مهندسی و بازبرنامه‌ریزی عملکردی ماکروفاژها: راهبردهای نوین بیوتکنولوژیک در سرطان و بیماری‌های عفونی

عسل کاتبی[۱]، مونا سادات لاریجانی[۱*]

۱. بخش ایمونولوژی انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

*نویسنده مسئول : مونا سادات لاریجانی نشانی برای مکاتبه: Mona.sadat@gmail.com
دریافت مقاله: زمستان ۱۴۰۴ پذیرش برای چاپ: بهار ۱۴۰۵

چکیده

این مقاله به بررسی راهبردهای نوین مهندسی و بازبرنامه‌ریزی عملکردی ماکروفاژها با هدف تعدیل پاسخ‌های ایمنی در بیماری‌های عفونی و سرطان می‌پردازد. ماکروفاژها به دلیل انعطاف‌پذیری عملکردی و توانایی پاسخ به محرک‌های مختلف محیطی، نقش مهمی در دفاع ضد میکروبی، تنظیم التهاب، ترمیم بافت و کنترل رشد تومور دارند. با وجود اینکه در مطالعات کلاسیک، عملکرد این سلول‌ها عمدتاً در قالب دو فنوتیپ M1 و M2 توصیف شده است، شواهد جدید نشان می‌دهند که وضعیت عملکردی ماکروفاژها طیفی پویا و وابسته به ریزمحیط بافتی است. این ویژگی، زمینه را برای استفاده درمانی از بازبرنامه‌ریزی هدفمند آن‌ها فراهم کرده است.

در مقاله، ابتدا منشأ، تخصص‌یافتگی بافتی و مکانیسم‌های تنظیم عملکرد ماکروفاژها بررسی شده و سپس فناوری‌های بیوتکنولوژیک مورد استفاده برای تغییر عملکرد آن‌ها معرفی می‌شوند. این راهبردها شامل مهندسی ژنتیکی خارج از بدن و تولید ماکروفاژهای CAR-M، انتقال هدفمند mRNA برای بازبرنامه‌ریزی درون‌تنی، استفاده از نانوذرات برای انتقال عوامل ژنتیکی و تعدیل‌کننده‌های ایمنی، مداخله در مسیرهای متابولیک و سیگنالینگ و بهره‌گیری از وزیکول‌های خارج‌سلولی هستند. مطالعات منتخب نشان می‌دهند که این فناوری‌ها می‌توانند عملکرد ضدتوموری ماکروفاژها را تقویت کنند، پاسخ‌های ضد میکروبی را در عفونت‌های داخل‌سلولی افزایش دهند یا التهاب نامتوازن را در شرایطی مانند سپسیس تعدیل کنند. همچنین، نقش EV های مشتق از ماکروفاژها و سلول‌های توموری در انتقال مولکول‌های تنظیم‌کننده و شکل‌دهی به ریزمحیط تومور مورد توجه قرار گرفته است.

در بخش پایانی، مقاله چالش‌های انتقال این فناوری‌ها به کاربرد بالینی، از جمله ناهمگونی ماکروفاژها، اختصاصیت رسانش، پایداری اثرات درمانی، ایمنی بلندمدت، دشواری تولید و محدودیت شواهد بالینی را بررسی می‌کند. در مجموع، مقاله بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها را به‌عنوان یک رویکرد درمانی مکمل و امیدوارکننده معرفی می‌کند که موفقیت آن به طراحی مداخلات اختصاصی، متناسب با نوع بیماری و ریزمحیط بافتی و ارزیابی پیامدهای عملکردی واقعی وابسته است.

کلیدواژه ها: مهندسی ماکروفاژها، بازبرنامه‌ریزی عملکردی ماکروفاژها، ماکروفاژهای مرتبط با تومور، وزیکول‌های خارج‌سلولی، دارورسانی مبتنی بر نانوذرات

مقدمه

ماکروفاژها از مهم‌ترین اجزای سیستم ایمنی ذاتی هستند که با مشارکت در شناسایی و حذف عوامل بیماری‌زا، پاکسازی سلول‌های آسیب‌دیده، تنظیم پاسخ‌های التهابی و حفظ هموستاز بافتی، نقش محوری در دفاع علیه عوامل بیماریزا ایفا می‌کنند. این سلول‌ها علاوه بر عملکرد فاگوسیتوزی، از طریق ترشح سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها، عرضه آنتی‌ژن و تعامل با سایر سلول‌های ایمنی، در شکل‌دهی و تنظیم پاسخ‌های ایمنی اکتسابی نیز مشارکت دارند. یکی از ویژگی‌های برجسته ماکروفاژها، انعطاف‌پذیری عملکردی (Functional Plasticity) آن‌هاست که امکان سازگاری با تغییرات محیطی و دریافت سیگنال‌های مختلف از بافت را فراهم می‌کند. این ویژگی موجب می‌شود ماکروفاژها بسته به شرایط فیزیولوژیک یا پاتولوژیک، عملکردهای متفاوتی را اتخاذ کنند؛ عملکردهایی که شامل پاسخ‌های التهابی و میکروب‌کشی تا تنظیم التهاب، ترمیم بافت و سرکوب پاسخ‌های ایمنی را در برگیرند (۱, ۲).

در مطالعات کلاسیک، فعال‌سازی ماکروفاژها عمدتاً در قالب دو الگوی M1 (فعالسازی کلاسیک) و M2 (فعال‌سازی آلترناتیو) توصیف شده است. ماکروفاژهای M1 معمولاً در پاسخ به سیگنال‌هایی نظیر اینترفرون گاما (IFN-γ) و محرک‌های گیرنده‌های شناسایی الگو(PRR) و با افزایش تولید واسطه‌های التهابی، در دفاع در برابر بیماریهای عفونی و پاسخ‌های ضدتوموری مشارکت می‌کنند. در مقابل، الگوهای M2بیشتر با تنظیم التهاب، ترمیم بافت و برخی عملکردهای سرکوب‌کننده ایمنی مرتبط هستند. با این حال، شواهد حاصل از مطالعات مولکولی و پروفایل‌سازی تک‌سلولی نشان داده‌اند که وضعیت عملکردی ماکروفاژها به این دو طبقه محدود نمی‌شود و جمعیت‌های متنوعی با ویژگی‌های ترکیبی و وابسته به ریزمحیط وجود دارند. بنابراین، درک جدید از زیست‌شناسی ماکروفاژها بر طیفی از وضعیت‌های عملکردی و قابلیت تغییر آن‌ها در پاسخ به محرک‌های محیطی تأکید دارد (۳).

اهمیت این انعطاف‌پذیری در بیماری‌های عفونی و سرطان به‌خوبی آشکار می‌شود. در عفونت‌های داخل‌سلولی، ماکروفاژها هم‌زمان به‌عنوان سلول‌های دفاعی میزبان و در برخی موارد به‌عنوان جایگاه بقای پاتوژن عمل می‌کنند. به عنوان مثال، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (Mycobacterium tuberculosis) و گونه‌های مختلف انگل *لیشمانیا (Leishmania)* قادرند با دست‌کاری مسیرهای سیگنالینگ، عملکرد فاگوزوم، اتوفاژی و متابولیسم سلولی، پاسخ‌های ضد میکروبی ماکروفاژ را مختل کرده و بقای داخل‌سلولی خود را تسهیل کنند. در این شرایط، تعدیل هدفمند عملکرد ماکروفاژ و تقویت مکانیسم‌های ذاتی دفاع میزبان، رویکردی بالقوه مکمل برای درمان‌های ضد میکروبی محسوب می‌شود (۴, ۵).

از سوی دیگر، در سرطان، ریزمحیط تومور (Tumor microenvironment; TME) می‌تواند عملکرد ماکروفاژهای مرتبط با تومور (Tumor-Associated Macrophages; TAMs) را به سمت سرکوب پاسخ ایمنی و حمایت‌کننده از رشد تومور سوق دهد. این سلول‌ها از طریق مهار فعالیت لنفوسیت‌هایT، تقویت رگ‌زایی، بازآرایی ماتریکس خارج‌سلولی و تسهیل فرار ایمنی، در پیشرفت تومور و مقاومت درمانی نقش دارند. با این حال، قابلیت تغییر عملکردی TAM ها فرصت‌هایی را برای بازگرداندن یا تقویت فعالیت ضدتوموری آن‌ها فراهم کرده است. مطالعات تجربی جدید نیز نشان داده‌اند که دست‌کاری مسیرهای متابولیک و مولکولی ماکروفاژها می‌تواند تعامل آن‌ها با سلول‌های سرطانی و ظرفیت مهار رشد تومور را تغییر دهد (۶, ۷).

پیشرفت‌های بیوتکنولوژی پزشکی، از جمله مهندسی ژنتیکی سلول‌ها، سامانه‌های انتقال اسیدهای نوکلئیک، نانوذرات‌های هدفمند، وزیکول‌های خارج‌سلولی (Extracellular vesicles) و تعدیل مسیرهای متابولیک، ابزارهای جدیدی برای دست‌کاری کنترل‌شده عملکرد ماکروفاژها فراهم کرده‌اند. این فناوری‌ها می‌توانند با هدف افزایش فعالیت ضد میکروبی، اصلاح پاسخ‌های التهابی نامتوازن یا بازگرداندن عملکرد ضدتوموری، زمینه توسعه راهبردهای درمانی مبتنی بر سلول‌های ایمنی را فراهم سازند. بر این اساس، مقاله حاضر به بررسی مبانی مولکولی و عملکردی بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها و راهبردهای نوین بیوتکنولوژیک برای هدایت این فرایند، با تمرکز بر کاربردهای بالقوه آن در بیماری‌های عفونی و سرطان می‌پردازد.

بیولوژی عملکردی و پلاستیسیته ماکروفاژها

ماکروفاژها جمعیتی ناهمگون از سلول‌های میلوئیدی هستند که ویژگی‌های عملکردی آن‌ها علاوه بر محرک‌های فعال‌کننده، تحت تأثیر منشأ تکوینی، محل استقرار بافتی و شرایط محیطی قرار می‌گیرد. از نظر منشأ، دو گروه عمده شامل ماکروفاژهای مقیم بافتی (Tissue-Resident Macrophages) و ماکروفاژهای مشتق از مونوسیت‌های خون (Macrophages Monocyte-Derived) می‌باشند. بسیاری از ماکروفاژهای مقیم بافتی در مراحل جنینی از پیش‌سازهای کیسه زرده و سلول‌های پیش‌ساز جنینی منشأ می‌گیرند و پس از استقرار در اندام‌ها، از طریق بازسازی موضعی جمعیت خود را حفظ می‌کنند؛ با این حال، میزان مشارکت مونوسیت‌های گردش خون در نگهداری این جمعیت‌ها به نوع بافت و شرایط فیزیولوژیک بستگی دارد. در مقابل، مونوسیت‌های خون محیطی در پاسخ به التهاب، عفونت یا آسیب بافتی به محل درگیری مهاجرت کرده و پس از تمایز، جمعیت‌های ماکروفاژی با ویژگی‌های متناسب با محیط موضعی ایجاد می‌کنند (۸, ۹).

این تفاوت در منشأ، صرفاً یک ویژگی تکوینی نیست، بلکه می‌تواند بر عملکرد و ظرفیت پاسخ‌دهی ماکروفاژها نیز اثرگذار باشد. برای مثال، ماکروفاژهای آلوئولار در ریه، سلول‌های کوپفر در کبد و میکروگلیا در سیستم عصبی مرکزی، هر یک برنامه‌های مولکولی و عملکردی متناسب با نیازهای اختصاصی بافت خود دارند. این تخصص‌یافتگی تحت تأثیر سیگنال‌های سلول‌های مجاور، ترکیبات ماتریکس خارج‌سلولی،

متابولیت‌های موضعی و عوامل محلول ایجاد و حفظ می‌شود. بنابراین، محیط بافتی نه‌تنها محل فعالیت ماکروفاژها، بلکه یکی از عوامل اصلی تعیین‌کننده هویت و عملکرد آن‌هاست (۱۰).

پلاستیسیته عملکردی ماکروفاژها به توانایی آن‌ها در تغییر برنامه‌های سلولی و پاسخ‌های زیستی در مواجهه با محرک‌های متغیر اشاره دارد. این فرایند می‌تواند از طریق تغییر در بیان ژن، فعالیت عوامل رونویسی، وضعیت کروماتین و برنامه‌های متابولیک رخ دهد. در نتیجه، وضعیت فعال‌سازی یک ماکروفاژ را نباید یک ویژگی ثابت و برگشت‌ناپذیر در نظر گرفت؛ بلکه این وضعیت حاصل تعامل پویا میان سیگنال‌های محیطی و ظرفیت تنظیمی درون‌سلولی است. برای نمونه، تغییر ترکیب سایتوکاین‌های محیط، حضور محصولات میکروبی یا مواجهه با سلول‌های آسیب‌دیده می‌تواند برنامه عملکردی ماکروفاژها را تغییر دهد و بر میزان تولید واسطه‌های التهابی، فاگوسیتوز، عرضه آنتی‌ژن و ترمیم بافت اثر بگذارد (۱۱).

از دیدگاه درمانی، این ویژگی اهمیت ویژه‌ای دارد؛ زیرا هدف از مداخله بیوتکنولوژیک الزاماً ایجاد یک فنوتیپ از پیش تعریف‌شده نیست، بلکه هدایت عملکرد ماکروفاژ به سمت پاسخی متناسب با وضعیت بیماری است. چنین رویکردی مستلزم توجه هم‌زمان به منشأ سلولی، وضعیت اولیه فعال‌سازی، ریزمحیط بافتی و پایداری تغییرات القاشده است. این ملاحظات به‌ویژه در طراحی راهبردهای مهندسی ماکروفاژ اهمیت دارند؛ زیرا پاسخ سلول‌های دست‌کاری‌شده در محیط کشت لزوماً با رفتار آن‌ها پس از ورود به بافت بیمار یکسان نخواهد بود.

راهبردهای بیوتکنولوژیک برای بازبرنامه‌ریزی درمانی ماکروفاژها

پیشرفت فناوری‌های مهندسی سلولی و سامانه‌های نوین انتقال دارو، امکان مداخله مستقیم در عملکرد ماکروفاژها را برای اهداف درمانی فراهم کرده است. برخلاف روش‌های سنتی که عمدتاً بر مهار یا حذف جمعیت‌های سلولی خاص متمرکز بودند، راهبردهای جدید تلاش می‌کنند ظرفیت‌های عملکردی ماکروفاژها را در محل بیماری اصلاح کرده یا سلول‌هایی با قابلیت‌های درمانی مشخص تولید کنند. از این منظر، رویکردهای بیوتکنولوژیک را می‌توان به دو گروه کلی تقسیم کرد:

مهندسی ماکروفاژها خارج از بدن و بازبرنامه‌ریزی مستقیم آن‌ها در بدن. انتخاب هر یک از این روش‌ها به نوع بیماری، دسترسی به بافت هدف، ویژگی‌های سلول‌های موردنظر و میزان کنترل موردنیاز بر پاسخ درمانی بستگی دارد.

مهندسی ژنتیکی و سلول‌درمانی مبتنی بر ماکروفاژ

یکی از پیشرفته‌ترین رویکردهای این حوزه، استفاده از مهندسی ژنتیکی برای تولید ماکروفاژهایی با عملکرد درمانی اختصاصی است. در این روش، سلول‌های پیش‌ساز یا مونوسیت‌های مشتق از خون بیمار جدا شده و پس از انتقال ژن موردنظر و تمایز به ماکروفاژ، به‌عنوان محصول سلول درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. توسعه گیرنده‌های آنتی‌ژن کایمریک در ماکروفاژها (Chimeric Antigen Receptor Macrophages; CAR-M) نمونه شاخص این فناوری است. این سلول‌ها با بیان گیرنده‌های مهندسی‌شده، قابلیت شناسایی ساختارهای اختصاصی سطح سلول‌های هدف را کسب می‌کنند و می‌توانند از طریق ترشح عوامل ایمنی و تقویت عرضه آنتی‌ژن، پاسخ ضدتوموری را افزایش دهند.

در یک مطالعه پیش بالینی، ماکروفاژهای انسانی مهندسی‌شده با CAR اختصاصی HER2 توانستند فعالیت فاگوسیتوزی و ضدتوموری نشان دهند. این سلول‌ها علاوه بر اثر مستقیم بر سلول‌های سرطانی، موجب تغییر ترکیب سلول‌های ایمنی در ریزمحیط تومور نیز شدند؛ یافته‌ای که مبنای توسعه مطالعات بالینی این فناوری قرار گرفت (۱۲).

شواهد بالینی اولیه این رویکرد نیز با انجام نخستین مطالعه انسانی فاز اول CT-0508 در بیماران مبتلا به تومورهای جامد-HER2 positive فراهم شده است. در تحلیل منتشرشده از ۱۴ بیمار، عارضه محدودکننده دوز یا موارد شدید سندرم آزادسازی سایتوکاین Cytokine Release Syndrome (CRS) گزارش نشد. در گروه بیماران دارای بیان بالای HER2، چهار بیمار از ۹ بیمار ارزیابی‌شده به‌عنوان بهترین پاسخ، بیماری پایدار داشتند؛ با این حال، پاسخ عینی توموری قابل‌توجهی مشاهده نشد. بررسی نمونه‌های بافتی نیز ورود سلول‌های CAR-M به تومور و تغییراتی در ریزمحیط ایمنی، از جمله افزایش سلول‌های +TCD8، را نشان داد. بنابراین، این مطالعه بیش از آنکه اثربخشی قطعی درمان را اثبات کند، امکان تولید، تجویز و تحمل‌پذیری اولیه این نوع سلول‌درمانی را در انسان نشان می‌دهد (۱۳).

انتقال هدفمند mRNA و بازبرنامه‌ریزی درون‌تنی

یکی از محدودیت‌های مهندسی خارج از بدن، پیچیدگی تولید سلول، هزینه، زمان آماده‌سازی و دشواری حفظ عملکرد آن

پس از انتقال به بدن است. فناوری انتقال mRNA با استفاده از نانوذرات، امکان بیان موقت عوامل درمانی در ماکروفاژهای هدف را بدون ضرورت دست‌کاری ژنتیکی پایدار فراهم می‌کند. در این روش، mRNA رمزکننده عوامل تنظیم‌کننده عملکرد ماکروفاژ درون نانوذرات قرار می‌گیرد و پس از ورود به سلول هدف، برای مدت محدودی بیان می‌شود.

مطالعه ژانگ و همکاران نمونه مهمی از این رویکرد را ارائه کرد. پژوهشگران با طراحی نانوذرات‌های پلیمری هدفمند، mRNAرمزکننده IRF5 و کیناز فعال‌کننده آن، IKKβ، را به ماکروفاژهای مرتبط با تومور منتقل کردند. این سامانه در مدل‌های پیش‌بالینی سرطان تخمدان، ملانوما و گلیوبلاستوما توانست عملکرد سرکوبگر ایمنی ماکروفاژها را کاهش داده و پاسخ ضدتوموری را تقویت کند. همچنین امکان تجویز مکرر نانوذرات بدون بروز سمیت سیستمیک قابل‌توجه در مدل‌های بررسی‌شده گزارش شد. این یافته‌ها نشان دادند که انتقال هدفمند mRNA می‌تواند به‌عنوان جایگزینی انعطاف‌پذیر برای مهندسی ژنتیکی پایدار ماکروفاژها مورد توجه قرار گیرد (۱۴).

در مطالعه دیگری، نقش آنزیم NAT10 در تنظیم عملکرد ماکروفاژهای مرتبط با تومور و توسعه یک راهبرد نانویی برای بازبرنامه‌ریزی این سلول‌ها در سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفت. محققان با تمرکز بر محور تنظیمی–NAT10 SRSF2–HDAC10 تلاش کردند مشخص کنند که آیا مهار NAT10 می‌تواند با تغییر پایداری پروتئین‌های تنظیم‌کننده پردازشRNA ، فنوتیپ ماکروفاژها را از وضعیت سرکوبگر ایمنی (M2-like) به سمت فعالیت ضدتوموری (M1-like)سوق دهد و در نتیجه پاسخ به ایمونوتراپی را بهبود بخشد. تایج نشان داد که NAT10 از طریق تنظیم استیلاسیون و پایداری پروتئینSRSF2 ، در حفظ ویژگی‌های سرکوبگر ایمنی ماکروفاژهای مرتبط با تومور نقش دارد. مهار NAT10موجب کاهش پایداری SRSF2 و تغییر محور تنظیمی پایین‌دست آن، از جملهHDAC10 ، شد (۱۵).

نانوذرات علاوه بر انتقال مواد ژنتیکی، می‌توانند برای رساندن انتخابی داروها و عوامل تعدیل‌کننده ایمنی به جمعیت‌های خاص ماکروفاژی استفاده شوند. این سامانه‌ها با بهره‌گیری از ویژگی‌های سطحی یا گیرنده‌های سلولی، امکان افزایش تجمع دارو در سلول هدف و کاهش مواجهه با بافت‌های غیرهدف را فراهم می‌کنند. برای مثال، در یک مطالعه پیش‌بالینی، نانوذرات حاوی آگونیست گیرنده‌های TLR7/8 به‌گونه‌ای طراحی شدند که ترجیحاً توسط ماکروفاژهای دارای ویژگی‌های شبه M2 برداشت شوند. تجویز این سامانه در مدل توموری موجب تغییر وضعیت عملکردی ماکروفاژها، کاهش اندازه تومور و افزایش بقای مدل حیوانی شد (۱۶).

این فناوری از نظر درمانی اهمیت دارد؛ زیرا به‌جای حذف کامل ماکروفاژهای مرتبط با تومور، تلاش می‌کند عملکرد آن‌ها را به نفع پاسخ ضدتوموری تغییر دهد. با این حال، اختصاصیت هدف‌گیری، توزیع بافتی، ایمنی تجویز مکرر و احتمال فعال‌سازی ناخواسته سایر سلول‌های ایمنی همچنان از ملاحظات مهم در توسعه بالینی این سامانه‌ها هستند.

در رویکردی مبتنی بر مهندسی نانوذرات، انتقال هم‌زمان آنتی‌ژن انگل و آگونیست‌های گیرنده‌های TLR نیز برای تقویت پاسخ ماکروفاژهای آلوده به *لیشمانیا ماژور* (*Leishmania major*) بررسی شده است. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۱ منتشر شد، از نانوذرات PLGA برای انتقال ترکیبی آنتی‌ژن لیشمانیا و آگونیست‌های Pam3CSK4 و R848استفاده شد. قرارگیری این ترکیبات در نانوذرات موجب افزایش شدت و تداوم بیان سایتوکاین‌های التهابی و iNOSشد و فعالیت ضدانگلی بیشتری نسبت به ترکیبات آزاد ایجاد کرد. این یافته نشان داد که ترکیب هدفمند آنتی‌ژن و محرک‌های ایمنی در یک سامانه دارورسانی می‌تواند برای تقویت عملکرد ضد میکروبی ماکروفاژها مفید باشد (۱۷).

در مطالعه لو و همکاران که اخیرا در ژورنال Nature به انتشار رسید رویکرد نوین مبتنی بر نانودارو برای بازبرنامه‌ریزی عملکرد ماکروفاژها در شرایط التهاب سیستمیک ناشی از سپسیس معرفی می‌کند. نقطه شروع پژوهش این بود که در سپسیس، اختلال عملکرد سیستم ایمنی صرفاً به افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی محدود نمی‌شود، بلکه تغییرات هم‌زمان در مسیرهای متابولیکی، سیگنالینگ ذاتی و تعاملات میکروبیوم روده نیز در تداوم التهاب و آسیب چندعضوی نقش دارند. دو مسیر مولکولی مهم شامل مسیر STING که در فعال‌سازی پاسخ‌های التهابی و تولید اینترفرون نوع یک نقش دارد، و آنزیم DHODH (Dihydroorotate Dehydrogenase) که یکی از اجزای کلیدی مسیر سنتز پیریمیدین و تنظیم‌کننده وضعیت متابولیکی سلول‌های ایمنی است مورد بررسی قرار گرفت. بررسی داده‌های ترنسکریپتومیک بیماران مبتلا به سپسیس و مدل‌های حیوانی نشان داد که بیان هر دو مولکول در شرایط التهابی افزایش می‌یابد.

برای مهار هم‌زمان این دو مسیر، یک سامانه نانوذره‌ای پاسخ‌گو به گلوتاتیون (GSH-responsive) با عنوان EONPs

طراحی گردید. این طراحی امکان هم‌بارگذاری دو ترکیب با مکانیسم‌های عملکردی متفاوت و آزادسازی وابسته به شرایط احیایی محیط داخل سلولی را فراهم می‌کند.

نتایج آزمایش‌های سلولی روی ماکروفاژهای مشتق از مغز استخوان و رده RAW264.7 نشان داد که EONPs قادر است برنامه التهابی ماکروفاژها را به‌طور قابل‌توجهی تغییر دهد. در سطح مولکولی، کاهش بیان ژن‌های مرتبط با فنوتیپ التهابی شامل *Nos2*، *Il1b*، *Il6*، *Ccl5* و *Cd86* همراه با افزایش بیان نشانگرهای مرتبط با فنوتیپ ضدالتهابی نظیر *Arg1*، *Tgfb*، *Cd206* و *Clec10a* مشاهده شد. همچنین، مهار هم‌زمان STING و DHODH نسبت به هدف‌گیری منفرد هر یک، اثر قوی‌تری در تغییر فنوتیپ ماکروفاژها نشان داد.

یکی از یافته‌های مهم پژوهش، ارتباط میان بازبرنامه‌ریزی ایمنی و تغییرات متابولیسم میکروبیوم روده بود. درمان با EONPs موجب بهبود ترکیب میکروبیوم و افزایش متابولیت مشتق از تریپتوفان گردید. این متابولیت به‌تنهایی نیز توانست قطبیت ماکروفاژها به سمت فنوتیپ ضدالتهابی را تقویت کند و ترکیب آن با EONPs اثر هم‌افزایی نشان داد.

در مدل حیوانی سپسیس القاشده باCLP ، درمان با EONPs با کاهش التهاب سیستمیک، بهبود آسیب کبدی و کلیوی و افزایش بقای مدل حیوانی همراه بود. در مجموع، این پژوهش نشان می‌دهد که بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها می‌تواند از طریق مداخله هم‌زمان در مسیرهای ایمنی، متابولیکی و ارتباطات میکروبیوم انجام شود. بااین‌حال، نتایج عمدتاً مبتنی بر مدل‌های پیش‌بالینی هستند و هنوز شواهدی از اثربخشی بالینی این سامانه وجود ندارد (۱۸).

وزیکول‌های خارج‌سلولی در تنظیم عملکرد ماکروفاژها و ارتباطات متقابل در ریزمحیط تومور

وزیکول‌های خارج‌سلولی (Extracellular Vesicles; EVs) به دلیل قابلیت انتقال مولکول‌های زیستی و برقراری ارتباط میان سلول‌ها، به‌عنوان سامانه‌هایی برای تعدیل پاسخ‌های ایمنی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این رویکرد، EVهای مشتق از ماکروفاژهای فعال‌شده یا وزیکول‌های مهندسی‌شده می‌توانند برای انتقال عوامل تنظیم‌کننده ایمنی به ماکروفاژهای هدف استفاده شوند. مزیت بالقوه این سامانه‌ها، امکان ترکیب ویژگی‌های زیستی وزیکول با قابلیت بارگذاری و هدف‌گیری اختصاصی است (۱۹).

در یک مطالعه پیش‌بالینی، استفاده از اگزوزوم‌های مشتق از ماکروفاژهای M1 برای تغییر عملکرد ماکروفاژهای مرتبط با تومور بررسی شد. این وزیکول‌ها توانستند ویژگی‌های عملکردی ماکروفاژهای شبه M2 را به سمت پاسخ‌های ضدتوموری تغییر دهند و در مدل حیوانی سرطان، رشد تومور را مهار کنند (۲۰). با وجود این نتایج امیدوارکننده، کاربرد درمانی EV ها هنوز عمدتاً در مرحله پیش‌بالینی قرار دارد. تغییرپذیری ترکیب وزیکول‌ها، دشواری تولید انبوه، استانداردسازی بارگذاری و ارزیابی دقیق توزیع زیستی از جمله موانع اصلی توسعه این فناوری هستند.

در مطالعه گان و همکاران نقش اگزوزوم‌های مشتق از ماکروفاژهای مرتبط با تومودر پیشرفت سرطان پروستات، مکانیسم انتقالmiRNA های تنظیمی از ماکروفاژها به سلول‌های سرطانی بررسی گردید. در این پژوهش، ابتدا با استفاده از رده سلولیTHP-1 ، ماکروفاژهای M2-like ایجاد و اگزوزوم‌های ترشح‌شده از آن‌ها جداسازی و شناسایی شدند. سپس، با استفاده از توالی‌یابیmiRNA ، محتوای مولکولی اگزوزوم‌ها بررسی و miR-95 به‌عنوان یکی ازmiRNA های افزایش‌یافته شناسایی شد. انتقال اگزوزوم‌ها به سلول‌های سرطان پروستات و اثر محموله آن‌ها با آزمایش‌های سلولی و مولکولی بررسی شد. نتایج نشان داد که اگزوزوم‌های مشتق از ماکروفاژهای M2 می‌توانند miR-95 را به سلول‌های سرطان پروستات منتقل کنند. این miRNA با هدف‌گیری RNA پیام‌رسان ژن *JunB* بیان آن را کاهش داده و در نتیجه، ویژگی‌های تهاجمی و پیشرفت‌دهنده تومور را تقویت می‌کند. افزایش miR-95 با افزایش تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطانی و القای EMT همراه بود، درحالی‌که مهار آن توانست بخشی از این اثرات را معکوس کند. در مجموع، این مطالعه نشان داد که انتقال اگزوزومی miR-95 از ماکروفاژهای M2 به سلول‌های توموری، از طریق تنظیم محورmiR-95/JunB ، یکی از مکانیسم‌های ارتباط متقابل ماکروفاژ–تومور و پیشرفت سرطان پروستات است. این یافته اهمیتEV های مشتق از ماکروفاژ را به‌عنوان واسطه‌های فعال ارتباط بین‌سلولی و اهداف بالقوه مداخلات درمانی برجسته می‌کند(۲۱).

مطالعه دیگری نقش وزیکول‌های خارج‌سلولی ترشح‌شده از سلول‌های سرطان پیشرفته پروستات در تغییر رفتار سلول‌های حاضر در ریزمحیط تومور، اثر این وزیکول‌ها را بر ماکروفاژها و سلول‌های اپی‌تلیال غیرسرطانی پروستات را مورد بررسی قرار داد. در این پژوهش، EVها از محیط کشت سلول‌های سرطان پروستات PC3 با استفاده از اولتراسانتریفیوژ متوالی جداسازی

شدند و سپس بر ماکروفاژهای مشتق از رده مونوسیتی-THP 1، که با TPA تمایز یافته بودند، اعمال شدند. برای ارزیابی تغییر فنوتیپ ماکروفاژها، بیان ژن‌های IL-10 و IL-12 با روش qRT-PCR بررسی شد و ورودEV ها به سلول‌ها نیز با استفاده از رنگ‌آمیزی فلورسنت و میکروسکوپی مورد ارزیابی قرار گرفت. علاوه بر این، اثر محیط کشت شرطی‌شده ماکروفاژهای تیمارشده باEV ها بر تکثیر و مهاجرت سلول‌های PC3با آزمون‌های MTT و scratch assay بررسی شد. نتایج نشان داد کهEV های مشتق از سلول‌های PC3 موجب افزایش بیان IL-10 بدون تغییر قابل‌توجه در بیان IL-12 در ماکروفاژها می‌شوند؛ الگویی که با فنوتیپ شبه TAM-و ویژگی‌های ایمنی‌تنظیمی ماکروفاژها سازگار است. همچنین، محیط کشت شرطی‌شده این ماکروفاژها توانست تکثیر و مهاجرت سلول‌های سرطانی پروستات را افزایش دهد. در بخش دیگری از مطالعه، اثرEV های سرطانی بر سلول‌های اپی‌تلیال غیرسرطانی پروستات PNT2 بررسی شد. یافته‌ها نشان دادند که این وزیکول‌ها از طریق فعال‌سازی مسیر ERK1/2، ایجاد ناپایداری در غشای لیزوزوم و افزایش فعالیت کاتپسینB ، موجب فعال‌شدن کاسپاز-۱ و بلوغ IL-1β می‌شوند؛ فرایندی که با فعال‌شدن اینفلامازوم NLRP3 ارتباط دارد. در مجموع، این مطالعه نشان داد کهEV های ترشح‌شده از سلول‌های سرطان پیشرفته پروستات می‌توانند به‌طور هم‌زمان موجب القای فنوتیپ شبه TAM-در ماکروفاژها و تحریک پاسخ التهابی در سلول‌های غیرسرطانی پروستات شوند و از این طریق به شکل‌گیری ریزمحیطی مساعد برای پیشرفت تومور کمک کنند(۲۲).

محدودیت‌ها، چشم‌انداز آینده و مسیر ترجمه بالینی

با وجود پیشرفت‌های قابل‌توجه در توسعه فناوری‌های بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها، انتقال این رویکردها از مطالعات آزمایشگاهی و مدل‌های حیوانی به درمان‌های بالینی همچنان با چالش‌های متعددی روبه‌رو است. یکی از محدودیت‌های اساسی، ناهمگونی و پلاستیسیته ماکروفاژها در بافت‌های مختلف و حتی در نواحی متفاوت یک ضایعه است؛ به‌طوری‌که پاسخ به یک مداخله واحد ممکن است در بیماران یا ریزمحیط‌های بافتی مختلف یکسان نباشد. همچنین، استفاده از نشانگرهای محدود برای تعریف فنوتیپ‌های M1 و M2 ممکن است پیچیدگی پاسخ عملکردی ماکروفاژها را به‌درستی منعکس نکند. از سوی دیگر، رسانش اختصاصی و مؤثر محموله‌های ژنتیکی یا دارویی به جمعیت هدف، پایداری اثر درمانی، ایمنی بلندمدت و احتمال ایجاد پاسخ‌های التهابی ناخواسته، از موانع مهم توسعه این فناوری‌ها هستند (۶).

در حوزه سرطان، چالش دیگر صرفاً رساندن ماکروفاژهای مهندسی‌شده به تومور نیست، بلکه حفظ عملکرد ضدتوموری آن‌ها در برابر سیگنال‌های سرکوبگر ریزمحیط تومور است. در سلول‌درمانی‌های مبتنی بر CAR-M، محدودیت تکثیر و ماندگاری ماکروفاژها، دشواری تولید انبوه و ناهمگونی آنتی‌ژنی تومورها می‌توانند اثربخشی درمان را محدود کنند. تجربه نخستین مطالعات انسانی نیز نشان می‌دهد که اثبات امکان تولید و تجویز ایمن این سلول‌ها الزاماً به پاسخ ضدتوموری پایدار منجر نمی‌شود (۲۳, ۲۴).

در مقابل، در بیماری‌های عفونی، چالش اصلی ایجاد تعادل میان تقویت فعالیت ضدمیکروبی و جلوگیری از التهاب آسیب‌رسان به بافت میزبان است. افزون بر این، تفاوت میان مدل‌های آزمایشگاهی و حیوانی با شرایط ایمنی انسان، اختصاصیت ناکافی برخی سامانه‌های انتقال (delivery system) و نبود شاخص‌های استاندارد برای ارزیابی تغییرات عملکردی ماکروفاژها، مقایسه نتایج مطالعات و طراحی کارآزمایی‌های بالینی را دشوار می‌کند. در سامانه‌های مبتنی بر سلول یا نانوذرات نیز تکرارپذیری تولید، کنترل کیفیت، پایداری محموله و ارزیابی ایمنی بلندمدت باید پیش از ورود گسترده به مطالعات انسانی مورد توجه قرار گیرند (۲۵).

از منظر آینده، پیشرفت این حوزه به سمت بازبرنامه‌ریزی دقیق و متناسب با بیماری وابسته خواهد بود؛ رویکردی که به‌جای القای عمومی فنوتیپ شبه M1، جمعیت‌های عملکردی مشخص ماکروفاژ را با توجه به ویژگی‌های بافتی و وضعیت بیماری هدف قرار دهد. استفاده از داده‌های تک‌سلولی و پروفایل‌سازی فضایی می‌تواند در شناسایی زیرجمعیت‌های مناسب و انتخاب نشانگرهای پیش‌بینی‌کننده پاسخ درمانی کمک‌کننده باشد. همچنین، توسعه سامانه‌های رسانش هدفمند و قابل‌کنترل، مهندسی سلول‌های پایدارتر و ترکیب بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها با درمان‌های استاندارد، از جمله مهارکننده‌های نقاط بازرسی ایمنی در سرطان و داروهای ضدمیکروبی در عفونت‌ها، می‌تواند ظرفیت درمانی این فناوری‌ها را افزایش دهد. بااین‌حال، اثربخشی این ترکیب‌ها باید در مطالعات بالینی کنترل‌شده و با درنظرگرفتن نوع بیماری و ویژگی‌های بیماران ارزیابی شود (۲۶, ۲۷) .

انتخاب فناوری مناسب برای بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها باید بر اساس ویژگی‌های بیماری و هدف درمانی انجام شود. در روش‌های مبتنی بر سلول‌درمانی، امکان کنترل بیشتر بر

محصول سلولی پیش از تجویز وجود دارد، اما تولید اختصاصی، هزینه و محدودیت‌های مربوط به ماندگاری سلول در بافت هدف از چالش‌های آن محسوب می‌شوند. در مقابل، انتقال درون‌تنی عوامل ژنتیکی یا دارویی می‌تواند فرایند تولید را ساده‌تر کند، ولی اختصاصیت هدف‌گیری و کنترل میزان و مدت پاسخ سلولی همچنان اهمیت دارد. نکته اساسی آن است که موفقیت بازبرنامه‌ریزی صرفاً با تغییر نشانگرهای فنوتیپی ماکروفاژها قابل ارزیابی نیست؛ بلکه باید پیامدهای عملکردی و درمانی، از جمله افزایش حذف پاتوژن یا سلول توموری، بهبود پاسخ سایر سلول‌های ایمنی و کاهش آسیب بافتی نیز بررسی شوند. همچنین، ایجاد پاسخ التهابی بیش از حد یا تغییر عملکرد سلول‌های غیرهدف می‌تواند ایمنی درمان را محدود کند. بنابراین، توسعه سامانه‌های هدفمند، قابل‌کنترل و متناسب با ریزمحیط بیماری، از الزامات اصلی انتقال این فناوری‌ها از مطالعات پیش‌بالینی به کاربرد بالینی است

در مجموع، بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها ظرفیت تبدیل‌شدن به یک راهبرد درمانی مکمل در بیماری‌های عفونی و سرطان را دارد؛ اما تحقق این ظرفیت مستلزم عبور از شواهد اثبات مفهوم به سمت مطالعات بالینی با طراحی مناسب، انتخاب دقیق بیماران، شاخص‌های عملکردی معتبر و ارزیابی جامع ایمنی و اثربخشی است.

نتیجه‌گیری

بازبرنامه‌ریزی عملکردی ماکروفاژها، رویکردی نوظهور در درمان بیماری‌های عفونی و سرطان است که با بهره‌گیری از فناوری‌های مهندسی ژنتیک، سامانه‌های رسانش هدفمند، تعدیل‌کننده‌های متابولیک و مداخلات ایمنی، ظرفیت‌های دفاعی یا ضدتوموری این سلول‌ها را تقویت می‌کند. شواهد پیش‌بالینی، به‌ویژه در کنترل عفونت‌های داخل‌سلولی و بازآرایی ریزمحیط تومور، امیدبخش هستند؛ بااین‌حال، ناهمگونی و پلاستیسیته ماکروفاژها، چالش‌های رسانش اختصاصی، احتمال التهاب ناخواسته و محدودیت شواهد بالینی، همچنان موانع مهم ترجمه این راهبردها به درمان هستند. در نهایت، توسعه مداخلات ایمن، پایدار و متناسب با ویژگی‌های هر بیماری، همراه با ارزیابی بالینی دقیق، می‌تواند مسیر تبدیل بازبرنامه‌ریزی ماکروفاژها به یک گزینه درمانی مؤثر و مکمل را هموار سازد.

REFERENCE

.1 Bernier ED, Bartnicki E, Khanna KM. Macrophages: sentinels, warriors, and healers. Human Molecular Genetics. 2025;34(R1):R110-R20.
.2 Sweet MJ, Ramnath D, Singhal A, Kapetanovic R. Inducible antibacterial responses in macrophages. Nature Reviews Immunology. 2025;25(2):92-107.
.3 Cutolo M, Soldano S, Smith V, Gotelli E, Hysa E. Dynamic macrophage phenotypes in autoimmune and inflammatory rheumatic diseases. Nature Reviews Rheumatology. 2025;21(9):546-65.
.4 Fernandes Maria C, Dillon Laura AL, Belew Ashton T, Bravo Hector C, Mosser David M, El-Sayed Najib M. Dual Transcriptome Profiling of Leishmania-Infected Human Macrophages Reveals Distinct Reprogramming Signatures. mBio. 2016;7(3):10.1128/mbio.00027-16.
.5 Liu Y, Wang J, Yang J, Xia J, Yu J, Chen D ,et al. Nanomaterial-mediated host directed therapy of tuberculosis by manipulating macrophage autophagy. Journal of Nanobiotechnology. 2024;22(1):608.
.6 Rannikko JH, Hollmén M. Clinical landscape of macrophage-reprogramming cancer immunotherapies. British Journal of Cancer. 2024;131(4):627-40.
.7 Zhang X, Li S, Malik I, Do MH, Ji L, Chou C, et al. Reprogramming tumour-associated macrophages to outcompete cancer cells. Nature. 2023;619(7970):616-23.
.8 Cox N, Pokrovskii M, Vicario R, Geissmann F. Origins ,Biology, and Diseases of Tissue Macrophages. Annual review of immunology. 2021;39:313-44.
.9 Lazarov T, Juarez-Carreño S, Cox N, Geissmann F. Physiology and diseases of tissue-resident macrophages. Nature. 2023;618(7966):698-707.
.10 Mass E, Nimmerjahn F ,Kierdorf K, Schlitzer A. Tissue-specific macrophages: how they develop and choreograph tissue biology. Nature Reviews Immunology. 2023;23(9):563-79.
.11 Murray PJ. Macrophage Polarization. Annual Review of Physiology. 2017;79(Volume 79, 2017):541-66.
.12 Klichinsky M, Ruella M, Shestova O, Lu XM, Best A, Zeeman M, et al. Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy. Nature Biotechnology. 2020;38(8):947-53.
.13 Reiss KA, Angelos MG, Dees EC, Yuan Y, Ueno NT, Pohlmann PR, et al. CAR-macrophage therapy for HER2-overexpressing advanced solid tumors: a phase 1 trial. Nature medicine. 2025;31(4):1171-82.
.14 Zhang F, Parayath NN, Ene CI, Stephan SB, Koehne AL, Coon ME, et al. Genetic programming of macrophages to perform anti-tumor functions using targeted mRNA nanocarriers. Nature communications. 2019;10(1):3974.
.15 Zhu J, Xu B, Hu R, Yang B, Shen P, Xu Y, et al. Reprogramming Tumor-Associated Macrophages via Targeted NAT10 Inhibition to Enhance Colorectal Cancer Immunotherapy. Advanced Science. 2026;13(2):e10854.
.16 Zhang Y, Chen Y, Li J, Zhu X, Liu Y, Wang X, et al. Development of Toll-like Receptor Agonist-Loaded Nanoparticles as Precision Immunotherapy for Reprogramming Tumor-Associated Macrophages. ACS Applied Materials & Interfaces. 2021;13(21):24442-52.
.17 Katebi A, Varshochian R, Riazi-rad F, Ganjalikhani-Hakemi M, Ajdary S. Combinatorial delivery of antigen and TLR agonists via PLGA nanoparticles modulates Leishmania major-infected-macrophages activation. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2021;137:111276.
.18 Lu X, Wang W, Zhang B, Li Q, Chen Y, Hai Y, et al. Nanotherapeutic macrophage reprogramming through immunometabolic and microbial modulation for sepsis treatment. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2026;11(1):467.
.19 Kim H, Park H-J, Chang HW, Back JH, Lee SJ, Park YE, et al. Exosome-guided direct reprogramming of tumor-associated macrophages from protumorigenic to antitumorigenic to fight cancer. Bioactive Materials. 2023;25:527-40.

.20 Chen Y, Gong L, Cao Y, Liu Z, Wang Y, Cheng H, et al. Reprogramming tumor-associated macrophages by a dually targeted milk exosome system as a potent monotherapy for cancer. Journal of Controlled Release. 2024;366:395-409.
.21 Guan H, Peng R, Fang F, Mao L, Chen Z, Yang S, et al .Tumor-associated macrophages promote prostate cancer progression via exosome-mediated miR-95 transfer. J Cell Physiol. 2020;235(12):9729-42.
.22 Mezzasoma L, Costanzi E, Scarpelli P, Talesa VN, Bellezza I. Extracellular Vesicles from Human Advanced-Stage Prostate Cancer Cells Modify the Inflammatory Response of Microenvironment-Residing Cells. Cancers (Basel). 2019;11.(9)
.23 Alrehaili M, Couto PS, Khalife R, Rafiq QA. CAR-macrophages in solid tumors: promise, progress, and prospects. npj Precision Oncology. 2025;9(1):382.
.24 Rodgers DT, Novobrantseva T, Barcia RN. Smart Cell Therapy: an industry perspective on macrophages as living drugs. Cytotherapy. 2025;27(7):849-63.
.25 Guo Q, Qian ZM. Macrophage based drug delivery: Key challenges and strategies .Bioact Mater. 2024;38:55-72.
.26 Sun B, Wen L, Tang S, Liu L, Chen N. Macrophage: Biological Functions, Diseases, and Therapeutic Targets. MedComm. 2026;7(8):e70883.
.27 Paasch D, Haake K, Kan C, Ulpiano C, Nikolouli E, Jang M-S, et al. Harnessing macrophage signaling pathways and scalable engineering for next-generation immunotherapies. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2026;11(1):331.