Therapeutic monoclonal antibody for dengue treatment

Pannamthip Pitaksajjakul, Chonlatip Pipattanaboon, Hathairad Hananantachai
Department of Social and Environmental Medicine, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

Abstract

Dengue disease is one of viral diseases caused by dengue virus (DENV) and transmitted by Aedes aegypti mosquitoes. There are over 100 million cases of dengue diseases reported by WHO each year. Among these, about 500,000 cases were developed to severe diseases which are Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) and Dengue Shock Syndrome (DSS) causing more than 20,000 deaths. Until now, there is no vaccine or specific treatment for this disease. From its specificity, several researcher groups were trying to develop monoclonal antibody (MAb) as its alternative treatment. However, from the complexity of the virus itself, which can be classified into 4 serologically different serotypes, the antibody that neutralizes one serotype from the primary infection can cross-react, but may not neutralize heterologous serotypes in the secondary infection. Instead, the antibody can form a complex with the virus and help the virus to enter the target cell via IgG Fc receptor. This phenomenon is called antibody dependent enhancement (ADE) which leads to increased virus particles infecting to the cells and is considered as one hypothesis for increasing severity dengue secondary infection. For this reason, the candidate of therapeutic monoclonal antibody for treatment dengue should be able to neutralize 4 serotypes of DENV, without causing ADE. This study provided the information for the development of therapeutic monoclonal antibody for infectious diseases, particularly dengue disease.

Keywords: therapeutic monoclonal antibody, Dengue virus, haemorrhagic fever, neutralization, antibody dependent enhancement

Corresponding author:
Pannamthip Pitaksajjakul
Department of Social and Environmental Medicine
Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University
420/6 Ratchawithi Road, Ratchathewi, Bangkok 10400
E-mail: pannamthip.pit@mahidol.ac.th

บทนำ

โรคไข้เลือดออกเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี่ (Dengue virus) จนถึงปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนที่ใช้ในการป้องกันโรคนี้ รวมทั้งยารักษาที่เฉพาะเจาะจง สาเหตุหลักเนื่องมาจากความหลากหลายทางด้านสายพันธุ์ (serotypes) ของเชื้อไวรัส โดยเชื้อ DENV มีทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ที่มีความแตกต่างกันทางด้านพันธุกรรมระดับโมเลกุลถึงร้อยละ 30-35[1] โดยถ้ามีการติดเชื้อสายพันธุ์หนึ่งแล้วจะมีภูมิคุ้มกันต่อสายพันธุ์นั้นไปตลอดชีวิต (permanent immunity) แต่จะมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ DENV สายพันธุ์อื่น อีก 3 ชนิดได้ในช่วงเวลาสั้นๆ (partial immunity) หลังจากนั้นจะมีโอกาสติดเชื้อ DENV สายพันธุ์อื่นที่ต่างจากการติดเชื้อครั้งแรกได้ เป็นการติดเชื้อซ้ำ (secondary dengue infection) ซึ่งภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการติดเชื้อครั้งแรกไม่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่ต่างสายพันธุ์จากการติดเชื้อครั้งที่สองได้ แต่กลับส่งเสริมให้มีการเข้าสู่เซลล์และเพิ่มจำนวนของ DENV ภายในเซลล์มากขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิดโรคไข้เลือดออกชนิดรุนแรง (Dengue hemorrhagic fever และ Dengue shock syndrome) ซึ่งลักษณะการก่อโรคแบบนี้เป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อไวรัสไข้เลือดออกเดงกี่ที่เรียกว่า Antibody Dependent Enhancement (ADE)[2,5]

จากความซับซ้อนของ DENV ทำให้การผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันโรคไข้เลือดออกเป็นไปได้ยาก โดยจะเห็นได้จากการทดสอบวัคซีน ChimeriVax-DENV ของบริษัท Sanofi Pasteur ในการทดลอง phase I กับอาสาสมัครกลุ่มใหญ่ โดยใช้ yellow fever virus สายพันธุ์ 17 D เป็น Live vector แล้วนำ genes ส่วน envelope (E) และ pre-membrane (prM) ของ DENV จากทั้ง 4 สายพันธุ์ใส่ร่วมด้วย พบว่า ในระยะเริ่มแรกมีความปลอดภัย และสร้างภูมิคุ้มกันได้ในระดับที่ดี[15] แต่ต่อมาเมื่อทำการทดสอบวัคซีนใน phase 2b กับอาสาสมัครเด็กนักเรียนไทยพบว่าวัคซีนดังกล่าว สามารถให้ภูมิคุ้มกันสำหรับเชื้อไวรัสเดงกี่สายพันธุ์ DENV2 ได้เพียง 30.2% เท่านั้น[4] ซึ่งชี้ให้เห็นว่าควรมีการปรับปรุงวัคซีนชนิดนี้ให้สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันได้สูงขึ้น จากข้อมูลการใช้วัคซีนดังกล่าวซึ่งยังคงไม่ได้ผลดีนัก รวมถึงการควบคุมยุงพาหะที่เป็นสาเหตุของการนำโรคไข้เลือดออกยังไม่มีประสิทธิภาพดีพอ ทำให้นักวิจัยต้องหาวิธีอื่นๆ เพื่อควบคุมโรคไข้เลือดออกไปพร้อมกัน การรักษาโดยการใช้สารภูมิคุ้มกันที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสใหม่ และลดจำนวนของเชื้อไวรัสที่มีอยู่เดิมจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ซึ่งชีวภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับและนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจากไวรัสคือ โมโนโคลนอลแอนติบอดี (MAb)[5] ซึ่งข้อดีของการใช้ MAb ในการรักษาโรคคือ ความสามารถในการจับอย่างจำเพาะของแอนติบอดีที่ผลิตขึ้นต่อเชื้อโรคนั้นๆ ทำให้สามารถยับยั้งเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ และไม่มีปัญหาของการดื้อยาที่มักพบได้ในการใช้ยาปฏิชีวนะ[6]

การพัฒนาโมโนโคลนอลแอนติบอดีเพื่อรักษาโรค

โมโนโคลนอลแอนติบอดี (Monoclonal antibody; MAb) สร้างขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1975 และนำมาใช้ประโยชน์ (Licenced) ในปี ค.ศ. 1986 ในปัจจุบันเทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมได้มีการพัฒนาและประยุกต์ใช้ในงานทางวิทยาศาสตร์การแพทย์อย่างแพร่หลาย โดยมีการพัฒนา MAb เสมือนมนุษย์ (humanized monoclonal antibody) หลายชนิด และนำมาใช้รักษาโรค โดยมี MAb ที่ผ่านการทดสอบทางคลินิกมากมาย จนถึงปัจจุบันมี MAb จำนวน 30 ชนิด ที่ได้รับการยอมรับจากคณะกรรมการอาหารและยา (Food and Drug Administration ; FDA or USFDA) เพื่อใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคติดเชื้อ โรคมะเร็ง และโรคที่เกิดจากความผิดปกติด้านภูมิคุ้มกัน (autoimmune disorder)[6]

ในช่วงแรก MAb ที่ผลิตขึ้นส่วนใหญ่เป็น MAb ที่ได้จากหนู (mouse MAb) โดยใช้เทคโนโลยีไฮบริโดมา ซึ่งเป็นการผสมกันระหว่างเซลล์ม้ามของหนูที่ฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยแอนติเจนที่สนใจ (Mouse spleen cells) และเซลล์เนื้องอก (Myeloma) หลอมเข้าด้วยกันกลายเป็นเซลล์ลูกผสม (Hybrid cells) ที่มีคุณลักษณะของเซลล์ทั้งสองชนิด คือ สามารถสร้างสารอิมมิวโนโกลบูลิน (Ig) ได้ และเจริญเติบโตได้อย่างไม่จำกัด โดยเทคโนโลยีไฮบริโดมานี้คิดค้นขึ้นเป็นครั้งแรกโดย Kohler และ Milstein ในปี ค.ศ. 1975 หลังจากนั้นเป็นต้นมา การผลิต MAb ด้วยวิธีไฮบริโดมาจึงมีการใช้อย่างแพร่หลาย[7,8]

ในช่วงปี 1980 มีการทำวิจัยจำนวนมากในการทดสอบประสิทธิภาพของ MAb ที่ผลิตได้จากหนู เพื่อนำไปใช้ในมนุษย์ แต่พบปัญหาบางประการ คือ MAb ที่ได้จาก

หนูนี้มีความคงทนอยู่ในซีรั่มได้ค่อนข้างสั้น และยังก่อให้เกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Human anti-mouse antibodies) ทำให้การนำไปใช้มีอย่างจำกัด จึงมีการดัดแปลงรูปแบบโมเลกุลของ Ig ให้มีความคล้ายคลึงกับของมนุษย์มากขึ้น ในรูปของอิมมิวโนโกลบูลินจี (IgG) แบบผสมระหว่างหนูและมนุษย์ (Human-mouse chimeric antibody) โดยมีส่วน variable region ของ IgG ที่ได้จากหนู และส่วน constant region ของ IgG ที่เป็นของมนุษย์ IgG ชนิดนี้ประกอบด้วยส่วนที่ได้มาจากหนูประมาณ 30% และส่วนที่ได้มาจากมนุษย์ประมาณ 70% ทำให้ปฏิกิริยาต่อต้านโปรตีนจากหนูลดน้อยลง[9] อย่างไรก็ตาม ยังคงตรวจพบปฏิกิริยาต่อต้านต่อ IgG แบบผสมนี้ ที่เรียกว่า Human anti-chimeric antibody response จึงมีความพยายามลดส่วนของ IgG ที่เป็นส่วนของหนูลงอีก ได้เป็น IgG เสมือนมนุษย์ (Humanized IgG) ซึ่งมีส่วนที่เป็นแอนติบอดีของหนูเพียง 5-10% ในส่วนของ Complementary Determining Regions (CDRs) ซึ่งเป็นส่วนที่รับผิดชอบในการจับกับแอนติเจนอย่างจำเพาะ ซึ่งต่อมามีการพัฒนาจนสามารถผลิต IgG ที่เป็นส่วนของมนุษย์ 100% ได้เป็นโมโนโคลนอลแอนติบอดีมนุษย์ (HuMAb) ซึ่งสามารถนำไปใช้ทดสอบประสิทธิภาพ และความปลอดภัยในมนุษย์[28] ซึ่ง HuMAb นี้สามารถผลิตได้จากหลายวิธี เช่น เทคโนโลยีการสร้าง Hybridoma[10] เทคโนโลยี phage display[11] หรือการใช้หนูที่มีการเปลี่ยนถ่ายพันธุกรรม (Transgenic mice)[5] โดยการตัดต่อใส่ยีนแอนติบอดีของมนุษย์ (human Immunoglobulin genes)[12] ต่อมาได้พัฒนาวิธี microbial surface display[13] และวิธี Human memory B-cell immortalizations[14] เพื่อผลิต MAb ในรูปแบบต่างๆ เช่น Humanized และ Chimeric สำหรับรักษาโรคไวรัสต่างๆ เช่น โรค Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus, Respiratory Syncytial Virus (RSV) ไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies virus) West Nile Virus (WNV)

โมโนโคลนอลแอนติบอดีสำหรับรักษาโรคติดเชื้อไวรัส

การนำซีรั่มหรือ polyclonal antibody ซึ่งมี IgG มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ ได้มีมาเป็นระยะเวลานาน[5,15] แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการรักษาโรคของแอนติบอดี โดยข้อดีของการใช้ polyclonal antibody ที่มีอยู่ในซีรั่ม คือความหลากหลายของแอนติบอดีที่สามารถจับกับเอพิโทปตำแหน่งต่างๆ ของเชื้อไวรัส ทำให้มีการเสริมฤทธิ์กันของแอนติบอดีเหล่านี้ในการยับยั้งเชื้อไวรัส และยังช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดไวรัสผ่าเหล่าที่ดื้อต่อการรักษา (Escape mutant)

แต่อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่เกิดขึ้นคือ ความแตกต่างกันของ polyclonal antibody ในแต่ละรอบของการผลิต (batch to batch variation) และความเสี่ยงจากการติดเชื้อที่ปนเปื้อนในกระแสโลหิตจากซีรั่มของผู้บริจาค[5] นอกจากนี้สำหรับการนำ polyclonal antibody มาใช้รักษาผู้ป่วยไข้เลือดออกยังมีข้อจำกัดมากขึ้นอีก กล่าวคือ polyclonal antibody ที่มีอยู่ในซีรั่มส่วนใหญ่อาจจะไม่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสได้[16-18] จึงต้องมีการคัดเลือก neutralizing antibodies ในจำนวนที่มากพอ เพื่อให้แอนติบอดีนั้นสามารถยับยั้ง DENV ทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ เพื่อที่จะลดความเสี่ยงในการเกิดปฏิกิริยา ADE ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคมากขึ้น ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น

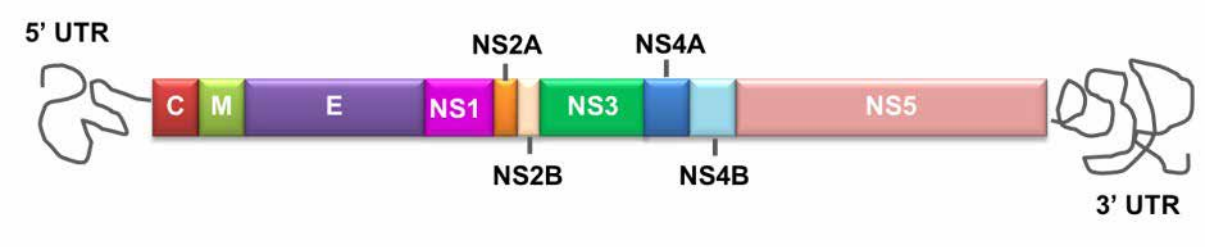
สำหรับข้อดีของการใช้ MAb ในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัส คือสามารถผลิตได้ในปริมาณมาก และไม่มีความแตกต่างกันของ MAb ในแต่ละรอบของการผลิต นอกจากนี้ MAb ยังจับกับแอนติเจนที่เอพิโทปเฉพาะ ส่งผลให้มีค่า affinity และความจำเพาะ (specificity) ในการยับยั้งไวรัสสูงกว่า polyclonal antibody ซึ่งสำหรับ DENV การใช้ MAb จะมีความเสี่ยงในการเกิด ADE ได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ polyclonal antibody[19]

แอนติบอดีรักษาโรคไข้เลือดออก และตำแหน่งเอพิโทป

การพัฒนาแอนติบอดีเพื่อรักษาโรคโดยการยับยั้งเชื้อไวรัส มีเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากเนื่องจากมีการพัฒนาเทคนิคใหม่ๆ เพิ่มขึ้นในการหาตำแหน่งเอพิโทปของไวรัสที่แอนติบอดีสามารถเข้าจับได้อย่างจำเพาะ ทั้งแบบ neutralizing และ non neutralizing เช่น เทคโนโลยีการแสดงโปรตีนบนผิว และการคัดเลือก และไม่นานมานี้นักวิจัยหลายกลุ่มได้สร้าง MAb จากมนุษย์ (HuMAb) และจับจำเพาะกับ DENV ทำให้ทราบถึงตำแหน่งเอพิโทปของไวรัส และสามารถศึกษาถึงระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์หลังจากติดเชื้อไข้เลือดออก

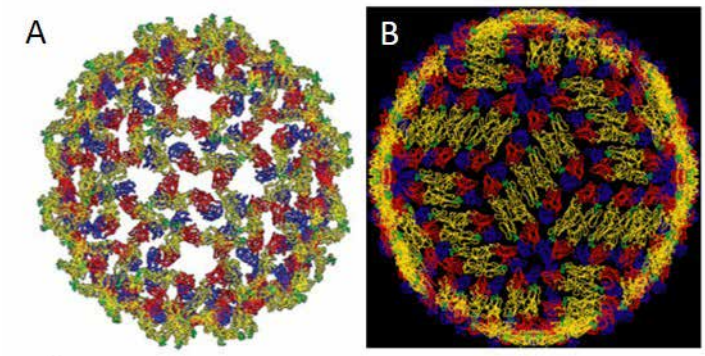
1. โครงสร้างของเชื้อไวรัสเดงกี่

เชื้อไวรัสเดงกี่ (Dengue virus) เป็นไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคไข้เลือดออก โดยไวรัสชนิดนี้จัดอยู่ในแฟมิลี่ Flaviviridae, จีนัส Flavivirus เป็นไวรัสชนิด RNA สายเดียวแบบสายตรงชนิดบวก มีทั้งหมด 4 สายพันธุ์ (DENV 1-4) มีขนาดจีโนมโดยประมาณ 10.7 kb ประกอบไปด้วยโปรตีนทั้งหมด 11 ชนิด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโปรตีนโครงสร้าง (Structural protein) ประกอบด้วย capsid protein (C), pre-Membrane/Membrane protein (prM/M), และ Envelope protein (E) และกลุ่มที่ไม่ใช่โปรตีนโครงสร้าง (Non-structural protein) ประกอบไปด้วยโปรตีน NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, และ NS5 (รูปที่ 1)[20]



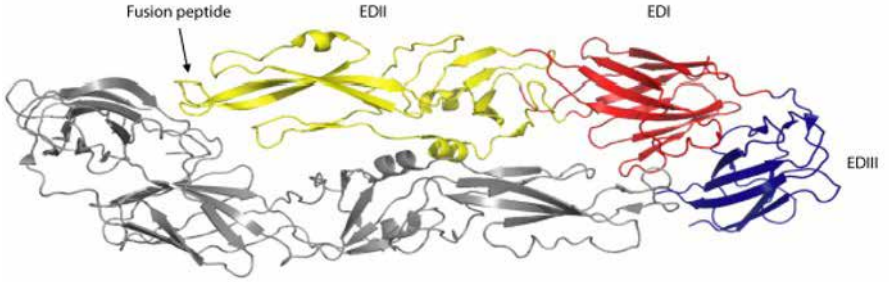
รูปที่ 1 จีโนมของไวรัสเดงกี่ที่แปลรหัสได้เป็นโปรตีนทั้งหมด 10 ชนิด คือ โปรตีนโครงสร้าง 3 ชนิด (Capsid, Membrane, Envelop) และที่ไม่ใช่โปรตีนโครงสร้าง 7 ชนิด (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, และ NS5)[21]

บนผิวของเชื้อ DENV ประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ชนิดคือ โปรตีน E และ prM โดยมี โปรตีน E จำนวนทั้งหมด 180 หน่วย ซึ่งจัดเรียงตัวแตกต่างกันในระยะต่างๆ ของไวรัส และทำหน้าที่เป็นตัวจับจำเพาะกับ receptor ของเซลล์เจ้าบ้าน (Host cell) และมี Fusion peptide ที่ทำให้เกิดการหลอมรวมกันระหว่างผนังเซลล์ของไวรัสและเซลล์เจ้าบ้าน ส่วนโปรตีน prM เป็นโปรตีนที่หุ้ม fusion peptide ของโปรตีน E ที่ปลายด้านหนึ่ง ในขณะที่เชื้อไวรัสยังเติบโตไม่สมบูรณ์ (immature virus) ซึ่งอาศัยอยู่ใน Endoplasmic reticulum (ER) ของเซลล์เจ้าบ้าน ในขั้นตอนนี้โปรตีน E/prM จะจัดเรียงตัวเป็นกลุ่มย่อย (prM-E) จำนวน 3 หน่วย (trimer) ในลักษณะพุ่งส่วนแหลมออกนอกเซลล์ ทำให้ลักษณะของ immature virus มีลักษณะขรุขระ (รูปที่ 2A) ซึ่งแตกต่างจากไวรัสที่เจริญเติบโตสมบูรณ์ (mature virus) ที่มีการตัดโปรตีน prM ออกโดยเอนไซม์ protease และจัดเรียงตัวตามแนวราบ เป็นโมเลกุลคู่ (dimer) จำนวน 90 โมเลกุล (รูปที่ 2B)[22,23]



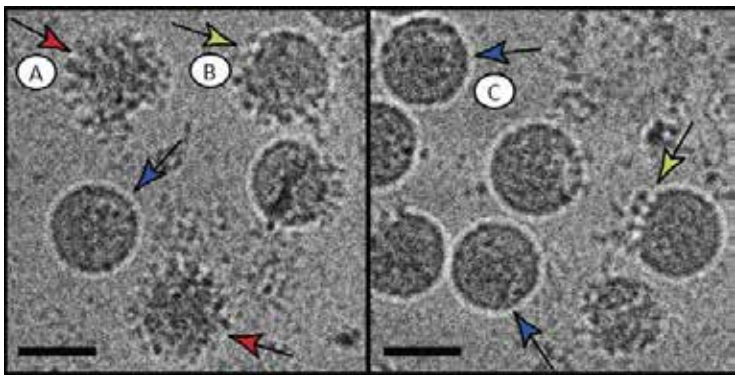
รูปที่ 2 ลักษณะโมเลกุลของเชื้อไวรัสเดงกี่ในระยะไม่สมบูรณ์ (A) โดยโปรตีน E จะจัดเรียงกันแบบ Trimer โดยพุ่งปลายแหลมออกจากเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์มีลักษณะขรุขระดังรูป และระยะสมบูรณ์ (B) โดยโปรตีน E ของไวรัสจะเรียงตัวเป็นโมเลกุลคู่ราบกับผนังเซลล์ ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อย 3 โดเมน (Domain; D) คือ EDI (สีแดง), EDII (สีเหลือง), และ EDIII (สีน้ำเงิน)[23]

โปรตีน E ยังสามารถแบ่งออกเป็นหน่วยย่อยได้อีกที่เรียกว่าโดเมน (Domain) โดยมีทั้งหมด 3 domain คือ Domain I (EDI), II (EDII), และ III (EDIII) โดยโปรตีนทั้ง 3 ส่วนมีหน้าที่ต่างกัน โดย EDII จะเป็นโดเมนที่มี Fusion peptide อยู่ที่ปลายด้านหนึ่ง และ EDIII ที่มีตัวจับเฉพาะ (Receptor) กับเซลล์เจ้าบ้าน (รูปที่ 3)[24] ทำให้โปรตีน E เป็นโปรตีนที่พบว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีที่สามารถยับยั้ง DENV ได้ดี และมีการพัฒนาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนชนิดนี้มากที่สุด



รูปที่ 3 โครงสร้างโปรตีน E ของ DENV ในระยะสมบูรณ์ ซึ่งเรียงตัวโดยการจับคู่กันในลักษณะ homodimer ซึ่งในแต่ละโมเลกุลเดี่ยวแบ่งออกได้เป็น 3 โดเมน (EDI, EDII และ EDIII) โดยมี fusion peptide ที่ปลายด้านหนึ่งของโดเมน EDII[23]

จากการศึกษาลักษณะของไวรัสในกลุ่ม *Flavivirus* ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ยุง *Aedes albopictus* ด้วยวิธี Cryo-electronmicroscopy (Cryo-EM) พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ *Flavivirus* รวมถึงเชื้อไวรัสเดงกี่ จากระยะ immature เป็น mature นั้นเกิดขึ้นอย่างไม่สมบูรณ์[25] โดยพบว่าไวรัสที่เตรียมได้จากการเพิ่มปริมาณในเซลล์ C6/36 ที่เป็นเซลล์ของยุง *Aedes albopictus* แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ประกอบเป็นไวรัสแบบไม่สมบูรณ์ (immature) (รูปที่ 4A) ซึ่งเป็นไวรัสที่ไม่เกิดขั้นตอนการตัดโปรตีน prM ออก ไวรัสกลุ่มนี้ยังคงมี prM อยู่ในโมเลกุล และเกิดการจับกับ MAbs ที่จำเพาะต่อโปรตีน prM (Anti-prM) ซึ่งส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อไวรัส ไวรัสในกลุ่มนี้จะยังไม่มีคุณสมบัติการติดเชื้อ (Non-infectious) เนื่องจากเติบโตไม่สมบูรณ์ แต่เมื่อรวมกับแอนติบอดีที่จำเพาะ (Anti-prM) จะถูกนำเข้าสู่เซลล์ได้ จึงทำให้ไวรัสเพิ่มปริมาณภายในเซลล์ได้ ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งในการเกิด ADE สำหรับเชื้อไวรัสกลุ่มที่สอง คือ ไวรัสที่เกิดการตัดโปรตีน prM บางส่วน (Partially immature) (รูปที่ 4B) ไวรัสกลุ่มนี้มีความจำเพาะกับทั้งโปรตีน E และ prM และมีความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ และเพิ่มจำนวนได้ จึงสามารถถูกยับยั้งโดยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อทั้งโปรตีน prM และ E ส่วนเชื้อไวรัสกลุ่มที่สาม คือ เชื้อไวรัสที่เกิดการตัดของโปรตีน prM อย่างสมบูรณ์ (Mature) (รูปที่ 4C) เชื้อไวรัสในกลุ่มนี้จะถูกยับยั้งโดยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีน E



รูปที่ 4 ภาพถ่าย West Nile Virus ด้วยวิธี Cryo-elctronmicroscopic จากตัวอย่างที่เตรียมได้จากเซลล์ยุงลาย *Aedes albopictus* (C6/36)[25]

2. เอพิโทปสำคัญในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีต่อไวรัสเดงกี่

โปรตีน E เป็นโปรตีนหลักที่กระตุ้นให้เกิดการสร้าง Neutralizing antibody หลังจากการติดเชื้อ[23] โดยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีน E ที่ถูกสร้างขึ้นภายในร่างกายจะมีทั้งแบบที่จับจำเพาะกับสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง (serotype-specific) หรือที่จำเพาะกับทั้ง 4 สายพันธุ์ (cross-serotype)[23]

เนื่องจากข้อจำกัดในการสร้างโมโนโคลนอลแอนติบอดีมนุษย์ การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จับจำเพาะต่อไวรัสเดงกี่ในระยะแรกส่วนใหญ่จึงได้จากหนู โดยพบว่า mouse MAb ที่ผลิตขึ้นจะจับจำเพาะกับชิ้นส่วน A (A strand) บน EDIII และเป็น Neutralizing antibody ที่ดี คือ มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่ได้ดีทั้งในหลอดทดลอง และในหนูทดลอง[26-29] ในทางกลับกัน จากการศึกษาในระยะหลังโดยการสร้าง HuMAb จากเซลล์เม็ดเลือดขาวคน พบว่า HuMAb ส่วนใหญ่จับกับเอพิโทปบนส่วนของ EDII มีเพียงส่วนน้อยที่จับจำเพาะกับ EDIII[30-31] ซึ่งเห็นได้จากงานวิจัยอีกหลายชิ้นที่สนับสนุนสมมุติฐานนี้ โดยการนำซีรั่มคนไข้ มาบ่มรวมกับโปรตีนส่วน EDIII เพื่อแยกแอนติบอดีที่จับจำเพาะต่อโปรตีน EDIII ออก พบว่าซีรั่มที่ได้ยังคงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่ได้คงเดิม ทั้งการทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*)[32] และในหนูทดลอง (*in vivo*)[33] จึงตั้งสมมุติฐานว่าแอนติบอดีส่วนใหญ่ในซีรั่มของคนไข้ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี่ และมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อเดงกี่ได้จะมีความจำเพาะกับโปรตีน E ในส่วนที่อยู่นอกเหนือ EDIII

จากการที่ทีมวิจัยของเราได้ทำการสร้าง HuMAb ที่จำเพาะต่อไวรัสเดงกี่ โดย Setthapramote et al. ในปี 2012[10] โดยการเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วยจำนวน 9 คน ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี่ในระยะเฉียบพลัน (acute) และระยะฟื้นไข้ (convalescence) เพื่อนำมาผลิต HuMAb ด้วยวิธีไฮบริโดมา โดยสกัดแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยไข้เลือดออก และนำมาผสมรวมกับเซลล์ fusion partner ที่ผลิตจากเซลล์เม็ดเลือดของมนุษย์ จนสามารถผลิต HuMAb ได้ทั้งหมด 136 โคลน พบว่ามีจำนวน 101 โคลนที่จับจำเพาะกับโปรตีน E และอีก 35 โคลนจับจำเพาะกับโปรตีนอื่นๆ รวมถึง NS1 และ prM ซึ่ง MAb ในจำนวน 101 โคลนนี้ มีจำนวน 17 โคลนที่สามารถยับยั้ง DENV ได้สูงสุด โดยมี 13/17 โคลนจับจำเพาะกับโปรตีน E ในส่วน DII[10] จึงเป็นการสนับสนุนสมมุติฐานข้างต้นที่แสดงว่าแอนติบอดีที่สร้างขึ้นในร่างกายมนุษย์ส่วนใหญ่ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่จะมีเอพิโทปอยู่บน EDII

ถึงแม้ว่า MAb ที่จำเพาะกับโปรตีน E จะมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสได้ดี แต่ต่อมาได้มีการศึกษาพบว่า MAb กลุ่มนี้ที่ความเข้มข้นในระดับที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสได้ (sub-neutralizing concentration) สามารถก่อให้เกิด ADE ได้เช่นกัน[34] ซึ่งแอนติบอดีจะยับยั้งเชื้อไวรัสได้หรือไม่นั้น ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น หรือปริมาณที่มากเพียงพอที่จะปิดกั้น viral receptor ทั้งหมดได้[35]

ในคนไข้ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี่ นอกจากจะสามารถพบ MAb ที่จำเพาะกับโปรตีน E เป็นจำนวนมากแล้ว จากการศึกษาของ Dejnirattisai et al. ในปี 2010 พบว่า MAb ที่ผลิตได้จากตัวอย่างเลือดผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี่ในระยะฟื้นไข้จำนวน 7 คน ด้วยวิธี Ebstein-barr virus transformation พบว่าส่วนใหญ่ของ MAb ที่สร้างขึ้นจับจำเพาะกับโปรตีน prM (60%) และจับจำเพาะได้ทั้ง 4 ซีโรไทป์ อย่างไรก็ตาม MAb ที่จับจำเพาะกับโปรตีน prM นี้เป็นแอนติบอดีที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสได้ไม่ดี และมีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิด ADE ได้ เนื่องจากเชื้อไวรัสที่มีอยู่ในร่างกายมีหลายรูปแบบ โดยรูปแบบที่เป็น immature หรือ partially immature ที่ยังคงมีโปรตีน prM ติดอยู่ จะสามารถจับกับแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีน prM ได้ เป็นเหตุให้เชื้อไวรัสที่ไม่มีความสามารถในการเข้าเซลล์ สามารถเข้าสู่เซลล์และเกิดการเพิ่มจำนวนได้ ส่งผลให้ปริมาณไวรัสในกระแสเลือดเพิ่มมากขึ้น จึงเป็นสาเหตุหนึ่งในการก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค[16,36-37]

จากการศึกษาในระยะหลังพบอีกว่า MAb ที่มีความสามารถในการยับยั้งไวรัสเดงกี่ที่ดี และมีศักยภาพในการพัฒนาต่อเพื่อใช้รักษาโรคไข้เลือดออก จะมีความจำเพาะกับเอพิโทประดับที่สี่ (quaternary epitope) ที่มีส่วนของเอพิโทปอยู่บน EDI และ EDII ที่เรียงตัวใกล้กันจากโครงสร้างของโปรตีนระดับที่สี่ (quaternary structure)[38] ซึ่งคล้ายคลึงกับเอพิโทปที่เรียกว่า Envelope dimer epitope (EDE) ที่มีตำแหน่งเอพิโทปอยู่คนละ dimer ของโปรตีน E ซึ่งแอนติบอดีที่จับจำเพาะกับเอพิโทปชนิดนี้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่ได้สูง โดยมีค่าปริมาณแอนติบอดีที่สามารถลดไวรัสได้เป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของไวรัสที่มีอยู่ (NT_{50}) ที่น้อยที่สุด คือ 3.3×10^{-11} M[39]

3. กลไกในการยับยั้งโรคไข้เลือดออกด้วยแอนติบอดี

ในการประยุกต์ใช้แอนติบอดีเพื่อยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่นั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความสามารถของแอนติบอดีในการจับกับแอนติเจน (Antibody affinity) และการเข้าถึงเอพิโทป (Epitope accessibility)[40] โดยการเข้าถึงเอพิโทปนั้นขึ้นกับลักษณะรูปร่างของไวรัสในสภาวะที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น อุณหภูมิ[41] ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกัน โดยพบว่าเอพิโทปในตำแหน่งที่ยากในการเข้าถึง จำเป็นต้องใช้แอนติบอดีในการเข้าโอบล้อมเพื่อให้เกิดการยับยั้งเชื้อไวรัสมากขึ้น[42] แสดงให้เห็นว่าแอนติบอดีที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อไวรัสที่ดีควรจับกับแอนติเจนได้ดี (high affinity) ในตำแหน่งที่สามารถเข้าถึงได้ (high accessibility)

นอกจากปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้น กลไกที่ต่างกันของแอนติบอดีแต่ละตัวในการยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่ คือ ขั้นตอนในการเข้ายับยั้งเชื้อไวรัส โดยแอนติบอดีสามารถยับยั้งเชื้อไวรัสในขั้นตอนการเข้าสู่เซลล์ (pre-attachment inhibition) หรือหลังจากที่เชื้อไวรัสเข้าสู่เซลล์แล้ว (post-attachment inhibition) ซึ่งขั้นตอนในการยับยั้งนี้มีความสัมพันธ์กับตำแหน่งเอพิโทปด้วย เนื่องจากโปรตีน E แต่ละโดเมน (EDI, EDII, EDIII) ทำหน้าที่แตกต่างกันดังที่ได้กล่าวข้างต้น[23]

ในทางทฤษฎีพบว่า แอนติบอดีที่จับเฉพาะกับโปรตีน E บน DIII ซึ่งมี receptor จำเพาะกับเซลล์เจ้าบ้าน (host cell) จะยับยั้งไวรัสในขั้นตอนการเข้าสู่เซลล์ ซึ่งพบมากใน MAbs ที่ผลิตได้จากระบบภูมิคุ้มกันของหนู ในทางตรงกันข้ามแอนติบอดีที่จำเพาะกับเอพิโทปบน DII โดยเฉพาะอย่างยิ่งบน fusion loop ซึ่งรับผิดชอบในกระบวนการหลอมรวมระหว่างไวรัสและเซลล์เจ้าบ้าน (Fusion) จะยับยั้งเชื้อไวรัสหลังจากไวรัสเข้าสู่เซลล์แล้ว แอนติบอดีชนิดนี้พบได้มากในกลุ่มของแอนติบอดีที่สร้างขึ้นจากระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์[22]

4. การปรับปรุงคุณสมบัติของแอนติบอดีโดยใช้วิธีพันธุวิศวกรรม

นอกจากการผลิต MAb ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นแล้ว ในระยะหลังเทคโนโลยีด้านอณูชีววิทยาได้พัฒนามากขึ้น จึงได้มีการดัดแปลงคุณสมบัติของ MAb ไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนบางตำแหน่ง เพื่อเพิ่มความสามารถในการจับกับแอนติเจน (antibody affinity) เช่น ได้มีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งกรดอะมิโนของ MAb ในบางตำแหน่งของส่วน variable region ของแอนติบอดีด้วยโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ พบว่าสามารถเพิ่มความสามารถในการจับกับ DENV4 ได้ถึง 450 เท่า โดยยังคงความสามารถในการจับกับ DENV สายพันธุ์อื่นได้คงเดิม[43]

นอกจากนี้ ยังสามารถพัฒนาคุณสมบัติของแอนติบอดีนั้นให้ดียิ่งขึ้นได้ โดยการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนบางตำแหน่งของ CH2 (Constant heavy chain 2) บนส่วน Fragment crystallizable (Fc) ของแอนติบอดีชนิด IgG เช่น กรดอะมิโน Asparagine เป็น Glutamic acid ที่ตำแหน่ง 297[1] โดยพบว่าแอนติบอดีที่เปลี่ยนแปลงในตำแหน่งดังกล่าว ซึ่งรับผิดชอบในการจับกันระหว่างแอนติบอดีส่วน Fc และตัวรับ Fc (Fc receptor) บนผิวเซลล์บางชนิด เช่น monocytes และ macrophages จะทำให้ Fc ไม่สามารถเกาะบนผิวเซลล์ได้ จึงพบว่าการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่งนี้สามารถลดความรุนแรงของโรคจากการเกิด ADE ได้ โดยยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของไวรัสผ่านทาง Fc receptor ซึ่งมีการศึกษาทั้งในหลอดทดลอง และในหนูทดลอง[45]

การเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 234 และ 235 จากกรดอะมิโน Leucine เป็นกรดอะมิโน Alanine ที่เรียกว่า LALA mutant[15,45] พบว่า MAb ที่ผ่านการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่งดังกล่าวไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา ADE โดยมีการวิจัยพบว่าการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่งนี้สามารถลดโอกาสการจับกันของแอนติบอดีส่วน Fc และ FcγRI, FcγRII, และ FcγRIIIa[46] นอกจากนี้ ยังมีการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งอื่น เช่น การตัดกรดอะมิโนจำนวน 9 ตำแหน่ง ในส่วนปลายด้าน N (N-terminal) ตั้งแต่ตำแหน่งที่ 231 – 239 ของ CH2 สามารถลดการเกิด ADE ได้ดีเช่นกัน[47] ทั้งนี้ยังมีกรดอะมิโนอีกหลายตำแหน่งที่พบว่าสามารถลด หรือเพิ่มการจับกันระหว่างแอนติบอดี IgG1 และ FcγR ชนิดต่างๆ ได้[48,49]

■ สรุปผล

เนื่องจากการรักษาโรคไข้เลือดออกในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนหรือยารักษาโรคที่เฉพาะเจาะจง เป็นเพียงการรักษาตามอาการ ในระยะหลังการใช้สารโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสเดงกี่จึงได้รับความสนใจมากขึ้น อย่างไรก็ตาม เชื้อไวรัสไข้เลือดออกเดงกี่เองมีความซับซ้อนทางด้านสายพันธุ์ ทำให้การพัฒนาแอนติบอดีเพื่อไปใช้ในการรักษาได้จริงนั้น จำเป็นต้องผลิตสารโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์

และไม่ก่อให้เกิด ADE ซึ่งเป็นความท้าทายของนักวิจัยในการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีคุณสมบัติดังกล่าวได้อย่างครบถ้วน นอกจากนี้ การยับยั้งเชื้อไวรัสด้วยกลไกอื่นๆ เช่น การกระตุ้นให้เกิดการทำงานของคอมพลีเมนต์ (complement) หรือการดัดแปลงให้แอนติบอดีสามารถอยู่ในกระแสเลือดได้นานขึ้นก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถเสริมศักยภาพในการนำ MAb ไปใช้ในการรักษาโรคไข้เลือดออกได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Thai KTD, Henn MR, Zody MC, et al. High-resolution analysis of intrahost genetic diversity in dengue virus serotype 1 infection identifies mixed infections. J Virol 2012;86:835-43.
2. Luplertlop N. Overview of dengue viruses and their relations. J Trop Med Parasitol 2008;31:95-107.
3. Guirakhoo F, Kitchener S, Morrison D, et al. Live attenuated chimeric yellow fever dengue type 2 (ChimeriVax-DEN2) vaccine: Phase I clinical trial for safety and immunogenicity: effect of yellow fever pre-immunity in induction of cross neutralizing antibody responses to all 4 dengue serotypes. Hum Vaccin 2006;2(2):60-7.
4. Subcharoen A, Wallace D, Sirivichayakul C, et al. Protective efficacy of the recombinant, live-attenuated, CYD tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren: a randomized, controlled phase 2b trial. Lancet 2012;380(9853):1559-67.
5. Marasco WA, Sui J. The growth and potential of human antiviral monoclonal antibody therapeutics. Nature Biotechnol 2007;25:1421-34.
6. Brekke OH, Sandlie I. Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. Nature Rev 2002;2:52-62.
7. Kashmiri SV, De Pascalis R, Gonzales NR, et al. SDR grafting-a new approach to antibody humanization. Methods 2005;36(1):25-34.
8. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975;256(5517):495-7.
9. Nelson AL, Dhimolea E, Reichert JM. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics. Nature Rev 2010;9:767-74.
10. Setthapramote C, Sasaki T, Puiprom O, et al. Human monoclonal antibodies to neutralize all dengue virus serotypes using lymphocytes from patients at acute phase of the secondary infection. Biochem Biphys Res Commun 2012;423(4):867-72.
11. Poungpair O, Bangphoomi K, Chaowalit P, et al. Generation of human single-chain variable fragment antibodies specific to dengue virus non-structural protein 1 that interfere with the virus infectious cycle. MAbs 2014;6(2):474-82.
12. Sloan SE, Hanlon C, Weldon W, et al. Identification and characterization of a human monoclonal antibody that potently neutralizes a broad panel of rabies virus isolates. Vaccines 2007;25(15):2800-10.
13. Hoogenboom HR. Selecting and screening recombinant antibody libraries. Nat Biotechnol 2005; 23(9):1105-16.
14. Lanzavecchia A, Corti D, Sallusto F. Human monoclonal antibodies by immortalization of memory B cells. Curr Opin Biotechnol 2007;18(6):523-8.

15. Keller MA, Stiehm ER. Passive immunity in prevention and treatment of infectious disease. Clin Microbiol Rev 2000;13(4):602-14.
16. Beltramello M, Williams KL, Simmons CP, et al. The human immune response to dengue virus is dominated by highly cross-reactive antibodies endowed with neutralizing and enhancing activity. Cell Host Microbe 2010;8(3):271-83.
17. Dejnirattisai W, Jumnainsong A, Onsirisakul N, et al. Cross-reacting antibodies enhance dengue virus infection in humans. Science 2010;328(5979):745-8.
18. Lai CY, Tsai WY, Lin SR, et al. Antibodies to envelope glycoprotein of dengue virus during the natural course of infection are predominantly cross-reactive and recognize epitopes containing highly conserved residues at the fusion loop of domain II. J Virol 2008;82(13):6631-43.
19. Chan KR, Ong EZ, Ooi EE. Therapeutic antibodies as a treatment option for dengue. Expert Rev Anti Infect Ther 2013;11(11):1-11.
20. Perera R, Kuhn RJ. Structural proteomics of dengue virus. Curr Opin Microbiol 2008;11(4):369-77.
21. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, et al. Dengue: A continuing global threat. Nat Rev Microbiol 2004;8:S7-S16.
22. Mukhopadhyay S, Kuhn RJ, Rossman MG. A structural perspective of the flavivirus life cycle. Nature Rev Microbiol 2005;3:13-22.
23. Wahala WMPB, de Silva AM. The human immune response to dengue virus infection. Viruses 2011;3:2374-95.
24. Qi RF, Zhang L, Chi CW. Biological characteristics of dengue virus and potential targets for drug design. Acta Biochem Biophysic Sin 2008;40:91-101.
25. Cherrier MV, Kaufmann B, Nybakken GE, et al. Structural basis for the preferential recognition of immature flaviviruses by a fusion-loop antibody. EMBO 2009;28:3269-76.
26. Crill WD, Roehring JT. Monoclonal antibodies that bind to domain III of dengue virus E glycoprotein are the most efficient blockers of virus adsorption to Vero cells. J Virol 2001;75(16):7769-73.
27. Shrestha B, Brien JD, Sukupolvi-Petty S, et al. The development of therapeutic antibodies that neutralize homologous genotypes of dengue virus type 1. Plos Pathog 2010;6(4):e1000823.
28. Sinclair R, Moult BJ, Mumford JA. Characterization of an antigenic site on glycoprotein 13 (gC) of equid herpesvirus type 1. Arch Virol 1993;129(1-4):327-36.
29. Sukupolvi-Petty S, Austin SK, Engle M, et al. Structure and function analysis of therapeutic monoclonal antibodies against dengue virus type 2. J Virol 2010;84(18):9227-39.
30. de Alwis R, Beltramello M, Messer WB, et al. In-depth analysis of the antibody response of individuals exposed to primary dengue virus infection. Plos Negl Trop Dis 2011;5(6):e1188.
31. de Alwis R, Smith SA, Olivarez NP, et al. Identification of human neutralizing antibodies that bind to complex epitopes on dengue virions. Proc Natl Acad Sci 2012;109(19):7439-44.
32. Wahala WM, Huang C, Butrapet S, et al. Recombinant dengue type 2 viruses with altered E protein domain III epitopes are efficiently neutralize by human sera. J Virol 2012;86(7):4019-23.
33. Costin JM, Zaitseva E, Kahle KM, et al. Mechanistic study of broadly neutralizing human monoclonal antibodies against dengue virus that target the fusion loop. J Virol 2013;87(1):52-66.

34. Sasaki T, Setthapramote C, Kurosu T, et al. Dengue virus neutralization and antibody-dependent enhancement activities of human monoclonal antibodies derived from dengue patients at acute phase of secondary infection. Antiviral Res 2013;98(3):423-31.
35. Rodenhuis-Zybert IA, Moesker B, da Silva Voorham JM, et al. A fusion-loop antibody enhances the infectious properties of immature flavivirus particles. J Virol 2011;85:11800-8.
36. Rodenhuis-Zybert IA, van der Schaar HM, da Silva Voorham JM, et al. Immature dengue virus: a veiled pathogen? Plos Pathog 2010;6(1):e1000718.
37. Schmidt AC. Reponse to dengue fever – The good, the bad, and the ugly? N Eng J Med 2010; 29:484-7.
38. Teoh EP, Kukkaro P, Teo EW, et al. The structural basis for serotype-specific neutralization of dengue virus by a human antibody. Sci Transl Med 2012;4:1-9.
39. Dejnirattisai W, Wongwiwat W, Supasa S, et al. A new class of highly potent, broadly neutralizing antibodies isolated from viremic patients infected with dengue virus. Nature Immunol 2015;16:170-7.
40. Pierson TC, Xu Q, Nelson S, et al. The stoichiometry of antibody-mediated neutralization and enhancement of West Nile virus infection. Cell Host Microbe 2007;1(2):135-45.
41. Fibriansah G, Ng TS, Kostyuchenko VA, et al. Structural changes in dengue virus when exposed to a temperature of 37 C. J Virol 2013;87(13):7585-92.
42. Lok SM, Kostyuchenko V, Nybakken GE, et al. Binding of a neutralizing antibody to dengue virus alters the arrangement of surface glycoproteins. Nat Struct Mol Bio 2008;15(3):312-7.
43. Tharakaraman K, Robinson LN, Hatas A, et al. Redesign of a cross-reactive antibody to dengue virus with broad-spectrum activity and increased in vivo potency. Proc Natl Acad Sci 2013;110(17):e1155-64.
44. Balsitis SJ, Williams KL, Lachica R, et al. Lethal antibody enhancement of dengue disease in mice is prevented by Fc modification. PLos pathogens 2010;6:1-13.
45. Fibriansah G, Ibarra KD, Ng TS, et al. Cryo-EM structure of an antibody that neutralizes dengue virus type 2 by locking E protein dimers. Science 2015;349:88-91.
46. Hessell AJ, Hangartner L, Hunter M, et al. Fc receptor but not complement binding is important in antibody protection against HIV. Nature Lett 2007;449:101-5.
47. Goncalvez AP, Engle RE, St. Claire M, et al. Monoclonal antibody-mediated enhancement of dengue virus infection in vitro and in vivo and strategies for prevention. Proc Natl Acad Sci 2007;104: 9422-7.
48. Presta LG. Engineering therapeutic antibodies for improve function. Biochem Soc Trans 2002;30(4):487-90.
49. Shields RL, Namenuk AK, Hong K, et al. High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the FcγR. J Biol Chem 2001;276:6591-604.

โมโนโคลนอลแอนติบอดีสำหรับรักษาโรคไข้เลือดออก

ปานน้ำทิพย์ พิทักษ์สัจจะกุล ชลทิพย์ พิพัฒนาบูรณ์ หทัยรัชต์ หาญอนันตชัย
ภาควิชาเวชศาสตร์สังคมและสิ่งแวดล้อม คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

โรคไข้เลือดออกเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี่ (Dengue virus) ซึ่งมียุงลายเป็นพาหะนำโรค จากการรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) พบว่า ทุกปีประชากรจำนวนกว่า 100 ล้านคนทั่วโลกติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ ในจำนวนนี้มีผู้ป่วยประมาณ 500,000 คน ที่พัฒนาเข้าสู่ไข้เลือดออกชนิดรุนแรง (Dengue hemorrhagic fever และ Dengue shock syndrome) ส่งผลให้มีอัตราการตายถึงปีละ 20,000 ราย ซึ่งในปัจจุบันยังคงไม่มีวัคซีน หรือยารักษาโรคที่เฉพาะเจาะจง นักวิจัยหลายกลุ่มจึงพยายามพัฒนาโมโนโคลนอลแอนติบอดี (Monoclonal antibody, MAb) เพื่อเป็นทางเลือกในการรักษา แต่เนื่องจากเชื้อไวรัสเดงกี่มีลักษณะที่แตกต่างกันถึง 4 สายพันธุ์ ทำให้ MAb ที่ยับยั้งไวรัสเดงกี่สายพันธุ์หนึ่ง อาจไม่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่สายพันธุ์อื่นได้ แต่กลับส่งเสริมให้เชื้อไวรัสเข้าสู่เซลล์มากขึ้นผ่านทางตัวรับ Fc (Fc receptor) ของ immunoglobulin G (IgG) เป็นสาเหตุให้เกิดความรุนแรงของโรค ซึ่งเป็นทฤษฎีการเกิดโรคของไข้เลือดออกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า antibody dependent enhancement (ADE) มักจะเกิดในคนไข้ที่มีการติดเชื้อซ้ำ (secondary infection) จึงเป็นปัญหาสำคัญในการพัฒนา MAb เพื่อการรักษาโรคไข้เลือดออก ซึ่งจำเป็นต้องมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสเดงกี่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ และไม่ก่อให้เกิด ADE ดังนั้น การผลิตและพัฒนา MAb สำหรับรักษาโรคไข้เลือดออกต้องมีการศึกษา และพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ MAb ที่มีประสิทธิภาพสูง ในการศึกษานี้ผู้เขียนได้รวบรวมผลงานวิจัย เพื่อประโยชน์ในการวิจัยด้านการผลิตและพัฒนาโมโนโคลนอลแอนติบอดีเพื่อใช้รักษาโรคติดเชื้อโดยเฉพาะโรคไข้เลือดออก

คำสำคัญ: โมโนโคลนอลแอนติบอดีเพื่อการรักษาโรค เชื้อไวรัสเดงกี่ ไข้เลือดออก การทำให้เชื้อหมดความสามารถ การส่งเสริมให้โรครุนแรงขึ้นจากแอนติบอดี

ผู้นิพนธ์หลัก
ปานน้ำทิพย์ พิทักษ์สัจจะกุล
ภาควิชาเวชศาสตร์สังคมและสิ่งแวดล้อม
คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
420/6 ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
อีเมล์: pannamthip.pit@mahidol.ac.th