บทความทั่วไป

บทบาทของ Cytokines และ Chemokines ต่อโรคเอดส์ : การดำเนินโรคและการต้านทานการติดเชื้อเอชไอวี

Role of Cytokines/Chemokines in AIDS : Disease Progression and Resistance

ธนวรรณ สำลีรัตน์ *

Cytokines และ Chemokines เป็นสารที่ค้นพบในผู้ติดเชื้อเอชไอวีว่ามีบทบาทยับยั้งหรือส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีในตัวผู้ป่วยได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการกลายพันธุ์ที่ยีนของ Chemokine receptors มีบทบาทสำคัญต่อการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อเอชไอวี ซึ่งส่งผลต่อการดำเนินโรคและการต้านทานต่อการติดเชื้อ การศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของ Cytokines และ Chemokines ต่อการติดเชื้อเอชไอวีนั้นได้นำไปสู่การพัฒนาวิธีการรักษาผู้ติดเชื้อโดยวิธีการเพิ่มศักยภาพของระบบภูมิคุ้มกัน ตัวอย่างเช่น การให้ rIL-2 กับผู้ติดเชื้อซึ่งได้ผลดีในการเพิ่ม CD4+T cells[1] ดังนั้นเพื่อความเข้าใจในกลไกของ Cytokines และ Chemokines ที่มีผลต่อเชื้อเอชไอวี จึงต้องทำความเข้าใจว่า Cytokines และ Chemokines คืออะไร มีบทบาทต่อเชื้อไวรัสและเชื้อเอชไอวีอย่างไร และเกี่ยวข้องกับการดำเนินโรคและการต้านทานต่อการติดเชื้ออย่างไร

Cytokine คืออะไร

Cytokines เป็นชีวสารที่ถูกสร้างมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาว และ Nucleated cells ในร่างกาย แล้วไปมีผลต่อการทำงานของเซลล์ชนิดอื่น โดยมีบทบาทเป็น Signaling molecules ที่สำคัญในการสื่อสารกันระหว่างเซลล์ และมีบทบาทสำคัญในกลไกของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ[2]

คุณลักษณะที่สำคัญของ Cytokines คือ

1. เป็น Polypeptides หรือ Glycoproteins ที่มีน้ำหนักโมเลกุล ระหว่าง 6-30 kDa

2. ในภาวะปกติเซลล์จะไม่สร้าง Cytokines หรือสร้างในปริมาณน้อย แต่เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นจะสร้าง Cytokines เพิ่มมากขึ้น

3. ลักษณะการออกฤทธิ์ของ Cytokines จะเป็นแบบ Autocrine หรือ Paracrine

4. การทำงานของ Cytokines จะต้องอาศัยการจับอย่างจำเพาะกับตัวรับบนผิวเซลล์ (Cell surface receptors) หลังจากนั้นจึงมีการส่งสัญญาณเข้าภายในเซลล์

5. ฤทธิ์ของ Cytokines ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนในเซลล์เป้าหมาย ซึ่งอาจจะนำไปสู่การเพิ่มหรือลดอัตราการแบ่งตัวหรือการแปลงตัวของเซลล์ (Cell proliferation หรือ Cell

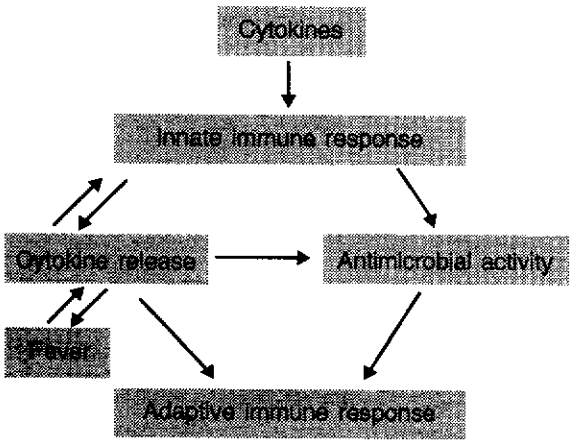
* ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

differentiation)

Cytokines ที่ถูกสร้างโดยเม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte จะเรียกว่า *'Lymphokines'*, ถูกสร้างโดยเม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte เรียกว่า *'Monokines'*, ถูกสร้างจากเซลล์ในระบบ Haematopoietic เรียกว่า *'Colony stimulating factors'* และหากถูกสร้างจาก Connective tissue จะเรียกว่า *'Growth factors'*

บทบาทของ Cytokines กับการติดเชื้อไวรัส

เมื่อมีการติดเชื้อร่างกายจะมีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Innate immune response) เกิดขึ้นก่อน แล้วจึงตามด้วยการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ เพื่อกำจัดและทำลายเชื้อจากร่างกาย ซึ่ง Cytokines จัดเป็น Soluble components ที่ถูกสร้างจากเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันภายหลังจากเซลล์ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนของเชื้อ โดยมีบทบาททั้งการยับยั้งเชื้อโดยตรง เช่น Interferons หรือกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ เช่น Th1-Th2 cytokines การทำงานร่วมกันระหว่าง Cytokines และระบบภูมิคุ้มกันสรุปได้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 กลไกของ Innate immune system และ Adaptive immune system ทำงานร่วมกับ Cytokines ในการตอบสนองการติดเชื้อ[3]

ในกรณีที่ติดเชื้อไวรัส พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นมักจะเป็นผลมาจากความรุนแรงในการทำลายเซลล์ของไวรัสร่วมกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่ง Cytokines จะมีผลโดยตรงต่อเซลล์ที่ติดเชื้อในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสภายในเซลล์ หรือทางอ้อมโดยทำให้ Lymphocytes และ Macrophages สร้าง Major histocompatibility antigen (MHC) มากขึ้น กระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของ Cytotoxic T cells (CTL) และกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก B cells ไปเป็น Plasma cells เพื่อผลิตแอนติบอดี นอกจากนี้ยังมีผลทำให้ Macrophages และ NK cells มีประสิทธิภาพในการทำลายสิ่งแปลกปลอมดีขึ้น[4] ซึ่งผลจากการทำงานของ Cytokines นี้ก็จะทำให้ไวรัสถูกกำจัดและทำลาย แต่ก็มีไวรัสหลายชนิดที่มีกลไกการป้องกันตัวเองที่สามารถรบกวนในระดับ Transcription ของ Cytokine genes หรือมีผลรบกวนกลไกการออกฤทธิ์ของ Cytokines

ตัวอย่าง Cytokines ที่สร้างขึ้นเมื่อเกิดการติดเชื้อไวรัส ได้แก่ Interferons (IFNs)-α, Interleukin-1 (IL-1), IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 และ IL-12

บทบาทของเชื้อเอชไอวี ต่อการสร้าง Cytokines

ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และผู้ป่วยเอดส์ จะมีระดับของ Cytokines ในซีรัมเปลี่ยนแปลงจากปกติ พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงที่ติดเชื้อเอชไอวี จะสร้าง TNF-α, IL-6, IL-1β เพิ่มขึ้น[4,5] และการจับกันระหว่าง gp120 ของไวรัสกับ CD4 receptor บนผิวเซลล์ Monocytes จะส่งเสริมให้เกิดการสังเคราะห์ GM-CSF, TNF-α, IL-6 และ IL-1β เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Tat (Viral protein) ก็มีผลให้เกิดการสังเคราะห์ TNF-β เพิ่มขึ้นด้วย[5] และพบว่าระดับของ TNF-α จะเพิ่มขึ้นเมื่อผู้ป่วยเอดส์มีการดำเนินโรคที่แย่ลง[6] ในผู้ติดเชื้อที่ยัง

ไม่แสดงอาการและในผู้ป่วยเอดส์พบว่ามีการสร้าง IFN-α และ IFN-β เพิ่มขึ้น แต่จะพบในระดับที่สูงมากในผู้ป่วยเอดส์[4]

ในผู้ติดเชื้อที่ยังไม่แสดงอาการ พบว่ามีระดับ Th1 cytokines สูง ซึ่งจะสนับสนุนการทำงานของ Cell mediated immunity (CMI) ซึ่ง Th1 cytokines ได้แก่ IFN-γ, IL-12, IL-2, IFN-α ส่วนผู้ติดเชื้อที่มีอาการแสดงของโรคแล้วพบว่าระดับ Th1 cytokines จะลดลงในขณะที่ระดับของ Th2 cytokines จะเพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งเสริมการทำงานของ Humoral mediated immunity (HMI) ซึ่ง Th2 cytokines ได้แก่ IL-4, IL-10, IL-3, IL-5 เป็นต้น

บทบาทของ Cytokines ในการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี

Cytokines ที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม[7] คือ *1) Inducers cytokines* เป็น Cytokines ที่ช่วยส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี *2) Suppressors cytokines* เป็น Cytokines ที่ลดการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี *3) Bifunctional cytokines* เป็น Cytokines ที่ทั้งช่วยเพิ่มและลดการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี

1) Inducers cytokines

การศึกษาฤทธิ์ของ Cytokines ที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี ในเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่า Cytokines ที่ช่วยทำให้เชื้อเอชไอวี เพิ่มจำนวนมากขึ้น ได้แก่ IL-1β, IL-2, IL-3, IL-6, IL-12, TNF-α, IFN-β, M-CSF และ GM-CSF[5] ตัวอย่างเช่น

1.1 TNF-α จัดเป็น Cytokine ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี และมีผลโดยตรงในการก่อความรุนแรงของเชื้อ[4] ซึ่ง TNF-α จะช่วยเพิ่ม Transcriptional activity ของเอชไอวียีนโดยการส่งเสริมการจับของ NF-κB กับ NF-κB specific sequences ที่อยู่บนส่วน Long terminal repeat (LTR) ของเอชไอวียีนซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นในกระบวนการถอดรหัส Proviral DNA เพื่อสังเคราะห์ mRNA[8] เรียกว่า Dependent of tat-mediated transactivation (รูปที่ 2) นอกจากนี้ TNF-α ยังทำให้ HIV-1 provirus ที่อยู่ใน T cells และ Monocytes แบบแอบแฝง กลับมามีการถอดรหัสดีเอ็นเอเพื่อสังเคราะห์ mRNA เพิ่มขึ้นซึ่งเรียกว่า Independent of tat-mediated transactivation[8] ดังนั้นในการให้ยาต้านไวรัสจึงต้องคำถึงกลไกทั้ง Dependent และ Independent of tat-mediated transactivation

1.2 IL-6 และ GM-CSF มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีด้วยกลไกใดนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่าน่าจะเป็นช่วงหลังของการถอดรหัสดีเอ็นเอเพื่อสังเคราะห์ mRNA (Post-transcription)[5] (รูปที่ 2)

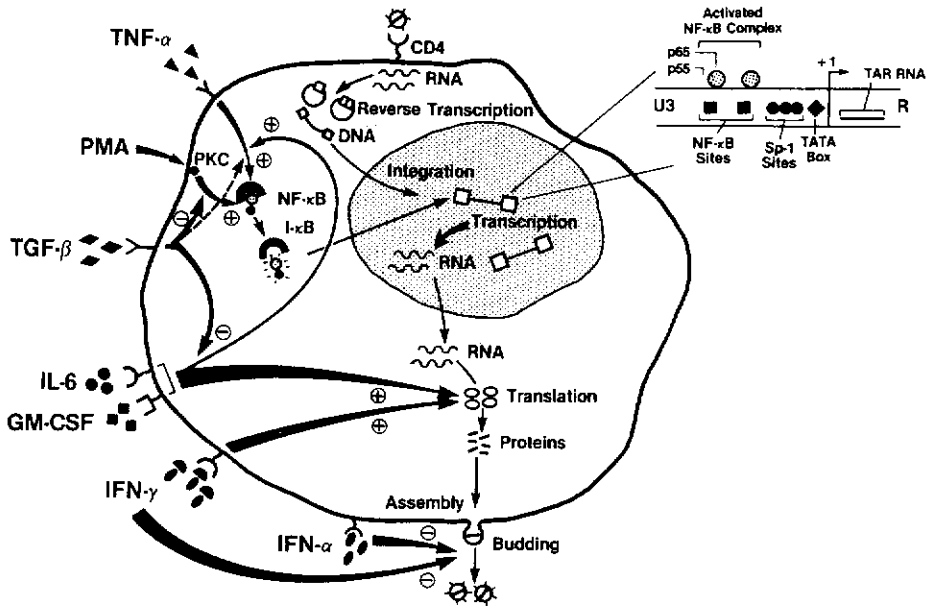
1.3 IL-1β พบว่ามีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเชื้อเอชไอวีในเซลล์ Monocytes เพาะเลี้ยง ซึ่งมีกลไกในการกระตุ้นในช่วงการถอดรหัสดีเอ็นเอเพื่อสังเคราะห์ mRNA โดยไม่เกี่ยวข้องกับกลไกของ NF-κB[5] ซึ่ง Anti- IL-1β และ TGF-β มีผลยับยั้งกลไกดังกล่าวได้

2) Suppressors cytokines

Cytokines ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี ที่สำคัญได้แก่ Interferons(IFN)-α โดยพบว่า IFN-α สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีได้ ทั้งใน Primary cells (เช่น Macrophages) และ T cell lines ที่ถูกทำให้ติดเชื้อในหลอดทดลอง[9] โดย IFN-α จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีใน T cells หรือ Monocytes ที่ถูกทำให้ติดเชื้อเป็นครั้งแรก (Acute infection)

ในระยะก่อนการรวมตัวระหว่างดีเอ็นเอของไวรัสและของเซลล์ (Pre-integration) เนื่องจากตรวจพบ HIV provirus ลดลง[4,5,10] ส่วนในเซลล์ที่ติดเชื้อเป็นเวลานาน (Chronic infection) IFN-α จะมีบทบาทยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีในช่วงการประกอบเป็นอนุภาคไวรัสที่สมบูรณ์ (Viral assembly) (รูปที่ 2) เนื่องจากพบว่ามีอนุภาคไวรัสที่ออกมาจากเซลล์อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ลดลง แต่การสังเคราะห์ mRNA และ โปรตีน ยังเป็นปกติ[4,5,11] แต่อย่างไรก็ตามกลไกของ IFN-α ที่ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีในช่วง Pre-integration ก็ยังไม่ทราบแน่ชัด นอกจากนี้ IFN-α สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีโดยการยับยั้งการออกฤทธิ์ของ TNF-α (TNF-α กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี)[4]

อย่างไรก็ตาม IFN-α จะมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีได้ดีในช่วงแรกของการติดเชื้อ ซึ่งพบว่าในระยะที่โรคเอดส์รุนแรงขึ้นถึงแม้จะพบ IFN-α ในระดับสูงก็ไม่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีได้ จะพบปริมาณไวรัสในเลือดสูงด้วยเช่นกัน[5] ซึ่งเหตุที่ IFN-α ไม่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีได้นั้นเป็นผลมาจากความไม่สมดุลย์กันระหว่างไวรัสที่เพิ่มขึ้นและระบบภูมิคุ้มกันที่ถูกทำลายลง



รูปที่ 2 กลไกการควบคุมการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีโดย Cytokines หลายชนิด[12]

3) Bifunctional cytokines

Cytokines ที่สามารถกระตุ้นหรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี จากการศึกษาในหลอดทดลอง ได้แก่ Transforming growth factor(TGF)-β, IL-4, IL-10, IL-13 และ IFN-γ พบว่าการออกฤทธิ์กระตุ้นหรือยับยั้งของ Cytokines ในกลุ่มนี้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่แน่นอน เช่น ชนิดของเซลล์ และลำดับในการกระตุ้นเซลล์ ตัวอย่างเช่น

3.1 TGF-β จะกระตุ้นให้เชื้อเอชไอวีเพิ่มจำนวนได้ต่อเมื่อกระตุ้นเซลล์ (Primary T cells และ Monocytic cell lines) ก่อนด้วย TGF-β แล้วจึงให้ติดเชื้อไวรัส และจะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีเมื่อกระตุ้นเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสแล้วด้วย TGF-β ซึ่งจะไปยับยั้งการออกฤทธิ์ของ TNF-α

และ IL-6[4]

3.2 IL-10 จะมีผลกับ Mononuclear cells ส่วนจะออกฤทธิ์กระตุ้นหรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีนั้นขึ้นกับความเข้มข้นของ Cytokines ที่ใช้ เช่น ถ้ากระตุ้นเซลล์ด้วย IL-10 ความเข้มข้นสูง (10 ng/ml) จะยับยั้ง TNF-α และ IL-6 ส่งผลในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวี แต่หากใช้ IL-10 ความเข้มข้นต่ำ ก็จะกระตุ้นให้เชื้อเอชไอวีเพิ่มจำนวนมากขึ้น[5]

Chemokines คืออะไร

Chemokines เป็นกลุ่มของ Cytokines ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 8 ถึง 10 kDa ทำหน้าที่เป็น Chemotactic cytokines เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆไปยังบริเวณเนื้อเยื่อเป้าหมาย[13] และสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม โดยพิจารณาจากจำนวนและตำแหน่งของกรดอะมิโนชนิด Cysteine คือ C, CC, CXC และ CX_3C โดยที่ CXC chemokines หรือ Alpha chemokines และ CX_3C chemokines จะมีกรดอะมิโน 1 และ 3 ตัวแทรกระหว่าง Cysteine ตำแหน่งที่ 1 และ 2 ส่วน CC chemokines หรือ Beta chemokines นั้น Cysteine ทั้ง 2 ตัวแรกจะอยู่ติดกันโดยไม่มีกรดอะมิโนมาแทรกอยู่เลย ซึ่ง CC, CXC และ CX_3C chemokines นั้นจะมี 4 cysteines ในขณะที่ C chemokines นั้นจะมีเพียง 2 cysteines เท่านั้น

Chemokine receptor

การทำงานของ Chemokines จะต้องอาศัยการจับกันระหว่าง Ligand ซึ่งก็คือ Chemokine กับ Receptors ที่อยู่บนผิวเซลล์ ซึ่ง Chemokine receptors จะประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 68-120 หน่วย อยู่ในกลุ่มของ G protein-coupled receptors (GPCRs) และมีลักษณะเป็น 7 trans-membrane domains และ Chemokine receptors ส่วนใหญ่สามารถจับกับ Chemokines ได้มากกว่า 1 ligand แต่จะต้องเป็น Chemokines กลุ่มเดียวกันเท่านั้น (ยกเว้น Duffy ที่เป็นตัวกำหนด Duffy blood group เท่านั้นที่สามารถจับได้ทั้ง CC และ CXC chemokines) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 กลุ่มของ Chemokines และ Chemokine receptors แต่ละชนิด

Class	Subtype	Ligands
CC	CCR1	MIP-1α, RANTES, MCP-3, MCP-2, leukotactin 1
	CCR2	MCP-1, MCP-3, MCP-4, MCP-2
	CCR3	eotaxin, eotaxin-2, RANTES, MCP-2, MCP-3, MCP-5, MCP-4, leukotactin 1
	CCR4	TARC, MDC
	CCR5	MIP-1α, MIP-1β, RANTES, MCP-2
	CCR6	LARC
	CCR7	ELC, SLC
	CCR8	I-309, MIP-1β, TARC
	D6	MIP-1α, MCP-1, MCP-3
CXC	CXCR1	IL-8, GCP-2
	CXCR2	IL-8, GROα, GROβ, GROγ, NAP-2, ENA-78, GCP-2
	CXCR3	Mig, IP-10
	CXCR4	SDF-1
	CXCR5	BCA-1
	ECRF3	IL-8, GROα, NAP-2
CC/CXC	Duffy	IL-8, GROα, RANTES, MCP-1
	KSHV	IL-8, GROα, RANTES, MCP-1, I-309
C	Undefined	Lymphotactin
CX_3C	CX_3CR1	fractalkine / neurotactin / CX_3C chemokine

Acronyms/Abbreviations:
MCP-1/2/3: monocyte chemotactic protein; NAP: neutrophil activating protein; ENA-78: 78 amino acid epithelial cell-derived neutrophil activator; IP: interferon-inducible protein; Mig: monokine inducible by interferon.

กลไกของเชื้อไวรัสต่อระบบ Chemokine

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายนั้นต้องอาศัยการทำงานของระบบ Chemokine ในการกำจัดเชื้อจุลชีพออกจากร่างกาย แต่เนื่องจากเชื้อจุลชีพต้องการจะอาศัยอยู่ในร่างกายของโฮสท์ดังนั้นจุลชีพจึงมีวิธีต่อต้านการกำจัดของร่างกาย โดยการใช้ประโยชน์จาก Chemokine receptor เช่น เชื้อเอชไอวีจะใช้ CCR5, CXCR4, CCR2 และ Chemokine receptors อื่นๆ มาเป็น Receptor ร่วมกับ CD4 (จะกล่าวละเอียดในหัวข้อต่อไป) หรือโปรโตซัว *Plasmodium vivax* ที่ก่อให้เกิดโรคมาลาเรียก็อาศัย Duffy ในการเข้าเซลล์ หรือการทำลายฤทธิ์ของ Chemokines ไม่ให้ทำงานได้ตามปกติ เช่น Myxoma virus, Rabbitpox virus และ Vaccinia virus จะสังเคราะห์โปรตีนขนาดประมาณ 35 kDa ที่มีผลทำให้ CC และ CXC chemokines ที่สร้างออกมานั้นทำงานไม่ได้[13]

ความสำคัญของ Chemokines ต่อการติดเชื้อเอชไอวี

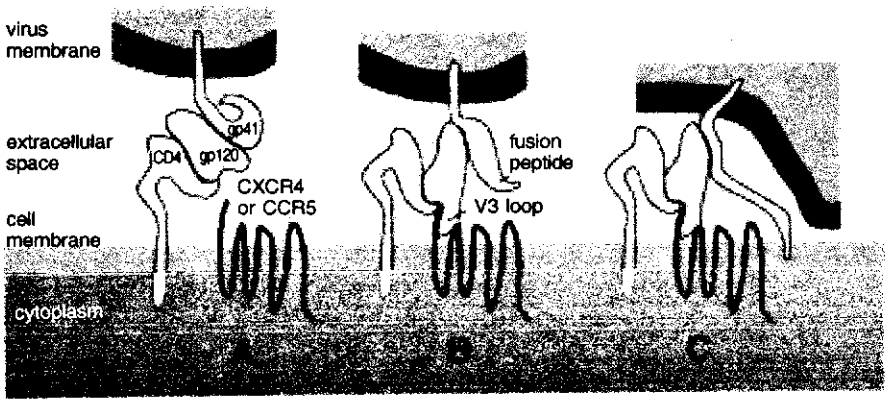
สาเหตุที่ทั้ง Chemokines และ Chemokine receptors มีความสำคัญต่อการติดเชื้อเอชไอวีและการดำเนินโรคเอดส์นั้น เกี่ยวข้องกับกลไกการเข้าสู่เซลล์ของไวรัส โดยพบว่าการจับระหว่าง gp120 ของเชื้อเอชไอวีกับ CD4 receptor บนผิวเซลล์เป้าหมาย ไม่เพียงพอที่จะทำให้ไวรัสเข้าเซลล์ได้ ซึ่งไวรัสยังต้องการ Coreceptor มาช่วยในการเข้าสู่เซลล์อีก (บางกรณีเอชไอวีสามารถเข้าเซลล์โดยไม่ต้องอาศัย CD4 และ Chemokine receptor[7]) ซึ่งเชื้อเอชไอวีจะใช้ Chemokine receptors เป็น Coreceptor และจนถึงขณะนี้ได้พบ Coreceptor ของเอชไอวีแล้วหลายชนิด ได้แก่ CXCR4 ,CCR5 ,CCR2 ,CCR3, CX_3CR1 และ Orphan receptor เช่น BOB เป็นต้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ Chemokines ที่จำเพาะกันกับ Chemokine receptors นั้นสามารถขัดขวางการเข้าเซลล์ของไวรัสได้ โดยการแย่งอนุภาคไวรัสจับกับ Chemokine receptor ซึ่งถ้าหากมี Chemokines ปริมาณมากก็จะแย่งจับได้ดี

กลไกการเข้าสู่เซลล์เป้าหมายของเชื้อเอชไอวี

การเข้าสู่เซลล์เป้าหมายของเชื้อเอชไอวีเริ่มต้นด้วยการที่อนุภาคไวรัสเข้าไปจับกับผิวเซลล์เป้าหมาย โดยอาศัยการจับระหว่างโปรตีนบนเปลือกนอกสุด (Envelope) ของไวรัส คือ gp120 กับโมเลกุล CD4 บนผิวของเซลล์เป้าหมาย (A) จากนั้นจึงเกิดการเปลี่ยนแปลง Conformation ของ gp120 ทำให้ส่วน V3 loop (Variable loops) สามารถจับกับ Chemokine receptor ได้ (B) แล้วเอ็นไซม์ Protease บนผิวเซลล์ก็จะย่อย gp120 ทำให้ gp41 ซึ่งถูกคลุมอยู่โผล่ออกมา[5] ซึ่ง gp41 จะมีบทบาทในการ Fusion (C) จึงทำให้ไวรัสเข้าสู่เซลล์ได้ โดยใช้ส่วน Nucleocapsid ผ่านเข้าไปในเซลล์ (รูปที่ 3)

ความชอบต่อเซลล์บางชนิด (Cell tropism) ของเชื้อเอชไอวี

เชื้อเอชไอวีแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถติดเชื้อในเซลล์ต่างชนิดกัน ซึ่งไวรัสสายพันธุ์ที่ติดเชื้อได้ดีใน Primary macrophage แต่ไม่ติดเชื้อใน T cell line เรียกว่า Macrophage tropic (M-tropic) strain ซึ่งมักจะแยก M-tropic strain ได้จากผู้ติดเชื้อเอชไอวีในระยะแรกหรือยังอยู่ในระยะที่ไม่แสดงอาการโรคเอดส์ และ M-tropic strain จะมีคุณสมบัติ Non-syncytium inducing (NSI) ในเซลล์ MT-2 (โดยทั่วไปจะทดสอบการเกิด Syncytium ในเซลล์ MT-2) ในขณะที่ T cell line tropic (T-tropic) strain เป็นเชื้อเอชไอวีสายพันธุ์ที่ติดเชื้อได้ดีใน T cell line แต่ไม่ติดเชื้อใน Macrophages



รูปที่ 3 กลการเข้าสู่เซลล์เป้าหมายของเชื้อเอชไอวี[14]

ซึ่งมักจะแยก T-tropic strain ได้จากผู้ติดเชื้อที่แสดงอาการโรคเอดส์แล้ว และ T-tropic strain จะมีคุณสมบัติ Syncytium inducing (SI) ซึ่งพบว่าการที่ไวรัสชอบเซลล์เป้าหมายต่างกันนั้นเกิดจากมีการเปลี่ยนกรดอะมิโนเพียงไม่กี่ตำแหน่งที่ V3 loop ของ gp120 จนทำให้เชื้อไวรัสมี Phenotype ต่างกัน[15,7]

การเลือกใช้ Chemokine receptors ของเชื้อเอชไอวี

เชื้อเอชไอวีทั้ง M-tropic strain และ T-tropic strain จะเลือกใช้ Coreceptor ต่างชนิดกันในการเข้าสู่เซลล์ เนื่องจากมีความแตกต่างของ V3 loop ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้จับกับ Chemokine receptor ซึ่ง T-tropic strain จะใช้ Chemokine receptor 'Fusin' ต่อมาได้เปลี่ยนชื่อเป็น CXC-chemokine receptor 4 (CXCR4) [(ชื่อที่ใช้เรียก CXCR4 นอกเหนือจาก Fusin ได้แก่ LESTR และ NPY3R (Systematic Human Genome Nomenclature)] เป็น Coreceptor ในการเข้าเซลล์ และสามารถพบ CXCR4 ได้บนผิวเซลล์ต่างๆ ได้แก่ Dendritic cells, Naive T-cells, Nonmemory T-cells, Fresh primary monocytes, Endothelial cells , Neutrophils และ B-cells[15] ซึ่งการที่ T-tropic strain เลือกใช้ CXCR4 เป็น Coreceptor จึงเรียก T-tropic strain อีกชื่อหนึ่งว่า 'X4 strain' ซึ่ง CXCR4 จะจับกับ Ligands ชนิด CXC chemokine ได้แก่ Stromal Cell-Derived Factor-1 (SDF-1)

ส่วน M-tropic strain นั้นจะใช้ CC-chemokine receptor 5 (CCR5) [(ชื่อเรียกอื่นๆ ได้แก่ CKR-5 และ CMKBR5 (Systematic Human Genome Nomenclature)] และจะพบ CCR5 บนผิวเซลล์ Monocytes, Dendritic cells , Activated memory T-cells , Microglia และ Tissue macrophages ได้ ซึ่งการที่ M-tropic strain ใช้ CCR5 เป็น Coreceptor ทำให้มีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า 'R5 strain' โดยปกติ CCR5 จะจับกับ Ligands ชนิด CC chemokine คือ RANTES, MIP-1α และ MIP-1β

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อเอชไอวีจะใช้ Chemokine receptors อื่นๆ เป็น Coreceptor อีก ได้แก่ CCR3 , CCR2b, CX_3CR1 และพบว่า Dual-tropic strain หรือ ' R5X4 strain' ซึ่งจะแยกได้จากผู้ติดเชื้อที่แสดงอาการของโรคไม่รุนแรงนัก

สามารถใช้ทั้ง CXCR4, CCR5, เป็น Coreceptor ในการเข้าเซลล์ได้ด้วย

บทบาทของ Chemokines และ Chemokine receptors ในการดำเนินโรคและต้านทานการติดเชื้อเอชไอวี

มีรายงานว่าการกลายพันธุ์ที่ยีนของ Chemokine receptors ที่เอชไอวีใช้เป็น Coreceptor นั้นจะทำให้โปรตีนที่สร้างออกมานั้นไม่มีการนำเสนอที่ผิวเซลล์ และการกลายพันธุ์ที่ยีนของ Chemokine ที่จำเพาะกับ Chemokine receptors ที่เอชไอวีใช้ จะทำให้มีการสร้าง Chemokines เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเป็นผลดีต่อการป้องกันไม่ให้เชื้อไวรัสเข้าเซลล์ได้หรือเชื้อเข้าเซลล์ได้น้อยลง ส่งผลให้พยาธิสภาพต่างๆก็เกิดช้าลง มีการดำเนินโรคช้าลง ทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตได้นานขึ้นด้วย

Chemokine receptors และ Chemokines ที่เกิดการกลายพันธุ์แล้วมีผลต่อการดำเนินโรคและความต้านทานต่อการติดเชื้อ ได้แก่

1. CCR5Δ32 Allele พบว่าเกิดจากมีการกลายพันธุ์ที่ส่วน Open reading frame (ORF) ของ CCR5 gene ซึ่งเกิดการ Deletion ทำให้เบสขาดหายไปจำนวน 32 คู่เบส จึงเป็นผลทำให้โปรตีนที่สังเคราะห์ออกมานั้นหายไปส่วนหนึ่งและจะไม่ปรากฏอยู่บนผิวเซลล์ โดยพบว่าเซลล์ของผู้ที่มียีนของ CCR5 ที่ผิดปกติและเป็น Homozygous mutant (Δ32/Δ32 CCR5) เมื่อทำให้ติดเชื้อ HIV-1 ในหลอดทดลองจะไม่ติดเชื้อ M-tropic strain แต่สามารถติดเชื้อ T-tropic strain ได้ และผู้ที่สัมผัสเชื้อบ่อยแต่ไม่ติดเชื้อ (Highly exposed, Non infected persons; HEPs) บางคนพบการกลายพันธุ์ของ CCR5 gene เป็นลักษณะ Homozygous Δ32 ซึ่งสันนิฐานว่าอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้คนในกลุ่มนี้ต้านทานการติดเชื้อเอชไอวี[16] และในผู้ที่ติดเชื้อแต่เป็น Heterozygous mutant (Δ32/Wt CCR5) นั้นจะมีการดำเนินโรคช้า (Slower disease progression) กว่าในผู้ติดเชื้อที่เป็น Homozygous wild-type alleles[16] โดยจะพบ CCR5Δ32 ในประชากรเชื้อสายคอเคเซียนมากในขณะที่ประชากรเชื้อสายเอเชียจะพบ CCR5Δ32 น้อยมากจนถึงไม่พบเลย

2. CCR5-m303 Allele ความผิดปกติของ CCR5 gene อีกลักษณะหนึ่งที่มีผลในการป้องกันการติดเชื้อ HIV-1 R5 strains ก็คือ CCR5-m303 ซึ่งเกิดจาก Point mutation ทำให้เบส Thymidine (T) ถูกแทนที่ด้วย Alanine (A) ที่ตำแหน่งเบสที่ 303 ดังนั้นจึงเรียกว่า m303 โดยเริ่มแรก CCR5-m303 ถูกพบจากการตรวจหา CCR5Δ32 ในผู้สัมผัสเชื้อบ่อยแต่ไม่ติดเชื้อ (HEPs) ซึ่งพบว่า CCR5 gene มีลักษณะเป็น CCR5Δ32 เพียง Allele เดียว แต่ในอีก Allele กลับพบว่ามีการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 303 ซึ่งผลของ CCR5-m303 นั้นจะทำให้เกิด Premature stop codon ขึ้นที่บริเวณ Extracellular loop แรกของ CCR5 protein เป็นผลทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ไม่ได้และไม่ปรากฏบนผิวเซลล์เช่นเดียวกับกรณี CCR5Δ32 ดังนั้นจึงทำให้ M-tropic strains ไม่สามารถใช้ CCR5 เป็น coreceptor ได้[17] ซึ่งการกลายพันธุ์ลักษณะ CCR5-m303 ร่วมกับ CCR5Δ32 จะมีผลในการต้านทานการติดเชื้อเอชไอวี การกระจายของ CCR5-m303 ที่พบในประชากรกลุ่มต่างๆในโลกนี้จะเป็นลักษณะเดียวกับ CCR5Δ32

3. CCR2-64I Allele เป็น Coreceptor ของเชื้อเอชไอวีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้น ซึ่งความผิดปกติที่เกิดขึ้นใน CCR2 gene นั้นเกิดจาก Point mutation ทำให้เบส Guanine (G) ถูกแทนที่ด้วยเบส Alanine (A) ที่ตำแหน่งเบสที่ 190 เป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนเดิมคือ

Valine กลายเป็น Isoleucine ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 64 จึงเรียก Point mutation นี้ว่า CCR2-64I และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะเกิดตรงบริเวณส่วนที่เป็น Transmembrane domain แรกของ Receptor โดยกลไกของ CCR2-64I ในการต้านทานการติดเชื้อเอชไอวีนั้นยังไม่แน่ชัด แต่มีข้อสันนิฐานว่าอาจจะเป็นกลไกในทางอ้อมผ่าน Intracellular interactions ของ CCR2 protein ที่ถูกสร้างขึ้นมาอย่างผิดปกติ กับ Chemokine receptors อื่นๆ หรืออาจจะเกิดจากผลของความผิดปกติอื่นๆที่ยังไม่ถูกค้นพบภายใน CCR gene ที่อยู่บนโครโมโซมคู่เดียวกับ CCR2 แต่อย่างไรก็ดี Point mutation ของ CCR2 ที่เกิดขึ้นจะเกี่ยวกับระยะเวลาการดำเนินโรค โดยผู้ที่มี CCR2-64I ไม่ว่าจะเป็น Homozygous (64I/64I) หรือ Heterozygous (64I/Wt) ก็จะมีระยะที่ไม่มีอาการของโรคเอดส์นานกว่าผู้ที่เป็นปกติ (Wt/Wt) 2-3 ปี และการกระจายของ CCR2-64I ในประชากรกลุ่มต่างๆในโลกนั้น แตกต่างจากการกระจายของ CCR5Δ32 คือจะไม่การกระจายตัวมากอยู่ในประชากรเชื้อชาติใดเชื้อชาติหนึ่ง แต่จะมีการกระจายอยู่ทั่วๆ ไปในประชากรทุกกลุ่ม โดยจะมี Allele frequency อยู่ตั้งแต่ 10-26% ของประชากรแต่ละเชื้อชาติในโลก[18]

4. SDF-1-3'A Allele เป็น Ligand ของ CXCR4 และเป็น CXC chemokine ชนิดหนึ่ง ซึ่งยีนที่ควบคุมการสร้าง SDF-1 protein อยู่บนโครโมโซม คู่ที่ 10q11.1 โดยหน้าที่ตามปกติของ SDF-1 นั้นก็คือ จะเป็น Ligand จับกับ CXCR4 ซึ่งเป็น Coreceptor ของ HIV-1 ชนิด T-tropic viruses ดังนั้น SDF-1 จึงมีบทบาทอยู่ในช่วงท้ายของการติดเชื้อ (Late stage HIV-1 infection) ในการแย่งจับ CXCR4 กับ X4 HIV-1 strains ดังนั้น SDF-1 จึงมีบทบาทสามารถยับยั้งการจับกับ CXCR4 coreceptor ของไวรัสได้ ส่วน SDF-1-3'A นั้นเกิดจาก Point mutation ที่ส่วน 3' untranslated region (UTR) โดยเกิดการแทนที่เบส Guanine (G) เป็น Alanine (A) ที่ตำแหน่งเบสที่ 809 ในส่วน 3' UTR ซึ่งลักษณะ SDF-1-3'A นี้จะพบมากในประชากรแถบเอเชีย (26%) คอเคเชียน (21%) และพบน้อยในประชากรแอฟริกัน-อเมริกัน (6%)[19] โดยจะพบ SDF-1-3'A allele ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่แสดงอาการโรคเป็นเวลานาน (Long-term nonprogressors; LTNPs) ได้มากกว่าผู้ติดเชื้อในกลุ่มอื่นๆ ซึ่งผู้ที่มียีน SDF-1-3'A จะไม่ต้านทานการติดเชื้อ แต่คาดว่าน่าจะทำให้การดำเนินโรคทำให้ช้าลง

5. CX_3CR1- I249 M280 เป็น Receptor สำหรับ Chemokine fractalkine และจะพบอยู่ได้บนเซลล์บางชนิดได้แก่ Neutrophils, Monocytes, T lymphocytes และพบในเซลล์ในบางอวัยวะ เช่น ในสมอง[20] โดยพบว่า CX_3CR1 นั้นเป็น Coreceptor สำหรับการเข้าเซลล์ของเชื้อเอชไอวีบางสายพันธุ์ และสามารถถูกยับยั้งได้โดย Fractalkine[21] และการแทนที่เบส Guanine (G) เป็น Alanine (A) ใน CX_3CR1 gene จะทำให้กรดอะมิโน Valine ที่ตำแหน่ง 249 เปลี่ยนเป็น Isoleucine และการแทนที่เบส Cytocine(C) เป็น Thymidine (T) ทำให้กรดอะมิโน Threonine ที่ตำแหน่ง 280 เปลี่ยนเป็น Methionine ซึ่งผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีลักษณะ Homozygous CX_3CR1- I249 M280 พบว่ามีการดำเนินโรคเร็วกว่าผู้ที่ไม่มี[21]

เมื่อไม่นานมานี้ได้พบการกลายพันธุ์ของ RANTES gene ในส่วน Promoter ซึ่งมีผลส่งเสริมให้ติดเชื้อเอชไอวีมากขึ้น ในขณะเดียวกันก็ช่วยไม่ให้มีการแสดงอาการของโรค ซึ่งพบในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่แสดงอาการโรคเป็นเวลานาน (LTNPs)[22] และพบการกลายพันธุ์ของ MIP-1α gene ซึ่งในขณะนี้ยังไม่มีข้อสรุปว่ามีผลต่อการ

ต้านทานการติดเชื้อเอชไอวีหรือไม่[23] (RANTES และ MIP-1α เป็น Ligand ของ CCR5 ที่สามารถยับยั้งการเข้าเซลล์ของเชื้อเอชไอวีได้)

ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้จึงยังมีความจำเป็น และเป็นที่สนใจของผู้ที่ศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อเอชไอวี เพื่อนำไปสู่การตอบคำถามต่างๆ ในเรื่องการดำเนินของโรคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Mitsuyasu RT. The potential role of interleukin-2 in HIV. AIDS 2001; 15 (suppl 2): S22-S27.
2. Thomson AW. The Cytokine Handbook. 2nd ed, London : Academic Press,1994: 4-5.
3. Levy JA. The importance of the innate immune system in controlling HIV infection and disease. Trends Immunol 2001; 22: 312-6.
4. Balows A, Sussman M, Collier L. (eds). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial infections. 9th ed, London : Arnold, 1998 :193-210.
5. Merigan TC, Baetlett JG, Bolognesi D. Textbook of AIDS Medicine. 2nd ed, Baltimore : Williams and Wilkins, 1999.
6. Rossol S, Gianni G, Rossol-Voth R, *et al.* Cytokine-mediated regulation of monocyte/macrophage cytotoxicity in human immunodeficiency virus-1 infection. Med Microbiol Immunol 1992 ;18 :267-81.
7. จันทพงษ์ วะสี (บรรณาธิการ). การประมวลและสังเคราะห์องค์ความรู้การวิจัย การติดเชื้อเอชไอวีและโรคเอดส์ ด้านชีววิทยาการแพทย์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์อักษรสมัย, 2541.
8. Popik W, Pitha PM. Role of tumor necrosis factor alpha in activation and replication of the tat-defective human immunodeficiency virus type 1. J Virol 1993 ; 67: 1094-9.
9. Haynes BF, Pantaleo G, Fauci AS. Toward an understanding of the correlates of protective immunity to HIV infection. Science 1996 ; 271 : 324-8.
10. Shirazi Y, Pitha PM. Interferon alpha-mediated inhibition of human immunodeficiency virus type 1 provirus synthesis in T-cells. Virology 1993 ;193 :303-12.
11. Shirazi Y, Pitha PM. Alpha interferon inhibits early stages of the human immunodeficiency virus type 1 replication cycle. J Virol 1992 ;66 :1321-8.
12. Broder S, Merigan TC, Bolognesi D. Textbook of AIDS Medicine. Baltimore : Williams and Wilkins, 1994.
13. Pease JE, Murphy MP. Microbial corruption of the chemokine system: An expanding paradigm. Sem Immunol 1998; 10: 169-78.
14. University of Leicester. (2001). "Who get AIDS ?" (online). 6th August. Available http://www.micro.msb.le.ac.uk/335/AIDSII.html (1 October 2001)
15. Toronto General Hospital. (2001). "Information on HIV"(online). Available http://www.tthhivclinic.com/(1 October 2001)
16. McNicholl JM, Smith DK, Quari SH, *et al.* Host gene and HIV: The role of the

chemokine receptor gene CCR5 and Its allele (Δ32 CCR5). Emerg Infect Dis 1997; 3: 261-71.

17. Quillent C, Oberlin E, Braun J, *et al.* HIV-1-resistence phenotype conferred by combination of two separate inherited mutations of CCR5 gene. Lancet 1998; 351: 14-8.
18. Nookhai S, Ruxrungtham K, Phanuphak P, *et al.* Prevalence of CCR2-64I, SDF1-3'A and CCR5- Δ32 alleles in healthy Thais. Euro J Immunogen 2000; 27: 153-7.
19. Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: Roles in viral entry, tropism, and disease. Annu Rev Immunol 1999; 17: 657-700.
20. Combadiere C, Salzwedel K, Smith ED, *et al.* Identification of CX_3CR1. A chemotactic receptor for the human CX_3C chemokine fractalkine and a fusion coreceptor for HIV-1. J Biol Chem 1998 ; 273: 23799 -804.
21. Faure S, Meyer L, Costagliola D, *et al.* Rapid progression to AIDS in HIV+ individuals with a structural variant of the chemokine Receptor CX_3CR1. Science 2000 ; 287 : 2274-7.
22. Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: a versatile and controversial chemokine. Trends Immunol 2001; 22: 83-7.
23. Xin X, Nakamura K, Liu H, *et al.* Novel polymorphisms in human macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) gene. Genes Immun 2001; 2:156-8.
24. Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA. AIDS. 4th ed, Philadelphia : Lippincott-Raven, 1997.
25. University of Leicester. (2001). "Who get AIDS?"(online). 6th August. Available http://www.micro.msb.le.ac.uk/335/AIDSII.html (1 October 2001)