

วัคซีนบำบัดรักษาต่อต้านไวรัสเอชพีวีของมนุษย์ที่สัมพันธ์กับมะเร็งปากมดลูก

สุรศักดิ์ แว่นรัมย์ *

บทคัดย่อ

มะเร็งปากมดลูกถือเป็นต้นเหตุสำคัญของการเสียชีวิตที่พบมากที่สุดของสตรีในประเทศที่กำลังพัฒนารวมทั้งประเทศไทย มีสาเหตุจากการติดเชื้อไวรัสเอชพีวี ของมนุษย์ อันเนื่องมาจากการเหนี่ยวนำของไวรัสโปรตีนที่สามารถทำให้เกิดมะเร็ง ได้แก่ โปรตีน E6 และ โปรตีน E7 ของไวรัสเอชพีวีของมนุษย์กลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงที่มีความสัมพันธ์กับกระบวนการที่หลากหลายในการดำเนินโรคของโรคมะเร็งปากมดลูก ปัจจุบันมีวัคซีนที่ใช้สำหรับการป้องกันการติดเชื้อเอชพีวีในท้องตลาด 2 ชนิด ซึ่งวัคซีนดังกล่าวได้เพิ่มโอกาสในการลดลงของอัตราการเจ็บป่วย และอัตราการเสียชีวิตได้ อย่างไรก็ตามวัคซีนเหล่านี้ไม่ได้ถูกออกแบบมาเพื่อการควบคุมถึงผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชพีวีแล้ว โดยเฉพาะความสัมพันธ์กับผู้ป่วยที่มีการดำเนินโรคไปของโรคในระยะก่อนมะเร็งปากมดลูก และมะเร็งปากมดลูกระยะลุกลาม ยุทธวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดและการรักษาจึงมีความต้องการเป็นอย่างยิ่ง เพื่อใช้เป็นวัคซีนสำหรับบำบัดรักษาที่มีประสิทธิผล บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงองค์ความรู้พื้นฐานและสถานการณ์ปัจจุบัน ที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อที่มีความเสี่ยงสูงที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งได้ โดยมุ่งประเด็นถึงอนาคตของวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษา ซึ่งประกอบด้วยวัคซีนหลายชนิด ได้แก่ (i) วัคซีนเชื้อเป็น (วัคซีนที่ใช้แบคทีเรียเป็นพาหะและวัคซีนที่ใช้ไวรัสเป็นพาหะ) (ii) วัคซีนที่ใช้เปปไทด์หรือโปรตีนเป็นพื้นฐาน (iii) วัคซีนเซลล์ทั้งหมด (วัคซีนที่ใช้เดนไดรติกส์เป็นพื้นฐานและวัคซีนที่ใช้เซลล์มะเร็งเป็นพื้นฐาน) และ (iv) วัคซีนที่ใช้กรดนิวคลีอิกเป็นพื้นฐาน (วัคซีนที่ใช้ดีเอ็นเอเป็นพื้นฐานและวัคซีนที่ใช้อาร์เอ็นเอเปลือยเป็นพื้นฐาน) วัคซีนเหล่านี้มีข้อดี ข้อเสีย และโอกาสของยุทธศาสตร์ที่ต้องใช้ในอนาคตเพื่อเพิ่มศักยภาพของวัคซีนให้มากที่สุด การมีความเข้าใจในวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษาต่อต้านเชื้อเอชพีวี ที่สัมพันธ์กับโรคมะเร็งปากมดลูกอาจทำให้เกิดความต่อเนื่องในการพัฒนาวัคซีน ให้สามารถเอาชนะโรคมะเร็งปากมดลูก ที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชพีวีได้ในอนาคต

คำสำคัญ: วัคซีนเพื่อการบำบัดรักษา, มะเร็งปากมดลูก, ไวรัสเอชพีวีของมนุษย์



Therapeutic vaccinations against human papillomavirus associated with cervical cancer

Surasak Wanram *

Abstract

Cervical cancer is the second most common women cancer worldwide caused by human papillomavirus (HPV) infection. It is the main cause of women cancer deaths in developing countries including Thailand. Oncogenic proteins such as early (E) protein E6 and E7 of high risk (HR) HPV are associated with multistep process in cervical cancer carcinogenesis. Currently two commercially available prophylactic vaccines against HPV offer an opportunity to diminish the morbidity and mortality. However, they are not designated to control established HPV infection and related pre-invasive lesions and invasive cervical cancer patients. Powerful strategies in eradication and treatment are required for improving therapeutic HPV vaccines. This article provides basic knowledge and recent information related to HPV vaccines. The oncogenic types of HR-HPV focusing on prospective therapeutic vaccinations include (i) live vector-based vaccines (bacterial vector and viral vector vaccines), (ii) peptide/ protein-based vaccines (peptide-based and protein-based vaccines), (iii) whole cell-based vaccines (dendritic cell-based and tumor cell-based vaccines) and (iv) nucleic acid-based vaccines (DNA-based and naked RNA replicon-based vaccines). Advantage, disadvantage and further strategies to enhance potency of the therapeutic vaccinations are discussed. Understanding of the therapeutic vaccines against HPV relevant to cervical cancer may lead to an improvement of therapeutic HPV vaccines development to overcome HPV-associated malignancies in the future.

Keywords: Therapeutic vaccines, Cervical cancer, Human papillomavirus

College of Medicine and Public health, Ubonratchathani University, Ubonratchathani 34190

* Corresponding author: (e-mail: Mdsurawa@ubu.ac.th, Kasaruspn@hotmail.com)

บทนำสู่มะเร็งปากมดลูกและความสำคัญของวัคซีนเอชพีวี

มะเร็งปากมดลูก (cervical cancer; CXCA) พบมีอุบัติการณ์มากเป็นอันดับสองของหญิงทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย⁽¹⁻²⁾ เป็นที่ทราบกันดีว่ามีสาเหตุเกิดจากการติดเชื้อ ไวรัส HPV โดยเฉพาะในกลุ่มที่เป็นปัจจัยเสี่ยงสูง (high-risk HPV; HR-HPV) ซึ่งได้แก่ HPV ชนิด 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 และ 82⁽³⁻⁴⁾ เป็นต้น โดย HR-HPV มีจีโนมก่อให้เกิดมะเร็งของไวรัส (oncogenic virus) ที่สำคัญ คือ E6 และ E7 ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้มีการพัฒนาความผิดปกติของเซลล์ จนเกิดเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยหลากหลายกระบวนการ ผ่านทางการรบกวนยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes) ได้แก่ p53⁽⁵⁾ และ Rb⁽⁶⁾ ตามลำดับ ทำให้มีการพัฒนาของโรคที่รุนแรงมากขึ้นจากระยะก่อนมะเร็ง (preinvasive cervical cancer) จนถึง การเป็นมะเร็งปากมดลูกระยะลุกลาม (invasive CXCA) ในที่สุด⁽⁷⁾

ผู้ที่ติดเชื้อ HPV ไม่ได้พัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกทุกราย จากข้อมูลระบาดวิทยาพบอุบัติการณ์ของการพัฒนาไปเป็นโรคมะเร็งปากมดลูกในผู้ป่วยร้อยละ 20⁽⁸⁻⁹⁾ ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าว เกิดจาก 2 ปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องสำคัญ คือ การมีศักยภาพของตัวเชื้อ HPV ที่มีคุณสมบัติในการแทรกตัวเข้าสู่จีโนมของโฮสต์ (HPV-E6/E7 integration)⁽¹⁰⁻¹¹⁾ และการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทั้งการกระตุ้นผ่านทาง humoral immunity response (HIR) และ cell-mediated immune response (CMIR) ร่วมกับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง⁽¹²⁾ แต่ CMIR ที่บกพร่องเป็นสาเหตุหลักในการกำจัดเชื้อไวรัสและเซลล์มะเร็ง โดยกลไกที่เซลล์มะเร็งสามารถหลบหลีกกระบวนการภูมิคุ้มกันของร่างกาย ประการสำคัญในส่วนของการลดการแสดงออกของ tumor associated antigen บนผิวเซลล์ เป็นผลให้การรับรู้ของเซลล์ชนิด cytotoxic T lymphocyte (CTL) ต่อการกำจัดเชื้อไวรัสหรือเซลล์มะเร็งลดลง หรือสูญเสียไปในที่สุด ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ที่ลดการแสดงออกของโปรตีน ได้แก่ major histocompatibility; MHC class I และองค์ประกอบ (antigen processing machinery: APM) ที่เรียกว่า MHC class I และ APM down-regulation⁽¹³⁻¹⁴⁾ ถือเป็นกลวิธีสำคัญของไวรัสที่สัมพันธ์กับการพัฒนาเซลล์มะเร็งในการหลบหลีกจากการถูกกำจัดด้วยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่ง

การเปลี่ยนแปลงของจีโนมระดับโมเลกุลที่มีกลไกในการลดการแสดงออกระดับโปรตีนดังกล่าวยังเป็นที่น่าสนใจในอนาคต

อย่างไรก็ตามในมุมมองที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันนั้น ที่เด่นชัดในการประยุกต์ใช้ได้จริง และหรือแนวทางที่เกิดประโยชน์ต่อผู้ที่ไม่ยากเป็นโรคมะเร็งปากมดลูก ซึ่งไม่ต้องการติดเชื้อ HPV ที่เป็นสาเหตุมากกว่าร้อยละ 99.7 ได้มีการใช้วัคซีนเพื่อการป้องกัน (prophylactic vaccine) และในผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อ HPV หรือผู้ที่มีการดำเนินเนื้องอกโรคมะเร็งปากมดลูกแล้ว ซึ่งปัจจุบันกำลังมีการพัฒนาวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษาโรคมะเร็งปากมดลูก (therapeutic vaccine) ซึ่งอาศัยองค์ความรู้พื้นฐานของตัวเชื้อ HPV กับ การตอบสนองในระบบภูมิคุ้มกันเป็นสำคัญ ทั้งนี้แนวทางการป้องกันด้วยวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HPV ได้มีการใช้แล้วในปัจจุบัน ผู้เขียน ขอทบทวนความสำคัญของการใช้วัคซีนเพื่อการบำบัดรักษาโรคมะเร็งปากมดลูก อันเนื่องมาจากกลุ่มผู้ป่วยอาจเข้าไม่ถึงวัคซีนในการป้องกัน หรือประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันที่ยังเป็นข้อสงสัยว่าไม่สามารถครอบคลุมได้หมด อีกทั้งอาจมีผลข้างเคียงของการให้วัคซีน และรวมถึงปัจจัยอื่น ๆ เช่น ชนิดของเชื้อ HR-HPV ที่อาจมีอุบัติการณ์แตกต่างกันตามแต่ละภูมิภาค การเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรม (genetics) และการควบคุมเหนือพันธุกรรม (epigenetics) ของแต่ละบุคคล แต่ละเชื้อชาติ หรือพฤติกรรม อันเป็นปัจจัยเสี่ยงเสริมที่อาจส่งผลต่อความรุนแรงของโรค และอาจลดทอนประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกัน ซึ่งไม่รวมถึงผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HPV ของมนุษย์ และกำลังมีการดำเนินของโรคอยู่ก่อนแล้ว จึงเป็นประเด็นสำคัญที่ต้องมีความรู้พื้นฐาน อันเกี่ยวข้องกับวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษา ซึ่งมีความสำคัญ กลไก ข้อเด่น ข้อด้อย รวมทั้งทิศทางการเป็นไปได้อาจต้องนำมาใช้ในการพัฒนาและวิจัย เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพของวัคซีนต้าน HPV ที่สัมพันธ์กับโรคมะเร็งปากมดลูกในอนาคต

วัคซีนป้องกัน (Preventive; Prophylactic vaccines)

มะเร็งปากมดลูกเป็นโรคที่สามารถป้องกันได้ด้วยวัคซีน (preventable cancer vaccination) ซึ่งองค์ความรู้พื้นฐานระดับโมเลกุลที่สัมพันธ์กับตัวเชื้อ HPV และการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันเป็นแนวทางสำคัญในการพัฒนา ปัจจุบันการศึกษาวัดวัคซีนได้มีการพัฒนาขึ้นมาเป็นลำดับ

จนสามารถค้นพบวิธีการป้องกันการติดเชื้อ HPV ด้วยการ
ใช้วัคซีนป้องกันที่เรียกว่า “preventive vaccines”⁽¹⁵⁻¹⁶⁾
ซึ่งปัจจุบันองค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้
ให้การรับรอง และจำหน่ายในท้องตลาดอยู่ 2 ชนิด ได้แก่
Gardasil®⁽¹⁷⁾ และ Cervarix®⁽¹⁸⁾ ที่ถูกพัฒนาขึ้นโดยบริษัท
Merck ของประเทศสหรัฐอเมริกา และ GlaxoSmithKline
ของประเทศออสเตรเลีย ตามลำดับ วัคซีนดังกล่าวอาศัย
หลักการทางชีววิทยาระดับโมเลกุลของ HPV ซึ่งมุ่งตรงที่เป้า
หมายของโปรตีนไวรัสส่วนเปลือกหุ้ม L1 และ/หรือ L2 โดย
มีการตัดต่อจีนทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้เกิด neutralizing
antibodies ในระบบภูมิคุ้มกันด้วยการบรรจุอนุภาค HPV L1
viral like particle (VLP)⁽¹⁹⁾ เพื่อให้มีกลไกการกระตุ้นระบบ
ภูมิคุ้มกันแบบ HIR ส่งผลให้เกิดการควบคุมการติดเชื้อ HPV
ที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคได้ ซึ่ง Gardasil® เป็น
วัคซีนชนิด quadrivalent ที่ใช้ชิ้นส่วน L1 ของไวรัสเอชพีวี
ทั้งหมด 4 ชนิด ประกอบด้วย HR-HPV ชนิด 16 และ 18
รวมทั้ง LR-HPV ชนิด 6 และ 11 ทำให้สามารถป้องกันการ
ติดเชื้อ HR-HPV ที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งปาก
มดลูกได้ร้อยละ 70-75 และยังมีรายงานว่าป้องกันการติดเชื้อ
HPV ในโรคของผู้ชายได้ด้วย รวมทั้งช่วยป้องกัน HPV ที่ม
ีความเสี่ยงต่ำ (low-risk; LR) ซึ่งเป็นสาเหตุของเกิดหูดถึง
ร้อยละ 90⁽²⁰⁾ สำหรับอีกชนิดของวัคซีนที่ใช้เพื่อการป้องกัน
การติดเชื้อ HPV คือ Cervarix® ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด bivalent
ที่ใช้ส่วนประกอบของโปรตีนไวรัสในส่วนเปลือกหุ้ม L1 ของ
HPV ชนิด 16 และ 18 ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกัน และ
มีรายงานว่าสามารถป้องกันได้ร้อยละ 80 อีกทั้งยังพบว่ามี
โอกาสในการข้ามไปป้องกัน (cross protection) HPV อีก
หลายชนิด เช่น HPV ชนิด 31 และ 45⁽²¹⁻²²⁾

วัคซีนบำบัดรักษา (Therapeutic vaccines)

ปัจจุบันวัคซีนที่ใช้เพื่อการบำบัดรักษามะเร็งปากมดลูก
นั้นได้รับการวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยอาศัยโปรตีน
ของไวรัส ได้แก่ HPV E6 และ E7 เป็นเป้าหมายสำคัญซึ่ง
ประกอบด้วย วัคซีนเชื้อเป็น (live vector vaccines) วัคซีน
ที่ใช้เปปไทด์หรือโปรตีนเป็นพื้นฐาน (peptide/protein-based
vaccines) วัคซีนที่ใช้เซลล์เป็นฐาน (cell-based vaccines)
และวัคซีนที่ใช้กรดนิวคลีอิกเป็นฐาน (nucleic acid-based
vaccines) เป็นต้น ในแต่ละประเภท มีข้อดี ข้อเสียและความ
คาดหวังแตกต่างกัน เพื่อใช้ควบคุมผู้ที่ติดเชื้อ HPV ผ่านทาง

ระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ (cell-mediated immunity) ดัง
สรุปใน ตารางที่ 1⁽²³⁾

ประเภทของวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษา

1. วัคซีนเชื้อเป็น (Live vector-based vaccines)

วัคซีนชนิดนี้ผลิตจากตัวจุลชีพที่ยังมีชีวิตอยู่ แต่ถูก
ทำให้อ่อนฤทธิ์ความรุนแรงลง เพื่อลดโอกาสก่อโรคในคน แต่
ยังคงคุณสมบัติในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ วัคซีนชนิดนี้
ประกอบด้วยการใช้พาหะทั้งที่เป็นแบคทีเรียและไวรัส ขึ้นอยู่
กับวัตถุประสงค์ของแต่ละกลวิธี พาหะเหล่านี้มีประสิทธิภาพ
ในการเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันที่สูง เนื่องจากสามารถแบ่ง
ตัวและแพร่กระจายได้เป็นอย่างดีในเซลล์ของโฮสต์ พาหะ
ประเภทนี้สามารถนำส่งไวรัสแอนติเจนทั้ง HPV E6 และ E7
ให้เซลล์เดนไดรติกส์ (DCs) รับรู้และนำเสนอไวรัสแอนติเจน
ด้วยการกระตุ้นการแสดงออกของไวรัสแอนติเจนดังกล่าว
ผ่านทาง MHC class I และ MHC class II ต่อเซลล์ลิมโฟ
ไซตชนิด CD8⁺-CTL และ CD4⁺ helper T ตามลำดับ
อย่างไรก็ตามการใช้วัคซีนชนิดนี้ต้องคำนึงถึงปัจจัยด้านความ
ปลอดภัย โดยเฉพาะในบุคคลที่การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน
ลดลง (immunocompromised host) รวมทั้งคำนึงถึงความ
เป็นไปได้ในการสร้าง neutralizing antibodies ซึ่งทำให้การก
กระตุ้นภูมิคุ้มกันซ้ำอาจทำให้เกิดข้อจำกัดได้ พอ ๆ กับโอกาส
ความเป็นไปได้ของการหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันด้วยเช่นกัน

1.1 พาหะที่เป็นแบคทีเรีย (Bacterial vectors)

เชื้อแบคทีเรียที่อ่อนแรงลง (attenuated bacteria)
สามารถใช้นำส่งชิ้นหรือโปรตีนเป้าหมายที่สนใจ ได้แก่ HPV-
E6 และ HPV-E7 เพื่อให้เซลล์ที่มีหน้าที่นำเสนอแอนติเจน
รับรู้และดำเนินการต่อไปได้ มีหลายชนิดที่ได้รับการศึกษาวิจัย
ได้แก่ เชื้อ *Listeria monocytogenes*⁽²⁴⁻²⁵⁾ *Lactobacillus*
lactis⁽²⁶⁻²⁷⁾ และ *Lactobacillus plantarum*⁽²⁸⁾ เป็นต้น

Listeria เป็นเชื้อพาหะที่เมื่อติดเชื้อแล้วสามารถ
เข้าไปรุกรานในเซลล์โมโนไซต์และแมคโครฟาจ และหลั่ง
listeriolysin O (LLO) เพื่อใช้เป็นกลไกในการหลบหลีก
ฟาโกไซทอสม เป็นผลให้มีการกระตุ้นให้มีการนำเสนอแอนติเจน
ได้ทั้งวิถีทาง MHC class I และ MHC class II โดยผ่าน
การกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ ทั้งวิถีของเซลล์ CD8⁺ และ
CD4⁺ ตามลำดับ⁽²⁹⁾ จากการวิจัยใน preclinical trials พบ
ว่ามีการทดลองใช้ *Listeria*-based E7 vaccine จนเป็นผลให้
มีการลดลงในขนาดของก้อนมะเร็งของหนูที่ติดเชื้อ HPV⁽²⁶⁾

ตารางที่ 1 ข้อดีและข้อเสียของวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษาไวรัสเอชพีวีและยุทธศาสตร์ที่เอื้อในอนาคต ⁽²³⁾

ชนิด	ข้อดี	ข้อเสีย	ยุทธศาสตร์ในอนาคต
Live vector-based vaccines	- Vectors ให้ใช้หลากหลาย - Immunogenicity สูง - ถูกตัดต่อขึ้นเพื่อการแสดงออกของ cytokines และ co-stimulatory molecules	- การหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกัน - อาจตอบสนองต่อ viral vectors มากกว่า HPV - Neutralizing antibodies ทำให้ต้องฉีดซ้ำ ๆ - เสี่ยงต่อการเกิดโรค เพราะอาจไม่ปลอดภัย	- ส่งเสริมการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่ดี ตลอดจนการใช้ adjuvants และ fusion proteins
Peptide-based vaccines	- ปลอดภัย - คงทน - ง่ายต่อการผลิต - Epitopes ที่หลากหลาย เกิดเปปไทด์สายยาว	- ต้องมีการประเมิน epitopes - ข้อจำกัดของ HLA - Immunogenicity ต่ำ	- ส่งเสริมการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่ดี - การส่งเสริมที่ epitopes - ใช้ตัวนำส่งที่อาจช่วยได้ดี เช่น lipopeptide
Protein-based vaccines	- ปลอดภัย - คงทน - ไม่มีข้อจำกัดของ MHC	- Immunogenicity ต่ำ ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการตอบสนองแบบ CTL	- ส่งเสริมการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่ดี ตลอดจน การใช้ adjuvants และ fusion proteins
DC-based vaccines	- Immunogenicity สูง - หลากหลายวิธีเอื้อต่อการนำแอนติเจนเข้าเซลล์	- ราคาแพง เปลืองแรงงาน - ขาดข้อตกลงที่เป็นมาตรฐานในการเตรียม - DCs ไม่กลับมากำหนดน้ำเหลือง	- ยึดอายุของ DCs - เพิ่มประสิทธิภาพในการ loading antigen - ปังชี้ แหล่งนำส่งแอนติเจนที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด
Tumor-cell based vaccines	- พร้อมต่อการแสดงออกของ tumor antigens	- คำนึงถึงความปลอดภัย - ใช้แรงงานมาก - เซลล์มะเร็งบางชนิด นำเสนอแอนติเจนได้ไม่ดีพอ	- เพิ่มประเด็นความปลอดภัย - ส่งเสริม Immunogenicity ด้วยการให้ cytokines - ความสม่ำเสมอในศักยภาพ และทำให้บริสุทธิ์
DNA-based vaccines	- ปลอดภัย, คงทน - ง่ายต่อการผลิต - สามารถกระตุ้นซ้ำได้ - หลากหลายวิธีการนำส่ง - โอกาสสูงในการแสดงออก ของแอนติเจน	- Immunogenicity ต่ำ - ไม่มีการกระจายภายในเซลล์ - เสี่ยงกับการแทรกเข้าจีโนมของโฮสต์	- เพิ่มจำนวนและอายุของ DCs ที่มีการนำเสนอการแสดงออกของแอนติเจน - ส่งเสริมกระบวนการและการนำเสนอแอนติเจนของ DCs - พัฒนาปฏิสัมพันธ์ระหว่าง DCs กับ T cells
RNA-based vaccines	- ปลอดภัย - ไม่คงทน, ไม่มีคุณสมบัติ infection - หลากหลายวิธีการนำส่ง - ไม่เสี่ยงกับการแทรกเข้าจีโนมของโฮสต์	- ยากต่อการผลิต ซับซ้อน และ การจัดเก็บไม่ยาวนาน - แรงงานในการผลิต ต้องมีแหล่งผลิตที่ดีพอ - ไม่มีการกระจายภายในเซลล์	- พัฒนาการเพิ่มจำนวนของ DNA ควบคู่กับ RNA - ป้องกันการเกิด early apoptosis ของ T cells

แต่การศึกษาทดลองทางคลินิกยังอยู่ระหว่างดำเนินการวิจัยในวัคซีนที่ใช้พื้นฐานของ *Listeria* กับโปรตีน E7 ของ HPV (*Listeria*-based E7 vaccine) เพื่อเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกสำหรับไวรัสแอนติเจน ชนิด HPV-16 E7 ซึ่งมีชื่อว่า Lovaxin C (หรือชื่อเดิมคือ ADXS11-001) ในผู้หญิงที่มีการดำเนินไปของโรคมะเร็งปากมดลูก⁽³⁰⁾ ขณะเดียวกันได้มีการใช้วัคซีนจาก *Listeria monocytogenes* ชนิดที่อ่อนแรงลง ที่มีชิ้นส่วนโปรตีนของ HPV-16 E7 รวมกับชิ้นส่วนของ listeriolysin O กลายเป็น Lm-LLO-E7 เพื่อมุ่งหวังให้มีการหลั่งไวรัสแอนติเจนและเพิ่มการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้น⁽³¹⁾ ซึ่งการทดลองในคลินิกระยะที่หนึ่ง ที่ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยพบว่า Lm-LLO-E7 สามารถใช้ในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกระยะสุดท้าย ซึ่งเป็นผู้ที่ก่อนหน้านี้ล้มเหลวในการให้เคมีบำบัด รังสีบำบัด และ/หรือ การผ่าตัด ดังนั้นจะเห็นว่า bacterial vectors เป็นพาหะที่สำคัญในการพัฒนาวัคซีนที่มีความเป็นไปได้สำหรับใช้ในการบำบัดรักษาทางระบบภูมิคุ้มกัน (immunotherapy) สำหรับผู้ป่วยมะเร็ง

1.2 พาหะที่เป็นไวรัส (Viral vectors)

พาหะวัคซีนชนิดที่เป็นไวรัส มีคุณสมบัติในการติดเชื้อในอัตราที่สูง และเพิ่มโอกาสในการแสดงออกของแอนติเจนที่ถูกบรรจุ ทำให้สามารถใช้เป็นอีกทางเลือกที่สะดวก และเป็นไปได้ ในการใช้เป็นวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษา HPV ที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก โดยไวรัสที่นิยมใช้เป็นพาหะที่สำคัญ ได้แก่ adenovirus, adeno-associated virus, vaccinia virus และ alphaviruses เป็นต้น ซึ่งขอยกตัวอย่างสำคัญ ดังนี้

1.2.1 Vaccinia-based vaccines วัคซีนชนิดนี้ใช้ไวรัส Vaccinia เป็นพื้นฐาน ซึ่งมีกลวิธีประกอบด้วย การตัดต่อชิ้นส่วนโปรตีนของ HPV E7 และรวมกับการตัดต่อชิ้นส่วนของ calreticulin (CRT) ซึ่งเป็นโมเลกุลสำคัญต่อการนำเสนอแอนติเจนในเซลล์ เข้าไปในจีโนมของไวรัส ทำให้มีการกระตุ้นการนำเสนอแอนติเจนผ่านกระบวนการทาง MHC class I ด้วย DCs⁽³²⁾ และนอกจากนี้การตัดต่อชิ้นส่วนของ HPV E7 และ LLO เข้าไปในจีโนมของไวรัสชนิดนี้จะช่วยให้มีการกระตุ้นการนำเสนอแอนติเจนผ่านกระบวนการทั้งทาง MHC class I และ MHC class II ด้วยเช่นกัน มีการทดลองในคลินิกระยะที่หนึ่งและสอง โดยตัดต่อโปรตีนสำคัญของไวรัสซึ่ง ได้แก่ TA-HPV เพื่อให้มีการแสดงออกของโปรตีนร่วม ระหว่าง HPV-16/18 E6 และ E7 ในผู้ป่วย

ที่มีการดำเนินไปของโรคในระยะก่อนมะเร็งปากมดลูกระยะที่สาม (cervical intraepithelial neoplasia III; CIN III) และในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกระยะลุกลาม (invasive cervical cancer)⁽³³⁾ เป็นต้น

1.2.2 Adenoviruses เป็นพาหะไวรัสที่ปัจจุบันมีการพัฒนาวิจัยในหนู ให้มีการใช้โปรตีนร่วมระหว่าง CRT และ HPV E7 ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อเพิ่มโอกาสในการทำลายเซลล์มะเร็ง⁽³⁴⁾ อีกตัวอย่างได้แก่ การใช้โปรตีนร่วมของ HBsAg และ HPV-E7 เพื่อให้มีการกระตุ้นแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ E7 และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ลิมโฟไซท์ชนิด CD8⁺ CTL⁽³⁵⁾ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาวิจัยเพื่อใช้ Adeno-associated viruses ด้วยการตัดต่อทางพันธุวิศวกรรมของจีนเพื่อให้มีการแสดงออกของ HPV-E7 ร่วมกับการใช้ heat shock protein 70 (hsp70) ของเชื้อ Mycobacterium tuberculosis ส่งผลให้กระตุ้นกระบวนการนำเสนอแอนติเจนผ่านวิถีของ MHC class I โดยมุ่งหวังให้มีการเหนี่ยวนำให้มีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ลิมโฟไซท์ชนิด CD8⁺ CTL⁽³⁶⁾ เป็นต้น

การบำบัดรักษาด้วยการใช้วัคซีนที่มีพื้นฐานของเชื้อเป็นในอนาคตต้องการความมีประสิทธิภาพที่เห็นได้ชัดทั้งของพาหะที่เป็นทั้งแบคทีเรียและไวรัส ทั้งนี้เพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันผ่านทางระดับโมเลกุลร่วมเพื่อให้เกิดความหลากหลายในการกระตุ้นที่เพิ่มขึ้น และที่สำคัญอีกประการก็คือต้องสามารถรับประกันถึงประสิทธิภาพในกรณีที่ต้องกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่ซ้ำ ๆ กัน เพราะต้องคำนึงถึงความปลอดภัยเป็นสำคัญ

2. วัคซีนที่ใช้พื้นฐานของเปปไทด์/โปรตีน (Peptide/Protein-based vaccines)

การให้เปปไทด์และโปรตีนที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับแอนติเจนของไวรัสเอชพีวีของมนุษย์ โดยเฉพาะ HPV E6 และ E7 เพื่อให้ DCs รับรู้และนำเสนอไวรัสแอนติเจน ด้วยการกระตุ้นการแสดงออกของไวรัสแอนติเจนผ่านทาง MHC class I (สำหรับ CD8⁺ cytotoxic T-ลิมโฟไซท์) และ MHC class II (สำหรับ CD4⁺ helper T-ลิมโฟไซท์)

2.1 วัคซีนที่ใช้พื้นฐานของเปปไทด์ (Peptides-based vaccines)

วัคซีนเปปไทด์เป็นชนิดที่มีความปลอดภัย คงทน

และสะดวก ง่ายต่อการผลิต แต่ก็ยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก เนื่องจากความเป็น immunogenic epitope ที่ไม่สามารถ บังชี้ให้เกิดความจำเพาะต่อการกระตุ้นทางด้านภูมิคุ้มกัน อันสัมพันธ์กับโพลิเมอร์ฟิสมในโมเลกุลของ MHC ที่แตกต่างกันตามแต่ละกลุ่มประชากร ดังนั้น การใช้ชิ้นส่วนเปปไทด์ ที่มีลำดับเบสที่ยาวเพียงพอที่สร้างขึ้นร่วมกับการใช้ชิ้นส่วน โปรตีนของไวรัส ได้แก่ HPV E6 และ E7 อาจจะสามารถ ใช้เป็นวัคซีนได้ ที่ผ่านมาการทดลองวิจัยในหนูและกระต่าย ได้แสดงให้เห็นว่าเปปไทด์ที่ประกอบขึ้นพร้อมกับโปรตีน E6 และ E7 ที่ยาว สามารถเหนี่ยวนำแอนติเจนให้เกิดความ จำเพาะต่อ T cells ได้⁽³⁷⁾

วัคซีนชนิดนี้ มีความเป็น immunogen ต่ำ (poor immunogenicity) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้การกระตุ้นอย่างต่อเนื่อง ร่วมกับการให้สารจำพวก adjuvants เช่น chemokines, cytokines และลิแกนด์ของ Toll-like receptors เพิ่มเติม ด้วย ซึ่งตัวอย่างของการใช้ adjuvants เหล่านี้⁽³⁸⁾ ได้แก่ (i) การให้ GM-CSF เพื่อกระตุ้น DCs (ii) การกลายพันธุ์ ของ cholera toxin และ (iii) การให้ลำดับเบสสายสั้น ๆ ของ CpG (CpG ODN) ที่เป็นการลอกเลียนแบบสัญญาณ อันตรายของแบคทีเรีย เป็นต้น

ถึงแม้ปัจจุบันวัคซีนเปปไทด์มีข้อจำกัดในการทดลอง ทางคลินิก แต่ก็พบความก้าวหน้าในการวิจัย เช่น การศึกษา ในระยะที่หนึ่งของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกระยะสุดท้าย ที่ได้รับ การฉีด HPV-16 E6 และ/หรือ E7 แบบเปปไทด์สายยาวร่วม กับการใช้ adjuvant ที่ชื่อ “Montanide ISA-51” สามารถ พบการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ที่จำเพาะต่อ T cells ของ HPV-16 E6 ซึ่งกลวิธีดังกล่าวคล้ายคลึงกับการ ศึกษาวิจัยในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก จำนวน 6 ราย พบว่าผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกทุกรายถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความจำเพาะ ในระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์จากการใช้โปรตีน HPV-E6 ต่อ เซลล์ CD4⁺ และ CD8⁺ และพบว่าผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก จำนวน 5 ใน 6 ราย มีความจำเพาะจากการใช้โปรตีน HPV-E7 ต่อเซลล์ CD4⁺ และ CD8⁺⁽³⁹⁾

ในอนาคต การใช้วัคซีนเปปไทด์ จะอยู่บนพื้นฐานหลัก ที่สำคัญ ในความมี immunogenicity และ epitope การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเพื่อไม่ให้กระบวนการนำเสนอแอนติเจน ต่อ T cells ถูกทำลายง่าย และระยะเวลาให้มีการกระตุ้นที่ยาวนานต่อเนื่องที่พอเพียง นอกจากนั้นการนำส่งเป้าหมายที่มีความจำเพาะต่อการรับรู้ของ DCs จะเป็นการเพิ่มกระบวนการ

นำเสนอแอนติเจนได้เป็นอย่างดี ยกตัวอย่าง เช่น การใช้ liposome ซึ่งทำหน้าที่เปรียบเสมือน adjuvant อีกชนิดที่มีศักยภาพในอนาคต ซึ่งการศึกษาวัดขึ้นในปัจจุบันมีการใช้ กลวิธีของการฉีดองค์ประกอบของ HPV-16 E7 lipopeptide มากกระตุ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันด้าน เซลล์ที่มีความจำเพาะสูงมากต่อเซลล์ลิมโฟไซด์ ชนิด CD4⁺ และ CD8⁺ เมื่อเปรียบเทียบกับกระตุ้นด้วยการให้เปปไทด์ E7 เพียงอย่างเดียว⁽⁴⁰⁾

2.2 วัคซีนที่ใช้พื้นฐานของโปรตีน (Protein-based vaccines)

Protein-based vaccines สามารถบรรจุทุก ๆ epitope ที่คาดว่าจะสามารถมีคุณสมบัติที่เป็นแอนติเจน ได้ ซึ่งคำนึงถึงภาวะที่ต้องเป็น MHC-restriction ที่มีความสัมพันธ์กับ peptide vaccines เป็นสำคัญ อย่างไรก็ตามถึงแม้ protein-based vaccines จะมีความปลอดภัย แต่ข้อที่ต้องคำนึงอย่างยิ่งก็คือโอกาสในการเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันที่ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นยุทธวิธีที่เพิ่ม ศักยภาพในการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันก็คล้ายคลึงกับที่ใช้ใน peptide-based vaccines แต่ข้อเสีย คือ คุณสมบัติที่มี ในลักษณะของการนำเสนอแอนติเจนที่เป็นแบบ exogenous antigen ของวัคซีนที่มีพื้นฐานของโปรตีนดังกล่าวนี้ จะถูกนำเสนอโดยผ่านทางวิถีของ MHC class II ซึ่งมีลักษณะเด่นชัด ต่อการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีในระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งเป็น กลไกที่เกิดได้มากกว่าการกระตุ้นผ่านทางกลไกของ T cells ดังนั้นการมียุทธวิธีเพื่อการกระตุ้นผ่านวิถีของ MHC class I ที่เป็นกระบวนการผ่านทาง endogenous antigen จึงมีความ สำคัญมาก และมีความจำเป็นหากสามารถทำได้ เพื่อให้มีการ ตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ชนิด CD8⁺ CTL ที่มีประสิทธิภาพ

สำหรับการใช้ adjuvants ที่ได้ทดลองร่วมด้วย ได้แก่ liposome-polycationic-DNA (LPD) และ saponin-based ISOMATRIX ทำได้โดยการสร้างโปรตีนร่วมกับแอนติเจน เป้าหมายต่อการรับรู้ของ DCs จะสามารถเพิ่มการแสดงออก ของแอนติเจนต่อ MHC class I และการตอบสนองของ เซลล์ชนิด CD8⁺ CTL กรณีตัวอย่างที่พบได้ก็ เช่น การใช้ HPV-16 E7 เชื่อมกับ adenylyl cyclase (CyaA) ของเชื้อ *Bordetella pertussis* ซึ่งเป็นผลให้มีการทำงานร่วมกับ integrin receptors ของ DCs และการรวมเข้าของโดเมน ส่วนที่เป็น exotoxin A ของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

กับ HPV-16 E7 ซึ่งเป็นการกระตุ้นในวิถีทางของ MHC class I หรือการใช้โปรตีนร่วมของ Mycobacterium hsp65 (เปรียบเสมือนชิ้นส่วนโมเลกุลที่เชื่อมแอนติเจนเป้าหมาย ทำให้ DCs รับรู้และเกิด cross-priming) กับ HPV-16 E7 (HspE7) ⁽⁴¹⁾ เป็นต้น

สำหรับการทดลองในคลินิกมีการใช้ HspE7 กับ ผู้ป่วยหญิงที่มีการดำเนินโรคมะเร็งปากมดลูกในระยะก่อน มะเร็ง ได้แก่ ระยะ CIN III จำนวน 58 ราย พบว่าจำนวน 13 ราย ที่ได้รับการวินิจฉัยอย่างสมบูรณ์ว่ามีผล CIN เป็นลบให้ ผลตอบสนองต่อการรักษาด้วยการผ่าตัดด้วยห่วงไฟฟ้าที่เรียกว่า “Loop electrosurgical excision procedure; LEEP” และส่วนใหญ่ของผู้ป่วย จำนวน 32 ราย ให้ผลตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธีการดังกล่าวเพียงบางส่วน (ซึ่งสามารถตรวจสอบรอยโรคได้ด้วยการใช้กล้อง Colposcopy) ดังนั้น จึงเป็นข้อจำกัด และเป็นการยากที่จะตรวจวัด ฝ้าสังเกต และ ประเมินดูว่าไม่มีการดำเนินโรคที่สูงขึ้นจนกลายเป็นมะเร็งปาก มดลูกเมื่อใช้กลวิธีของ HspE7 ในคนไข้ระยะก่อนมะเร็งปาก มดลูกดังกล่าว นอกจากนี้สำหรับวัคซีนที่ใช้โปรตีนเป็นพื้นฐาน ชนิดอื่น ๆ ที่พบว่ามีประสิทธิภาพทดลองในทางคลินิก แต่ข้อมูล ยังเป็นที่สรุปอย่างชัดเจน เช่น TA-CIN ซึ่งประกอบไปด้วย การใช้โปรตีนร่วมของ HPV16-L2, E6 และ E7 เป็นต้น ⁽⁴²⁾

3. วัคซีนที่ใช้เซลล์ทั้งหมด (Whole cell vaccines)

3.1 วัคซีนที่ใช้เซลล์เดนไดรติกส์เป็นพื้นฐาน (Dendritic cell-based vaccines)

DCs ทำหน้าที่เสมือนเป็น adjuvant ที่เป็นธรรมชาติ (natural adjuvants) แต่มีข้อจำกัดของการใช้ DCs เป็นพื้นฐานในวัคซีน ได้แก่ กระบวนการเตรียมเพื่อให้ได้มาซึ่ง DCs นั้นใช้ระยะเวลานาน มีราคาแพง และความต่อเนื่องในการนำไปใช้ในปัจจุบัน ค่อนข้างไม่สะดวกในทางปฏิบัติ การขาดซึ่ง ข้อตกลงที่เป็นมาตรฐานโดยเฉพาะเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์ รวมไปถึงการเลือกใช้พาหะที่เป็นไวรัส ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับ การทรานสเฟกชัน (transfection) แอนติเจนที่จะถูกบรรจุ ไม่ว่าจะเป็นชนิด DNA หรือ RNA และรวมทั้งการกระตุ้น DCs กับโปรตีนแอนติเจน เปปไทด์ หรือ lysate ของเซลล์มะเร็ง ยังเป็นประเด็นที่ยังต้องคำนึงถึง ⁽⁴³⁾

เนื่องจากการเกิด apoptosis ของ T cell ทำให้มี ข้อจำกัดในช่วงอายุของ DCs และ ความสามารถในการกระตุ้น T cells ดังนั้นกลวิธีที่ต้องทำให้ DCs มีอายุยืนยาว เพื่อ

เสริมให้มีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะจึงจำเป็นอย่าง ยิ่ง ทางหนึ่งที่จะช่วย คือ การทรานสเฟกต์ไวรัสใน DCs กับ การใช้ siRNAs (small interfering RNAs) ซึ่งเป็นชิ้นส่วน ที่สนใจ เพื่อไปรบกวนการแสดงออกของโมเลกุลโปรตีนใน ส่วนที่เกี่ยวข้องกับ pro-apoptosis กล่าวคือ การเพาะเลี้ยง DCs ร่วมกับ HPV-E7 และทรานสเฟกต์ด้วย siRNA ที่มี เป้าหมายเพื่อบกพร่องโปรตีน pro-apoptosis ได้แก่ Bak และ Bax จะสามารถกระตุ้นให้เกิดความจำเพาะของ E7 ต่อการ ตอบสนองด้วยเซลล์ชนิด CD8⁺ CTL ทำให้มีการป้องกันการ เกิดมะเร็งในหนูได้ ซึ่งคล้ายคลึงกับงานวิจัยที่มีการใช้ siRNA ต่อโมเลกุลของ Bim Bid Bak Bax และ caspase 8 ที่พบ ว่า Bim เป็นโมเลกุลที่สามารถกระตุ้นการตอบสนองต่อระบบ ภูมิคุ้มกันมากที่สุด ซึ่งมีความจำเพาะต่อ E7 (E7-specific CTL) ในหนูได้ ⁽⁴⁴⁾

การทดลองในคลินิกพบว่าในผู้ป่วยหญิงที่เป็นมะเร็ง ปากมดลูกระยะสุดท้าย ชนิดที่พบว่าไม่ผลบวกของ HPV-16 และ HPV-18 ได้ทดลองเพาะเลี้ยง DCs ของคนไข้ ร่วมกับการ ทรานสเฟกต์ HPV-16 หรือ HPV-18 E7 แล้วฉีดกลับ เข้าไปในผู้ป่วยคนดังกล่าว ซึ่งข้อมูลการวิจัยดังกล่าวพบว่า ผู้ป่วย จำนวน 4 ใน 11 ราย มีการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน ด้านเซลล์แบบจำเพาะลิโฟไซตชนิด E7-specific T cells ซึ่ง ให้ผลคล้ายคลึงกันกับอีกการศึกษาวิจัยที่ได้มีการเพิ่มการนำ เข้าของ IL-2 โดยพบว่าผู้ป่วยจำนวน 2 ใน 4 ราย มีการตอบ สนองต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้านเซลล์แบบจำเพาะต่อลิโฟ ไซตชนิด E7-specific CD4⁺ และยังพบว่าผู้ป่วยทั้งหมด 4 ราย ดังกล่าวมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้าน เซลล์ลิโฟไซตแบบจำเพาะชนิด E7-specific CD8⁺ ⁽⁴⁵⁾

เนื่องจากการกระตุ้นด้วยการให้แอนติเจนผ่าน การรับรู้ของ DCs เป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับ ลิมฟอยด์ (lymphoid) โดยมีช่องทางของการฉีดวัคซีนเข้า หลายช่องทางแตกต่างกัน ได้แก่ กล้ามเนื้อ (intramuscular) ใต้ผิวหนัง (subcutaneous) เส้นเลือดดำ (intravenous) และที่ก้อนมะเร็ง (intranodal) จึงควรมียุทธวิธีที่ช่วยเพิ่ม ประสิทธิภาพสำหรับการใช้วัคซีนที่มีเซลล์เดนไดรติกส์เป็น พื้นฐาน ที่ช่วยอธิบายและสามารถแสดงให้เห็นถึงการมี ประสิทธิภาพอย่างสูงในช่องทางการนำส่งแอนติเจนและ การพัฒนาวิธีการที่ช่วยกระตุ้นการนำเข้าแอนติเจนอย่างมี ประสิทธิภาพพร้อมกับช่วยทำให้การดำรงอยู่ของ DCs มีอายุ ยาวนานมากขึ้น ⁽⁴⁵⁾

3.2 วัคซีนที่ใช้เซลล์มะเร็งเป็นพื้นฐาน (Tumor cell-based vaccines)

กระบวนการแยกและการจัดการกับเซลล์มะเร็งนอกร่างกาย (*ex vivo*) เพื่อให้มีการแสดงออกของโปรตีนที่เป็นตัวควบคุมในทางภูมิคุ้มกัน สามารถส่งเสริมให้เกิดความเป็น immunogenicity ในร่างกาย (*in vivo*) ได้ การศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ ได้ใช้ไซโตไคน์ ได้แก่ IL-2, IL-12 และ GM-CSF เพื่อทดลองในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นมะเร็งด้วย HPV-16 แม้ว่าปัจจุบันวัคซีนชนิดที่ใช้เซลล์มะเร็งเป็นพื้นฐานได้ผ่านขั้นตอนการทดลองในทางคลินิกแล้ว เช่น ผู้ป่วยมะเร็งผิวหนัง (melanoma) มะเร็งตับอ่อน (pancreatic cancer) และมะเร็งที่ไต (renal cell carcinoma)⁽⁴⁶⁾ อย่างไรก็ตามองค์ความรู้ในโรคมะเร็งปากมดลูกที่มีข้อจำกัดในการนำไปใช้ประโยชน์ จำเป็นจะต้องถูกพัฒนามากขึ้น ทั้งนี้เพื่อเป็นวัคซีนสำหรับโรคมะเร็งปากมดลูกในอนาคตด้วย หากสามารถศึกษาวิจัย จนประสบผลสำเร็จในการนำไปใช้ได้จริง

4. วัคซีนที่ใช้กรดนิวคลีอิกเป็นพื้นฐาน (Nucleic acid-based vaccines)

4.1 วัคซีนที่ใช้ดีเอ็นเอเป็นพื้นฐาน (DNA-based vaccines)⁽⁴⁷⁾

DNA vaccine เป็นการนำเอาเฉพาะส่วน DNA ของจุลชีพมาใช้ ซึ่งมักต้องใช้ตัวพาในการช่วยนำเสนอสู่เซลล์ภูมิคุ้มกันของสัตว์ทดลอง (naked DNA) นั้น ปลอดภัย ง่าย สะดวก ในการผลิตในปริมาณที่มาก ที่มีความบริสุทธิ์ และทำให้เกิดการแสดงออกของแอนติเจนในเซลล์ได้นานกว่าการใช้ RNA หรือ protein vaccines ซึ่งข้อดีของ DNA vaccines สามารถถูกฉีดกระตุ้นซ้ำได้ เนื่องจากไม่มีการสร้าง neutralizing antibodies ถึงแม้ว่าปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลสนับสนุนว่ามีความเสี่ยงของการใช้ DNA vaccines อันเนื่องมาจากวัคซีนชนิดนี้สามารถแทรกเข้าสู่จีโนมของโฮสต์ได้ และนอกจากนี้การให้ชิ้นส่วน DNA ของ HPV E6 และ E7 ที่เปรียบเสมือนการให้เงินของไวรัสที่สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดเป็นมะเร็งได้ อาจทำให้เกิดการพัฒนาจนกลายเป็นเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาวิจัยและปรับแต่ง DNA ของจีน E6 และ E7 เพื่อไม่ทำให้เกิดการพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็งในเวลาต่อมา ข้อจำกัดที่สำคัญของวัคซีนชนิดนี้ คือ ความเป็น immunogenicity ที่ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากคุณสมบัติที่ไม่สามารถขยายหรือแพร่กระจายจากเซลล์ที่มีการ

ติดเชื้อไปสู่เซลล์ที่อยู่รอบ ๆ แบบ *in vivo* ซึ่งการเอาชนะข้อจำกัดนี้ คือ การใช้ยุทธวิธีส่งเสริมให้ได้ DNA vaccines ที่มีศักยภาพ จึงได้มีการพัฒนาเป็นลำดับกล่าวคือ การใช้บทบาทหลักของ DCs ที่มีความสัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเป็นยุทธวิธีที่สำคัญ ประกอบด้วย

ก. การเพิ่มจำนวนในการแสดงออกแอนติเจนต่อ DCs โดยการขนส่ง DNA เป้าหมายตรงไปยังพื้นที่ของ DCs ที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในปริมาณมาก เพื่อให้เกิดการนำเสนอแอนติเจนที่มีโอกาสสูง เช่น การใช้ gene gun ฉีดเข้าที่ intradermal โดยการเคลือบอนุภาคทองคำกับ DNA และถูกส่งตรงไปยัง immature DCs ที่ผิวหนัง คือ เซลล์กลุ่ม Langerhan วิธีการนำส่งนี้สะดวก และมีศักยภาพสูง สำหรับการศึกษาวิจัยในปัจจุบันได้เปรียบเทียบหลากหลายวิธีในการนำส่ง DNA พบว่ามีความจำเพาะสูงสุดของ E7-specific CD8⁺ เมื่อนำเซลล์กล้ามเนื้อแบบใช้ electroporation วิธีการอื่น ๆ ที่ใช้ในปัจจุบัน เช่น การใช้แสงเลเซอร์ เป็นต้น

ข. การส่งเสริมกระบวนการ และการนำเสนอแอนติเจนใน DCs ประกอบด้วยยุทธวิธีแรกสามารถทำได้เมื่อมีการทำ codon optimization ให้เหมาะสม และยุทธวิธีที่สองก็คือ การใช้สารที่เป็นสารต่อต้านการสร้างเซลล์มะเร็งร่วมด้วย เช่น การประยุกต์ใช้สารที่เป็น demethylating agents เพิ่มการแสดงออกของจีน เช่น DNA vaccine ที่บรรจุด้วย CRT/E7 ร่วมกับสาร 5-aza-2'-deoxytidine (DAC) เป็นต้น ค. สร้างปฏิสัมพันธ์ระหว่าง DCs และ T cells ก็คือ ยุทธวิธีที่ทำให้ DCs และ T cells ทำงานร่วมกันได้ดีขึ้น เพื่อหวังให้มีการยืดอายุการดำรงอยู่ของ DCs เพิ่มขึ้น ด้วยเพิ่มการแสดงออกของไซโตไคน์หรือยับยั้งการควบคุมการกระตุ้นของ DCs แบบย้อนกลับ เป็นต้น

4.2 วัคซีนที่ใช้อาร์เอ็นเอเปลือย (Naked RNA replicon vaccines)

เป็นกลวิธีใหม่ที่น่าสนใจ แต่มีการทดลองรูปแบบในหนู ซึ่งยังไม่มีข้อมูลเด่นชัด เพราะยังเป็นการวิจัยเบื้องต้น และปัจจุบันยังไม่พบความคืบหน้าในการใช้กับการทดลองในคลินิก

บทสรุป

ปัจจุบันได้มีการใช้วัคซีนเพื่อการป้องกันมะเร็งปากมดลูก โดย Gardasil® และ Cervarix® ถือเป็นวัคซีนสองชนิดที่ถูกรับรองให้จำหน่ายกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งสามารถ

ป้องกันการติดเชื้อ HPV ที่เป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก ข้อมูลปัจจุบันพบว่าวัคซีนดังกล่าวสามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสได้ หากแต่ผู้ป่วยโรคมะเร็งปากมดลูกและ/หรือผู้ที่ติดเชื้อ HPV แล้วนั้น ยังจำเป็นต้องเฝ้าระวังและไม่สามารถยืนยันว่ามีวัคซีนชนิดหนึ่งชนิดใดเป็นที่ยอมรับให้ใช้กันอย่างแพร่หลายได้ ทั้งนี้วัคซีนที่ใช้ในการบำบัดรักษาโรคมะเร็งปากมดลูกมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ HPV เกี่ยวข้องโดยตรงกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งมีความซับซ้อนในการหลบหลีกภูมิคุ้มกันของไวรัสที่ต้องค้นคว้าวิจัยให้มากขึ้น เพื่อการประยุกต์ใช้ได้จริง ดังนั้นองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับวัคซีนเพื่อการบำบัดรักษาโรคมะเร็งปากมดลูกที่แตกต่างกันจึงมีความสำคัญและจำเป็นที่ต้องเข้าใจในอนาคต เพื่อให้การป้องกันและรักษาเกิดประโยชน์สูงสุด การประยุกต์ใช้องค์ความรู้ที่มีความหลากหลาย จักเป็นแนวทางสำคัญในการบำบัดรักษาโรคมะเร็งปากมดลูก และอาจต้องอาศัยหลากหลายยุทธวิธีที่มีประสิทธิภาพร่วมกัน ที่น่าจะเป็นสิ่งสำคัญในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani J. Global cancer statistic 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.
2. Vatanasapt V, Sriamporn S, Vatanasapt P. Cancer control in Thailand. *Jpn J Clin Oncol* 2002; 32 Suppl: S82-91.
3. Ferenczy A, Franco E. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Lancet Oncol* 2002; 3: 11-6.
4. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 342-50.
5. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1129-36.
6. Munger K, Werness BA, Dyson N, Phelps WC, Harlow E, Howley PM. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J* 1989; 8: 4099-105.
7. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-9.
8. Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 727-46.
9. Insinga RP, Dasbach EJ, Elbasha EH. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 119-44.
10. Häfner N, Driesch C, Gajda M, Jansen L, Kirchmayr R, Runnebaum IB, et al. Integration of the HPV16 genome does not invariably result in high levels of viral oncogene transcripts. *Oncogene* 2008; 27: 1610-7.
11. Wanram S, Limpaboon T, Leelayuwat C, Yuenyao P, Guiney DG, Lulitanond V, et al. The use of viral load as a surrogate marker in predicting disease progression for patients with early invasive cervical cancer with integrated human papillomavirus type 16. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 201: e1-7.
12. Patel S, Chiplunkar S. Host immune responses to cervical cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2009; 21: 54-9.
13. Mehta AM, Jordanova ES, Kenter GG, Ferrone S, Fleuren GJ. Association of antigen processing machinery and HLA class I defects with clinicopathological outcome in cervical carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2008; 57: 197-206.
14. Seliger B. Different regulation of MHC Class I antigen processing components in human tumors. *J Immunotoxicol* 2008; 5: 361-7.

15. Harper DM, Williams KB. Prophylactic HPV vaccines: current knowledge of impact on gynecologic premalignancies. *Discov Med* 2010; 10: 7-17.
16. Lu B, Kumar A, Castellsagué X, Giuliano AR. Efficacy and safety of prophylactic vaccines against cervical HPV infection and diseases among women: A systematic review & meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2011; 11: 13-29.
17. Harper DM, Williams KB. Prophylactic HPV vaccines: current knowledge of impact on gynecologic premalignancies. *Discov Med* 2010; 10: 7-17.
18. Szarewski A. HPV vaccine: Cervarix. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10: 477-87.
19. Roldão A, Mellado MC, Castilho LR, Carrondo MJ, Alves PM. Virus-like particles in vaccine development. *Expert Rev Vaccines* 2010; 9: 1149-76.
20. Schiller JT, Castellsagué X, Villa LL, Hildesheim A. An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. *Vaccine* 2008; 26: K53-61.
21. Szarewski A. Prophylactic HPV vaccines. *Eur J Gynaecol Oncol* 2007; 28: 165-9.
22. David MP, Van Herck K, Hardt K. Long-term persistence of anti-HPV-16 and -18 antibodies induced by vaccination with the AS04-adjuvanted cervical cancer vaccine: Modeling of sustained antibody responses. *Gynecol Oncol* 2009; 115: S1-6.
23. Lin K, Doolan K, Hung CF, Wu TC. Perspectives for preventive and therapeutic HPV vaccines. *J Formos Med Assoc* 2010; 109: 4-24.
24. Sewell DA, Pan ZK, Paterson Y. *Listeria*-based HPV-16 E7 vaccines limit autochthonous tumor growth in a transgenic mouse model for HPV-16 transformed tumors. *Vaccine* 2008; 26: 5315-20.
25. Souders NC, Sewell DA, Pan ZK, Hussain SF, Rodriguez A, Wallecha A, et al. *Listeria*-based vaccines can overcome tolerance by expanding low avidity CD8⁺ T cells capable of eradicating a solid tumor in a transgenic mouse model of cancer. *Cancer Immun* 2007; 7: 2-14.
26. Bermudez-Humaran LG, Langella P, Miyoshi A, Gruss A, Guerra RT, Montes de Oca-Luna R, et al. Production of human papillomavirus type E7 protein in *Lactococcus lactis*. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 917-22.
27. Bermudez-Humaran LG, Cortes-Perez NG, Le Loir Y, Alcocer-González JM, Tamez-Guerra RS, de Oca-Luna RM, et al. An inducible surface presentation system improves cellular immunity against human papillomavirus type 16 E7 antigen in mice after nasal administration with recombinant lactococci. *J Med Microbiol* 2004; 53: 427-33.
28. Cortes-Perez NG, Azevedo V, Alcocer-Gonzalez JM, Rodriguez-Padilla C, Tamez-Guerra RS, Cortier G, et al. Cell-surface display of E7 antigen from human papillomavirus type-16 in *Lactococcus lactis* and in *Lactobacillus plantarum* using a new cell-wall anchor from lactobacilli. *J Drug Target* 2005; 13: 89-98.
29. Peters C, Paterson Y. Enhancing the immunogenicity of bioengineered *Listeria monocytogenes* by passaging through live animal hosts. *Vaccine* 2003; 21: 1187-94.
30. Lowry F. Live *Listeria* vaccine proves safe against end-stage cervical cancer in human trial. *Ob Gyn News* 2008; Sect 2.
31. Maciag PC, Radulovic S, Rothman J. The first clinical use of a live-attenuated *Listeria monocytogenes* vaccine: a Phase I safety study of Lm-LLO-E7 in patients with advanced carcinoma of the cervix. *Vaccine* 2009; 27: 3975-83.
32. Hsieh CJ, Kim TW, Hung CF, Juang J, Moniz M, Boyd DA, et al. Enhancement of vaccinia vaccine potency by linkage of tumor antigen gene to gene encoding calreticulin. *Vaccine* 2004; 22: 3993-4001.
33. Adams M, Borysiewicz L, Fiander A, Man S, Jasani B, Navabi H, et al. Clinical studies of hu-

- man papilloma vaccines in cervical cancer. *Adv Exp Med Biol* 2001; 495: 419-27.
34. Gomez-Gutierrez JG, Elpek KG, Montes de Oca-Luna R, Shirwan H, Sam Zhou H, McMasters KM. Vaccination with an adenoviral vector expressing calreticulin-human papillomavirus 16 E7 fusion protein eradicates E7 expressing established tumors in mice. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 997-1007.
 35. Baez-Astua A, Herraez-Hernandez E, Garbi N, Passolli HA, Juárez V, Zur Hausen H, et al. Low-dose adenovirus vaccine encoding chimeric hepatitis B virus surface antigen-human papillomavirus type 16 E7 proteins induces enhanced E7-specific antibody and cytotoxic T-cell responses. *J Virol* 2005; 79: 12807-17.
 36. Brodsky JL. Post-translational protein translocation: not all hsc70s are created equal. *Trends Biochem Sci* 1996; 21: 122-6.
 37. Vambutas A, DeVoti J, Nouri M, Drijfhout JW, Lipford GB, Bonagura VR, et al. Therapeutic vaccination with papillomavirus E6 and E7 long peptides results in the control of both established virus-induced lesions and latently infected sites in a pre-clinical cottontail rabbit papillomavirus model. *Vaccine* 2005; 23: 5271-80.
 38. Zwaveling S, Ferreira Mota SC, Nouta J, Johnson M, Lipford GB, Offringa R, et al. Established human papillomavirus type 16-expressing tumors are effectively eradicated following vaccination with long peptides. *J Immunol* 2002; 169: 350-8.
 39. Welters MJ, Kenter GG, Piersma SJ, Vloon AP, Löwik MJ, Berends-van der Meer DM, et al. Induction of tumor-specific CD4+ and CD8+ T-cell immunity in cervical cancer patients by a human papillomavirus type 16 E6 and E7 long peptides vaccine. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 178-87.
 40. Chen W, Huang L. Induction of cytotoxic T-lymphocytes and antitumor activity by a liposomal lipopeptide vaccine. *Mol Pharm* 2008; 5: 464-71.
 41. Liu B, Ye D, Song X, Zhao X, Yi L, Song J, et al. A novel therapeutic fusion protein vaccine by two different families of heat shock proteins linked with HPV16 E7 generates potent antitumor immunity and antiangiogenesis. *Vaccine* 2008; 26: 1387-96.
 42. de Jong A, O'Neill T, Khan AY, Kwappenberg KM, Chisholm SE, Whittle NR, et al. Enhancement of human papillomavirus (HPV) type 16 E6 and E7-specific T-cell immunity in healthy volunteers through vaccination with TA-CIN, an HPV16 L2E7E6 fusion protein vaccine. *Vaccine* 2002; 20: 3456-64.
 43. Santin AD, Bellone S, Roman JJ, Burnett A, Cannon MJ, Pecorelli S. Therapeutic vaccines for cervical cancer: dendritic cell-based immunotherapy. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 3485-500.
 44. Kim JH, Kang TH, Noh KH, Bae HC, Kim SH, Yoo YD, et al. Enhancement of dendritic cell-based vaccine potency by antiapoptotic siRNAs targeting key pro-apoptotic proteins in cytotoxic CD8(+) T cell-mediated cell death. *Immunol Lett* 2009; 122: 58-67.
 45. Ferrara A, Nonn M, Sehr P, Schreckenberger C, Pawlita M, Dürst M, et al. Dendritic cell-based tumor vaccine for cervical cancer II: results of a clinical pilot study in 15 individual patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 521-30.
 46. Monie A, Tsen SW, Hung CF, Wu TC. Therapeutic HPV DNA vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8: 1221-35.
 47. Huang CF, Monie A, Weng WH, Wu T. DNA vaccines for cervical cancer. *Am J Transl Res* 2010; 2: 75-87.