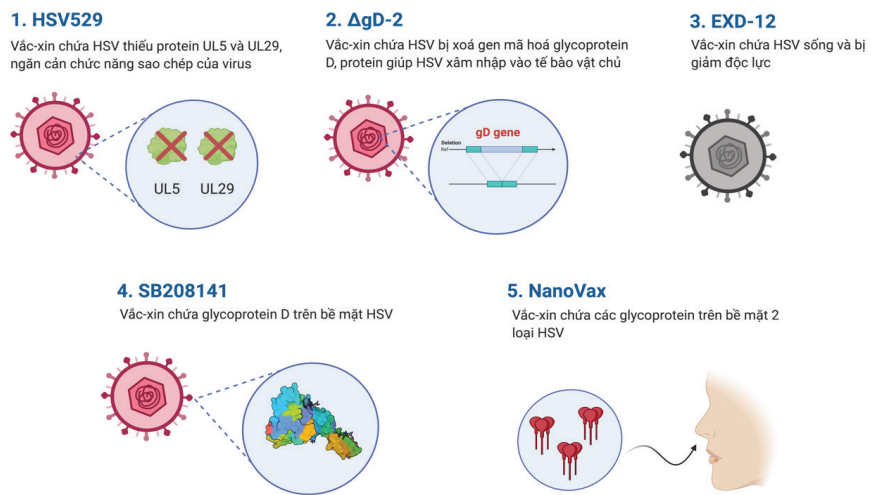
các cơ chế giúp trốn thoát khỏi hệ thống miễn dịch. Thông thường, khi một vi rút xâm nhập vào bên trong tế bào, chúng sẽ tổng hợp các protein để giúp chúng nhân lên. Các tế bào miễn dịch sẽ không thể “nhìn thấy” hoạt động này bên trong tế bào, do đó sẽ không biết đâu là các tế bào bị nhiễm. Vì vậy, để biểu hiện tình trạng bị nhiễm vi rút, các tế bào sẽ sử dụng các proteasome nhằm nghiền nát protein của vi rút thành các mảnh vụn peptide. Sau đó, các peptide này sẽ được protein vận chuyển có tên là TAP (Transporter associated with Antigen Processing) đưa vào mạng lưới nội chất, nơi chúng được đóng gói và vận chuyển lên bề mặt tế bào. Tại bên ngoài tế bào, các tế bào miễn dịch đến và nhận ra đây là các peptide ngoại lai, nghĩa là các tế bào này đang bị vi rút xâm nhiễm. Từ đó, các tế bào miễn dịch sẽ kích hoạt các cơ chế gây độc để loại bỏ các tế bào này cùng với vi rút bên trong chúng. Với HSV, để thoát khỏi hệ thống miễn dịch, chúng đã khóa hoạt động của TAP, làm ngăn chặn các peptide đi vào mạng lưới nội chất, do đó sẽ không có peptide nào di chuyển lên bề mặt tế bào. Từ đó, HSV đã thực sự ẩn khỏi các tế bào miễn dịch, góp phần hình thành bệnh nhiễm trùng suốt đời ở người. Việc nghiên cứu thuốc đủ đặc hiệu cho điều trị bệnh Herpes là khá khó khăn vì rất có thể sẽ vô tình ảnh hưởng đến protein vận chuyển khác tương tự, khiến gián đoạn nhiều quá trình trong tế bào và gây ra tác dụng phụ [3, 4]. Thứ hai, vi rút HSV vốn dĩ trú ngụ trong các tế bào thần kinh, là những tế bào không có khả năng tái tạo. Do đó, nếu hệ thống miễn dịch của chúng ta “lỡ tay” tiêu diệt HSV bằng cách phá hủy toàn bộ tế bào thần kinh chứa vi rút thì có nghĩa là chúng ta đang tự tấn công lên hệ thần kinh của mình, gây ra

các hậu quả đặc biệt nghiêm trọng.

Hiện tại, các ứng cử viên vắc-xin tiềm năng đang được phát triển là HSV529 (HSV15), ΔgD-2, EXD-12, NanoVax, SB208141 (hình 1) [5]. Nhìn chung, các loại vắc-xin này vẫn còn hạn chế do hoạt động dựa trên bộ máy miễn dịch của tế bào, có nghĩa là chỉ có thể kiểm soát vi rút thay vì tấn công thẳng vào nguyên nhân gốc rễ của sự lây nhiễm. Do đó, hiện nay nhiều hãng dược đã bắt đầu từ bỏ việc phát triển vắc-xin và tập trung nghiên cứu thuốc tiêu diệt HSV theo những hướng khác, mà một trong những hướng tiềm năng nhất phải kể đến là kỹ thuật chỉnh sửa gen.

hình động vật chuyển gen và đẩy nhanh quá trình mô hình hóa bệnh tật ở người, giúp tìm ra các phương pháp điều trị mới, phát triển thuốc và cấy ghép nội tạng; cho phép tạo ra các giống cây trồng với các đặc điểm mong muốn mà không cần phải đưa vào các DNA ngoại lai. Đặc biệt trong lĩnh vực y học, chỉnh sửa gen là một công nghệ rất hữu ích, giúp sửa chữa trực tiếp các đột biến gen trong các mô và tế bào mục tiêu để điều trị các bệnh mà theo các liệu pháp truyền thống là khó điều trị như ung thư, bệnh tim, bệnh tâm thần và HIV [6].

Đối với bệnh Herpes, chỉnh sửa gen là một công cụ đầy tiềm năng,



Hình 1. Các ứng cử viên vắc-xin tiềm năng cho bệnh Herpes.

Chỉnh sửa gen - Bước ngoặt mới trong điều trị bệnh Herpes

Chỉnh sửa gen là một nhóm các kỹ thuật di truyền, trong đó các nhà khoa học sẽ sử dụng chiếc kéo phân tử để cắt gen của một sinh vật sống. Từ đó, có thể chèn, xóa hoặc sửa đổi các vị trí cụ thể trong bộ gen theo ý muốn. Chỉnh sửa gen đã đem đến các bước tiến lớn trong lĩnh vực di truyền học như đẩy mạnh nghiên cứu chức năng bộ gen và sự tương tác giữa các gen; thúc đẩy quá trình thiết lập các mô

có khả năng giúp chữa khỏi hoàn toàn căn bệnh này. Các nhà khoa học sẽ sử dụng các vector chỉ dẫn để đưa chiếc kéo phân tử tới các tế bào thần kinh mục tiêu. Khi đã vào được các tế bào mục tiêu, chiếc kéo phân tử sẽ cắt bỏ các phần DNA đặc trưng của vi rút Herpes dẫn đến làm hỏng bộ gen của HSV, về cơ bản là tiêu diệt toàn bộ HSV mà vẫn bảo tồn các tế bào thần kinh. Nếu cơ chế này hoạt động hiệu quả, người bị Herpes sẽ được chữa khỏi hoàn toàn.

Mới đây (tháng 8/2020), Tạp chí *Nature Communications* đã công bố kết quả nghiên cứu của nhóm các nhà khoa học tại Viện Ung thư Fred Hutchinson [7, 8] cho thấy, bằng kỹ thuật chỉnh sửa gen họ có thể loại bỏ tới 92% lượng HSV-1 nằm tiềm ẩn bên trong các con chuột thí nghiệm.

Kết quả này chính là sự kiên trì của nhóm nghiên cứu trong vòng 5 năm (2015-2020) để ngăn chặn một loại vi rút dai dẳng. Nếu 5 năm trước đây, họ chỉ loại bỏ được khoảng 2-4% lượng vi rút, thì giờ đây, thông qua một loạt các cải tiến gia tăng trên phương pháp ban đầu, con số này đã tăng lên tới 92%. Sự suy giảm này duy trì trong vòng 1 tháng và được các nhà nghiên cứu tin rằng đủ để ngăn chặn sự hoạt động trở lại của HSV-1. Các tinh chỉnh mà nhóm nghiên cứu đã làm trong nghiên cứu này bao gồm:

Kéo phân tử bằng Meganuclease cắt gen hiệu quả hơn so với CRISPR/Cas9: mặc dù CRISPR/Cas9 là chiếc kéo phân tử “vàng” trong lĩnh vực chỉnh sửa gen, nhưng trong nghiên cứu điều trị Herpes, nó lại không hoạt động tốt bằng Meganuclease. Điều này có thể là do CRISPR/Cas9 là một phân tử lớn, trong khi các Meganuclease tương đối nhỏ hơn, chỉ bằng một nửa kích thước của một kháng thể, do đó sẽ dễ dàng được đóng gói và phân phối đến các tế bào thần kinh hơn. Ngoài ra, HSV-1 có bộ gen là DNA mạch kép, do đó khả năng nhắm mục tiêu bộ gen HSV-1 của Meganuclease sẽ chính xác hơn CRISPR/Cas9, phù hợp với sự tiến hóa của Meganuclease vốn nằm ở sinh vật nhân chuẩn, so với sự tiến hóa của CRISPR/Cas9 nằm ở sinh vật nhân sơ.

Sử dụng hỗn hợp 2 hay 3 loại Meganuclease khác nhau thay vì chỉ 1 loại: cách đây nhiều năm, nhóm

nghiên cứu đã đạt được các kết quả đầy hứa hẹn trong việc cắt đứt bộ gen DNA của HSV-1 bằng cách chỉ sử dụng 1 loại Meganuclease duy nhất để cắt 1 vị trí duy nhất trên bộ gen vi rút. Tuy nhiên, các kết quả này chỉ tồn tại trong một thời gian ngắn. Điều này là bởi vì HSV có thể dựa vào các chương trình sửa chữa DNA của chính các tế bào bị nhiễm để tự phục hồi (vốn không phân biệt giữa các gen của vi rút ngoại lai với các gen của bản thân tế bào). Nhưng theo thời gian, các nhà nghiên cứu đã phát hiện ra rằng họ có thể khắc phục điều này bằng cách sử dụng hỗn hợp 2 hoặc 3 loại Meganuclease khác nhau để cắt các vị trí khác nhau trên bộ gen của vi rút. Với nhiều hơn 2 lần đứt, các tế bào sẽ nhận thấy rằng DNA của vi rút đã quá hư hỏng để được sửa chữa, nên sẽ loại bỏ DNA của vi rút ra khỏi tế bào.

Sử dụng kết hợp 3 loại vector chỉ dẫn khác nhau: nhóm nghiên cứu đã sử dụng AAV (Adeno-Associated Virus) - một loại virus vô hại nhưng lại bị hấp dẫn bởi các tế bào thần kinh - để làm vector vận chuyển chiếc kéo phân tử đến các cụm tế bào thần kinh mục tiêu. Tuy nhiên, phụ thuộc vào từng vị trí, một số cụm tế bào thần kinh sẽ khó tiếp cận hơn các cụm tế bào thần kinh khác. Qua nhiều năm, họ phát hiện ra rằng một số chủng AAV có thể di chuyển dễ dàng tới một cụm tế bào thần kinh cụ thể hơn là các chủng khác, và điều này đã giúp họ tinh chỉnh việc lựa chọn các chủng AVV khác nhau để phù hợp với các tế bào bị nhiễm ở những nơi khác nhau. Trong thí nghiệm này, nhóm đã lựa chọn 3 loại vector AAV khác nhau, kết quả là giảm tới 92% lượng HSV-1.

Theo TS Martine Aubert, nhà khoa học cấp cao của Viện Ung thư Fred Hutchinson, đây là một

phương pháp có thể chữa bệnh cho cả nhiễm HSV ở miệng và đường sinh dục. Tuy nhiên, sẽ còn mất rất nhiều thời gian trước khi những thí nghiệm này có thể được thử nghiệm lâm sàng trên người. Nhóm nghiên cứu cũng đang theo đuổi một chiến lược tương tự trong điều trị HSV-2. Họ đang hợp tác với TS Barry Stoddard, người chuyên khám phá cấu trúc protein, để thiết kế riêng một bộ Meganuclease mà họ hy vọng sẽ hoạt động tốt hơn cả bộ Meganuclease họ đang sử dụng. Hy vọng, một liệu pháp mới giúp chữa trị bệnh Herpes hiệu quả sẽ được hiện thực hóa trong tương lai không xa ✍

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Cunningham, L. Anthony, et al. (2006), “The cycle of human Herpes simplex virus infection: virus transport and immune control”, *The Journal of Infectious Diseases*, **194**, pp.11-18.
- [2] <https://www.plannedparenthood.org/learn/stds-hiv-safer-sex/herpes> [cited 27th Sep 2020].
- [3] M.L. Oldham, et al. (2016), “A mechanism of viral immune evasion revealed by cryo-EM analysis of the TAP transporter”, *Nature*, **529(7587)**, pp.537-540.
- [4] <https://www.sciencedaily.com/releases/2016/02/160204094928.htm> [cited 27th Sep 2020].
- [5] <https://www.precisionvaccinations.com/vaccines/herpes-vaccine-candidates> [cited 27th Sep 2020].
- [6] <https://www.synbio-tech.com/genome-editing-applications/> [cited 27th Sep 2020].
- [7] M. Aubert, et al. (2020), “Gene editing and elimination of latent Herpes simplex virus in vivo”, *Nature Communications*, **11(1)**, p.4148.
- [8] <https://www.fredhutch.org/en/news/center-news/2020/08/herpes-simplex-genetherapy.html> [cited 27th Sep 2020].