

Available online at [www.ptat.thaigov.net](http://www.ptat.thaigov.net)

# Anti-*Plasmodium falciparum* IgG Antibody Responses and their Relation to Severity of Malaria among Thais

Piyatida Tangteerawatana

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University,  
114 Sukhumvit 23, Bangkok 10110, Thailand

## Abstract

Naturally acquired antibodies play a crucial role in the development of immunity to malaria. Over the past two decades, anti-*Plasmodium falciparum* IgG antibodies against different malaria candidate antigens have been conducted in the sera of individuals living in eastern and western Thailand, where malaria is endemic, *ie*, individuals with severe and uncomplicated malaria, village residents, and occupationally exposed soldiers. The prevalence of anti-*P. falciparum* IgG antibody, and its relation to reported morbidity and mortality, was reviewed. Sero-activity for anti-IgG antibodies to erythrocyte membrane immunofluorescence (EMIF), Pf332, Pf155/ring-infected erythrocyte surface antigens (RESA), the repeat region of the circumsporozoite (CS) protein (R32tet32), and whole *P. falciparum* sporozoites, were observed in some, but not all, individuals. Interestingly, all village residents, all occupationally exposed soldiers, and all acute falciparum-malaria cases, had IgG antibody responses to late blood-stage (whole trophozoite and schizont) malaria antigens. Significantly lowered levels of anti-late-blood-stage antibody were seen in patients who died from malaria, compared with those who recovered. Similarly, significantly lowered levels of anti-*P. falciparum* sporozoite antibodies were observed in cerebral malaria, compared with acute uncomplicated malaria. The exploration of naturally acquired anti-*P. falciparum* antibody responses in those reports may suggest that a successful malaria vaccine should contain multiple-stage antigens, such as whole *P. falciparum* sporozoite or whole blood-stage antigen. This revelation may provide clues for malaria control, especially vaccination strategies.

**Keywords:** malaria, *Plasmodium falciparum*, antibody, IgG, vaccine

## บทนำ

โรคมาลาเรียยังคงมีความสำคัญทางด้านสาธารณสุขในระดับโลก อุบัติการณ์ของโรคมาลาเรียพบได้ทั้งในทวีปแอฟริกา เอเชีย ตอนกลางของทวีปอเมริกา หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก ครอบคลุมมากกว่าร้อยละ ๖๐ จากสถิติองค์การอนามัยโลก ทุกๆ

ปี จะมีผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียประมาณสามถึงห้าร้อยล้านคน และในจำนวนนี้ประมาณกันว่าผู้ป่วยกว่าสองถึงสามล้านคนมีอาการรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต [1] ในถิ่นที่มีการระบาดของไข้มาลาเรียสูง เช่น ในแถบแอฟริกา ผู้ที่มีอาการไข้รุนแรงมักได้แก่เด็กอายุต่ำกว่า 5 ขวบ และหญิงตั้งครรภ์ ซึ่งอาการไข้รุนแรงในเด็กมักได้แก่ภาวะซีดมาก (severe malaria) ในถิ่นที่มีการระบาดของไข้มาลาเรียต่ำ เช่น ประเทศไทย พบผู้ป่วยที่มีอาการไข้มาลาเรียในทุกเพศ ทุกวัย ผู้ป่วยที่มีอาการไข้มาลาเรียรุนแรงในคนไทยนั้นมักมีภาวะที่มีเชื้อมาลาเรียในเม็ดเลือดแดงสูง (hyperparasitemia) ภาวะ

## Correspondence:

Piyatida Tangteerawatana,  
E-mail: <[piyatida@swu.ac.th](mailto:piyatida@swu.ac.th)>

มาลาเรียขึ้นสมอง (cerebral malaria) ส่วนภาวะซีดมากนั้นพบได้น้อย [2]

ไข้มาลาเรียเกิดจากการติดเชื้อ *Plasmodium* เชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium*) ที่พบก่อโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีมากกว่า 20 ชนิด เชื้อมาลาเรียที่ก่อโรคในคนและมีความสำคัญทางการแพทย์พบ 5 ชนิด ได้แก่ *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* และ *P. knowlesi* [3] เชื้อ *P. falciparum* ก่อให้เกิดอาการไข้มาลาเรียที่มีอาการรุนแรงและมีผู้ป่วยเสียชีวิตมากกว่าการติดเชื้อ *Plasmodium* ชนิดอื่นๆ โดยทั่วไปผู้ที่ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* จะแสดงอาการของโรคแตกต่างกัน บางรายไม่แสดงอาการ บางรายอาการไม่รุนแรง บางรายอาการรุนแรงมาก และบางรายอาการรุนแรงขึ้นเสียชีวิต [4] ผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่ได้รับเชื้อ อาการแสดงของโรคจะไม่รุนแรง (uncomplicated) มีอาการไข้และไม่มีภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ ส่วนอาการรุนแรงของโรคประกอบด้วยภาวะต่างๆ ดังนี้ ภาวะมาลาเรียขึ้นสมอง (cerebral malaria), ภาวะซีดมาก (severe anaemia), ภาวะปัสสาวะดำ (hemoglobinuria), ภาวะน้ำท่วมปอด (pulmonary edema), ภาวะดีซ่าน (jaundice), ภาวะไตวายเฉียบพลัน (acute renal failure), ภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia), ภาวะเชื้อมาลาเรียในเม็ดเลือดแดงสูง (hyperparasitemia), ภาวะเลือดเป็นกรด (metabolic acidosis), และภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia) เป็นต้น [5] เชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* มีความสามารถในการเกาะติด (adhere) กับผนังหลอดเลือด (endothelium) ฉะนั้นหลอดเลือดขนาดเล็กอาจเกิดการอุดตันและทำให้อวัยวะต่างๆ ขาดเลือดและออกซิเจนไปเลี้ยง ถ้าเชื้อ *P. falciparum* เกาะติดกับเอนโดทีเลียมของผนังหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงสมอง จะทำให้สมองขาดเลือดและออกซิเจน ทำให้เกิดภาวะช็อกตามมา ถ้ารักษาไม่ทัน ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้ ปัจจัยที่ส่งผลให้อาการแสดงของโรคแตกต่างกันในแต่ละบุคคลมีความเกี่ยวข้องกับสายพันธุ์ของเชื้อและภาวะต่างๆ ของแต่ละบุคคล เช่น อายุ ภูมิคุ้มกัน พันธุกรรมของแต่ละบุคคล ระดับของการระบาดของโรคมาลาเรียในแต่ละท้องถิ่น ทั้งนี้ภูมิคุ้มกันมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างมากในการควบคุมโรคและ/หรือส่งผลต่ออาการแสดงต่างๆ ของโรค [4]

เป็นที่เข้าใจกันดีว่าภูมิคุ้มกันด้านแอนติบอดี (antibody) หรืออิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin: Ig) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมหรือกำจัดเชื้อมาลาเรียระยะที่อยู่ในเลือด [6,7] แต่มีบางรายงานพบว่าระดับแอนติบอดี (IgG) ต่อ *P. falciparum* ระยะเลือดทั้งตัว (crude) ในชาวแอฟริกา ชูดาน เซเนกัล ไม่มีความสัมพันธ์กับอาการรุนแรงของโรค [8-10] ส่วนอีกรายงานหนึ่งที่ศึกษาในชาวเซเนกัลเช่นเดียวกันกลับพบว่าแอนติบอดีต่อ *P. falciparum* ระยะเลือด (crude) และโปรตีน EB200 มีความสัมพันธ์กับการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมาลาเรีย [11] แอนติบอดีที่สร้างขึ้นหลังจากได้รับเชื้อ *P. falciparum* มีหลากหลายชนิด แต่มีแอนติบอดีบางชนิดเท่านั้นที่มีบทบาทในการควบคุมหรือกำจัดเชื้อมาลาเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ แอนติบอดี

ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคที่สร้างขึ้นในแต่ละบุคคลในแต่ละท้องถิ่นที่มีการระบาดของมาลาเรียอาจจะเหมือนหรือแตกต่างกันได้ ฉะนั้นการศึกษาและรวบรวมรายงานต่างๆ ที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันด้านแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียระยะต่างๆ และต่อแอนติเจน (antigen) ชนิดต่างๆ ของเชื้อมาลาเรีย ที่มีความสัมพันธ์กับอาการรุนแรงของโรคมาลาเรีย หรือการเสียชีวิตของผู้ป่วยในประเทศไทย น่าจะช่วยให้เข้าใจระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อเชื้อมาลาเรียได้ดีขึ้นและอาจนำความรู้ไปพัฒนาวัคซีน ไข้มาลาเรียให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นได้

### ภูมิคุ้มกันด้านแอนติบอดีต่อเชื้อ *P. falciparum*

มาลาเรียมีวงจรชีวิตที่ซับซ้อน คนได้รับเชื้อมาลาเรียจากการถูกยุงกัดที่ปล่อยตัวเมียที่มีเชื้อมาลาเรียระยะสปอโรซอइट (sporozoite) กัด ระยะสปอโรซอइटจะเข้าสู่กระแสเลือด เดินทางไปที่ตับและเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเซลล์ตับ เมื่อเจริญเต็มที่เซลล์ตับจะแตกแล้วปล่อยเชื้อมาลาเรียระยะเมอร์โรซอइट (merozoite) ออกมา เมอร์โรซอइटนี้จะไปเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเม็ดเลือดแดง โดยเจริญเป็นระยะวงแหวน (ring form หรือ early trophozoite) ระยะโทรโฟซอइट (trophozoite) ระยะไซซอนต์ (schizont) ตามลำดับ เมื่อไซซอนต์เจริญเต็มที่ (mature schizont) เม็ดเลือดแดงจะแตกและปล่อยเมอร์โรซอइटออกมา เมอร์โรซอइटนี้จะเข้าไปเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเม็ดเลือดแดงตัวใหม่ต่อไป เป็นวงจรแบบนี้ไปเรื่อย ๆ เมอร์โรซอइटบางตัวไม่แบ่งตัวเพิ่มจำนวนแต่พัฒนาไปเป็นระยะมีเพศเรียกว่าแกมมาโตไซต์ (gametocyte) ซึ่งมีทั้งเพศเมีย (macrogametocyte) และเพศผู้ (microgametocyte) วงจรชีวิตของมาลาเรียระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงหรืออยู่ในเลือดนี้ที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรคแกมมาโตไซต์เพศผู้และเพศเมียนั้นจะพัฒนาไปเป็นสปอโรซอइटในยุง และถ่ายทอดให้คนใหม่ต่อไป วงจรชีวิตของมาลาเรียระยะที่อยู่ในเซลล์ตับเรียกว่า pre-erythrocytic stage หรือ liver stage และวงจรชีวิตของมาลาเรียระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงหรืออยู่ในเลือดนี้เรียกว่า erythrocytic stage หรือ blood stage

ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่ากลไกของระบบภูมิคุ้มกันในด้านการต้านเชื้อ *P. falciparum* เป็นอย่างไร แต่เป็นที่ทราบกันดีว่า แอนติบอดีมีบทบาทสำคัญในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียระยะในเลือดและป้องกันการเกิดโรคได้ ถึงแม้ว่าแอนติบอดีที่สร้างขึ้นมีหลากหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่เป็นอิมมูโนโกลบูลินชนิด IgM และ IgG และเป็นชนิดที่ไม่จำเพาะ ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของแอนติบอดีที่สร้างขึ้นเท่านั้น ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อมาลาเรียระยะต่างๆ [6] อย่างไรก็ตาม มีรายงานจากการศึกษาวิจัยทั้งในทวีปแอฟริกา และในประเทศไทยพบว่า การนำเอาซีรัมของชาวแอฟริกาที่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *P. falciparum* แล้วฉีดให้กับเด็กชาวแอฟริกาและเด็กไทย สามารถลดจำนวนเชื้อที่อยู่ในเลือดและป้องกันการเกิดอาการไข้มาลาเรียได้ [6,7,12] แสดงให้เห็นว่าแอนติบอดีมีบทบาทสำคัญในการกำจัด ควบคุมและป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียระยะเลือดและป้องกันการเกิดโรคมาลาเรียได้

กลไกการทำงานของแอนติบอดีที่ช่วยในการกำจัด ควบคุม และป้องกันการเกิดโรคมาลาเรียเป็นไปได้ 2 ทางคือ แอนติบอดีทำหน้าที่ต้านทานเชื้อโดยตรงและ/หรือแอนติบอดีทำงานร่วมกับเซลล์หรือคอมพลีเมนต์ (complement) แอนติบอดีทำหน้าที่ต้านทานเชื้อโดยตรง เป็นไปได้โดย 1) ทำลาย (neutralize) สปอโรซอยต์โดยตรง เป็นการป้องกันไม่ให้สไปโรซอยต์เข้าสู่เซลล์ตับ [13] 2) ยับยั้ง (inhibit) ไม่ให้เมอโรซอยต์ไชเข้าสู่เม็ดเลือดแดง [14] 3) ยับยั้งไม่ให้ เมอโรซอยต์ถูกปล่อยออกมาจากเม็ดเลือดแดง [15] 4) ยับยั้งไม่ให้เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อเกาะติดกับเซลล์เอนโดทีเลียลของผนังหลอดเลือด (cytoadherence) [16] 5) ทำลาย (neutralize) สารพิษของเชื้อมาลาเรีย (malaria toxin) [17] ส่วนการทำงานของแอนติบอดีที่ร่วมกับเซลล์หรือคอมพลีเมนต์นั้น แอนติบอดีอาจทำงานร่วมกับเซลล์ฟาโกไซต์ (phagocyte) โดยจับกับที่รับ Fc บนเซลล์ฟาโกไซต์และช่วยให้เซลล์ฟาโกไซต์จับกินเชื้อได้อย่างจำเพาะ หรือแอนติบอดีอาจทำงานร่วมกับคอมพลีเมนต์ในการทำลายเชื้อ แอนติบอดีชนิด IgG มีบทบาทสำคัญในการทำลายเชื้อได้ดีกว่าอิมมูโนโกลบูลินชนิดอื่นๆ [12,18] จากรายงานการศึกษาวิจัยพบว่า การสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียบางชนิดมีความสัมพันธ์กับการลดความเสี่ยงในการเกิดไข้มาลาเรียชนิดรุนแรง [11,19,20] แอนติเจนที่กระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไว้ได้นั้น จะอยู่บนส่วนผิวของตัวเชื้อหรือส่วนผิวของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ เช่น apical organelles ของเมอโรซอยต์ ส่วนผิวของเมอโรซอยต์ ส่วนผิวของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ ซึ่งแอนติเจนเหล่านี้จะมีความสำคัญในการถูกพัฒนาไปเป็นวัคซีนที่มีประสิทธิภาพในอนาคต แอนติเจนต่างๆ เหล่านี้ได้แก่ Pf155/RESA (ring-infected erythrocyte surface antigen) [21], GLURP (glutamate-rich protein) [22], AMA-1 (apical membrane protein 1) [23], MSP (merozoite surface protein) ส่วนแอนติเจนบนผิวสไปโรซอยต์ได้แก่ circumsporozoite protein (CSP) [24] เป็นต้น

### ภูมิต้านทานด้านแอนติบอดีชนิด IgG ต่อเชื้อ *P. falciparum* ในกลุ่มคนไทย

เป็นที่รู้จักกันดีว่า ภูมิคุ้มกันด้านแอนติบอดีมีบทบาทสำคัญในการควบคุมและป้องกันไข้มาลาเรีย แต่มาลาเรียมีวงจรชีวิตที่ซับซ้อน จึงมีแอนติเจนหลากหลายชนิด ฉะนั้นการรวบรวมข้อมูลจากรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียชนิดต่างๆ และแอนติบอดีเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับอาการรุนแรงของโรคหรือการเสียชีวิตหรือไม่ในกลุ่มคนไทย น่าจะเป็นประโยชน์ในการเลือกชนิดของแอนติเจนเพื่อพัฒนาวัคซีนที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคในกลุ่มคนไทยได้ระดับหนึ่ง

#### 1. แอนติบอดีต่อระยะสไปโรซอยต์

1.1 แอนติบอดีต่อสไปโรซอยต์ทั้งตัว (whole *P. falciparum* sporozoite)

จากรายงานการวิจัยที่ศึกษาการสร้างแอนติบอดีต่อสไปโรซอยต์ทั้งตัวในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาที่โรงพยาบาลพระปกเกล้าจังหวัดจันทบุรี และชาวบ้านที่อาศัยอยู่ในถิ่นมาลาเรียจังหวัดกาญจนบุรีพบว่า 45.2 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาที่โรงพยาบาลพระปกเกล้า และ 33.6 เปอร์เซ็นต์ของชาวบ้านที่อาศัยอยู่ในถิ่นมาลาเรียจังหวัดกาญจนบุรี มีระดับแอนติบอดีต่อสไปโรซอยต์ทั้งตัวเมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี indirect immunofluorescent assay (IFA-IgG) [25] และเมื่อแบ่งผู้ป่วยออกเป็นสองกลุ่มตามอาการรุนแรงของโรค คือ กลุ่มที่มีอาการมาลาเรียขึ้นสมอง (cerebral malaria: CM) และกลุ่มที่มีอาการไม่รุนแรง (uncomplicated malaria: AM) พบว่า 48 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย มาลาเรียขึ้นสมอง และ 49 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง มีระดับแอนติบอดีต่อสไปโรซอยต์ทั้งตัวเมื่อศึกษาเชิงลึกถึงระดับของแอนติบอดี เป็นที่น่าสังเกตว่าระดับของ IgG ในผู้ป่วยมาลาเรียขึ้นสมองต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) [26]

1.2 แอนติบอดีต่อโปรตีนบนผิวของสไปโรซอยต์ (circumsporozoite protein: CSP)

CSP เป็นโปรตีนที่อยู่บนผิวของสไปโรซอยต์ โดยมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยส่วนที่เรียกว่า region I และ region II และส่วนกลางของโปรตีนประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโนเรียงตัวซ้ำกันเป็นชุด (repeats) CSP ของ *P. falciparum* ประกอบด้วยกรดอะมิโน 4 ตัวเรียงตัวซ้ำกัน (tetrapeptide repeats) โดยส่วนใหญ่ประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโน asparagines, alanine, asparagines และ proline (NANP) และส่วนน้อยประกอบด้วยกรดอะมิโน asparagines, valine, glutamic acid และ proline (NVDP) R32tet32 เป็น recombinant peptide ประกอบด้วย NANP ซ้ำกัน 30 ชุด ร่วมกับ NVDP 2 ชุด เชื่อมกับกรดอะมิโน 32 ตัวที่เป็นผลผลิตของยีนที่ควบคุมการดื้อยาเตตระไซคลิน (tetracycline) ของพลาสมิด (plasmid) จากรายงานการศึกษาวิจัยในทหารพรานที่อยู่ในแนวชายแดนไทยลาวและกัมพูชา พบว่า 83 เปอร์เซ็นต์ของทหารเหล่านี้มีระดับแอนติบอดีต่อ R32tet32 เมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA-IgG) [27] ในทำนองเดียวกันกับรายงานการศึกษาวิจัยในชาวบ้านที่อาศัยอยู่ในถิ่นมาลาเรียในจังหวัดจันทบุรี พบว่า 70 เปอร์เซ็นต์ของคนเหล่านี้มีระดับแอนติบอดีต่อ R32tet32 [28] โดยระดับของแอนติบอดีต่อ R32tet32 จะต่ำลงในช่วงที่ไม่มีภาวะระบาดของมาลาเรีย และจะสูงขึ้นหนึ่งถึงสองเดือนหลังจากเริ่มมีการระบาดของไข้มาลาเรียในปีถัดไป ฉะนั้นการตรวจพบแอนติบอดีต่อ R32tet32 น่าจะบ่งบอกถึงการมีภาวะของการระบาดของไข้มาลาเรีย และไม่น่าจะมีบทบาทในแง่ของการป้องกันโรค [29] หลังจากได้ศึกษาระดับแอนติบอดีต่อ R32tet32 ในกลุ่มทหาร นักวิจัยกลุ่มข้างต้นมีความสนใจที่จะศึกษาระดับแอนติบอดีต่อส่วน non-repetitive ของ CSP (repeatless flanking region: RFP) ในกลุ่มทหารพรานนี้ด้วย โดยแบ่งอาสาสมัครทหารพรานเหล่านี้เป็น 3 กลุ่มตามระดับของแอนติบอดีต่อ R32tet32

ดังนี้ 1) กลุ่มที่ไม่มีระดับแอนติบอดีต่อ R32tet32 ( $n = 5$ ) 2) กลุ่มที่มีแอนติบอดีต่อ R32tet32 ในระดับต่ำ ( $n = 6$ ) 3) กลุ่มที่มีแอนติบอดีต่อ R32tet32 ในระดับปานกลางและสูง ( $n = 5$ ) ผลที่ได้คือทั้ง 3 กลุ่มนี้มีระดับแอนติบอดีต่อ RLF รวมถึงทหารที่ไม่มีระดับแอนติบอดีต่อ R32tet32 ก็มีระดับแอนติบอดีต่อ ส่วน non-repetitive ของ CSP (RLF) ด้วย [30] แต่จากการศึกษาในถิ่นมาลาเรียในประเทศ Brazil, Papua New Guinea และ Kenya พบว่าการสร้างแอนติบอดีต่อส่วน non-repetitive ของ CSP (RLF) มีความแปรผันตามกลุ่มประชากรและอายุของกลุ่มประชากรในแต่ละท้องถิ่น [31]

## 2. แอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียระยะในเลือด

### 2.1 แอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียระยะในเลือดทั้งตัว (whole malaria blood stage)

จากรายงานการศึกษาการสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อ *P. falciparum* ระยะในเลือดทั้งตัวบนสไลด์ฟิล์มเลือดบางที่ตรึงด้วย acetone ในผู้ป่วยมาลาเรียที่ได้รับการรักษาตัวในโรงพยาบาล พระปกเกล้าฯ จังหวัดจันทบุรี ทั้งหมด 97 ราย พบว่าให้ผลบวกทุกรายเมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี indirect immunofluorescent assay (IFA-IgG) และเป็นที่น่าสังเกตว่าในผู้ป่วยที่มีอาการไข้รุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต (12 ราย) มีระดับแอนติบอดีต่อมาลาเรียระยะในเลือดทั้งตัวนี้ต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีอาการไข้รุนแรงและรักษาหาย (87 ราย) [32,33] การศึกษา ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *P. falciparum* ระยะเลือด (วงแหวน) บนสไลด์ฟิล์มเลือดบางที่ตรึงด้วย glutaraldehyde ได้มีรายงานในผู้ป่วยมาลาเรียที่ได้รับการรักษาตัวในโรงพยาบาลพระปกเกล้าฯ เช่นเดียวกัน และเป็นที่น่าสังเกตในทำนองเดียวกันว่า ระดับแอนติบอดีต่อมาลาเรียระยะวงแหวนในผู้ป่วยที่มีอาการไข้มาลาเรียขึ้นสมองที่มีอาการแทรกซ้อนอื่นๆ ร่วมด้วย มีระดับต่ำกว่าในผู้ป่วยที่มีอาการไข้มาลาเรียขึ้นสมองที่ไม่มีอาการแทรกซ้อนอื่นๆ และต่ำกว่าในผู้ป่วยที่ไม่มีอาการไข้มาลาเรียขึ้นสมอง เมื่อตรวจวินิจฉัยแอนติบอดีด้วยวิธี IFA-IgG [34] ในทำนองเดียวกัน เมื่อศึกษาระดับของแอนติบอดีระยะในเลือดด้วยวิธี ELISA-IgG ในผู้ป่วยไข้มาลาเรียที่มีอาการรุนแรงและไม่รุนแรงที่รักษาตัวที่โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน พบว่าผู้ป่วยไข้มาลาเรียที่มีอาการรุนแรงมีระดับแอนติบอดีต่อมาลาเรียระยะในเลือด (crude antigen) ต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง [35] จากรายงานการศึกษาข้างต้นได้ให้ข้อสังเกตว่าระดับของแอนติบอดีชนิด IgG ที่สร้างขึ้นต่อเชื้อมาลาเรียระยะเลือดทั้งตัวมีความสัมพันธ์กับอาการรุนแรงและเสียชีวิตของผู้ป่วย

การตรวจวินิจฉัยระดับของแอนติบอดีที่สร้างขึ้นต่อเชื้อมาลาเรียระยะเลือด มีการศึกษาในอาสาสมัครที่เป็นทหารพรานและชาวบ้านในแถบชายแดนไทยลาวและกัมพูชาเช่นเดียวกัน กลุ่มอาสาสมัครทั้งทหารพรานและชาวบ้านทุกคนมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียระยะในเลือด คือระยะโทรโฟซอइट และระยะไซซอนต์ แต่มีจำนวนน้อยกว่าครึ่งของอาสาสมัครที่มีระดับแอนติบอดีต่อระยะวงแหวนเมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี Erythrocyte

membrane immunofluorescence (EMIF) [36] ในทำนองเดียวกัน การสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียระยะในเลือด ในอาสาสมัครที่อาศัยอยู่ในถิ่นมาลาเรียจังหวัดตราด พบว่าอาสาสมัครทุกคนมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียระยะโทรโฟซอइट และระยะไซซอนต์ และ 81 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มอาสาสมัครมีระดับแอนติบอดีต่อระยะวงแหวนเมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี IFA-IgG และเมื่อศึกษาการทำงานของแอนติบอดี [37] พบว่า ซีรัมของอาสาสมัครที่มีแอนติบอดีในระดับสูงสามารถยับยั้งการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมีเซลล์เอนโดทีเลียม (cytoadherence) และยับยั้งการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมีเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติตั้งแต่ 3 เซลล์ขึ้นไป (rosette formation) ได้ [37] ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดอาการไข้มาลาเรียชนิดรุนแรง

### 2.2 แอนติบอดีต่อโปรตีนของเชื้อมาลาเรียระยะในเลือด

จากรายงานการศึกษาการสร้างแอนติบอดีต่อโปรตีนหรือไกลโคโปรตีนของเชื้อมาลาเรียระยะในเลือดในกลุ่มคนไทย โดยโปรตีนหรือไกลโคโปรตีนที่ศึกษาไว้ได้แก่ glycoprotein (gp) 195, Pf332(2-12)2, ring infected erythrocyte surface antigens (Pf155/RESA) gp195 มีน้ำหนักโมเลกุล 195 กิโลดาลตัน ถูกสร้างขึ้นในระยะโทรโฟซอइट ไซซอนต์ และปรากฏบนผิวของเชื้อในระยะไซซอนต์ที่โตเต็มที่ และยังสามารถจับกับผิวของระยะเมอโรซอइटได้ [38] Pf332(2-12)2 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 2,500 กิโลดาลตัน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 11 ตัวเรียงตัวซ้ำกัน และกรดอะมิโนส่วนใหญ่เป็น glutamic acid [39] Pf155/RESA เป็นโปรตีนที่พบในเยื่อหุ้มเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อ *P. falciparum* ระยะวงแหวนอยู่ภายใน มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 155 กิโลดาลตัน เป็นโปรตีนที่พบมากใน dense granules ในส่วน apical region ของระยะเมอโรซอइट [40] การศึกษาการสร้างแอนติบอดีต่อ gp195 ในกลุ่มทหารพรานที่ไปทำงานในแถบชายแดนไทยลาวและกัมพูชาจำนวน 85 ราย พบว่า 84 รายมีระดับแอนติบอดีต่อ gp195 เมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี ELISA-IgG [38] ส่วนการศึกษาการสร้างแอนติบอดีต่อ Pf332(2-12)2 และ Pf155/RESA ในอาสาสมัครที่อาศัยอยู่ในถิ่นมาลาเรียจังหวัดจันทบุรี พบว่า 43 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครมีระดับแอนติบอดีต่อ Pf332(2-12)2 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครมีระดับแอนติบอดีต่อ Pf155/RESA เมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี ELISA-IgG [41]

## บทสรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนต่างๆ ในคนไทยที่ได้รับการวินิจฉัยและได้รวบรวมไว้ในครั้งนี้ ทำให้สังเกตเห็นว่ากลุ่มคนไทยที่อาศัยอยู่หรือไปทำงานในถิ่นมาลาเรียบางคนเท่านั้นที่สร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน CSP:R32tet32 [27,28], gp195 [38], Pf332(2-12)2 [41], Pf155/RESA [41], *P. falciparum* ระยะวงแหวนทั้งตัว [36] และ *P. falciparum* ระยะสปอโรซอइटทั้งตัว [25] ส่วนการศึกษาในผู้ป่วยมาลาเรีย พบว่า ผู้ป่วยบางคนเท่านั้นที่สร้างแอนติบอดีต่อ *P. falciparum* ระยะสปอโรซอइटทั้งตัว เนื่องจาก



เชื้อมาลาเรียประกอบด้วยระยะของการเจริญแบ่งตัวหลายระยะ ฉะนั้นจึงประกอบด้วยโปรตีนหรือแอนติเจนหลายชนิด แต่ละแอนติเจนมีความแตกต่างและมีการผันแปรสูงมาก และเชื้อ *P. falciparum* นั้นมีหลายสายพันธุ์ ฉะนั้น การกระตุ้นร่างกายให้สร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคจึงเป็นแบบไม่สมบูรณ์ ผู้ที่อาศัยอยู่ในถิ่นมาลาเรียที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคนั้น จำต้องได้รับเชื้อ *P. falciparum* ซ้ำๆ หลายครั้งจึงจะสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ต้านทานต่อโรคได้ [42]

จุดเด่นจากการสังเคราะห์งานที่รวบรวมไว้ก็คือ ระดับของแอนติบอดี (IgG) ต่อ *P. falciparum* ระยะเลือดทั้งตัว [32-35] และ *P. falciparum* ระยะสเปอโรซอइटทั้งตัว [26] มีความสัมพันธ์กับอาการรุนแรงหรือการเสียชีวิตของผู้ป่วยมาลาเรีย นั่นคือ แอนติบอดีมีบทบาทในการป้องกันไม่ให้เกิดอาการรุนแรงและเสียชีวิตเมื่อติดเชื้อมาลาเรีย ซึ่งแอนติบอดีต่อแอนติเจนที่หลากหลายชนิดของเชื้อ *P. falciparum* นี้ทำหน้าที่ยับยั้งไม่ให้เชื้อแบ่งตัวเพิ่มจำนวน โดย ทำลาย (neutralize) สารพิษของมาลาเรีย (malaria toxin) หรือ ยับยั้งไม่ให้เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อเกาะติดกับเซลล์เอนโดทีเลียมของผนังหลอดเลือด (cytoadherence) ดังนั้นแอนติบอดีจึงมีบทบาทในการป้องกันไม่ให้เกิดอาการรุนแรงของโรค และป้องกันไม่ให้ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงเสียชีวิตได้ และเป็นที่น่าสนใจอย่างมากอีกอย่างหนึ่ง คือทั้งผู้ป่วยมาลาเรียและผู้ที่ยังอาศัยอยู่หรือไปทำงานในถิ่นมาลาเรียทุกราย สร้างแอนติบอดี (IgG) ต่อเชื้อมาลาเรียระยะเลือด (ระยะโทโฟซอइट ไซซอนต์) [32,33,36,37] จากงานวิจัยซึ่งได้รายงานไว้หลายฉบับในกลุ่มคนไทยดังกล่าวข้างต้นมีความสอดคล้องกัน นั่นคือการสร้างแอนติบอดี (IgG) ต่อ *P. falciparum* ระยะเลือดทั้งตัวหรือต่อ *P. falciparum* ระยะสเปอโรซอइटทั้งตัว มีความสัมพันธ์กับอาการรุนแรงของโรคมาลาเรีย ซึ่งข้อมูลเหล่านี้มีความแตกต่างจากการรายงานการวิจัยในชาวแอฟริกัน ชาวเซเนกัล และชาวซูดานที่เคยรายงานไว้ว่า แอนติบอดี (IgG) ต่อ *P. falciparum* ระยะเลือดทั้งตัวไม่มีความเกี่ยวข้องหรือลดความเสี่ยงต่อการเป็นไข้มาลาเรีย [8-10]

ฉะนั้นการรวบรวมการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวกับการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนต่างๆ ในคนไทยในครั้งนี้ น่าจะเป็นแนวทางในการเลือกวัคซีนที่เหมาะสมเพื่อป้องกันโรคมาลาเรียในคนไทยได้ในระดับหนึ่ง นั่นคือวัคซีนที่มีประสิทธิภาพนั้นจำเป็นต้องประกอบด้วยแอนติเจนของ เชื้อ *P. falciparum* หลากหลายชนิด จากรายงานการวิจัยเมื่อไม่นานมานี้พบว่า การให้เชื้อมาลาเรียระยะในเลือดที่ไม่สามารถก่อโรคจำนวนน้อยๆ ในอาสาสมัคร (*P. falciparum* ระยะเลือดทั้งตัว 30 ตัว) สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ [43] และรายงานการวิจัยเมื่อเร็วๆ นี้ โดยฉีดเชื้อมาลาเรียระยะสเปอโรซอइटทั้งตัวที่ทำให้ไม่สามารถก่อโรคได้ (purified irradiated sporozoite) ให้กับอาสาสมัคร พบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ (CD8+ T cell) และป้องกันโรคมาลาเรียได้ในระดับหนึ่ง [44] อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรียเป็นจำนวน

มากเพื่อใช้เป็นวัคซีนป้องกันโรคในคนหมู่มากนั้นเป็นไปได้ยาก การผลิตวัคซีนในรูปของโปรตีน (subunit vaccine) จะเป็นไปได้มากกว่า [45]

มาลาเรียมีวงจรชีวิตที่ซับซ้อน อย่างไรก็ตาม วัคซีนน่าจะเป็นหนทางหนึ่งในการป้องกันโรคมาลาเรียทั้งที่มีอาการรุนแรงและไม่รุนแรง [46,47] ฉะนั้น ข้อมูลจากรายงานนี้ในด้านภูมิคุ้มกันด้านแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรียระยะต่างๆ และต่อแอนติเจน (antigen) ของเชื้อมาลาเรียชนิดต่างๆ ที่มีความสัมพันธ์กับอาการรุนแรงของโรคหรือการเสียชีวิตในผู้ป่วยมาลาเรียในประเทศไทย น่าจะเป็นแนวทางให้เข้าใจระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อเชื้อมาลาเรียได้ดีขึ้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการคัดสรรแอนติเจนที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการพัฒนาวัคซีนให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นในอนาคต

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ศรีสิน คุสมิทธิ์ ภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมูโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยตรวจทาน แก้ไข ให้ความรู้ และให้คำแนะนำที่มีคุณค่ายิ่งตลอดมา

## เอกสารอ้างอิง

1. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:327-36.
2. Vannaphan S, Saengnetswang T, Suwanakut P, Kklangbuakong A, Klinnak W, Rungmatcha P, *et al.* The epidemiology of patients with severe malaria who died at the Hospital for Tropical Diseases, 1991-2004. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2005;36:385-9.
3. Singh B, Kim SL, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, *et al.* A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet.* 2004;363:1017-24.
4. Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK. The pathogenic basis of malaria. *Nature.* 2002;415:673-9.
5. World Health Organization. Severe and complicated malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000;94 Suppl:51-90.
6. Cohen S, Mc GI, Carrington S. Gamma-globulin and acquired immunity to human malaria. *Nature.* 1961;192:733-7.
7. Sabchareon A, Burnouf T, Ouattara D, Attanath

- P, Bouharoun-Tayoun H, Chantavanich P, *et al.* Parasitologic and clinical human response to immunoglobulin administration in falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1991;45:297-308.
8. Marsh K, Otoo L, Hayes RJ, Carson DC, Greenwood BM. Antibodies to blood stage antigens of *Plasmodium falciparum* in rural Gambians and their relation to protection against infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1989;83:293-303.
  9. Aribot G, Rogier C, Sarthou JL, Trape JF, Balde AT, Druilhe P, *et al.* Pattern of immunoglobulin isotype response to *Plasmodium falciparum* blood-stage antigens in individuals living in a holoendemic area of Senegal (Dielmo, west Africa). *Am J Trop Med Hyg.* 1996;54:449-57.
  10. Nasr A, Iriemenam NC, Troye-Blomberg M, Giha HA, Balogun HA, Osman OF, *et al.* Fc gamma receptor IIa (CD32) polymorphism and antibody responses to asexual blood-stage antigens of *Plasmodium falciparum* malaria in Sudanese patients. *Scand J Immunol.* 2007;66:87-96.
  11. Ahlborg N, Haddad D, Siddique AB, Roussilhon C, Rogier C, Trape JF, *et al.* Antibody responses to the repetitive *Plasmodium falciparum* antigen Pf332 in humans naturally primed to the parasite. *Clin Exp Immunol.* 2002;129:318-25.
  12. Bouharoun-Tayoun H, Attanath P, Sabchareon A, Chongsuphajaisiddhi T, Druilhe P. Antibodies that protect humans against *Plasmodium falciparum* blood stages do not on their own inhibit parasite growth and invasion *in vitro*, but act in cooperation with monocytes. *J Exp Med.* 1990;172:1633-41.
  13. Brown AE, Webster HK, Pavanand K, Permpanich B, Sookto P, Sattabongkot J, *et al.* Comparison of antibody responses to the circumsporozoite protein repeat region and to intact sporozoites during acute falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1989;83:154-7.
  14. Wahlin B, Wahlgren M, Perlmann H, Berzins K, Björkman A, Patarroyo ME, *et al.* Human antibodies to a Mr 155,000 *Plasmodium falciparum* antigen efficiently inhibit merozoite invasion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984;81:7912-6.
  15. Green TJ, Morhardt M, Brackett RG, Jacobs RL. Serum inhibition of merozoite dispersal from *Plasmodium falciparum* schizonts: indicator of immune status. *Infect Immun.* 1981;31:1203-8.
  16. Newbold CI, Pinches R, Roberts DJ, Marsh K. *Plasmodium falciparum*: the human agglutinating antibody response to the infected red cell surface is predominantly variant specific. *Exp Parasitol.* 1992;75:281-92.
  17. Schofield L, Hewitt MC, Evans K, Siomos MA, Seeberger PH. Synthetic GPI as a candidate anti-toxic vaccine in a model of malaria. *Nature.* 2002;418:785-9.
  18. Giribaldi G, Ulliers D, Mannu F, Arese P, Turrini F. Growth of *Plasmodium falciparum* induces stage-dependent haemichrome formation, oxidative aggregation of band 3, membrane deposition of complement and antibodies, and phagocytosis of parasitized erythrocytes. *Br J Haematol.* 2001;113:492-9.
  19. Metzger WG, Okenu DM, Cavanagh DR, Robinson JV, Bojang KA, Weiss HA, *et al.* Serum IgG3 to the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 2 is strongly associated with a reduced prospective risk of malaria. *Parasite Immunol.* 2003;25:307-12.
  20. Taylor RR, Allen SJ, Greenwood BM, Riley EM. IgG3 antibodies to *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 2 (MSP2): increasing prevalence with age and association with clinical immunity to malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;58:406-13.
  21. Siddique AB, Ahlborg N, Wahlin Flyg B, Perlmann P, Berzins K. Antibodies to sequences in a non-repeat region of *Plasmodium falciparum* antigen Pf155/RESA inhibit either cytoadherence or parasite growth *in vitro*. *Parasitology.* 1998;117(Pt 3):209-16.
  22. Theisen M, Soe S, Oeuvray C, Thomas AW, Vuust J, Danielsen S, *et al.* The glutamate-rich protein (GLURP) of *Plasmodium falciparum* is a target for antibody-dependent monocyte-

- mediated inhibition of parasite growth in vitro. *Infect Immun.* 1998;66:11-7.
23. Amante FH, Crewther PE, Anders RF, Good MF. A cryptic T cell epitope on the apical membrane antigen 1 of *Plasmodium chabaudi adami* can prime for an anamnestic antibody response: implications for malaria vaccine design. *J Immunol.* 1997;159:5535-44.
24. Greenhouse B, Ho B, Hubbard A, Njama-Meya D, Narum DL, Lanar DE, *et al.* Antibodies to *Plasmodium falciparum* antigens predict a higher risk of malaria but protection from symptoms once parasitemic. *J Infect Dis.* 2011;204:19-26.
25. Tapchaisri P, Chomcharn Y, Poonthong C, Asavanich A, Limsuwan S, Maleevan O, *et al.* Anti-sporozoite antibodies induced by natural infection. *Am J Trop Med Hyg.* 1983;32:1203-8.
26. Tapchaisri P, Asavanich A, Limsuwan S, Tharavanij S, Harinasuta KT. Antibodies against malaria sporozoites in patients with acute uncomplicated malaria and patients with cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1985;34:831-6.
27. Webster HK, Brown AE, Chuenchitra C, Permpnich B, Pipithkul J. Characterization of antibodies to sporozoites in *Plasmodium falciparum* malaria and correlation with protection. *J Clin Microbiol.* 1988;26:923-7.
28. Wongsrichanalai C, Webster HK, Permpnich B, Chuanak N, Ketrangsri S. Naturally acquired circumsporozoite antibodies and their role in protection in endemic falciparum and vivax malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1991;44:201-4.
29. Webster HK, Gingrich JB, Wongsrichanalai C, Tulyayon S, Suvarnamani A, Sookto P, *et al.* Circumsporozoite antibody as a serologic marker of *Plasmodium falciparum* transmission. *Am J Trop Med Hyg.* 1992;47:489-97.
30. Brown AE, Webster HK, Gordon DM, Permpnich B, Gross M. Characterization of naturally acquired antibodies to the non-repetitive flanking regions of the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg.* 1992;47:440-5.
31. Shi YP, Udhayakumar V, Alpers MP, Pova MM, Oloo AI, Ruebush TK, *et al.* Natural antibody responses against the non-repeat-sequence-based B-cell epitopes of the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein. *Infect Immun.* 1993;61:2425-33.
32. Brasseur P, Ballet JJ, Druilhe P. Impairment of *Plasmodium falciparum*-specific antibody response in severe malaria. *J Clin Microbiol.* 1990;28:265-8.
33. Fribourg-Blanc A, Druilhe P, Brasseur P, Rhodes-Feuillette A, Ballet JJ, Tharavanij S. Immunological evaluation of cell-mediated and humoral immunity in Thai patients with cerebral and non cerebral *Plasmodium falciparum* malaria: II. Evolution of serum levels of immunoglobulins, antimalarial antibodies, complement fractions and alpha interferon. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1985;16:307-13.
34. Tharavanij S, Tapchaisri P, Mahakunkijcharoen Y, Looareesuwan S. Antibody against a ring-infected erythrocyte surface antigen in cerebral and non-cerebral malaria patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1988;82:385-8.
35. Perlmann P, Perlmann H, Looareesuwan S, Krudsood S, Kano S, Matsumoto Y, *et al.* Contrasting functions of IgG and IgE antimalarial antibodies in uncomplicated and severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62:373-7.
36. Udomsangpetch R, Troye-Blomberg M, Brown AE, Thaithong S, Perlmann P, Webster HK. Lymphocyte responses to *Plasmodium falciparum* ring-infected erythrocyte surface antigen (Pf155/RESA) peptides in individuals with naturally acquired *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;50:465-71.
37. Maneerat Y, Tiensuwan M, Siripoon N, Thaithong S, Udomsangpetch R. Antiparasite adherence activity in Thai individuals living in a *P. falciparum* endemic area. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 1999;17:23-9.
38. Brown AE, Webster HK, Lyon JA, Thomas AW, Permpnich B, Gross M. Characterization of naturally acquired antibody responses to a

- recombinant fragment from the N-terminus of *Plasmodium falciparum* glycoprotein 195. Am J Trop Med Hyg. 1991;45:567-73.
39. Mattei D, Hinterberg K, Scherf A, Pfl I-I and Pf332: two giant proteins synthesized in erythrocytes infected with *Plasmodium falciparum*. Parasitol Today. 1992;8:426-8.
  40. Aikawa M, Torii M, Sjolander A, Berzins K, Perlmann P, Miller LH. Pf155/RESA antigen is localized in dense granules of *Plasmodium falciparum* merozoites. Exp Parasitol. 1990;71:326-9.
  41. Iqbal J, Perlmann P, Greenwood BM, Berzins K. Seroreactivity with the *Plasmodium falciparum* blood stage antigen Pf332 in adults and children from malaria-endemic regions. Clin Exp Immunol. 1993;94:68-74.
  42. Good MF, Stanisic D, Xu H, Elliott S, Wykes M. The immunological challenge to developing a vaccine to the blood stages of malaria parasites. Immunol Rev. 2004;201:254-67.
  43. Pombo DJ, Lawrence G, Hirunpetcharat C, Rzepczyk C, Bryden M, Cloonan N, *et al.* Immunity to malaria after administration of ultra-low doses of red cells infected with *Plasmodium falciparum*. Lancet. 2002;360: 610-7.
  44. Epstein JE, Tewari K, Lyke KE, Sim BK, Billingsley PE, Laurens MB, *et al.* Live attenuated malaria vaccine designed to protect through hepatic CD8 T cell immunity. Science. 2011;334: 475-80.
  45. Good MF. Vaccine-induced immunity to malaria parasites and the need for novel strategies. Trends Parasitol. 2005;21:29-34.
  46. Good MF, Kaslow DC, Miller LH. Pathways and strategies for developing a malaria blood-stage vaccine. Annu Rev Immunol. 1998;16:57-87.
  47. Richie TL, Saul A. Progress and challenges for malaria vaccines. Nature. 2002;415:694-701.