การพัฒนาวัคซีนที่เป็น gene-based vectors

54

กัญญา ศุภปิติพร

บทนำ

จากความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีและความรู้ด้านชีวโมเลกุลและพันธุศาสตร์ทางการแพทย์ ได้นำไปสู่การพัฒนาทั้งด้านการวินิจฉัย การดูแลรักษาและการป้องกันโรคได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น รวมทั้งการพัฒนาวัคซีนเพื่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรค การศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาวัคซีนที่เป็น gene-based vectors หรือดีเอ็นเอวัคซีน (DNA vaccine) ได้แพร่หลายมากขึ้น เพื่อที่จะสามารถนำมาใช้ในการป้องกันการติดเชื้อบางชนิด และครอบคลุมไปถึงการรักษามะเร็ง ภาวะภูมิแพ้ และภูมิต้านทานตนเอง การศึกษาดีเอนเอวัคซีนในสัตว์ทดลองก่อนนำไปศึกษาในทางคลินิก (preclinical disease models) และการนำมาใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์บางชนิดได้ผลเป็นที่น่าพอใจ อย่างไรก็ตาม การทดลองดีเอ็นเอวัคซีนในคนที่ผ่านมายังไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ได้ในระดับที่เพียงพอที่จะนำมาใช้ในทางคลินิกสำหรับการป้องกันหรือการรักษาโรคได้ ถึงแม้การนำมาประยุกต์ใช้ในคนยังเป็นสิ่งที่ท้าทาย เนื่องจากคุณลักษณะและศักยภาพของดีเอ็นเอวัคซีนร่วมกับการศึกษาอย่างต่อเนื่องถึงกลไกการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของดีเอ็นเอวัคซีน และการพัฒนาเทคโนโลยีด้าน gene-based vectors ทำให้การนำดีเอ็นเอวัคซีนมาใช้ในคนอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยมีความเป็นไปได้สูงในอนาคต

ดีเอ็นเอวัคซีน (DNA vaccine)

การพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนเริ่มตั้งแต่การที่พบว่าการฉีดสารพันธุกรรมดีเอ็นเอเข้ากล้ามเนื้อ[1] สามารถที่จะทำให้เกิดการแสดงออกของยีนได้ ดีเอ็นเอวัคซีนประกอบด้วยยีนที่ต้องการซึ่งสามารถสร้างโปรตีนหรือแอนติเจนที่ได้รับการดัดแปลงอย่างเหมาะสมภายใต้การควบคุมของส่วนที่เป็น regulatory sequences โปรตีนที่สร้างจากดีเอ็นเอวัคซีนจะอยู่ในลักษณะ native conformation ซึ่งแตกต่างจากวัคซีนที่สร้างจากส่วนของ inactivated virus หรือ recombinant protein ที่สร้างในแบคทีเรีย ยีสต์ หรือเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และจากการสร้างโปรตีนของดีเอ็นเอวัคซีนเกิดขึ้นในเซลล์ร่างกาย ทำให้ได้โปรตีนที่ผ่านขบวนการตามปกติของเซลล์และได้แอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการตอบสนองของเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิด CD4 และ CD8 ได้ นอกจากนี้สารพันธุกรรมดีเอ็นเอถูกทำลายได้อย่างรวดเร็วในร่างกาย ดีเอ็นเอวัคซีนจึงมีความปลอดภัยเมื่อเทียบกับวัคซีนชนิด live-attenuated viruses

จากการพัฒนาเทคโนโลยีด้านดีเอนเอวัคซีนจนถึงปัจจุบัน ดีเอ็นเอวัคซีน 3 ชนิดได้รับอนุญาตให้ใช้ในสัตว์เลี้ยง เมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติของดีเอ็นเอวัคซีนพบว่า ดีเอ็นเอวัคซีนมีข้อดีในส่วนของการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การผลิต ความเข้าถึง และราคาเมื่อเทียบกับวัคซีนประเภทอื่นๆ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีดีเอ็นเอวัคซีนที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในคน เนื่องจากศักยภาพของดีเอ็นเอวัคซีนในการนำมาใช้ทั้งในด้านการป้องกันและการรักษา การพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนอย่างต่อเนื่องเพื่อให้สามารถนำมาใช้ในการป้องกันโรคหรือการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยในมนุษย์ยังมีความจำเป็น ลักษณะและคุณสมบัติของดีเอ็นเอวัคซีนได้สรุปไว้ในตารางที่ 1[2]

ตารางที่ 1 แสดงถึงลักษณะและคุณสมบัติของดีเอ็นเอวัคซีน

- สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดดั้งเดิม (innate immunity)
- สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ทั้งชนิด helper T cells, cytolytic T lymphocytes (CTLs)
- สามารถสร้างได้โดยตรงจากยีนหรือสายเบสนิวคลิโอไทด์ ทำให้สามารถหลีกเลี่ยงการใช้เชื้อก่อโรคที่เป็นอันตราย
- สามารถหลีกเลี่ยงการใช้เวกเตอร์ชนิดไวรัส (viral vectors) บางชนิด และ attenuated viruses
- มีความเป็นไปได้ที่จะให้ดีเอ็นเอวัคซีนโดยผ่านทางเยื่อบุ (mucosal delivery)
- คุณลักษณะที่เอื้อต่อการพัฒนาเป็นวัคซีน ได้แก่ ความรวดเร็วในการสร้างและผลิต การผลิตได้ในปริมาณมาก และความเสถียรที่อุณหภูมิห้อง
- การนำไปใช้ให้มีประสิทธิภาพอาจจะต้องอาศัยเทคโนโลยีอื่นๆ ช่วย เช่น เครื่องมือในการนำเข้าสู่ร่างกาย การเพิ่มความแรงหรือความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนโดยใช้วิธีการเสริมอื่นๆ (prime-boost)

(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 2)

ประวัติและความเป็นมา

จากการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องของแพทย์และนักวิทยาศาสตร์ทำให้เกิดความเข้าใจที่เพิ่มขึ้นเกี่ยวกับกลไกการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของดีเอ็นเอวัคซีน โดยขบวนการสร้างแอนติเจน (antigen processing) ซึ่งกระตุ้นการตอบสนองชนิด Cytolytic T lymphocytes (CTLs) โดยอาศัย major histocompatibility complex (MHC) class I รวมทั้งบทบาทของภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ (cellular immunity) ในการควบคุมการติดเชื้อจากไวรัส ปรสิต รวมทั้งการโตของก้อนเนื้องอก ซึ่งสามารถนำไปสู่การพัฒนาวิธีการสร้างวัคซีนหรือหาวัคซีนชนิดใหม่เพื่อป้องกันหรือรักษาโรคได้ครอบคลุมมากขึ้น ประโยชน์ของการพัฒนาวัคซีนที่กระตุ้นการตอบสนองชนิด CTLs นอกจากสามารถที่จะทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อ รวมทั้งเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย CTLs ยังสามารถจัดการกับแอนติเจนที่แอนติบอดีไม่สามารถเข้าถึงได้ การกระตุ้น CTLs จึงเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของวัคซีน

ข้อจำกัดของวัคซีนบางชนิดที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน คือ การที่ส่วนของเชื้อก่อโรคที่นำมาใช้ในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีมีการกลายพันธุ์ ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้วัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ซึ่งสร้างมาจากสายพันธุ์ที่ระบาดในปีนั้นๆ สามารถป้องกันได้เฉพาะสายพันธุ์ดังกล่าว ดังนั้น การสร้างวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ต้องทำใหม่ทุกปี[3] เช่นเดียวกัน โปรตีนชนิด envelope (Env) ของเชื้อเอชไอวี มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเพื่อที่จะทำให้รอดพ้นจากการถูกทำลายโดยแอนติบอดีในร่างกายของผู้ที่ติดเชื้อ ดังนั้น การสร้างวัคซีนหรือการรักษาโดยอิมมูนบำบัดให้มีประสิทธิภาพบริเวณที่เป็นเป้าหมายควรจะมีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ที่น้อย เพื่อที่จะสามารถป้องกันจากการติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรียได้หลายชนิด หรือรักษามะเร็งที่เกิดขึ้นในบุคคลที่แตกต่างกัน[4] นอกจากนี้ การพัฒนาวัคซีนให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นจำเป็นต้องได้วัคซีนที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งชนิดสารน้ำ (humoral response) และชนิดเซลล์ (cellular response) จากข้อจำกัดของวัคซีนที่ใช้อยู่ปัจจุบัน นำไปสู่การพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนซึ่งมีจุดประสงค์หลักเพื่อที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ โดยผ่านทาง MHC class I เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิด CTLs โดยยังคงความสามารถในการกระตุ้น helper T cells (Th) และแอนติบอดี[5]

คุณลักษณะของดีเอ็นเอวัคซีน

ดีเอ็นเอวัคซีนประกอบด้วยส่วนของยีนที่สร้าง

โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นแอนติเจนได้ คุณลักษณะที่สำคัญของดีเอ็นเอวัคซีนที่จะเกิดประโยชน์สูงสุดประกอบด้วยความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งแบบจำเพาะ (adaptive immunity) ได้แก่ CTLs, helper T cells และแอนติบอดี และแบบไม่จำเพาะ (innate immunity) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าว การศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาและการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอวัคซีนมีมากขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะในส่วนของระยะก่อนนำไปใช้ในทางคลินิก (preclinical study) เช่น การใช้ในโรคติดเชื้อ มะเร็ง ภาวะภูมิแพ้ และภาวะภูมิต้านทานตนเอง นอกจากนี้ เทคโนโลยีการสร้าง DNA plasmids มีความก้าวหน้าอย่างต่อเนื่อง การที่ DNA plasmids มีความง่ายในการนำมาดัดแปลงและสร้างได้อย่างรวดเร็ว มีความเสถียรในอุณภูมิห้องทำให้ง่ายต่อการเก็บและการนำไปใช้ในที่ต่างๆ ได้ทั่วโลก ประกอบกับความสามารถในการดัดแปลงสารพันธุกรรมดีเอ็นเอที่กำจัดส่วนที่ทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่เป็นอันตราย ทำให้วัคซีนมีความปลอดภัยมากขึ้น คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ความหวังในการพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนมาใช้ในคนเป็นไปได้มากขึ้น

อย่างไรก็ตาม การนำเทคโนโลยีดีเอ็นเอวัคซีนมาใช้ในคนยังมีข้อจำกัด โดยเฉพาะในส่วนของความแรง (potency) ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การศึกษาถึงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการกระตุ้นโดยดีเอ็นเอวัคซีนในคนเปรียบเทียบกับในหนูทดลอง พบว่ามีความแรงที่น้อยกว่า สาเหตุส่วนหนึ่งอาจจะเนื่องมาจากปริมาณของดีเอ็นเอต่อน้ำหนักตัวหรือพื้นที่ผิวกายที่น้อย การทำให้มีการสร้างโปรตีนเพิ่มขึ้นโดยการปรับปรุง expression vectors และการพัฒนาในส่วนของสารประกอบหรือโมเลกุลที่ช่วยให้แอนติเจนในวัคซีนกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น (adjuvants) อาจจะช่วยทำให้เพิ่มความแรงในการกระตุ้นการตอบสนองต่อดีเอ็นเอวัคซีนได้ เช่น การพัฒนาในส่วนของบริเวณ enhancer/promoter ทำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่ประกอบอยู่ในดีเอ็นเอวัคซีนมากขึ้น[6] และดีเอ็นเอวัคซีนที่ได้รับการพัฒนาเหล่านี้ได้ถูกนำมาเข้าสู่การศึกษาทางคลินิกในคน ตารางที่ 2 สรุปข้อดีและข้อจำกัดของวัคซีนที่เป็นลักษณะ gene-based vectors หรือดีเอ็นเอวัคซีน

การศึกษาวิจัยในระยะก่อนคลินิกในสัตว์ทดลอง

การศึกษาในสัตว์ทดลอง พบว่าดีเอ็นเอวัคซีนสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันและรักษาโรคได้หลายชนิด เริ่มจากการนำมาใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อก่อโรค และขยายไปโรคหรือภาวะอื่น สำหรับการใช้ในมะเร็งบางชนิด เนื่องจากดีเอ็นเอวัคซีนสามารถที่จะกระตุ้นการตอบสนองชนิด CTLs ซึ่งมีประโยชน์ในการประยุกต์ใช้รักษามะเร็ง ประกอบกับความรวดเร็วในการประกอบเป็นวัคซีนจากลำดับเบสที่ได้จากสารพันธุกรรม

ตารางที่ 2 ข้อดีและข้อจำกัดของวัคซีนที่เป็นลักษณะ gene-based vectors หรือดีเอ็นเอวัคซีน

ข้อดี	ข้อจำกัด
ความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิด cellular และ humoral	ความแรงในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในคน
ความง่ายในการสร้าง vectors ทั้งชนิดที่มาจากส่วนของไวรัสและไม่ใช่ไวรัส	ความจำเป็นในการใช้ packaging cell lines ที่เหมาะสมสำหรับวัคซีนที่ใช้ viral vectors
ความง่ายในการวิเคราะห์และคัดกรองในห้องทดลอง	การเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อ vectors หลังจากการฉีดวัคซีนที่ใช้ viral vectors เข้าไปในร่างกาย
ความปลอดภัยในการนำมาใช้	ข้อมูลด้านความปลอดภัยในระยะยาวยังมีน้อย
ความแรงในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันการติดเชื้อในสัตว์บางชนิด	ความซับซ้อนในการใช้ vectors มากกว่าหนึ่งชนิดในกรณีที่ใช้วิธี prime-boost
การนำมาใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ เพื่อเสริมภูมิคุ้มกันให้มีประสิทธิภาพ (prime-boost)	ความจำเป็นในการพัฒนากระบวนการผลิตให้ได้ดีเอ็นเอวัคซีนในปริมาณมาก

ของชิ้นเนื้อเหล่านี้ นำไปสู่การพัฒนาวัคซีนเพื่อรักษามะเร็งโดยวิธีอิมมูนบำบัด เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) นอกจากนี้ จากการที่พบว่าดีเอ็นเอวัคซีนสามารถกระตุ้นการตอบสนองของ T-helper cells ได้นำไปสู่การค้นคว้าและวิจัยในสัตว์ทดลองเพื่อพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนในการรักษาภาวะภูมิต้านทานตนเอง และภาวะภูมิแพ้ ซึ่งได้ผลในระดับหนึ่ง แสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำมาพัฒนาและใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป[7] ตัวอย่างเชื้อหรือภาวะที่การใช้ดีเอ็นเอวัคซีนสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อประโยชน์ในด้านการป้องกันหรือรักษาในสัตว์ทดลองดังแสดงในตารางที่ 3[2]

การนำดีเอ็นเอวัคซีนเข้าสู่ร่างกาย (Delivery of DNA vaccine)

สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการนำดีเอ็นเอวัคซีนในรูปของ plasmids เข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ รูปแบบ (formulations) ของดีเอ็นเอวัคซีน เทคโนโลยีด้าน transfection เวกเตอร์ไวรัส (viral vectors) หรือแบคทีเรีย (bacterial vectors) เป็นต้น การเข้าสู่เซลล์ของดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ จำเป็นต้องอาศัยวิธีการอื่น จุดประสงค์ของการทำให้ DNA plasmids อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสม ก็เพื่อที่จะสามารถปกป้อง plasmids จากการถูกทำลาย และเพิ่มความสามารถของ plasmids ในการเข้าเซลล์หลังจากที่เข้าสู่ร่างกายโดยการฉีดหรือโดยผ่านทางเยื่อบุหรือผิวหนัง ตัวอย่างของ formulation เช่น รูปแบบที่ใช้สาร Vaxfectin มีคุณสมบัติในการเป็น adjuvant ส่งผลให้มีการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีเพิ่มขึ้น และกระตุ้นการตอบสนองชนิด Th1 ของ T helper cells[8] นอกจากนี้ การใส่ DNA plasmids บน microparticles ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-10 ไมครอน เพื่อที่จะให้ antigen-presenting cells (APCs) สามารถนำ DNA plasmids เข้าสู่เซลล์เพื่อเข้าขบวนการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต่อไปได้[9]

นอกจากนี้ ได้มีการศึกษาทดลองนำดีเอ็นเอวัคซีนเข้าสู่ร่างกายทางปากโดยใช้เวกเตอร์ชนิดแบคทีเรีย เช่น จากเชื้อ Salmonella และ Shigella[10,11] การที่สามารถให้ดีเอ็นเอวัคซีนผ่านทางเยื่อบุหรือผิวหนังได้ มีประโยชน์อย่างมากต่อการนำไปใช้ ทั้งในส่วนของความสะดวก การที่วัคซีนสามารถเข้าไปอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มี APCs อยู่เป็นจำนวนมาก และสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันตรง

ตารางที่ 3 ตัวอย่างเชื้อก่อโรคหรือภาวะที่การใช้ดีเอ็นเอวัคซีนสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อประโยชน์ในด้านการป้องกันหรือรักษาในสัตว์ทดลอง

Viruses		Bacteria	
HIV	Influenza	*B. Burgdorferi*	
Rabies	Hepatitis B, C	*C. Tetani*	
Ebola	Herpes simplex	*S. Typhi*	
Parasites		**Cancer**	
Malaria		Breast (Her2/neu)	Myeloma
Leishmania		Colon	Lymphoma
Schistosoma		Prostate	Fibrosarcoma
Allergy		**Autoimmune diseases**	
House dust mite		Diabetes	
Peanut			

(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 2)

บริเวณที่เป็นตำแหน่งหลักที่มีการติดเชื้อ ได้มีการนำวัคซีนเข้าสู่ร่างกายโดยผ่านทางเยื่อบุช่องปาก[12] และเยื่อบุจมูก[13] และผ่านทางผิวหนังโดยการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่[14] และ SIV/HIV ในสัตว์ทดลอง[15]

การนำดีเอ็นเอวัคซีนเข้าสู่ร่างกายโดยการฉีดสามารถกระทำได้โดยวิธีที่เรียกว่า "gene gun" ซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้ gold beads ที่เคลือบด้วย DNA plasmids เข้าไปในผิวหนังได้ วิธีนี้ได้รับการพัฒนาและนำไปใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งชนิด CTLs, Th cells และการสร้างแอนติบอดีในคนหลังจากที่ได้รับ DNA plasmids ที่สามารถสร้าง hepatitis B surface antigen (HBsAg) โดยการฉีดได้[16] แนวทางนี้ได้นำไปทดลองทางคลินิกในคนที่ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสตับอักเสบบีหลังจากได้รับวัคซีนชนิด recombinant HBsAg หลังจากที่ได้รับ hepatitis DNA vaccine โดยวิธี gene gun ร่างกายสามารถสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนนี้ได้[17] อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ก็มีข้อจำกัดบางประการ เช่น การเคลือบดีเอ็นเอบน gold beads สามารถใส่ดีเอ็นเอได้ในปริมาณที่น้อย ทำให้ต้องทำการฉีดหลายครั้งในหลายตำแหน่ง และความไม่เสถียรของดีเอ็นเอบน gold beads ในเวลาต่อมา ได้มีการพัฒนาเครื่องมือที่เรียกว่า Biojector ซึ่งสามารถนำ plasmids เข้าสู่ผิวหนังหรือกล้ามเนื้อ และเข้าสู่ APCs ได้โดยตรง[18]

การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอวัคซีน

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ดีเอ็นเอวัคซีนมีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสได้หลายชนิด เช่น เชื้อ Rabies virus, Filovirus, Flavivirus, Togavirus, Bunyavirus และการติดเชื้อแบคทีเรียที่รุนแรง เช่น anthrax เป็นต้น สำหรับการพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ได้ผลในระดับหนึ่งในสัตว์ทดลอง เช่น การศึกษาโดยใช้ดีเอ็นเอวัคซีนที่ประกอบด้วยส่วนที่สามารถสร้าง nucleoprotein ของเชื้อไข้หวัดใหญ่ซึ่งเป็นตัวหลัก (prime) ร่วมกับ recombinant adenovirus เป็นตัวเสริม (boost) สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันและป้องกันการติดเชื้อในหนูทดลองได้[19]

ดีเอ็นเอวัคซีนที่สร้างจากสารพันธุกรรมของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* มีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ การให้ดีเอ็นเอวัคซีนสำหรับเชื้อนี้เข้าไปก่อนและตามด้วยวัคซีน Bacillus of Calmette and Gúerin (BCG) ที่ใช้ในปัจจุบันเป็นตัวเสริม สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าการใช้ BCG อย่างเดียว[20] อย่างไรก็ตาม เนื่องจากวัคซีน BCG เริ่มให้ในทารกแรกเกิด การให้ดีเอ็นเอวัคซีนก่อนการให้ BCG อาจจะทำไม่ได้ในทางปฏิบัติ ดังนั้น การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพของดีเอ็นเอวัคซีนชนิด polyvalent ที่ใช้เป็น booster ในสัตว์ทดลองที่ได้รับ BCG มาก่อน สูตรการให้วัคซีนนี้สามารถเสริมการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ mycobacteria ในปอดซึ่งได้รับดีเอ็นเอวัคซีน 15 ถึง 18 เดือนหลังจากได้ BCG[21] การศึกษานี้แสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำดีเอ็นเอวัคซีนมาใช้เป็นตัวเสริม (booster) ในทารกที่ได้รับวัคซีน BCG เพื่อเพิ่มประสิทธภาพของวัคซีนในการป้องกันการติดเชื้อ

ในปัจจุบัน ดีเอ็นเอวัคซีน 3 ชนิดได้รับอนุญาตให้ใช้ในสัตว์เลี้ยง ประกอบด้วย วัคซีนป้องกันการติดเชื้อ infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) ในปลาแซลมอน[22] เชื้อ West Nile virus ในม้า[23] และวัคซีนสำหรับการรักษามะเร็งในสุนัข ดังแสดงในตารางที่ 4 การที่ดีเอ็นเอวัคซีนมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและได้รับอนุญาตให้นำมาใช้ได้ในสัตว์เลี้ยง ได้จุดประกายความหวังในการพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนให้สามารถนำมาใช้ในคนได้ในอนาคต

การทดลองดีเอ็นเอวัคซีนในทางคลินิก

ดีเอ็นเอวัคซีนได้เข้าสู่การทดลองทางคลินิกในคนหลังจากที่การศึกษาในสัตว์ทดลองได้ผลเป็นที่น่าพอใจ สิ่งที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งของการใช้ดีเอ็นเอวัคซีนในคนคือความปลอดภัยของการใช้ดีเอ็นเอวัคซีน การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ดีเอ็นเอที่เป็นส่วนหนึ่งของวัคซีนไม่ได้ถูกรวมเข้าไปในจีโนมของคน (host genome) และไม่พบความ

ตารางที่ 4 แสดงดีเอ็นเอวัคซีนที่ได้รับอนุญาตใช้ในสัตว์เลี้ยง

ชื่อวัคซีน	ข้อบ่งชี้	ประเภทของสัตว์เลี้ยง	ปีที่ได้รับอนุญาต
West Nile-Innovator®	West Nile virus	ม้า	2005
Apex-IHN®	Infectious haematopoietic necrosis virus	ปลาแซลมอน	2005
Oncept™	Melanoma	สุนัข	2010

(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 2)

เสี่ยงของการเกิด tolerance ต่อแอนติเจนหรือการเกิดภูมิต้านตนเอง[24] อย่างไรก็ตาม การตอบสนองทางด้านภูมิคุ้มกันต่อการกระตุ้นโดยการใช้ดีเอ็นเอวัคซีนอย่างเดียวค่อนข้างต่ำ ทำให้ต้องมีการค้นหาและพัฒนาให้ได้แนวทางหรือวิธีที่ทำให้เพิ่มความแรงของดีเอ็นเอวัคซีนในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ไม่ว่าจะเป็นการพัฒนาวิธีการนำดีเอ็นเอเข้าสู่ร่างกาย สูตรหรือรูปแบบที่ใช้ และการใช้วิธี prime-boost

การทดลองทางคลินิกโดยเริ่มจากการให้สารพันธุกรรมดีเอ็นเอก่อนและตามด้วยการเพิ่มความแรงในการกระตุ้นโดยใช้ viral vectors เป็นแนวทางที่ได้ถูกนำมาศึกษามากขึ้น ได้เริ่มมีการศึกษาเพื่อการป้องกันการติดเชื้อ HIV โดยการใช้ adenovectors[25] หรือใช้ modified vaccinia Ankara (MVA) เป็นตัวเสริม[26] สำหรับการป้องกันการติดเชื้อมาลาเรีย ได้มีการทดลองทางคลินิกโดยเริ่มจากการให้สารพันธุกรรมดีเอ็นเอก่อนและตามด้วยการเพิ่มความแรงในการกระตุ้นโดยใช้ MVA[27]

สรุป

ความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีและความรู้ด้านชีวโมเลกุลและพันธุศาสตร์ทางการแพทย์ นอกจากจะช่วยในด้านการวินิจฉัย การดูแลรักษาและการป้องกันโรคได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น[28] ยังส่งผลไปถึงการพัฒนาวัคซีนที่เป็น gene-based vectors เพื่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรค การพัฒนาอย่างต่อเนื่องของเทคโนโลยีด้านดีเอ็นเอวัคซีนนำไปสู่การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอวัคซีนเพื่อป้องกันหรือรักษาโรคติดเชื้อและมะเร็งบางชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพในสัตว์เลี้ยง ถึงแม้ว่าผลการศึกษาทดลองดีเอ็นเอวัคซีนในคนในระยะแรก พบว่ามีการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระดับที่ต่ำซึ่งไม่เพียงพอที่จะป้องกันหรือรักษาโรคได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาก็ได้ทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจที่เพิ่มมากขึ้นเกี่ยวกับกลไกการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยดีเอ็นเอวัคซีน ทำให้เริ่มมีการค้นหาแนวทางและวิธีการใหม่ๆ ในการเพิ่มประสิทธิภาพของดีเอ็นเอวัคซีนที่จะนำมาใช้ในคน นอกจากนี้ การทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับการใช้ดีเอ็นเอวัคซีนเพื่อป้องกันหรือรักษาโรคได้ครอบคลุมจำนวนโรคมากขึ้นและก้าวหน้าไปอย่างต่อเนื่อง สิ่งที่พบจากการศึกษาที่ผ่านมา ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเทคโนโลยีด้านดีเอ็นเอวัคซีนและความหลากหลายในการประยุกต์ใช้ ซึ่งเป็นที่คาดหวังว่า ดีเอ็นเอวัคซีนสามารถถูกนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการป้องกันและรักษาโรคที่มีผลกระทบอย่างสำคัญต่อมนุษย์ได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1.Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Acsadi G, Jani A, et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. Science. 1990;247:1465-8.

2.Liu MA. DNA vaccines: an historical perspective and view to the future. Immunol Rev. 2011;239:62-84.

3.Doherty PC, Turner SJ, Webby RG, Thomas

PG. Influenza and the challenge for immunology. Nat Immunol. 2006;7:449-55.

4.Nabel GJ. KD, UlmerJB., Liu MA. DNA vaccines. In: Levine MM, editor. New Generation Vaccine. 4th ed. New York: Informa Healthcare USA, Inc; 2010. p.386-95.

5.Liu MA. Gene-based vaccines: Recent developments. Curr Opin Mol Ther. 2010;12:86-93.

6.Barouch DH, Yang ZY, Kong WP, Korioth-Schmitz B, Sumida SM, Truitt DM, et al. A human T-cell leukemia virus type 1 regulatory element enhances the immunogenicity of human immunodeficiency virus type 1 DNA vaccines in mice and nonhuman primates. J Virol. 2005;79:8828-34.

7.Ulmer JB, Donnelly JJ, Parker SE, Rhodes GH, Felgner PL, Dwarki VJ, et al. Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. Science. 1993;259:1745-9.

8.Jimenez GS, Planchon R, Wei Q, Rusalov D, Geall A, Enas J, et al. Vaxfectin-formulated influenza DNA vaccines encoding NP and M2 viral proteins protect mice against lethal viral challenge. Hum Vaccin. 2007;3:157-64.

9.Little SR, Lynn DM, Ge Q, Anderson DG, Puram SV, Chen J, et al. Poly-beta amino ester-containing microparticles enhance the activity of nonviral genetic vaccines. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101:9534-9.

10.Sizemore DR, Branstrom AA, Sadoff JC. Attenuated Shigella as a DNA delivery vehicle for DNA-mediated immunization. Science. 1995;270:299-302.

11.Chin'ombe N, Bourn WR, Williamson AL, Shephard EG. Oral vaccination with a recombinant Salmonella vaccine vector provokes systemic HIV-1 subtype C Gag-specific CD4+ Th1 and Th2 cell immune responses in mice. Virol J. 2009;6:87.

12.Takamura S, Niikura M, Li TC, Takeda N, Kusagawa S, Takebe Y, et al. DNA vaccine-encapsulated virus-like particles derived from an orally transmissible virus stimulate mucosal and systemic immune responses by oral administration. Gene Ther. 2004;11:628-35.

13.Kim TW, Chung H, Kwon IC, Sung HC, Kang TH, Han HD, et al. Induction of immunity against hepatitis B virus surface antigen by intranasal DNA vaccination using a cationic emulsion as a mucosal gene carrier. Mol Cells. 2006;22:175-81.

14.Ozaki T, Yauchi M, Xin KQ, Hirahara F, Okuda K. Cross-reactive protection against influenza A virus by a topically applied DNA vaccine encoding M gene with adjuvant. Viral Immunol. 2005;18:373-80.

15.Lori F, Trocio J, Bakare N, Kelly LM, Lisziewicz J. DermaVir, a novel HIV immunisation technology. Vaccine. 2005;23:2030-4.

16.Roy MJ, Wu MS, Barr LJ, Fuller JT, Tussey LG, Speller S, et al. Induction of antigen-specific CD8+ T cells, T helper cells, and protective levels of antibody in humans by particle-mediated administration of a hepatitis B virus DNA vaccine. Vaccine. 2000;19:764-78.

17.Rottinghaus ST, Poland GA, Jacobson RM, Barr LJ, Roy MJ. Hepatitis B DNA vaccine induces protective antibody responses in human non-responders to conventional vaccination. Vaccine. 2003;21:4604-8.

18.Rao SS, Gomez P, Mascola JR, Dang V, Krivulka GR, Yu F, et al. Comparative evaluation of three different intramuscular delivery methods for DNA immunization in a nonhuman primate animal model. Vaccine. 2006;24:367-73.

19.Epstein SL, Kong WP, Misplon JA, Lo CY, Tumpey TM, Xu L, et al. Protection against multiple influenza A subtypes by vaccination with highly con-

served nucleoprotein. Vaccine. 2005;23:5404-10.

20. Ferraz JC, Stavropoulos E, Yang M, Coade S, Espitia C, Lowrie DB, et al. A heterologous DNA priming-Mycobacterium bovis BCG boosting immunization strategy using mycobacterial Hsp70, Hsp65, and Apa antigens improves protection against tuberculosis in mice. Infect Immun. 2004;72:6945-50.

21. Wang J, Thorson L, Stokes RW, Santosuosso M, Huygen K, Zganiacz A, et al. Single mucosal, but not parenteral, immunization with recombinant adenoviral-based vaccine provides potent protection from pulmonary tuberculosis. J Immunol. 2004;173:6357-65.

22. Lorenzen N, LaPatra SE. DNA vaccines for aquacultured fish. Rev Sci Tech. 2005;24:201-13.

23. Powell K. DNA vaccines--back in the saddle again? Nat Biotechnol. 2004;22:799-801.

24. Liu MA, Ulmer JB. Human clinical trials of plasmid DNA vaccines. Adv Genet. 2005;55:25-40.

25. Kibuuka H, Kimutai R, Maboko L, Sawe F, Schunk MS, Kroidl A, et al. A phase 1/2 study of a multiclade HIV-1 DNA plasmid prime and recombinant adenovirus serotype 5 boost vaccine in HIV-Uninfected East Africans (RV 172). J Infect Dis. 2010;201:600-7.

26. Sandstrom E, Nilsson C, Hejdeman B, Brave A, Bratt G, Robb M, et al. Broad immunogenicity of a multigene, multiclade HIV-1 DNA vaccine boosted with heterologous HIV-1 recombinant modified vaccinia virus Ankara. J Infect Dis. 2008;198:1482-90.

27. Vuola JM, Keating S, Webster DP, Berthoud T, Dunachie S, Gilbert SC, et al. Differential immunogenicity of various heterologous prime-boost vaccine regimens using DNA and viral vectors in healthy volunteers. J Immunol. 2005;174:449-55.

28. Suphapeetiporn K, Kongkam P, Tantivatana J, Sinthuwiwat T, Tongkobpetch S, Shotelersuk V. PTEN c.511C>T nonsense mutation in a BRRS family disrupts a potential exonic splicing enhancer and causes exon skipping. Jpn J Clin Oncol. 2006;36:814-21.