

วัคซีนเพื่อการรักษาการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี

Vaccination for Human Papillomavirus Infection Treatment

นราพร สมบูรณ์นะ* ภูริวัจน์ สุขวัฒนนิพัทธ์** สิริกานต์ จันทร์ประอบ**
Naraporn Somboonna* Puriwat Sukwattananipaath** Sirikarn Junpra-ob**

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร 10330

**นิสิตปริญญาตรีชั้นปีที่ 4 ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร 10330

*Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

**Fourth Year Bachelor Student, Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

Corresponding author Email address: naraporn.s@chula.ac.th

Received: 7 September 2018

Revised: 4 April 2019

Accepted: 30 April 2019

บทคัดย่อ

ไวรัสเอชพีวี หรือ human papillomavirus เป็นไวรัสที่สามารถก่อให้เกิดโรคมะเร็งปากมดลูก พบมากในผู้หญิงไทยเป็นอันดับสองรองจากมะเร็งเต้านม และก่อให้เกิดโรคอื่นๆ อาทิ เช่น หูดที่อวัยวะเพศ ไม่เพียงแต่ผู้หญิงเท่านั้นที่แสดงอาการของโรค ผู้ชายก็เช่นกัน ดังนั้นการป้องกันและรักษาโรคจึงเป็นสิ่งสำคัญ โดยหนึ่งในวิธีที่สามารถรักษาโรคติดเชื้อไวรัสเอชพีวีได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือการใช้วัคซีนรักษาโรค ปัจจุบันมีการพัฒนาวัคซีนดีเอ็นเอมาใช้เป็นวัคซีนสำหรับรักษาโรคมะเร็งดังกล่าว เนื่องด้วยวัคซีนดีเอ็นเอมีความเสถียร ไม่ก่อโรค และสามารถส่งเสริมประสิทธิภาพโดยใช้โคโคซานอนุภาคนาโนในการนำส่งวัคซีน บทความนี้นำเสนอข้อมูลทางชีววิทยาของไวรัสเอชพีวี แนวทางการป้องกันและรักษาโรคในปัจจุบัน รายละเอียดและข้อสนเทศเกี่ยวกับวัคซีนรักษาโรคติดเชื้อไวรัสเอชพีวี ความรู้ดังกล่าวจะช่วยสนับสนุนความรู้และความเข้าใจในไวรัสชนิดนี้มากยิ่งขึ้น นำไปสู่การพัฒนาวัคซีนที่มีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ: Human papillomavirus (ไวรัสเอชพีวี) มะเร็งปากมดลูก วัคซีนดีเอ็นเอ

พุทธชินราชเวชสาร 2562;36(1):109-17.

Abstract

Human papillomavirus (HPV) can cause cervical cancer, the second most common cancer among Thai women following breast cancer. HPV can also cause other clinical diseases, such as genital warts in both male and female. Hence HPV treatment and protection are necessary. To date, several DNA vaccines have been developed as therapy, because the DNA vaccine is stable, and its target and effectiveness are high using nanoparticle-assisted delivery, e.g. chitosan nanoparticles. This review article will present details on biology of HPV, current treatments for HPV infection and DNA vaccine. Together, the knowledges will promote understanding and further scientific development about effective HPV vaccine.

Keywords: Human papillomavirus (HPV), cervical cancer, DNA vaccine

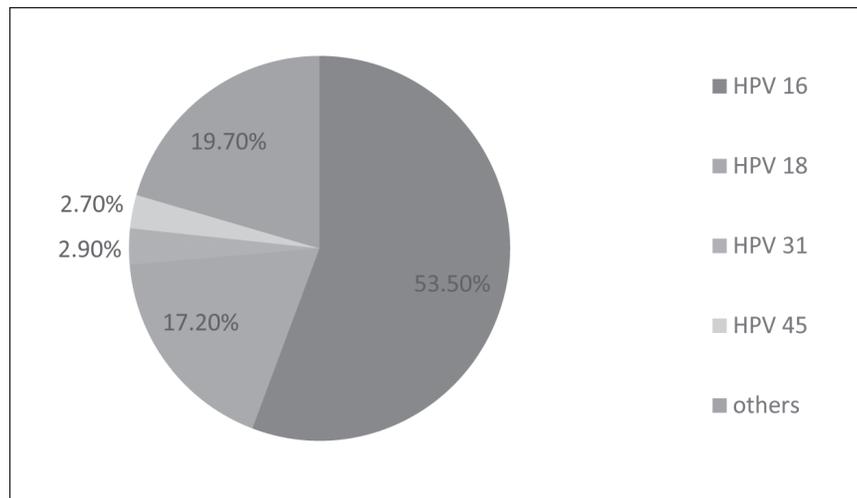
Buddhachinaraj Med J 2019;36(1):109-17.

บทนำ

Human papillomavirus หรือเอชพีวี (HPV) เป็นไวรัสที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก อันเป็นมะเร็งที่พบในเพศหญิงมากเป็นอันดับสอง เป็นสาเหตุของโรคมะเร็งอีกหลายชนิด เช่น มะเร็งช่องคลอด มะเร็งอวัยวะสืบพันธุ์ มะเร็งทวารหนัก จากสถิติจำนวนผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ในปี พ.ศ. 2560 พบมะเร็งปากมดลูกในเพศหญิงสูงเป็นอันดับ 2 รองจากมะเร็งเต้านม¹ ดังนั้นการป้องกันการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ จึงเป็นสิ่งสำคัญ บทความนี้จึงขอเสนอชีววิทยาของไวรัสชนิดนี้ กลไกในการก่อโรคและโปรตีนที่เกี่ยวข้อง แนวทางการรักษาโรคในปัจจุบัน วัคซีนสำหรับไวรัสเอชพีวี และดีเอ็นเอวัคซีน (DNA vaccine) เป็นวิธีการรักษาการติดเชื้อ HPV ในรูปแบบใหม่

HPV ถูกค้นพบครั้งแรกในปีค.ศ. 1981 โดย Françoise Barre-Sinoussi และ Luc Montagnier เป็นไวรัสในวงศ์ *Papillomaviridae*² มีลักษณะพันธุกรรมเป็นดีเอ็นเอสายคู่ ความยาวประมาณ 8 กิโลเบส มีทั้งหมด 8 ยีน ประกอบด้วยยีนสร้างโปรตีนในกลุ่มที่ไม่ใช่โครงสร้าง (non-structural protein)

จำนวน 6 ยีน ได้แก่ E1, E2, E4, E5, E6 และ E7 และยีนสร้างโปรตีนในกลุ่มที่เป็นโครงสร้าง (structural protein) จำนวน 2 ยีน ได้แก่ L1 และ L2³ สารพันธุกรรมเหล่านี้บรรจุภายในเปลือกหุ้ม (capsid) ที่มีลักษณะเป็นรูปทรงหลายเหลี่ยม (icosahedral) และไม่มีเยื่อหุ้มภายนอก^{4,5} มีรายงานความหลากหลายของ HPV มากกว่า 180 ชนิด แบ่งตามลำดับเบสชนิดดีเอ็นเอ โดย 120 ชนิด ถูกพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับมนุษย์และแบ่งตามความรุนแรงในการก่อโรคเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มความเสี่ยงต่ำ (low-risk) ก่อให้เกิดหูด (benign wart) ตามอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ และโรคหูดหงอนไก่ในระบบทางเดินหายใจ (recurrent respiratory papillomas, RRP) ยกตัวอย่างเช่น HPV6 และ HPV11 ส่วนอีกกลุ่มคือกลุ่มความเสี่ยงสูง (high-risk) ก่อให้เกิดเนื้องอกชนิดร้าย (malignant) ยกตัวอย่างเช่น HPV 16 HPV18 และ HPV45 เป็นต้น³ โดยพบว่าการติดเชื้อ HPV16 และ HPV18 เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ปากมดลูกและพัฒนาเป็นมะเร็งปากมดลูก ได้มากที่สุด (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ชนิดของไวรัส HPV ที่ก่อให้เกิดมะเร็งปากมดลูก¹⁶

กลไกในการก่อโรคและโปรตีนที่เกี่ยวข้อง

HPV มีวงจรชีวิตซับซ้อนในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ อาทิเช่น การเพิ่มจำนวนและระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์เจ้าบ้าน

ขั้นตอนแรกคือ ไวรัสจะเข้าสู่เซลล์เป้าหมายในชั้นผิวหนัง และชั้นเคราตินในบริเวณปากมดลูก โดยเซลล์กลุ่มนี้มีความเสี่ยงสามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งต่อไปได้ และในการติดเชื้อ HPV นั้นมักเกิดจากบาดแผลขนาดเล็กของผิวหนังบริเวณนั้น ส่งผลให้เชื้อไวรัสสามารถรุกรานเซลล์เจ้าบ้านได้ง่ายขึ้น³

จากนั้นไวรัสจะมีการจำลองตัวเอง โดยอาศัยโปรตีน E1 และ E2 โดยที่ E1 เป็นเอนไซม์ใช้คลายเกลียวดีเอ็นเอของไวรัสจากสายคู่ให้กลายเป็นสายเดี่ยวเพื่อใช้เป็นต้นแบบในการจำลองตัวเอง โดยมี E2 เป็นโปรตีนตัวช่วยในการเกิดปฏิกิริยา (co-activator) ทั้งนี้กระบวนการจำลองตัวเองของ HPV แบ่งออกเป็น 2 ระยะ ระยะแรกเรียกว่าระยะการเพิ่มปริมาณ (amplification phase) เป็นระยะเพิ่มปริมาณของอนุภาคไวรัส เกิดในเนื้อเยื่อผิวส่วนบนและระยะที่สองเรียกว่า ระยะคงตัว (maintenance phase) กล่าวคือมีการเพิ่มดีเอ็นเอของไวรัสในปริมาณต่ำเกิดในเซลล์ผิวหนังที่กำลังมีการเพิ่มจำนวนและส่งผลให้พบปริมาณไวรัสต่ำกว่าที่อาจมีอยู่จริงนอกจากนี้ E2 ยังมีหน้าที่อื่น เช่น เป็นตัวยับยั้งการแปลรหัสของโปรตีน E6 และ E7 มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง ทำให้ E2 เป็นโปรตีนที่นักวิจัยสนใจเพื่อใช้เป็นแนวทางในการรักษา

และตรวจหาไวรัสต่อไป นอกจากนี้ มีโปรตีน E4 เกี่ยวข้องกับกระบวนการประกอบอนุภาคของไวรัส (assembly) และกระบวนการปลดปล่อยอนุภาคไวรัสออกจากเซลล์เจ้าบ้าน (release) โดยจะจับกับโปรตีน E1 และจับกับองค์ประกอบของเคราตินที่เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของเซลล์เจ้าบ้าน (cytoskeleton) ทำให้โครงสร้างเกิดการเปลี่ยนแปลง E4 เป็นโปรตีนที่ถูกแสดงออกในช่วงท้ายของการถอดรหัสดีเอ็นเอและไม่พบหรือพบน้อยในผู้ป่วยที่มีอาการของโรคขั้นรุนแรงหรือเป็นมะเร็ง⁶ เนื่องจาก HPV มีระยะพักแฝงตัวอยู่ในผู้ป่วย ที่ก่อความเสี่ยงสูงต่อการพัฒนาเซลล์เจ้าบ้านเป็นเซลล์มะเร็งขึ้นได้ โดยอาศัยโปรตีน E6 และ E7 โดย E6 สามารถยับยั้งการทำงานของโปรตีน p53 ในมนุษย์ที่เป็นกลไกสำคัญในการทำให้เซลล์มนุษย์หยุดวัฏจักรในระยะ G1 เมื่อมีความผิดปกติ และ E6 ยังสามารถยับยั้งกระบวนการทำลายตัวเองของเซลล์เจ้าบ้านหรือ apoptosis ทำลายเสถียรภาพของกระบวนการทำลายเซลล์ผิดปกติของเจ้าบ้านและกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ผิวหนังชั้นนอก (epithelium) เกิดพยาธิสภาพของโรคส่วนโปรตีน E7 ทำหน้าที่กีดการทำงานของโปรตีนชื่อ (Tumor suppressor retinoblastoma, pRb) และโปรตีนควบคุมการถอดรหัสของ pRb (E2F-Rb repressive complex) ทำให้เซลล์เจ้าบ้านเข้าสู่ระยะ S phase คือระยะการแบ่งเซลล์ เกิดการเพิ่มสำเนา

ดีเอ็นเอนำไปสู่การแบ่งตัวของเซลล์เจ้าบ้านอย่างไม่จำกัด⁷

แนวทางการป้องกันและรักษามะเร็งปากมดลูกในปัจจุบัน

การป้องกันและรักษาอาการของโรคติดเชื้อจาก HPV ที่บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์และทวารหนักนั้นมีหลายวิธีดังต่อไปนี้

การป้องกัน

การป้องกันปฐมภูมิ (primary prevention) คือ การหลีกเลี่ยงสาเหตุหรือลดปัจจัยเสี่ยงของมะเร็งปากมดลูก ซึ่งก็คือการป้องกันไม่ให้ปากมดลูกติดเชื้อ HPV เช่น การละเว้นการมีเพศสัมพันธ์ การใช้ถุงยางอนามัยคุมกำเนิด หลีกเลี่ยงการมีคู่นอนหลายคน และการฉีดวัคซีน HPV เพื่อสร้างเสริมภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ HPV⁸

การใช้วัคซีนแบบป้องกันโรค (prophylactic vaccine) จะช่วยสร้างภูมิคุ้มกันไวรัส HPV สายพันธุ์หลัก และสามารถลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งปากมดลูกได้ถึงร้อยละ 70 ปัจจุบันวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HPV มีสองชนิดคือวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HPV

ชนิด 2 สายพันธุ์และชนิด 4 สายพันธุ์⁹ (ตารางที่ 1) โดยวัคซีนทั้งสองชนิดได้รับการรับรองประสิทธิภาพและความปลอดภัยจาก The U.S.Food and Drug Administration (FDA) ประเทศสหรัฐอเมริกาเมื่อปี พ.ศ. 2549¹⁰ สำหรับประเทศไทยวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HPV ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยา ในปีพ.ศ. 2550¹¹ และในอนาคตจะมีวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HPV ชนิด 9 สายพันธุ์มาทดแทนแบบ 4 สายพันธุ์

การป้องกันทุติยภูมิ (secondary prevention) คือ การตรวจหาและรักษาความผิดปกติในระยะเริ่มแรกของการเกิดมะเร็งปากมดลูก ซึ่งเรียกว่าระยะก่อนมะเร็ง (precancerous) หรือระยะก่อนลุกลาม (pre-invasive) ได้แก่ การตรวจทางเซลล์วิทยาของปากมดลูก (cervical cytology) หรือ Pap smear ซึ่งเป็นการตรวจหาความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูกที่เป็นผลจากการติดเชื้อ HPV การตรวจหาเชื้อ HPV สายพันธุ์ก่อมะเร็งที่ปากมดลูก หรือ HPV DNA testing เป็นการตรวจหาขั้นตอนแรกสุดของกระบวนการเกิดมะเร็งปากมดลูก ซึ่งก็คือการติดเชื้อ HPV เป็นต้น⁸

ตารางที่ 1 วัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HPV⁹

ชื่อการค้า	Cervarix [®]	Gardasil [®]	Gardasil 9 [®]
การป้องกันสายพันธุ์ที่ป้องกัน	2สายพันธุ์ HPV16, 18	4สายพันธุ์ HPV6, 11, 16,18	9สายพันธุ์ HPV6, 11,16, 18, 31, 33, 45, 52, 58
ชนิดวัคซีน	Recombinant	Recombinant	Recombinant
Adjuvant	500 lg aluminum hydroxidesalt และ 50 lg 3-O-Desacyl-40-monophosphoryl lipid (MPL) A	225 lg amorphous aluminumhydroxyphosphate sulfate	500lg amorphous aluminumhydroxyphosphate sulfate
การรับวัคซีน	0, 1, 6 เดือน	0, 2, 6 เดือน	0, 2, 6 เดือน

การรักษา

การตัดเนื้อเยื่อส่วนรอยโรคทิ้ง (excision) เป็นวิธีที่นิยมที่สุดการตัดโดยใช้กรรไกรผ่าตัดเลเซอร์ คาร์บอนไดออกไซด์ หรือกระแสไฟฟ้านั้นมีประสิทธิภาพในการรักษาไม่ทำให้เกิดอาการตกเลือดและที่สำคัญ คาดว่าจะไม่เกิดอุบัติซ้ำของรอยโรคได้ แต่วิธีนี้ถือเป็นการรักษาปัญหาที่ปลายเหตุเพราะการตัดทิ้งก่อนการสูญเสียของเนื้อเยื่อและ/หรืออวัยวะที่ต้องการ¹²

การใช้สารก่อให้เกิดการทำลายเซลล์ (cytotoxic agents) นี้นิยมใช้รักษาหูดที่อวัยวะเพศ เป็นการให้สารต้านการเพิ่มจำนวนเซลล์ หรือสารเคมีที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์ยกตัวอย่างเช่น podophyllotoxin กลไกคือไปจับกับอวัยวะไมโครทิวบูล (microtubule) ในเซลล์ และหยุดการแบ่งเซลล์ไว้ที่ระยะก่อนแบ่งเซลล์การรักษาด้วยสารชนิดนี้ไม่ได้ยับยั้งการเกิดอุบัติซ้ำของโรค เนื่องจากไม่ได้กำจัดที่ไวรัสโดยตรงและห้ามใช้ในสตรีมีครรภ์เนื่องจากมีผลต่อกลไกการแบ่งเซลล์ของร่างกาย สารอีกชนิด เช่น trichloroacetic acid (TCA) เป็นสารทำให้เกิดการไหม้ในบริเวณที่ใช้ ปกติจึงจะใช้กับหูดตัวยานี้มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับ podophyllotoxin แต่ทำให้แผลเปื่อย เกิดแผลเป็น และไม่ได้ยับยั้งการเกิดอุบัติซ้ำ แต่ข้อดีคือสามารถใช้กับสตรีมีครรภ์ได้¹³

การใช้ immunomodulators เป็นยากระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิดให้แข็งแรงต่อการกำจัดไวรัสมากขึ้น เช่น ยา Aldara (3M/USA) กระตุ้นเซลล์เดนดริติก (dendritic cell) แมโครเฟจ (macrophage) และเคราติน (keratinocyte) ให้ปล่อยอินเตอร์เฟียร์อน ชนิด 1 (type I interferon) และไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่างๆออกมาโดยผลการทดลองทางคลินิกพบว่าตัวยานี้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ให้ผลที่มีประสิทธิภาพ ลดการเกิดอุบัติซ้ำได้ และปลอดภัยต่อผู้ใช้ แต่อาจมีผลข้างเคียงเกิดการอักเสบเนื่องจากมีระดับภูมิคุ้มกันในปริมาณสูง เช่น มีผื่นแพ้บวม และคัน นอกจากนี้ ยาในกลุ่มนี้บางตัว เช่น Imiquimod สามารถกำจัดได้เฉพาะรอยโรคของเซลล์ที่พบติเอ็นเอของไวรัสเท่านั้น ไม่สามารถกำจัดเซลล์ที่ไวรัสแทรกจีโนมเข้าไปในดีเอ็นเอของเซลล์เจ้าบ้านได้ ทำให้เซลล์ที่มีจีโนมไวรัสแทรกในดีเอ็นเอ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากไวรัสเอชพีวีกลุ่มมีความเสี่ยงก่อมะเร็งสูง ยังคงอยู่และพัฒนาไปเป็นเนื้อร้ายต่อไป นอกจากนี้

มียาได้แก่ Polyphenon E เป็นสารสกัดจากชาเขียว มีประสิทธิภาพในการรักษาและมีอัตราการเกิดอุบัติซ้ำที่ต่ำสารนี้มีผลต่อการกระตุ้นเอนไซม์ caspase ให้หยุดกระบวนการแบ่งเซลล์หรือทำให้เซลล์เกิดการทำลายตัวเอง ปรับการแสดงออกของยีนเจ้าบ้านที่ชื่อ Bcl-2 และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ telomerase ที่ใช้ตัดแบ่งเซลล์ และยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ³ และยังมียาชื่อ Cidofovir ซึ่งจะไปรบกวนกระบวนการต่อสายดีเอ็นเอของไวรัส ปัจจุบันตัวยานี้ได้มีการออกใบอนุญาตให้ใช้กับไวรัสได้หลายชนิด

การใช้วัคซีนแบบรักษา (therapeutic vaccines) แตกต่างจากวัคซีนแบบป้องกันโรค (prophylactic vaccine) กล่าวคือสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบมีเป้าหมายไปที่เซลล์เจ้าบ้านที่ติดเชื้อ (cell-mediated immunity) โดยเป้าหมายอาจเป็นยีนหรือโปรตีนของ HPV ที่ก่อโรค คือ E6 และ E7 ที่มักพบในก้อนเนื้อที่จะพัฒนาเป็นมะเร็ง วัคซีนกลุ่มนี้สนับสนุนการตอบสนองและกำจัดเซลล์ที่ติดเชื้อ¹³

วัคซีนแบบรักษา

องค์ประกอบส่วนรักษา เป้าหมายหลักคือ การนำเสนอแอนติเจนของโปรตีน HPV ชนิดก่อความเสี่ยงมะเร็งสูง ได้แก่ E6 และ E7 และกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองต่อเซลล์เป้าหมาย ซึ่งมีบทบาทในการทำลายเซลล์ที่ยังไม่พัฒนาเป็นมะเร็งและกำจัด การติดเชื้อ โปรตีน E6 และ E7 นั้นแสดงออกทั้งในระยะก่อนเกิดมะเร็งและระยะกลายเป็นมะเร็ง และไม่พบในเซลล์มนุษย์ปกติ และยังพบว่าทั้งสองโปรตีนนี้มีการกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่ต่ำ ดังนั้นการกระตุ้นจึงจำเป็น หลักการทำงานคือ proteasomes ทำหน้าที่ย่อย E6 และ E7 ให้กลายเป็นเปปไทด์สายสั้นๆ และนำเสนอผ่าน major histocompatibility complex class I (MHC I) เพื่อกระตุ้นการทำงานของ CD8 + T cell เหล่านี้อาจมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น เปปไทด์บางชนิดไม่สามารถนำเสนอผ่านโมเลกุลของ MHC class I (MHCI) ได้ และการจดจำของ T cell ต่อโปรตีนบางชนิดนั้นมีประสิทธิภาพไม่ดี จึงมีการออกแบบสายเปปไทด์ให้มีคุณสมบัติจับกับโมเลกุล MHC I ได้ดี และมีปฏิสัมพันธ์กับตัวรับบน T cell ที่มีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ในการออกแบบและพัฒนาวัคซีนจำเป็นจะต้องคำนึงถึง

สัดส่วนความเข้มข้นของแอนติเจนที่จะไปนำเสนอต่อเซลล์เดนดริติกด้วย^{7, 12}

องค์ประกอบส่วนสนับสนุน เพื่อให้การนำส่งองค์ประกอบส่วนรักษาเข้าสู่เจ้าบ้าน และกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันอย่างมีประสิทธิภาพ โดยแบ่งออกเป็น ดังนี้⁵

1. การใช้เซลล์แบคทีเรียหรืออนุภาคไวรัสที่ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ลงและมีองค์ประกอบส่วนรักษาอยู่ฉีดเข้าผู้ป่วยเพื่อให้สิ่งมีชีวิตเหล่านี้สามารถส่งผ่านแอนติเจนผ่านเซลล์และขึ้นตอนนำเสนอแอนติเจนได้อย่างเหมาะสม และยังช่วยภูมิคุ้มกันได้มากขึ้นเนื่องจากเซลล์ที่มีชีวิตเหล่านี้สามารถเพิ่มจำนวนในเซลล์ได้จึงสามารถเพิ่มแอนติเจนได้ แต่ทว่าแบคทีเรียหรือไวรัสที่มีชีวิตอาจก่ออันตรายกับผู้ที่ได้รับวัคซีน ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดยีนหรือปัจจัยที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อเจ้าบ้านทิ้ง

2. การใช้โมเลกุลกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อกับวัคซีนกลุ่มเปปไทด์ เป็นตัวปกป้องและสามารถกระตุ้นการตอบสนองของ cytotoxic T lymphocyte และใช้ตัวกระตุ้นการทำงานของเซลล์เดนดริติกหรือใช้ CpG oligodeoxy nucleotide (CpG ODN) เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันร่วมกับวัคซีนเปปไทด์ นอกจากนี้ยังอาจใช้สารกลุ่มไขมันเป็นตัวปกป้องวัคซีนกลุ่มเปปไทด์ ส่งผลให้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้นและเปปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบส่วนรักษาพบว่าถูกทำลายได้น้อยลง

3. การใช้สารเสริมฤทธิ์ (adjuvants) เป็นสารที่ช่วยปลดปล่อยแอนติเจนอย่างช้าๆ ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันรับรู้แอนติเจนและตอบสนองได้ดีขึ้น เช่น liposome-polycation-DNA (LPD) ใช้กับวัคซีนโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ซึ่งเซลล์เดนดริติกเกิดการกินโดย phagocytosis ยาเสริมฤทธิ์เหล่านี้จะช่วยทำให้กระบวนการกินเซลล์เกิดได้ดีขึ้น

4. การทำโปรตีนลูกผสม (fusion proteins) เป็นการสร้างโปรตีนที่นำองค์ประกอบส่วนรักษาชนิดโปรตีนรวมกับองค์ประกอบส่วนสนับสนุน เช่น โปรตีนฮีตช็อก (heat shock proteins, hsp) หรือเอกโซท็อกซินเอของ *Pseudomonas aeruginosa* (enterotoxin A)

5. การใช้ระบบนำส่ง (delivery system) เช่น วัคซีนดีเอ็นเอที่จำเป็นต้องใช้การนำวัคซีนเข้าสู่เซลล์ด้วย

อนุภาคของคำผ่านระบบ gene gun พบว่ามีประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และกระตุ้นเซลล์เดนดริติกให้เจริญเติบโตและเคลื่อนย้ายเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองได้ดี อนุภาคของคำนั้นเป็นที่นิยมเนื่องจากสามารถขึ้นรูปในระดับนาโนได้มีประจุเป็นลบทำให้สามารถทำงานร่วมกับโมเลกุลอื่น เช่น ยาไลแกนด์เป้าหมาย และยีนได้ดี สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย อย่างไรก็ตามมีข้อจำกัด อาทิหากมีความเข้มข้นสูงจะเกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้ โดยจะมีการสะสมในอวัยวะแวกิวล (vacuole) ของเซลล์และทำให้เส้นใยที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวเกิดความผิดปกติได้ ดังนั้นจึงมีการคิดค้นอนุภาคอื่นๆเพื่อใช้เป็นระบบนำส่ง เช่น ไคโตซานอนุภาคนาโน (chitosan nanoparticles) เป็นต้น³

ในปัจจุบันยังมีวิธีการเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีน ดังต่อไปนี้¹²

1. เนื่องจากเซลล์มะเร็งหลายชนิดมีกลไกยับยั้ง regulatory T cell (Treg) จึงมีการทดลองในหนูทดลองโดยทำลาย Treg ด้วยแอนติบอดี anti-CD25 ก่อนให้วัคซีนดีเอ็นเอที่มียีน E7 พบว่าสามารถกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาว CD8 + T cell ได้ดีขึ้นและหนุ่มีอัตราการรอดชีวิตที่สูงขึ้น

2. เซลล์มะเร็งหลายชนิดมีการปลดปล่อยโปรตีนที่กีดการทำงานของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน เช่น cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) และ programmed cell death protein 1 (PDL-1) ทำให้เซลล์มะเร็งไม่ถูกกำจัด ดังนั้นการใช้สารที่ยับยั้งโปรตีนที่ไวรัสปลดปล่อยเหล่านี้ร่วมกับวัคซีน จึงมีประโยชน์ในการต่อ CTLA-4 และ PDL-1

3. การใช้วิธีบำบัดด้วยเคมีหรือ chemoimmunotherapy เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของวัคซีนวิธีนี้ยังอยู่ในขั้นทดลองโดยเชื่อว่าช่วยให้วัคซีนเข้าสู่บริเวณเนื้อเยื่อมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

4. เนื่องจากเซลล์มะเร็งของแต่ละคน มีแอนติเจนที่แตกต่างกันไป ดังนั้นในปัจจุบันมีวิธีหาข้อมูลทางภูมิคุ้มกันวิทยา หรือ immune profiling เพื่อออกแบบแอนติเจนส่วนบุคคลได้ สามารถกระตุ้นได้ทั้ง CD4+ T cell และ CD8+ T cell วิธีการคือตัดชิ้นเนื้อออกออกมาทำการหาลำดับยีนเอกโซม (exome) จากนั้นใช้โปรแกรมช่วยออกแบบแอนติเจนที่จำเพาะสำหรับบุคคลนั้นขึ้นมาวิธีนี้สนับสนุนการยับยั้งการทำงานของแอนติเจนได้อย่างจำเพาะ

การทดสอบทางคลินิก พบว่าวัคซีนมีความปลอดภัย และสามารถกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งรวมถึงเซลล์เม็ดเลือดขาวคือเซลล์เจ้าบ้านที่ติดเชื้อได้ดี อย่างไรก็ตามผู้ป่วยโดยอาจเกิดจากพันธุกรรมของผู้ป่วยมีการตอบสนองทางคลินิกที่ต่างกัน ที่ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการตอบสนองต่อวัคซีนที่แตกต่างกันไป

วัคซีนดีเอ็นเอ (DNA vaccine)

วัคซีนดีเอ็นเอเป็นวัคซีนในกลุ่มวัคซีนแบบรักษาชนิดหนึ่ง หลักการคือนำยีนผลิตแอนติเจนที่ต้องการใส่เข้าไปในพลาสมิดของแบคทีเรีย แล้วนำเข้าสู่เจ้าบ้านซึ่งดีเอ็นเอในส่วนของแบคทีเรียจะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (innate immunity) ขณะที่ยีนผลิตแอนติเจนที่ต้องการมีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (adaptive immunity) ได้ 2 รูปแบบ⁴ โดยกลไกแรกคือ ดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ร่างกาย เช่นจากการฉีดวัคซีนผ่านทางกล้ามเนื้อ จากนั้นพลาสมิดที่นำพายีนมีการแปลรหัสสร้างโปรตีนแอนติเจน แล้วนำเสนอแอนติเจนต่อ CD8+ T cell ผ่านระบบ MHC I ซึ่งวิธีนี้ยังไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะได้ดีนัก เนื่องจากเซลล์ร่างกาย เช่นเซลล์ไมโอไซโตไมโซไซเซลล์ที่นำเสนอแอนติเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ กลไกที่สองคือ เซลล์ที่นำพาดีเอ็นเอแอนติเจนที่ต้องการถูกกินโดยเซลล์นำเสนอแอนติเจน ผ่านกลไกของ MHC II และนำไปสู่การกระตุ้น CD4+ T cell¹⁴

ดังนั้นวัคซีนดีเอ็นเอส่งผลให้มีการตอบสนองทั้งระบบภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำ และแบบใช้เซลล์⁹ เมื่อมีการทดลองใช้วัคซีนดีเอ็นเอในหนูทดลอง พบว่าสามารถป้องกันการติดเชื้อ HPV และมะเร็งที่เกิดจาก HPV ได้¹⁰ แต่อย่างไรก็ตามวัคซีนดีเอ็นเอไม่สามารถเพิ่มจำนวนภายในสัตว์ขนาดเล็กได้เพียงพอ จึงทำให้ไม่เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และยังพบว่าประสิทธิภาพในการรับดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ในสิ่งมีชีวิตนั้นค่อนข้างจำกัด จึงมีการพัฒนาวัคซีนอาทิกการปรับปรุงหลายระดับเบสที่เหมาะสมต่อการแปลรหัสในสิ่งมีชีวิต และยังมีการใช้กระแสไฟฟ้าช่วยส่งดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านและกระตุ้นภูมิคุ้มกัน อีกวิธีหนึ่งที่ใช้คือการใช้สารเสริมฤทธิ์ที่ช่วยกระตุ้นการอักเสบและสร้าง

ไซโตไคน์เรียกเซลล์นำเสนอแอนติเจน และการกระตุ้นซ้ำ ๆ เพื่อเพิ่มอัตราการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน¹²

ในปี 2015 Trimble และคณะได้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์คุณสมบัติของวัคซีนดีเอ็นเอสำหรับต่อต้าน HPV โดยผลิตวัคซีน VGX-3100 ที่ประกอบด้วย พลาสมิดดีเอ็นเอ 2 ชั้นที่มียีน E6 และ E7 ของ HPV ชนิด 16 และ 18 ฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อให้กับผู้ป่วยเพศหญิงที่อยู่ในระยะก่อนเป็นมะเร็งมดลูกเกรด 2/3 (cervical intraepithelium neoplasia 2/3, CIN2/3) จำนวน 167 คน ในสัปดาห์ที่ 0, 4 และ 12 จากนั้นตรวจวัดขนาดของรอยโรค พบว่าอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมีรอยโรคที่ลดลงถึง ร้อยละ 49.5 เทียบเท่ากับค่าพหุคูณทางสถิติที่ p เท่ากับ 0.034 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนหลอก และยังพบว่า T cell ของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมีการตอบสนองต่อโปรตีน E6 ของ HPV¹⁵

วัคซีนดีเอ็นเอมีข้อดีคือ วัคซีนชนิดนี้ไม่มีโอกาสก่อโรคได้เพราะพลาสมิดที่ถ่ายเข้าไปในเจ้าบ้านไม่ทำให้เกิดการตอบสนอง แต่ขณะเดียวกันสามารถเพิ่มจำนวนในเจ้าบ้านได้ และวัคซีนดีเอ็นเอสามารถเตรียมได้ง่ายในปริมาณมาก มีความบริสุทธิ์และความเสถียรสูง^{12, 13} อย่างไรก็ตาม วัคซีนดีเอ็นเอมีข้อจำกัดในการใช้งานในการฉีดเข้ากล้ามเนื้อพบว่าวัคซีนจะผ่านเข้าชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ไปได้ยาก ทำให้มีปริมาณสารที่นำเสนอผ่านเซลล์นำเสนอแอนติเจนได้น้อย ส่งผลให้กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่ดีนัก จึงจำเป็นต้องมีการนำระบบขนส่งมาช่วยให้ดีเอ็นเอเข้าไปในเซลล์และช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันยิ่งขึ้น อาทิ การใช้โคโตซานอนุภาคนาโน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพอลิเมอร์ที่ละลายตัวได้ ไม่ก่อสารพิษตกค้าง สามารถปกป้องดีเอ็นเอที่อยู่ภายในจากเอนไซม์ต่างๆ มีคุณสมบัติเป็นสารเสริมฤทธิ์โดยกระตุ้นให้เกิดการเข้าสู่เซลล์และกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี และในงานวิจัยของ Tahamtan และคณะ พบว่าการใช้โคโตซานอนุภาคนาโนเป็นระบบนำส่งวัคซีนเข้าไปในหนูทดลองพบว่าหนูที่ฉีดวัคซีนดีเอ็นเอที่มีโคโตซานอนุภาคนาโนเป็นระบบนำส่ง มีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว ปริมาณอินเตอร์เฟียรอน แกมมา และอินเตอร์ลิวคิน -4 สูงกว่าค่าที่วัดได้ในหนูกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและยังพบว่าหนูมีขนาดเนื้องอกลดลง

วิจารณ์

ไวรัส HPV ชนิด 16 และ 18 ก่อโรคมะเร็งปากมดลูก อันเป็นมะเร็งที่พบบ่อยในผู้หญิงไทยเป็นอันดับสองรองจากมะเร็งเต้านมและในชนิดที่ไม่รุนแรง เช่น 6 และ 11 ก่อให้เกิดโรคหูดหงอนไก่ที่อวัยวะสืบพันธุ์ได้สำหรับวัคซีนที่ใช้รักษาโรคเป็นหนึ่งในวิธีการรักษาโรคจากไวรัสเอชพีวีที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ไปกำจัดเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส และสามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่อาศัยสารน้ำ (humoral immune system) ทำให้การรักษาโรคติดเชื้อมีประสิทธิภาพและป้องกันการติดเชื้อซ้ำได้ในระดับหนึ่งด้วย แต่วัคซีนดีเอ็นเอยังมีข้อจำกัด อาทิ ต้องมีระบบนำส่งผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มนิวเคลียสของเจ้าบ้านได้ดี วัคซีนจึงจะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นปัจจุบันพบวิธีการใหม่ๆ สำหรับเสริมประสิทธิภาพดังกล่าว เช่น การเลือกแอนติเจนเป้าหมายที่มีประสิทธิภาพ (เช่น E6 และ E7) และการใช้สารเสริมฤทธิ์ที่มีฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นการพัฒนาแนวทางรักษาใหม่ๆ นับเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยให้การรักษาโรคที่เกิดจากไวรัสเอชพีวีประสบความสำเร็จผู้เขียนหวังว่าผู้อ่านจะได้รับความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับไวรัสเอชพีวี รวมถึงทิศทางการรักษาและการใช้วัคซีนป้องกันการติดเชื้อไวรัสนี้มากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2559 [ออนไลน์]. 2018 [เข้าถึงเมื่อ 25 พฤษภาคม 2561]. เข้าถึงได้จาก Available from:URL: http://www.nci.go.th/th/File_download/Nci%20Cancer%20Registry/Hospital-Based%20NCI2%202016%20Web.pdf
2. Bernard H, Burk R, Chen Z, Doorslaer K, Hausen H, Villiers E. Classification of Papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 2010;401(1):70-9.

3. Stanley MA. Genital human papillomavirus infections: current and prospective therapies. *J Gen Virol* 2012;93:681-91.
4. Conway M, Meyers C. Replication and assembly of Human papillomaviruses. *J Dent Res* 2009;88(4): 307-17.
5. Hung C, Ma B, Monie A, Tsen S, Wu TC. Therapeutic human papillomavirus vaccines: current clinical trials and future directions. *Expert Opin Biol Ther* 2008;8(4): 421-39.
6. Li L, Herndon J, Truscott S, Hansen T, Fleming T, Goedegebuure P, et al. Engineering superior DNA vaccines: MHC class I single chain trimers bypass antigen processing and enhance the immune response to low affinity antigens. *Vaccine* 2010; 28: 1911-8.
7. Pang CL, Thierry F. Human papillomavirus proteins as prospective therapeutic targets. *Microb Pathog* 2013;58:55-65.
8. Srisomboon J, Suprasert P. Cervical cancer: prevention and treatment. Chiang Mai: Jarusbusinessprinting; 2008.
9. Pinto LA, Dillner J, Beddows S, Unger ER. Immunogenicity of HPV prophylactic vaccines: Serology assays and their use in HPV vaccine evaluation and development. *Vaccine* 2018;36(32 Pt A):4792-9.
10. Hutchinson DJ, Klein KC. Human papillomavirus disease and vaccines. *Am J Health Syst Pharm* 2008;65(22): 2105- 12.
11. Juntasopeepun P, Suwan N, Phianmongkhol Y, Srisomboon J. Knowledge and Risk Behaviors of HPV Infection and Cervical Cancer among Female College Students: Implications for Sex Education and Health Care Policy. *Thai J Nurs Council* 2011; 26 (3):48-63.

12. Hancock G, Hellner K, Dorrell L. Therapeutic HPV vaccines. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2018;47:59-72.
13. Chabeda A, Yanez RJR, Lamprecht R, Meyers AE, Rybicki EP, Hitzeroth II. Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Res* 2018;5:46-58.
14. Saade F, Petrovsky N. Technologies for enhanced efficacy of DNA vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2012;11(2):189-209.
15. Trimble CL, Morrow MP, Kraynyak KA, Shen X, Dallas M, Yan J, et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, atherapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo- controlled phase 2b trial. *Lancet* 2015;386 (10008):2078-88.
16. ปิยวัฒน์ เลาวหุตานนท์. สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. Cervical cancer [ออนไลน์]. [เข้าถึงเมื่อ 28 พฤษภาคม 2561]. เข้าถึงได้จาก Available from:URL:http://www.nci.go.th/th/File_download/thanong/01/มะเร็งปากมดลูก.pdf