

บันทึก

วัคซีน ดีเอ็นเอ DNA Vaccination

วัชร กสิณฤกษ์*

การให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน นับเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพอย่างมากในการกำจัดและป้องกันโรคร้ายต่างๆ วัคซีนที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ 1) killed vaccine 2) subunit vaccine และ 3) live attenuated vaccine ปัจจุบันวัคซีนทั้ง 3 ชนิด ถึงแม้จะถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตามวัคซีนเหล่านี้ก็ยังมีข้อจำกัดอยู่ กล่าวคือ killed vaccine และ subunit vaccine ส่วนใหญ่มักจะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิด humoral immunity และ helper T cells แต่ไม่สามารถกระตุ้น cytotoxic T cells หรือ CTL response ได้ ทำให้วัคซีนชนิดนี้ไม่ค่อยได้ผลกับโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจำพวก intracellular microorganism ในขณะที่ live attenuated vaccine สามารถกระตุ้นได้ทั้งระบบภูมิคุ้มกันชนิด humoral immunity, helper T cells และ cytotoxic T cells¹ แต่วัคซีนชนิดนี้อาจทำให้เกิดโรคได้กับผู้รับวัคซีนโดยเฉพาะกับผู้ที่มีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือเนื่องจากการกลายพันธุ์กลับสู่สภาพที่ก่อโรคได้² ดังนั้นวัคซีนที่ดีที่สุดควรจะประกอบด้วยข้อดีของทั้ง killed และ live attenuated vaccine เข้าด้วยกัน คือกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิด humoral immunity

และ cellular immunity และไม่ต้องใช้ตัวเชื้อโรคที่ยังมีชีวิตเป็นวัคซีน จากแนวคิดดังกล่าวทำให้นักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่ม ทั้งในสหรัฐอเมริกาและในยุโรปศึกษาอย่างจริงจังเพื่อพัฒนาวิธีการให้วัคซีนที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเดิม และโดยอาศัยความรู้ทาง molecular biology และ immunology จนในที่สุด (เมื่อประมาณ 5-6 ปี ที่ผ่านมา) ก็ได้พบวิธีการหรือเทคนิคใหม่ ที่เรียกว่า DNA vaccination หรือ DNA immunization หรือ DNA-mediated immunization ที่น่าจะเป็นวิธีการที่จะบรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าว¹⁻⁴

หลักการของวิธี DNA vaccination

DNA vaccination หรือ DNA immunization เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการคือ เมื่อนำยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนใดๆ ที่สนใจไปเชื่อมต่อใน plasmid vector ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ยีนที่เชื่อมต่อนั้นจะแสดงออกโดยการสร้าง encoded protein ออกมา ซึ่งถ้าการแสดงออกของยีนดังกล่าวเกิดขึ้นในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และถ้า encoded protein นั้นๆ มีคุณสมบัติเป็น antigenic protein ก็จะไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและทำให้ร่างกายเกิดภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อโปรตีนนั้นๆ ได้

*ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จากหลักการดังกล่าวนี้ นักวิจัยหลายกลุ่มสามารถนำเอาวิธี DNA vaccination มาประยุกต์ใช้เพื่อการป้องกันรักษาโรคและประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตแอนติบอดีเพื่อใช้งานได้

กลไกการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยวิธี DNA vaccination

กลไกการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยวิธี DNA vaccination ยังไม่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามเชื่อว่าน่าจะมีกลไกดังนี้คือ เมื่อฉีด DNA ที่กำหนดการสร้างโปรตีนที่สนใจและเชื่อมต่ออยู่ใน plasmid vector ที่เหมาะสมเข้าสู่ร่างกาย Plasmid DNA จะเข้าสู่เซลล์เป้าหมายซึ่งอาจเป็นเซลล์กล้ามเนื้อหรือเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยอาศัย transcription และ translation mechanism ของเซลล์ ยีนที่แทรกอยู่ใน plasmid vector จะถูกสร้างเป็น antigenic protein จะเห็นว่า antigenic protein ที่ถูกสร้างขึ้นมานี้จะถูกสร้างภายในเซลล์ ดังนั้นจึงถูก process และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเช่นเดียวกับ endogenous antigen ทั่วๆ ไป กล่าวคือ antigenic protein จะถูก process เป็น peptide antigen ขนาดเล็กภายใน cytoplasm และส่งไปจับ major histocompatibility complex (MHC) class I จากนั้นจะถูกส่งไปบนผิวเซลล์ เพื่อกระตุ้น cytotoxic T cells เกิด CTL response^{1,4,5}

Antigenic protein ส่วนหนึ่งจะถูกปล่อยออกนอกเซลล์หรือแทรกอยู่บนเซลล์เมมเบรน (ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนนั้นๆ) ซึ่ง antigenic protein นี้จะถูก process และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเช่นเดียวกับ exogenous antigen คือถูก process โดย antigen presenting cells และส่งไปกระตุ้น helper T cells และ B cells เพื่อก่อให้เกิดการตอบสนองทาง humoral immunity^{1,6}

Plasmid vector ที่ใช้ในงาน DNA vaccination

ดังได้กล่าวมาแล้วว่าในงาน DNA vaccination จำเป็นต้องมีการเชื่อมต่อยีนที่สนใจเข้ากับ plasmid vector ที่เหมาะสมเพื่อควบคุมการแสดงออกของยีน โดยทั่วไป plasmid vector ที่ใช้ในงาน DNA immunization ควรประกอบด้วยส่วนต่างๆ⁷ คือ 1) transcriptional promotor (สำหรับ eukaryotic cells) 2) enhancer element ทำหน้าที่เพิ่มกระบวนการ gene expression ส่วนนี้อาจจะมีหรือไม่มีก็ได้ 3) ส่วนของยีนที่กำหนดการสร้าง antigenic protein ที่สนใจ 4) RNA-processing elements ได้แก่ polyadenylation signal และ intron element นอกจากนี้ plasmid vector ยังควรประกอบด้วย bacterium-specific genetic sequences 2 ชนิดได้แก่ antibiotic selectable marker และ bacterium origin of replication โดยทั้ง 2 ส่วนนี้มีประโยชน์ในการเตรียม DNA ให้ได้ปริมาณมากๆ ในแบคทีเรีย จากคุณสมบัติของ plasmid DNA ดังกล่าวนี้ ทำให้เมื่อฉีดเข้าไปในร่างกาย ยีนที่แทรกอยู่ใน vector จะแสดงออกโดยสร้างเป็นโปรตีนโดยอาศัย transcription และ translation mechanisms ปกติของร่างกาย

การประยุกต์ใช้วิธี DNA immunization

จากหลักการของวิธี DNA vaccination ดังกล่าว ทำให้นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าวิธีนี้น่าจะสามารถนำมาแทนวัคซีนที่มีใช้กันในปัจจุบัน จึงได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในสัตว์ทดลองทั้งในหนู, กระต่าย, หมู, วัว, ลิง และมนุษย์ ในโรคต่างๆ เช่น Influenza, Hepatitis B, Hepatitis C, Malaria, Tuberculosis, Leishmaniasis, Cancer และ AIDS^{1,7,8} นอกจากนี้ยังมีการนำวิธี DNA immunization มาประยุกต์ใช้ในการผลิตแอนติบอดีต่อโปรตีนที่สนใจ^{9,10}

ข้อดีและข้อด้อยของวิธี DNA vaccination

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าวิธี DNA vaccination มีข้อดีหลายประการเมื่อเทียบกับวัคซีนที่ใช้อยู่ในปัจจุบันคือ 1) DNA vaccine สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันทั้งชนิด cellular immunity และ humoral immunity 2) การเตรียม DNA ทำได้ง่าย และ DNA ที่เตรียมได้มีความคงตัวสูง 3) สามารถเตรียมเป็น recombinant vaccine โดยการแทรกยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนของเชื้อโรค 2 ชนิดเข้าไปใน vector อันเดียวกัน ทำให้การฉีดวัคซีนเพียงครั้งเดียวได้ผลกับโรค 2 ชนิด

ปัญหาที่ยังเป็นที่กังวลกันอยู่ในปัจจุบันในการนำ DNA vaccine ไปใช้คือความปลอดภัย มีคำถามต่างๆ มากมายต่อการนำ DNA vaccine ไปใช้ เช่น 1) DNA ที่ให้เข้าไปอาจไปแทรกอยู่รวมกับโครโมโซมของผู้รับ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธุกรรม 2) Viral promotor และ mammalian หรือ viral terminator และ polyadenylation signals ที่ใช้ควบคุม gene expression ใน vector จะมีผลต่อยีนในโครโมโซมของผู้รับหรือไม่ 3) Antibiotic resistant genes ที่ใช้ใน vector จะมีผลอย่างไรกับผู้รับ 4) Plasmid DNA กระตุ้นให้ร่างกายสร้าง anti-DNA antibodies หรือไม่ และ 5) สารเคมีต่างๆ ที่ใช้เตรียม DNA เป็นพิษต่อผู้รับหรือไม่ คำถามต่างๆ เหล่านี้กำลังอยู่ในระหว่างการศึกษอย่างเร่งรีบ เพื่อหวังว่า DNA vaccination น่าจะเป็นหนทางหนึ่งที่จะนำมาใช้ต่อสู้กับโรคร้ายต่างๆ ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Davis HL, Whalen RG. DNA-based immunization. In : Dickson G (ed), Molecular and Cell Biology of Human Gene Therapeutics. London : Chapman and Hall, 1995 : 368-87.
2. Ertl HCJ, Xiang Z. Novel vaccine approaches. J Immunol 1996; 156: 3579-82.
3. Fynan EF, Webster RG, Fuller DH, Haynes JR, Santoro JC, Robinson HL. DNA vaccines: a novel approach to immunization. Int J Immunopharmacol 1995; 17: 79-83.
4. McDonnell WM, Askari FK. DNA vaccines. New Eng J Med 1996 ; 334: 42-5.
5. Corr M, Lee DJ, Carso DA, Tighe H. Gene vaccination with naked plasmid DNA : mechanism of CTL priming. J Exp Med 1996; 184: 1555-60.
6. Neefjes JJ, Ploegh HL. Intracellular transport of MHC class II molecules. Immunol Today 1992; 13: 179-84.
7. Volgel FR, Sarver N. Nucleic acid vaccine. Clin Microb Rev 1995; 8: 406-10.
8. Donnelly JJ, Umer JB, Lui MA. Immunization with DNA. J Immunol Methods 1994; 176: 145-52.
9. Robinson WH, Prohaska, SS, Santoro, JC, Robinson HL, Parnes JR. Identification of a mouse protein homologous to the human CD6 T cell surface protein and sequence of the corresponding cDNA. J Immunol 1995; 155: 4739-48.
10. Kasinrerk W, Tokrasinwit N, Piluk Y. Production of mouse anti-CD4 antibodies by DNA-based immunization. Asian Pacific J Allerg Immun 1996; (in press).