Major Review
Gene Therapy in Retinal disease

นายแพทย์ภิวัฒก์ พิพัฒน์นรเศรษฐ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ณวพล กาญจนารัณย์
ภาควิชาจักษุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การรักษาโดยใช้ยีนในโรคจอตา (Gene Therapy in Retinal disease)

ยีนกับการเกิดโรค (Gene and the disease)[4]

ร่างกายมนุษย์ประกอบด้วยเซลล์หลายพันล้านเซลล์ ซึ่งมีหน้าที่การทำงานที่แตกต่างกัน แต่ละเซลล์มีหน่วยพันธุกรรมคือโครโมโซม 23 คู่ ซึ่งได้รับการพ่อและแม่อย่างละครึ่งหนึ่ง โครโมโซมเหล่านี้ทำหน้าที่ถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมไปสู่สมาชิกรุ่นต่อไป องค์ประกอบของโครโมโซมคือสาร deoxyribonucleic acid (DNA) ซึ่งเรียงตัวในรูปแบบเกลียวคู่ DNA ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์โดยควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนต่างๆ ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างเซลล์

ยีน (gene) หมายถึงลำดับเฉพาะของเบสในโครโมโซมที่เป็นตัวควบคุมการสังเคราะห์โปรตีน ความผิดปกติหรือการกลายพันธุ์ (mutation) ในตำแหน่งที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนจะส่งผลต่อการสร้างโปรตีน ได้แก่ การสังเคราะห์โปรตีนไม่ได้ การสังเคราะห์โปรตีนได้น้อยลง หรือโปรตีนที่ผิดปกติไป ความผิดปกติเหล่านี้จะนำไปสู่การทำงานของเซลล์และอวัยวะที่ผิดปกติ และนำไปสู่การเกิดโรคต่อไป ความผิดปกติเหล่านี้ถ้าเกิดในเซลล์สืบพันธุ์จะทำให้สามารถถ่ายทอดความผิดปกติดังกล่าวไปยังลูกหลานรุ่นต่อๆไปได้เกิดเป็นโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม (Inherited disease)

สามารถแบ่งโรคที่เกิดจากความผิดปกติของยีนได้เป็น

- Chromosomal disease ความผิดปกติของทั้งโครโมโซม หรือส่วนของโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ โรคในกลุ่มนี้มักมีความปกติที่หลายยีน ทำให้เกิดอาการผิดปกติของหลายระบบของร่างกาย ตัวอย่างได้แก่ Down syndrome ที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21
- Single-gene disorders เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของยีนใดยีนหนึ่งเพียงยีนเดียว ความผิดปกติจะเกิดขึ้นจากการทำงานของโปรตีนที่ผิดปกตินั้น เช่น โรค sickle cell disease
- Multifactorial disease โรคที่เกิดจากความผิดปกติหรือการกลายพันธุ์หรืออาจมีปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมมาเกี่ยวข้องด้วย เช่น โรค เบาหวาน
- Mitochondrial disease โรคที่เกิดจากความผิดปกติของการกลายพันธุ์ของยีนที่อยู่ใน mitochondria ซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของเซลล์

การรักษาโดยใช้ยีน (gene therapy)[1]

การรักษาโดยใช้ยีน หรือยีนบำบัด (gene therapy) หมายถึงเทคนิคการรักษาโรคโดยการแก้ไขความผิดปกติของยีนซึ่งสามารถกระทำได้โดย

- การเปลี่ยนแปลงหรือการใส่ยีนที่ปกติเข้าไปเพื่อทดแทนยีนที่ผิดปกติ (replacement)

- การทำให้ยีนที่ผิดปกตินั้นหยุดทำงาน (knocking out)

- การใช้ยีนที่สร้างโปรตีนบางชนิดเข้าไปเพื่อสร้างโปรตีนบางอย่างเพื่อการรักษาโรค (introducing a new gene)

ประวัติการใช้ยีนในการรักษาโรค[8]

- ค.ศ. 1950 โครงสร้างของ DNA ถูกค้นพบโดย Dr.Watson และ Dr.Crick

- ประมาณปี ค.ศ. 1960 แนวคิดของการรักษาโดยใช้ยีนเริ่มที่จะถูกพูดถึง

- ค.ศ. 1970 มีการตีพิมพ์บทความ 'Gene therapy for human genetic disease' โดย Dr.Friedman and Rublin

- ค.ศ. 1990 การศึกษาการใช้ยีนรักษาในมนุษย์ครั้งแรกมีขึ้น ที่ National Institutes of Health, ประเทศสหรัฐอเมริกา โดย Dr.Blaeser และคณะ เป็นการศึกษาในโรคความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน

- ค.ศ. 2003 จีนกลายเป็นประเทศแรกในโลกที่รับรองการรักษาด้วยยีนในมนุษย์ โดยเป็นการรักษา squamous cell carcinoma

- ค.ศ. 2012 สหภาพยุโรปรับรองการรักษาด้วยยีนครั้งแรก ใช้ในการรักษาโรค lipoprotein lipase deficiency

การรักษาด้วยยีนกับโรคตา

การรักษาด้วยยีนในโรคทางตานั้นเป็นหนึ่งในหัวข้อที่มีการศึกษาไปอย่างมาก เนื่องจากตามีลักษณะที่เอื้อประโยชน์ต่อการใช้การรักษาด้วยยีนอันได้แก่[8]

- ตาเป็นอวัยวะที่มีขนาดเล็ก มีการแบ่งแยกเป็นส่วน และสามารถที่จะนำการรักษาเข้าไปยังเฉพาะส่วนได้

- ตาเป็น immuno-privilege organ ทำให้มีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อการรักษาน้อย

- มีโรคทางตาที่ปัจจุบันสามารถจำแนกความผิดปกติทางยีนที่เป็นสาเหตุได้

องค์ประกอบของการรักษาด้วยยีน[1]

การรักษาด้วยยีนโดยทั่วไปคือการใส่ยีนใหม่เข้าไปเพื่อแก้ไขความผิดปกติของยีนที่ทำให้เกิดโรค ดังนั้นองค์ประกอบในการรักษาด้วยยีนจึงประกอบด้วย

- เซลล์เป้าหมาย (target cell)

- รหัสพันธุกรรมที่ต้องการ

- พาหะ (carrier)

- วิธีในการส่งพาหะเข้าไปที่เซลล์เป้าหมาย (method of delivery)

เซลล์เป้าหมาย (Target cell)

การรักษาด้วยยีนแบ่งตามเซลล์เป้าหมายได้ 2 ประเภท คือ Germ line therapy และ Somatic cell therapy ในปัจจุบันศึกษาการทำ somatic cell therapy เป็นหลัก ซึ่งการทำ somatic cell therapy นั้นมีวิธีการทำได้ 2 วิธีได้แก่ วิธี indirect (ex vivo method) โดยการนำเซลล์ออกจากร่างกายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายนอกแล้วจึงนำเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางยีนนั้นใส่กลับเข้าไป และวิธี direct (In vivo method) คือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในร่างกายโดยตรง

ในโรคของจอตา การรักษาโดยยีนมีเซลล์เป้าหมายส่วนใหญ่ที่ เซลล์รับภาพ (Photoreceptor - PR) เซลล์ retinal pigmented epithelium - RPE

พาหะ (Carrier)

ปกติแล้ว DNA เป็นสารโมเลกุลขนาดใหญ่จะไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปสู่ในเซลล์ได้โดยตรง การรักษาโดยยีนจึงต้องมีพาหะที่จะพา DNA เข้าไปซึ่งแบ่งออกได้เป็น

1. พาหะที่ไม่ใช่ไวรัส (non viral carrier) คือ การใช้วิธีทางกลหรือทางเคมีในการนำสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์ วิธีเช่นการใช้อุปกรณ์ gene gun, การใช้ electroporation หรือ iontophoresis วิธีต่างๆนี้มีข้อดีคือ มีปฏิกิริยาทางระบบภูมิคุ้มกันน้อยกว่า และสามารถนำยีนเข้าสู่เซลล์เป้าหมายได้ในปริมาณมาก

2. ไวรัสพาหะ (viral carrier) การใช้ไวรัสพาหะเป็นที่นิยมมากกว่าในการศึกษาทางจักษุวิทยา โดยอาศัยคุณสมบัติของไวรัสที่มีการติดเชื้อเซลล์เป้าหมายแล้วจะมีการถ่ายทอดสารพันธุกรรม และมีการสร้างโปรตีนเพื่อเพิ่มจำนวนไวรัสต่อไป ไวรัสที่ใช้เป็นไวรัสที่มีการดัดแปลงให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างจากไวรัสในธรรมชาติ คือ ไม่ทำให้เกิดโรค กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันน้อยกว่าปกติ ปัจจัยที่ต้องพิจารณาในการใช้ไวรัสชนิดใดนั้นขึ้นกับ เซลล์เป้าหมายที่ไวรัสนั้นทำงานได้ ขนาดของรหัสพันธุกรรมที่สามารถใส่ได้ในไวรัสแต่ละชนิด

ในปัจจุบันการศึกษาการรักษาด้วยยีนนิยมใช้ไวรัส 2 ชนิดคือ Adeno-associated virus- AAV, และ lentivirus-LVs, ในปัจจุบัน AAVs เป็นไวรัสพาหะที่นิยมใช้มากที่สุดเนื่องจากมีข้อดีหลายประการคือ ขนาดไวรัสมีขนาดเล็ก สามารถมีเป้าหมายเป็นเซลล์ได้หลายชนิดในจอตา ทำให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่ำ มีผลการศึกษาพบว่าปลอดภัย รวมถึงลักษณะของรหัสพันธุกรรมจาก AAV จะไม่มีการรวมกับ DNA ของเซลล์เป้าหมาย ทำให้เกิดกลายพันธุ์ในเซลล์เป้าหมายได้ต่ำ

วิธีการส่งพาหะไปยังเซลล์เป้าหมาย (method of delivery)[1]

ในการศึกษาการรักษาด้วยยีนในโรคจอตา วิธีในการส่งพาพะเข้าสู่เป้าหมาย 2 วิธี ได้แก่ การฉีดเข้าไปในช่องวุ้นน้ำตา (intravitreal injection) และการใส่ไปใต้ชั้นจอตา (subretinal injection) การฉีดเข้าไปในช่องวุ้นน้ำตานั้นมีข้อดีคือ ทำได้ง่าย และมีโอกาสเกิดผลแทรกซ้อนต่ำว่า แต่มีข้อเสียคือโอกาสที่ไวรัสจะเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย โดยเฉพาะ RPE และ photoreceptor นั้นยากกว่า เนื่องจากมีโครงสร้างชั้นต่างๆของจอตาเป็นตัวกีดขวาง

การฉีดเข้าใต้จอตา เป็นเทคนิคที่ยากกว่าการฉีดเข้าช่องวุ้นลูกตา แต่มีข้อเหนือกว่าคือไวรัสที่ฉีดเข้าไปสามารถเข้าไปสู่ RPE และ photoreceptor ได้โดยตรง การทำ subretinal injection อาจทำผ่านชั้นวุ้นลูกตาและจอตา (transvitreal transretinal approach) หรือทำผ่านชั้น choriocappilaris ก็ได้

การศึกษาการใช้ยีนบำบัดในโรคจอตา

ในปัจจุบันการใช้ยีนบำบัดยังไม่ได้เป็นการรักษามาตรฐานในการโรคจอตา การศึกษาส่วนใหญ่อยู่ในช่วงการทดลองทางคลีนิค (clinical trial) เราสามารถแบ่งโรคจอตาที่มีการศึกษาการรักษาด้วยยีนได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มโรคที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (inherited disease) และกลุ่มที่ไม่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (non-inherited disease)

การศึกษาการรักษาด้วยยีนในโรคจอตาที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรม

Inherited retinopathy เป็นกลุ่มโรคที่เกิดความผิดปกติของจอตานำไปสู่การสูญเสียการมองเห็นโดยเฉพาะในกลุ่มประชากรอายุน้อย มักเกิดความผิดปกติของยีนใดยีนหนึ่งเพียงตำแหน่งเดียว (monogenic disease) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นมักเกิดในชั้น photoreceptor หรือ RPE การศึกษาในปัจจุบันพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในกลุ่มนี้มากกว่า 150 ชนิด

โรคในกลุ่มนี้ทำให้เกิดกลุ่มอาการทางคคลีนิคได้หลายอย่างที่พบได้บ่อยได้แก่ Retinitis pigmentosa-RP, Leber congenital amouresis-LCA, Stargardt's disease-STGD, achromatopsia โรคในกลุ่มเหล่านี้ในปัจจุบันยังไม่พบการรักษาที่ทำให้หายขาดได้

Retinitis pigmentosa-RP [1, 2]

Retinitis pigmentosa – RP เป็นชื่อที่ใช้เรียกกลุ่มโรคที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่มีลักษณะการสูญเสียหรือการตายของ photoreceptor ลักษณะการดำเนินของโรคจะเป็นมากขึ้นเรื่อยๆ ทำมีลักษณะอาการทางคลีนิคที่มีลักษณะการสูญเสียลานสายตา และลักษณะการตรวจคลื่นไฟฟ้าจอตา (Electroretinora; ERG) ที่ผิดปกติไป

เนื่องจาก RP เป็นคำทีใช้นิยามกลุ่มโรคที่มีลักษณะดังกล่าว ลักษณะทางคลีนิคจึงมีความแตกต่างกันไปได้มาก แต่สามารถแบ่งแยกย่อยออกไปได้ 2 กลุ่ม คือ primary RP หมายถึงกลุ่มโรคที่มีความผิดปกติที่จอตาเพียงอย่างเดียวโดยไม่มีความผิดปกติของอวัยวะอื่นๆ ร่วมด้วย และ syndromic RP หรือ secondary pigment retinopathy หมายถึงลักษณะที่มีอาการและความผิดปกติของจอตาร่วมกับความผิดปกติของอวัยวะหรือระบบอื่นๆ ร่วมด้วย

โรค RP เป็นโรคที่มีอุบัติการณ์แตกต่างกันไปในแต่ละการศึกษา โดย primary RP นั้นมีอุบัติการณ์ประมาณ 1:5000 การศึกษาในปัจจุบันพบยีนที่มีการเกี่ยวข้องการเกิด RP มากกว่า 50 ชนิด และมีรูปแบบการกลายพันธุ์ได้มากกว่า 100 แบบ

ถ้าแบ่งแยกโดยรูปแบบของการถ่ายทอด(Mode of inheritant) แล้ว RP เป็นโรคที่พบรูปแบบการถ่ายทอดทั้ง 4 รูปแบบ โดย Autosomal dominant RP (ADRP) พบได้ประมาณ 10-20% แล้วแต่การศึกษา Autosomal recessive RP (ARRP) พบได้ประมาณ 20%), X-linked RP (XLRP) พบได้ตั้งแต่ 10-25 % และอาจจะพบในบางคนที่ไม่มีประวัติของครอบครัวเป็นโรคมาก่อนก็ได้ ซึ่งอาจจะเป็น Autosomal recessive RP หรือ Autosomal dominant หรือ X-linked RP ที่มี incomplete penetrance ก็ได้

การศึกษาการใช้ยีนรักษาในผู้ป่วย Retinitis pigmentosa 5

1. MERTK-associated autosomal recessive retinitis pigmentosa

The mer receptor tyrosine kinase (MERTK) เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในกระบวนการ phagocytosis ส่วนของเซลล์รับภาพ (outer segment of photoreceptor) ความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนนี้จะทำให้ RPE ไม่สามารถที่ย่อยสลายส่วนของเซลล์รับภาพได้ ทำให้เกิดการสะสมของเศษซากดังกล่าว ซึ่งจะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของจอตา และการตาย (apoptosis) ของเซลล์รับภาพในที่สุด

MERTK associated ARRP นี้เป็นโรคที่พบได้น้อย พบส่วนใหญ่ในประชากรกลุ่มตะวันออกกลาง และหมู่เกาะฟาโร (Faroe Island) การศึกษาในสัตว์ทดลองคือหนู โดยใช้ไวรัสพาหะเป็น adenovirus, lentivirus, และ AAVs ที่มี MERTK gene (Replacement therapy) นั้น พบว่าการใช้ lentivirus (lenti-Mertk) ได้ผลดีที่สุด สามารถทำให้มีการทำงานของจอตาในหนูได้นานถึง 7 เดือน

ในปัจจุบันมีการศึกษาระยะที่ 1 (phase I clinical trial) ในประเทศซาอุดิอาราเบียโดยใช้ AAV ที่มียีน MERTK ที่มาจากมหาวิทยาลัย Florida (University of Florida) ซึ่งได้ทดลองในผู้ป่วยทั้งหมด 3 คน โดยวิธี subretinal injection ขณะนี้ยังไม่พบผลแทรกซ้อนใดๆ

2. Usher syndrome

syndromic RP มีลักษณะทางคลินิกคือ เป็นโรค RP ที่พบร่วมกับการสูญเสียการได้ยิน เป็นโรคที่พบน้อย อัตราการเกิดประมาณ 5 ใน 100,000 ลักษณะทางคลินิกสามารถแยกย่อยได้เป็น 3 ชนิด (USH1,USH2, USH3) โดย Usher syndrome subtype 1 (USH1) เป็นชนิดที่มีความรุนแรงมากที่สุดทั้งในด้านความรุนแรงของอาการทางตา และการได้ยิน อีกทั้งมีช่วงเวลาเกิดโรคในช่วงอายุน้อยที่สุดด้วย

กลไกการเกิดโรคของ Usher syndrome เชื่อว่าเกิดจากการกลายพันธุ์ที่ยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนบางชนิดที่พบที่จอตา และ cochlear hair cell ของหูชั้นใน ซึ่งทำให้เกิดอาการทางคลินิกดังกล่าว ในปัจจุบันจากการศึกษาเชื่อว่ามีโปรตีนอย่างน้อย 5 ชนิดที่มีความสำคัญต่อการเจริญและการพัฒนาของเซลล์หูชั้นใน

ยีนตัวแรกที่ค้นพบว่ามีความสัมพันธ์กับ Usher syndrome ได้แก่ ยีน myosinVIIa71-MYO7A ซึ่งควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนที่สัมพันธ์กับ Usher syndrome type Ib ซึ่งคิดเป็น 60% ของ Usher syndrome ทั้งหมด ในจอตา พบว่า MYO7A มีการแสดงออกทั้งใน RPE, photoreceptor และทำหน้าที่สำคัญในการขนส่งภายในเซลล์ (endocellular transport) และการยึดระหว่างเซลล์ (cell-cell adhesion)

การศึกษาในสัตว์ทดลองคือหนูแสดงให้เห็นว่าการใช้ lentivirus carrier ที่มี MYO7A ยีน สามารถแก้ไขความผิดปกติต่างๆที่เกิดขึ้นได้ จากผลการศึกษาดังกล่าวทำให้เกิดการศึกษาระยะที่ 1 ที่ใช้ lentivirus โดยฉีดเข้าใน subretinal injection เพื่อดูความปลอดภัยในการรักษาวิธีดังกล่าว อย่างไรก็ตามเนื่องจาก LVs สามารถเข้าสู่เซลล์เป้าหมายได้เฉพาะ RPE เท่านั้นแต่ไม่สามารถเข้าสู่เซลล์รับภาพที่เป็นตำแหน่งที่เชื่อว่ามีความสำคัญในการเกิดโรคระยะแรกได้

การใช้ AAVs vector จึงเป็นทางเลือกที่อยู่ระหว่างการศึกษา แต่เนื่องจาก MYO7A ยีนเป็นยีนที่มีขนาดใหญ่ (7kilobase) การพัฒนา AAVs vector ที่มีความสามารถในการนำยีนขนาดใหญ่จึงเป็นเรื่องที่อยู่ระหว่างการพัฒนาในขณะนี้

3. Autosomal dominant RP

โรคกลุ่ม autosomal dominant RP ยีนที่พบว่ามีความสัมพันธ์มักเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับ Rhodopsin ที่เป็นสารที่พบใน rod cell photoreceptor มีความสัมพันธ์กับการรับแสง และการมองเห็นในที่แสงสว่างน้อย ในปัจจุบันพบยีนทีสัมพันธ์กับโรคนี้อย่างน้อย 22 ยีน

นอกจากจำนวนยีนที่มีมากแล้ว รูปแบบการกลายพันธุ์ที่นำไปสู่การเสื่อมของเซลล์รับภาพนั้นยังอาจเกิดได้จากหลายกลไกได้แก่

- Haploinsufficiency ทำให้การสร้างโปรตีนที่ปกติไม่เพียงพอ
- Dominant negative gene product โปรตีนที่สร้างไม่สามารถไปยังตำแหน่งออกฤทธิ์ หรือเรียงตัวเป็นหน่วยที่สมบูรณ์ไม่ได้
- Toxic gain-of-function โปรตีนที่สร้างขึ้นเป็นผลเสียต่อเซลล์

การกลายพันธุ์ที่มีกลไกในรูปแบบ Haploinsufficiency การรักษาโดยยีนมีเป้าหมายที่จะใส่ยีนปกติเข้าไปเพื่อให้มีโปรตีนที่ปกติเพียงพอต่อกาทำงานของเซลล์ ในขณะที่การกลายพันธุ์ในรูปแบบ Dominant negative gene product และ Toxic gain-of-function การรักษาโดยยีนเป็นเรื่องที่ยากและท้าทายมากกว่า ในกลุ่มนี้การรักษาโดยยีนโดยการพยายามหยุดการทำงาน (Silencing) เป็นรูปแบบการรักษาที่กำลังค้นคว้า วิจัยในปัจจุบัน

การศึกษาในสัตว์ทดลองสำหรับการรักษารูปแบบนี้มีการศึกษาในหนูทดลอง เช่นการกลายพันธุ์ชนิด p23H ของ โปรตีน Rhodopsin พบว่าจอตาของหนูทดลองสามารถรักษาสภาพของเซลล์รับภาพจากการตรวจทางจุลกายวิภาค และการตรวจ ERG

อุปสรรคสำคัญของการรักษาในโรคกลุ่มนี้คือ ความหลากหลายในการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค (Allelic heterogeneity) เฉพาะการกลายพันธุ์ของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีน Rhodopsin มีการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคได้มากกว่า 100 รูปแบบ และการรักษาโดยการทำให้ยีนหยุดทำงานนั้น มีเป้าหมายที่การควบคุมการสร้าง mRNA ซึ่งอาจทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของจอตาได้เช่นกัน

Leber congenital amaurosis- LCA [1, 2]

Leber congenital amaurosis เป็นกลุ่มโรคที่มีลักษณะอาการทางคลีนิคคือมีการสูญเสียการมองเห็นตั้งแต่กำเนิดหรือในช่วงขวบปีแรก, การพบลักษณะตากระตุก (Nystagmus) ลักษณะคลื่นไฟฟ้าจอตา (ERG) ที่เฉพาะ การตรวจจอตาในระยะแรก มักพบลักษณะจอตาที่ปกติ หรือมีการเปลี่ยนแปลลของชั้น RPE เพียงเล็กน้อย (subtle RPE change) ในเด็กบางคนอาจจะมีการใช้มือกดลูกตา (eye rubbing-oculodigital reflex)

โรคในกลุ่มนี้มีลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมส่วนใหญ่เป็นแบบ autosomal recessive (AR) ในปัจจุบันพบยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับภาวะนี้อย่างน้อย 16 ยีน ในผู้ป่วย LCA อาจพบร่วมกับภาวะอื่นๆเช่น keratoconus หรือ ต้อกระจก (cataract)

การใช้ยีนรักษาในผู้ป่วย Leber congenital amaurosis 5,6

1. RPE65-Leber congenital amaurosis 5, 6, 10

RPE65-Leber congenital amaurosis เป็น LCA ที่มีความสัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ของ RPE 65 ยีน ซึ่งเป็นยีนที่มีการแสดงออกใน RPE, RPE65 ยีนควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนที่มีขนาด 65 กิโลดาลตัน (kda) โปรตีนดังกล่าวมีหน้าที่สำคัญคือเป็น retinoid isomerase เปลี่ยน all-trans retinoid เป็น 11-cis retinal ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการทำงานของเซลล์รับภาพ

การกลายพันธุ์ดังกล่าวส่งผลให้ไม่สามารถสร้าง 11-cis retinal และเกิดการสะสมของ all-trans retinol ester ใน RPE ซึ่งการสะสมดังกล่าวจะนำไปสู่การเกิดการเสื่อมของเซลล์รับภาพในที่สุด โรค RPE65-Leber congenital amaurosis เป็นโรคที่พบได้น้อยมาก (น้อยกว่า 1 ใน 1,000,000) และมีการเกิดของ การเสื่อมของจอตาตั้งแต่เดือนแรกๆ

โรค RPE65-LCA นี้เป็นโรคที่มีการศึกษาการรักษาด้วยยีน และประสบความสำเร็จในการรักษาในสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะสัตว์ทดลองขนาดใหญ่เช่นสุนัข ในปี ค.ศ. 2001 การทดลองฉีด AAVs ที่มียีน RPE65 ในสุนัข 3 ตัวพบว่าทำให้จอตามีการทำงานที่มากขึ้น โดยวัดผลจากการตรวจคลื่นไฟฟ้าจอตา (ERG) โดยผลการรักษานั้นสามารถทำให้การทำงานนั้นดีขึ้นได้ถึง 3 เดือนหลังการฉีด

นอกจากการศึกษาในสุนัขแล้ว การศึกษาในหนูทดลองพบการทำงานของจอตาที่ดีขึ้นหลังการได้รับการรักษาโดยการฉีด AAVs ที่มี RPE65 ยีนโดยผลการทดลองพบว่าได้ผลในหลายช่วงอายุของหนูที่นำมาทดลอง และได้ผลในการทดลองในมดลูก(in utero) จนไปถึงหนูทดลองอายุ 24 เดือน

ในการทดลองนั้นพบว่าผลการรักษานั้นได้ผลแม้ว่าจะมีการทดลองในสัตว์ที่อายุมากแล้ว ในการทดลองในสุนัขพบว่ามีผลการทดลองที่ดีแม้ในสุนัขที่อายุมากถึง 30 เดือน ผลการรักษาที่ดีในสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะในสัตว์ทดลองขนาดใหญ่ทำให้การรักษาในยีนของโรคนี้มีการทดลองต่อมาในมนุษย์

ในปัจจุบันมีการทดลองในมนุษย์อย่างน้อย 4 การศึกษาที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารทางการแพทย์ ใน 4 การศึกษาที่มีการติดตามผลนานที่สุดคือ 3 ปี โดยการศึกษาทั้งหมดใช้ AAVs เป็นไวรัสพาหะในการถ่ายทอดยีน RPE65 ชนิดปกติเข้าสู่เซลล์เป้าหมายโดยการฉีดเข้าไปในชั้นใต้จอตา

ในการศึกษาทั้งหมดมีผลการศึกษาพบว่า การรักษาโดยใช้ยีนโดยการฉีดเข้าใต้ชั้นจอตานั้น มีความปลอดภัย ไม่พบผลแทรกซ้อนที่รุนแรง และไม่พบการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่รุนแรง ผลการศึกษาพบว่ามีผลที่ช่วยเพิ่มการมองเห็นได้ในทั้ง 4 การศึกษา โดยแต่ละการศึกษามีการวัดผล การทำงานที่ดีขึ้นที่แตกต่างกันไป

การวัดผลการมองเห็นที่นิยมใช้ในการทดลอง คือการมองเห็นแสงน้อยๆ (dim light sensitivity) จากการศึกษาโดย Jacobson และคณะ ที่เป็นการศึกษาที่มีการติดตามผลนานทีสุด ใช้การทดสอบ psychophysical full-field sensitivity (FST) ในการวัดผล พบว่ามีการดีขึ้นตั้งแต่ 10 เท่าถึง 10,000 เท่าในผู้ป่วยทั้ง 15 คนในการทดลอง การดีขึ้นของการมองเห็นมีความสัมพันธ์กับบริเวณของการฉีดยา ซึ่งเป็นบริเวณที่ได้รับไวรัสที่มียีน RPE 65 อยู่

โดยสรุปแล้ว จากการศึกษาในปัจจุบัน การรักษาโดยยีนโรค RPE65-Leber congenital amaurosis มีความปลอดภัย และมีผลการศึกษาที่ช่วยทำให้การมองเห็นดีขึ้นได้จากการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลอง และการทดสอบเบื้องต้น ในขณะนี้มีการทดลองในระยะที่ 3 (clinical trial phase III) อยู่ในระหว่างการศึกษาซึ่งอาจเป็นทางเลือกในการรักษาโรคนี้ได้ในอนาคต

2. GUCY2D-Leber congenital amaurosis[5]

การกลายพันธ์ใน GUCY2D เป็นหนึ่งในการกลายพันธ์ที่พบได้บ่อยใน LCA จากการศึกษาในกลุ่มประชากรเอเชียพบว่า GUCY2D เป็นกลายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุของ LCA ได้ถึง 16 % ยีนนี้ควบคุมการสร้างโปรตีน guanlate cyclase-1 (GC1) ที่เป็นโปรตีนที่พบที่เซลล์รับภาพทั้ง rod และ cone GC1 เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่สำคัญในการรับแสง ระดับแคลเซียมในเซลล์ และการกระตุ้นของเซลล์รับภาพ

ความผิดปกติของ GC1 โปรตีน ทำให้เกิดความผิดปกติของ cGMP และ cGMP-gated cation chanels ลักษณะของ GUCY2D-LCA คือการมีลักษณะจอตาที่ปกติในเด็ก โดยที่มีลักษณะคลื่นไฟฟ้าจอตาที่วัดได้น้อยมากโดยเฉพาะในเซลล์รับภาพชนิด cone

การศึกษาในสัตว์ทดลองคือ หนูพบว่า หนูที่มีความผิดปกติของ GUCY2D ยีนจะมีการสูญเสียการทำงานของ cone cell และการเสื่อมสภาพของ cone cell ส่วน rod cel จะมีการทำงานประมาณ 30-50% เชื่อว่าเกิดจากมีโปรตีนอีกชนิดคือ guanylate cyclase-2 (GC2) ที่พบเฉพาะใน rod cell ของหนู การศึกษาการรักษาโดยใช้ AAVs เป็นไวรัสพาหะ สามารถฟื้นคืนการทำงานของ cone cell และป้องกันการเสื่อมสภาพได้เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน

คำถามในการวิจัยคือ ในมนุษย์ที่เป็น GUCY2D-LCA นั้นมีการสูญเสียการทำหน้าที่ของทั้ง rod และ cone cell การใช้ AAVs รักษาเพียงอย่างเดียวจะสามารถฟื้นฟูสภาพการทำงานของทั้ง rod และ cone ได้หรือไม่ การศึกษาวิจัยเบื้องต้นในหนูทดลองที่มีการทำให้เกิดความผิดปกติของทั้ง GC1 และ GC2 และได้รับการรักษาโดย AAVs ที่มียีน GC1 เพียงอย่างเดียวพบว่าสามารถฟื้นสภาพการทำงานของทั้ง rod และ cone cell ได้ จึงมีความเป็นไปได้ในการศึกษาการรักษาในยีนดังกล่าวในอนาคตต่อไป

Achromatopsia (ACHM) [1, 2]

Achromatopsia เป็นโรคที่มีความผิดปกติของการทำงานของเซลล์รับภาพชนิด Cone มีอุบัติการการเกิดประมาณ 1 ใน 30,000 ผู้ป่วยโรคนี้จะมีการมองเห็นที่ไม่ดีตั้งแต่กำเนิด สูญเสียความสามารถในการแยกแยะสี (color discrimination) เราสามารถแบ่งผู้ป่วยโรคนี้ได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1. Complete achromatopsia หรือ rod monochromatism

ในผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีการมองเห็นที่แย่กว่า 20/200 ไม่สามารถรับรู้สีได้ และ มีอาการแพ้แสง (Photophobia)

2. Incomplete achromatopsia

ในผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีการมองเห็นที่ดีกว่า ส่วนใหญ่ในช่วง 20/80 ถึง 20/200 มีความสามารถรับรู้สีอยู่ได้บ้างโรคในกลุ่มนี้ในปัจจุบันถูกพิจารณาเป็นโรคที่เป็นแต่กำเนิด (congenital) และมีการดำเนินของโรคที่

คงที่ (stationary) ลักษณะการตรวจจอตามักพบ ลักษณะจอตาที่ปกติ หรือมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย การตวจคลื่นไฟฟ้าจอตาจะพบว่าไม่พบการตอบสนองจาก cone cell ในขณะที่การตอบสนองปกติจาก rod cell ในปัจจุบันไม่มีการรักษาที่สามารถรักษาโรคนี้ได้หายขาด การรักษาเป็นการรักษาตามอาการเช่นการลดภาวะแพ้แสง

การรักษาโดยยีนในโรค Achromatopsia[5]

Achromatopsia เป็นโรคที่อยู่ในความสนใจในการศึกษาการรักษาโดยยีน complete achromatopsia พบว่ามีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมเป็นแบบ autosomal recessive โดยพบการกลายพันธุของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ cone specific channels, ยีน CNGA3 และ CNGB3 คิดเป็นสาเหตุถึง 80% ของโรค ACHM ทั้งหมด ยีนตัวอื่นที่พบเป็นสาเหตุที่เกี่ยวข้อง เช่น GNAT2 ซึ่งควบคุมการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวกัย phototranduction ใน cone และ PDE6C ที่มีความเกี่ยวข้องกับ cone-specific phosphodiesterase

ACHM แม้ในปัจจุบันพบว่าเป็นโรคที่มีการดำเนินของโรคคงที่ (Stationary) แต่เชื่อว่ามีการเสื่อมสภาพของ cone cell แต่แต่ในช่วงแรกๆของชีวิต และการเสื่อมนั้นเป็นไปอย่างรวดเร็ว การศึกษาการรักษาโดยใช้ยีนในสัตว์ทดลองพบว่า ในหนูทดลองการใช้ subretinal AAVs เป็นไวรัสพาหะสามารถ ทำให้มีการทำงานของ cone cell ที่ดีขึ้นได้

การศึกษาในสัตว์ขนาดใหญ่ได้แก่สุนัข พบว่ามีการตอบสนองที่ดีขึ้นหลังได้รับการรักษาโดย AAVs vector แต่ระดับการตอบสนอง (magnitude) และความคงตัว (Persistent) ของการตอบสนองนั้นขึ้นกับอายุของสุนัขที่ได้รับการรักษา และปัจจัยอื่นๆที่ใช้ในการรักษา โดยพบว่าการรักษาได้ผลดีในสุนัขอายุน้อย

ปัญหาและความท้าทายของการรักษาด้วยยีนในโรคนี้อีกอย่างคือ การกระจายตัวของ cone cell ที่พบหนาแน่นใน macular ซึ่งการรักษาโดยใช้การฉีดยาเข้าไปใต้ชั้นจอตา จะทำให้เกิดผลข้างเคียง คือมีการหลุดลอกของจอตา ซึ่งอาจส่งผลต่อพยากรณ์โรคได้ การศึกษาพาหะและวิธีการใหม่ๆที่ได้ผล เช่นการฉีดเข้าไปในช่องวุ้นตา (Intravitreous) อาจเป็นทางเลือกของการรักษาต่อไปในอนาคต

Stargardt disease[1, 2, 5]

Stargardt disease เป็นโรคความเสื่อมของจอตาที่พบมากที่สุดในคนอายุน้อย พบการถ่ายทอดเป็นแบบ autosomal recessive และสัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ของยีน ABCA4 ซึ่งเป็นโปรตีน ที่ทำหน้าที่ในการขนส่งสาร N-retinylidene-phosphatidylethanolamine จาก lumen ไปสู่ cytoplasmic side ของ photoreceptor outer disks การกลายพันธุ์ดังกล่าวทำให้เกิดการสะสมของสาร และทำให้เกิดการก่อตัวของสารที่เป็นพิษ (toxic retinoid complex) ในเซลล์ นำไปสู่การสะสมของสาร lipofuscin ในชั้น RPE ในที่สุด

ปัญหาที่พิจารณาคือยีน ABCA4 มีขนาด 6.8 กิโลเบส ซึ่งมีขนาดมากกว่าความสามารถของ AAVs ในการขนส่ง การใช้ lentivirus เพื่อรักษาต้องทำในช่วงก่อนที่เซลล์รับภาพมีการเปลี่ยนแปลงขั้นสุดท้าย หรือการใช้ AAVs ต้องมีการดัดแปลงรูปแบบของยีนเพื่อให้สามารถขนส่งได้ อีกทั้งมีการศึกษาในหนูทดลองทั้งสองวิธีพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่ดีขึ้น ซึ่งอาจจะช่วยพัฒนาการรักษาให้ดีขึ้นต่อไป

X-linked juvenile retinoschisis (XLRS)[1, 2]

X-linked juvenile retinoschisis (XLRS) เป็นโรคที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ x-linked recessive (XLR) มีอุบัติการณ์การเกิดโรค 1:5000 ถึง 1:25,000 ลักษณะทางคลีนิค คือมีการแยกของชั้นจอตา ซึ่งใน XLRS พบลักษณะการแยกตัวบริเวณจุดรับภาพ (macular) เป็นลักษณะ small, cystoid spaces and fine radial striae

ยีนที่มีความสัมพันธ์กับ XLRS คือ retinoschisin gene (RS1) เป็นยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีน retinoschisin เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ยึดเกาะ ระหว่างชั้นต่างๆของจอตา เชื่อว่าโปรตีนดังกล่าวมีความสำคัญกับ Muller cell เนื่องจากการขาดโปรตีนจะทำให้เกิดการตายของเซลล์ ทำให้จอตาของผู้ป่วยโรคนี้เกิดความเสี่ยงต่อการบาดเจ็บและแยกตัวง่ายกว่าทั่วไป

การรักษาด้วยยีนในผู้ป่วย X-linked juvenile retinoschisis (XLRS) [5]

ในการทดลองในหนูทดลองพบว่า หนูทดลองที่มีความผิดปกติของ RS1 ยีนจะมีลักษณะอาการเหมือนกับที่ตรวจในมนุษย์ การทดลองการรักษาโดยยีนโดยอาศัย AAVs เป็นไวรัสพาหะ พบว่าหนูทดลองที่ได้รับการรักษา มีรูปแบบการตอบสนองของคลื่นไฟฟ้าจอตาและมีลักษณะทางกายวิภาคที่ดีขึ้นหลังได้รับการรักษา

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่า ช่วงอายุของหนูที่ได้รับการรักษามีผลต่อการตอบสนอง ในการทดสอบในหนูที่อายุน้อย 1-2 เดือนพบว่ามีการตอบสนองทั้งในแง่โครงสร้างและคลื่นไฟฟ้าจอตา แต่ในหนูทีอายุมากขึ้นพบลักษณะโครงสร้างจอตาที่ดีขึ้นหลังได้รับการรักษา แต่พบว่าการตอบสนองของคลื่นไฟฟ้าจอตามีน้อยกว่าเมื่อเทียบกับหนูในกลุ่มอายุน้อยกว่า

การรักษาโดยยีนในโรคที่ไม่ได้ถ่ายทอดทางพันธุกรรม Age-related macular degeneration-AMD

Age-related macular degeneration (AMD) เป็นสาเหตุสำคัญของการสูญเสียการมองเห็นในกลุ่มประชากรที่อายุมากกว่า 50 ปี กลไกการเกิดและปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างชัดเจน ปัจจุบันแบ่ง AMD ได้เป็นสองชนิดคือ

1. Non-neovasular (dry) AMD
2. Neovascular (wet) AMD

Neovascular AMD หมายถึงลักษณะที่มีการเกิดเส้นเลือดผิดปกติจากชั้น choroid (choroidal neovascularization; CNV) ซึ่งโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับการเกิด CNV ดังกล่าวคือ vascular ensothelial growth factor (VEGF) ในปัจจุบันการศึกษาสารที่มีความสามารถในการยับยั้ง VEGF (anti-VEGF) ได้ผลดีในการรักษา neovascular AMD ในหลายการศึกษาที่ผ่านมา

การรักษาโดนใช้ Anti-VEGF นั้นจำเป็นต้องได้รับการรักษาโดยการฉีดเข้าช่องวุ้นลูกตา (intravitreal injection) ซึ่งต้องได้รับการฉีดหลายครั้งและต่อเนื่อง ทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดผลแทรกซ้อนจากการฉีดยา และมีค่าใช้จ่ายในการรักษาสูง

การรักษาด้วยยีนในโรค neovascular AMD เป็นการศึกษาการสร้างโปรตีน FLT-1 (sFLT1) ซึ่งเป็นโปรตีนละลายน้ำได้และเป็นส่วนหนึ่งของ R1 VEGF receptor โดย FLT-1 นี้จะจับกับ VEGF ในส่วนที่อยู่นอก เซลล์ (extracellular VEGF) เพื่อป้องกันไม่ให้จับกับเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (vascular endothelial) และออกฤทธิ์ได้

การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า ในหนูทดลองที่ทำให้เกิด ocular CNV จาก oxygen-induced retinopathy of prematurity และ laser-induced CNV พบว่า การนำไวรัสพาหะ AAVs ที่สามารถสร้างโปรตีน FLT-1 ฉีดเข้าในช่องวุ้นตา (Intravitreal injection) สามารถทำให้เกิดการแสดงผลของโปรตีนดังกล่าวได้ และการแสดงผลนั้นคงอยู่ได้หลังการฉีดเพียงครั้งเดียว

จากการศึกษาในลิง (non-human primate) การใช้ AAVs เป็นไวรัสพาหะในการรักษา laser-induced CNV พบว่าการแสดงออกของ sFLT- 1 โปรตีนยังอยู่ในระดับคงที่หลังการฉีดนาน 5 เดือน โดยวัดจากระดับใน aqueous humor และการรักษาด้วยยีนร่วมกับการใช้ laser ที่ 22 สัปดาห์หลังการฉีดยา สามารถลดขนาดของ CNV ได้

การศึกษาในมนุษย์ปัจจุบันอยู่ในการศึกษาระยะที่ 1 (clinical trial phase I) โดยใช้ AAVs เป็นไวรัสพาหะ โดยมีการศึกษาถึงระดับยาที่ออกฤทธิ์ได้ และระดับยาที่ปลอดภัย โปรตีนอื่นๆที่มีการศึกษาเพื่อใช้ในการรักษา neovascular AMD ได้แก่ Endostatin และ Angiostatin ทั้งสองชนิดเป็นโปรตีนที่ยังยั้งการสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) การศึกษาในหนูทดลองพบว่าถ้าให้หนูทดลองได้รับไวรัสที่สร้าง endostatin จะทำให้ระดับ endostatin ในเลือดเพิ่มขึ้น และช่วยยับยั้งการเกิด CNV ได้

การทดสอบการใช้ AAVs และ lentivirus เป็นไวรัสพาหะ และฉีดเข้าไปในช่องวุ้นตา พบว่าสามารถยับยั้ง CNV ได้ในหนูทดลอง ปัจจุบันมีการทดลองระยะที่ 1 (clinical trial phase I) โดยใช้ lentivirus เป็นไวรัสพาหะในการทดสอบการยับยั้งการเกิด CNV

โอกาสและข้อจำกัดในการพัฒนาการรักษาด้วยยีนในโรคจอตา[7]

ปัจจุบันด้วยพัฒนาการของความรู้ทางพันธุศาสตร์ พันธุวิศวกรรม และ ไวรัสวิทยา เราค้นพบโรคทางจอตาที่มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติทางพันธุกรรมมากขึ้น ซึ่งในปัจจุบันนี้โรคส่วนใหญ่มีข้อจำกัดในการรักษา การรักษาด้วยยีนอาจสามารถช่วยให้ผู้ป่วยในกลุ่มนี้หายจากโรคได้ หรือมีการมองเห็นที่ดีขึ้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการรักษาด้วยยีนส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาในระยะ 1-2 (clinical trial phase I-II) หรือเป็นการทดลองในสัตว์ทดลอง ซึ่งการที่จะสามารถพัฒนาการรักษาด้วยยีนไปสู่การรักษาที่ใช้จริง และเป็นมาตรฐานนั้นยังมีโอกาสและข้อจำกัดที่จำเป็นต้องได้รับการพัฒนาต่อไป ดังนี้

1. ความหลากหลายของการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค (genetic heterogeneity)

โรคทางจอตาหลายโรค ทีสาเหตุจากการกลายพันธุ์หลายรูปแบบ ที่ทำให้เกิดลักษณะอาการทางคลีนิคที่คล้ายกันและถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มโรคเดียวเช่น Retinitis pigmentosa พบการกลายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุได้มากกว่า 80 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดก็มีกลไกที่นำไปสู่การเสื่อมสภาพของจอตาต่างกัน ซึ่งต้องการการรักษาที่แตกต่างกันไปด้วย ความก้าวหน้าทางพันธุศาสตร์ และโครงการรหัสพันธุกรรมมนุษย์จะช่วยให้เราค้นพบ และเข้าใจถึงกลไกของการเกิดโรคซึ่งจะนำไปสู่การรักษาใหม่ๆในอนาคต

2. เวลาในการรักษา (Timing of the treatment)

การรักษาทางยีนหลายชนิดมีเป้าหมายในการทำให้เซลล์รับภาพมีการทำงานกลับมาปกติ และป้องกันการเสื่อมของจอตา ปัญหาที่เกิดขึ้นคือการเสื่อมของจอตา โดยเฉพาะโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมนั้น เกิดขึ้นในช่วงอายุน้อย การรักษาที่ได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดควรทำก่อนที่มีการเสื่อมของเซลล์ต่างๆ ของจอตา

ในการทดลองในหนูทดลอง มักทำการทดสอบการรักษาด้วยยีนในช่วงหลังคลอด 3-21 วัน ซึ่งในหนูนั้นเป็นช่วงที่เซลล์ในจอตามีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ แต่ในจอตาของมนุษย์นั้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆของจอตานั้นจะเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงไตรมาสที่สองของการตั้งครรภ์ ดังนั้นจากลักษณะที่แตกต่างกันนี้ การทดสอบในมนุษย์จึงจำเป็นต้องใช้ไวรัสพาหะที่สามารถเหนี่ยวนำหรือติดเชื้อในเซลล์จอตาที่เจริญเต็มที่แล้ว

3. ความคงตัวของการผลรักษา(Persistent of the treatment effect)

ตามที่ได้กล่าวมา การเปลี่ยงแปลงของเซลล์ต้นแบบไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆในจอตานั้นเกิดขึ้นตั้งแต่ในช่วงไตรมาสที่สองของการตั้งครรภ์ และ ในทารกแรกคลอดเซลล์ต่างๆในจอตาจึงเป็นเซลล์ที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงเพื่ไปทำหน้าที่แล้ว การรักษาโดยยีนโดยการใช้ไวรัสพาหะ จึงเป็นการเหนี่ยวนำให้มีการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ที่เจริญแล้วเท่านั้น

ปัญหาสำคัญที่ตามมาคือ เนื่องจากเซลล์เหลานี้เป็นเซลล์ที่เจริญแล้ว ไม่มีการแบ่งตัวเพิ่มอีก เมื่อเซลล์เหล่านี้ตายลง ไม่ว่าจากอายุ หรือ ถูกทำลายจากเซลล์ระบบภูมิคุ้มกัน ผลของการรักษาย่อมหมดไปพร้อมกับการตายของเซลล์เหล่านั้นไปด้วย จึงเป็นข้อพิจารณาว่าการรักษาโดยใช้ยีนด้วยวิธีนี้จะสามารถใหผลการรักษาที่คงที่เป็นระยะเวลายาวนานได้หรือไม่

4. ความปลอดภัยของการใช้ไวรัสพาหะ

การรักษาโดยยีนในปัจจุบัน ส่วนใหญ่ใช้ไวรัสพาหะในการนำสารพันธุกรรมที่ต้องการเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย สิ่งที่ต้องพิจารณาคือการใช้ไวรัสพาหะนี้จะสามารถทำให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรงได้หรือไม่ โดยเฉพาะการรักษาในตาซึ่งเป็นอวัยวะสำคัญ

การใช้ไวรัสในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมเข้าไปในเซลล์ยังมีความเสี่ยงคือ ไวรัสดังกล่างอาจทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในโครโมโซม (mutagenesis) ในเซลล์เป้าหมาย จากการศึกษาการรักษาด้วยยีนในโรค Severe Combined Immunodeficiency Disease (SCID)-X1 โดยใช้ Moloney retrovirus เป็นไวรัสพาหะ พบว่ามีผลแทรกซ้อนที่เกิดขึ้น คือมีผู้ป่วยในการทดลอง 4 รายที่มีการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวหลังได้รับการรักษาดังกล่าว จากการศึกษาการรักษาด้วยยีนในโรคจอตา ที่มีการศึกษามากที่สุดได้แก่ RPE65 LCA นั้นไม่พบผลข้างเคียงที่ร้ายแรงจากการรักษาดังกล่าว

การพัฒนาวิธีการถ่ายทอดสารพันธุกรรมใหม่ๆ เช่นการใช้ตัวนำที่ใช่ไวรัสอาจเป็นคำตอบของปัญหาเหล่านี้ อย่างไรก็ดีในปัจจุบันการใช้ตัวกลางที่ไม่ใช่ไวรัสในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมเข้าไปในเซลล์ต่างๆของจอตานั้น ยังไม่ประสบผลสำเร็จและยังไม่เป็นที่นิยมเท่าการใช้ไวรัสพาหะ

การศึกษาล่าสุดมีการใช้วิธีโดยการใช้เปปไทด์ที่มีคุณสมบัติผ่านเข้าเซลล์ได้ (peptide for ocular delivery - POD) เป็นตัวกลางในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย การทดสอบให้ผลที่ดีในการทดลองในหลอดทดลอง แต่เนื่องจากในจอตามีโครงสร้างต่างๆที่อาจทำให้ผลได้ไม่ดีเท่า

สรุป

การรักษาด้วยยีนในโรคจอตานั้น เป็นทางเลือกที่อยู่ในการทดลอง โดยเฉพาะในกลุ่มโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม (Inherited retinopathy) ซึ่งเป็นโรคที่ทำให้เกิดการสูญเสียการมองเห็นในประชากรอายุน้อย และในปัจจุบันไม่มีการรักษาที่ได้ผลหายขาด โรคในกลุ่มนี้หลายชนิดทีการค้นพบยีนที่สัมพันธ์กับการเกิดโรค และการรักษาด้วยยีนอาจเป็นทางเลือกในอนาคตที่อาจช่วยรักษาหรือชะลอความเสื่อมของจอตา และฟื้นฟูการมองเห็น

ตารางสรุปการรักษาโดยยีนในโรคต่างๆ

Disease	Causative gene/Protein	Clinical trial phase	Viral vector	Previous study
Retinitis pigmentosa				
1. - MERTK-associated autosomal recessive retinitis pigmentosa	MERTK gene myosinVIIa71 (MYO7A)	Ongoing phase I Ongoing phase I Preclinical study	AAVs, lentivirus Lentivirus AAVs	Successful in Rat model
2. Usher syndrome	at least 22 genes	–		Successful in Rat model
3. Autosomal dominant RP				
Leber congenital amouresis				
1. RPE65-Leber congenital amaurosis	RPE65 gene	Ongoing phase III	AAVs	Successful in animal mode l, 3 successful phase I trials
2. GUCY2D-Leber congenital amaurosis	GUCY2D	Preclinical study	AAVs	
Achromatopsia (ACHM)	CNGA3, CNGB3, GNAT2	Preclinical study	AAVs	-
Stargardt disease (STGD)	ABCA4 gene	Ongoing phase I	Lentivirus AAVs	Successful in mice model
X-linked juvenile retinoschisis (XLRS)	RS1 gene	Preclinical study	AAVs	-
Neovascular AMD	sFLT- 1 Endostatin, Angiostatin	Ongoing phase I Ongoing phase I	AAVs Lentivirus	-

เอกสารอ้างอิง

1. Stephen J. Ryan. Retina 5th edition: Part 2 Basic s cience and translation to therapy. Philadelphia: Elsavier, 2013.
2. American academy of ophthalmology. BCSC 2014-2015 : retina and vitreous. California : AAO, 2014.
3. Lee Ann Remington. Clinical anatomy and physiology of the visual system 3rd edition. Missouri, 2012.
4. World Health Organization. Genes and human disease [homepage on website]. Available from: http://www.who.int.
5. Shannon E Boye, Sanford L Boye, et al. A Comprehensive Review of Retinal Gene Therapy. Molecular Therapy. 2013; 21:509-519.
6. Pasqualina Colella, Alberto Auricchio. Gene Therapy of Inherited Retinopathies: A Long and Successful Road from Viral Vectors to Patients. Gene therapy. 2012; 23:796–807.
7. Rajendra Kumar-Singh. Barriers for Retinal Gene Therapy: Separating Fact from Fiction. Vision Res. 2008 July ; 48(16): 1671–1680.
8. Aron Shapiro. Gene Therapy for Retinal Diseases. Retina Today. 2015 April; 24-26
9. Constance L. Cepko. Emerging Gene Therapies for Retinal Degenerations. J Neurosci. 2012 May; 32(19): 6415–6420.
10. William W. Hauswirth, Tomas S. Aleman, Shalesh Kaushal, et al. Treatment of Leber Congenital Amaurosis Due to RPE65 Mutations by Ocular Subretinal Injection of Adeno-Associated Virus Gene Vector: Short-Term Results of a Phase I Trial. Human Gene Therapy. 2008 October ; 19:979–990.
11. Albert M. Maguire, Francesca Simonelli, et al. Safety and Efficacy of Gene Transfer for Leber's Congenital Amaurosis. N Engl J Med. 2008 May 22; 358(21): 2240–2248.