

การรักษาโรคของมนุษย์ด้วยการใช้หน่วยสืบพันธุ์ (Human Gene Therapy)

สมบุญ สรวงบุญมี
สุทธิพันธ์ จิตพินิลมาศ

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

แนวคิดของเรื่องนี้ก็คือ การเอา gene ที่ไม่ปกติสมบูรณ์ออก แล้วเอา gene ที่ปกติสมบูรณ์ใส่เข้าไปแทน หลักการนี้คิดกันมานานแล้ว ความยากลำบากมันอยู่ที่ว่าหน่วยสืบพันธุ์นั้นขนาดเล็กมาก จับต้องไม่ได้ มองไม่เห็น ต้องอาศัยระบบทางชีววิทยาอีกหลายระบบมาช่วย จึงจะเอาออกและเอาแทนได้ ความพยายามของมนุษย์ก็ไม่มีวันท้อแท้เหมือนกันใช้เงินมากเท่าไรก็ไม่คิด จนในที่สุดแนวความคิดนี้ได้นำไปสู่การปฏิบัติที่เป็นรูปธรรมได้ การรักษาโรคมนุษย์ก็ได้กลายเป็นความจริงขึ้นมาเมื่อเดือนกันยายน 2533 เมื่อกลุ่มแพทย์และนักวิจัยได้ทำการรักษาเด็กหญิงอายุ 4 ขวบ ซึ่งเธอเป็นโรคที่มีสาเหตุมาจากการบกพร่องของหน่วยสืบพันธุ์โดยใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มี gene ปกติที่ร่างกายของเธอไม่มีฉีดเข้าไปทางเลือด ต่อมาอีกหลายเดือน การรักษาทำนองเดียวกันนี้ก็ได้ทดลองทำที่สถาบันสุขภาพแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา คือการรักษา มะเร็ง โรค Cystic fibrosis ของปอด และโรคหัวใจ

ความรู้ทางการแพทย์ในเรื่องนี้ก็นับว่าอยู่ในระยะเริ่มต้นจริง ๆ เปรียบเทียบได้กับระยะแรก ๆ ของการสร้างเครื่องบิน เราเริ่มต้นบินได้แล้วแต่ต้องใช้เวลาคิด-เวลาทำอีกระยะหนึ่ง จึงจะบินข้ามมหาสมุทรไปทั่วโลกได้ เราจะต้องเข้าใจและเรียนรู้ระบบชีววิทยาของมนุษย์ให้มากกว่านี้มาก เราจึงจะนำวิธีการรักษาแบบนี้มาใช้ประจำวัน หลังจากที่เราเห็นว่ามีประสิทธิภาพเชื่อถือได้แล้ว นักวิทยาศาสตร์และแพทย์กลุ่มหนึ่งจำนวนมากกว่า 10 คน ที่มหาวิทยาลัยมิชิแกน กำลังทำการวิจัยอย่างหนัก และสถาบันสุขภาพแห่งชาติสหรัฐอเมริกาได้ให้ทุนสนับสนุน 5 ล้านดอลลาร์เป็นโครงการแรกของสหรัฐอเมริกา เรื่องที่ทำการทดลองคือ Experimental Models of Gene Therapy โดยพยายามหาวิธีทางที่จะขนส่ง genes ไปสู่อวัยวะนั้น ๆ ทำทั้งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และทดลองในสัตว์ทดลอง ปัญหาหนักในปัจจุบันก็คือ การที่จะนำเอา gene ปกติสมบูรณ์เข้าไปต่อใส่กับ gene ของคนไข้ ซึ่งจะต้องอาศัย

ระบบเอ็นซายม์หลายระบบ ถ้าทำได้แล้ว gene ตัวปกติสมบูรณ์นั้นก็จะแสดงผลออกมาทำให้หายเป็นปกติได้ นักวิจัยกลุ่มนี้ได้ฝึกปฏิบัติเทคนิคสำหรับการศึกษาทดลองไว้อย่างดีแล้ว จึงมีความชำนาญทั้งในห้องปฏิบัติการและข้างเตียงผู้ป่วย

ได้มีการค้นพบ cystic fibrosis gene เมื่อเดือนกันยายน พ.ศ.2532 ศาสตราจารย์ 2 ท่าน คือ James M. Wilson M.D., Ph.D. หัวหน้าหน่วยอายุรศาสตร์ระดับโมเลกุล และ Francis S. Collins M.D., Ph.D. ศาสตราจารย์ทาง Internal Medicine และ Human Genetics ได้นำทีมนักวิจัยของมหาวิทยาลัยมิชิแกนทำการวิจัยต่อเพื่อให้สามารถรักษาโรค cystic fibrosis ได้ ซึ่งเป็นโรคที่ถ่ายทอดมาทางกรรมพันธุ์ซึ่งค้นพบในชาวอเมริกัน นับเป็นก้าวแรกที่จะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการรักษาโรคด้วย gene อีกต่อไป กลุ่มนี้ค้นพบว่า Neurofibromatosis gene อยู่ที่โครโมโซมคู่ที่ 17 ของมนุษย์

ลักษณะอาการที่สำคัญของโรค cystic fibrosis ก็คือ จะมีสารเมือก (mucus) หนาจนกระทั่งอุดตันปอดได้ สารเมือกยังเป็นທີ່เจริญเติบโตให้แบคทีเรียได้ด้วย คนไข้มีการหลั่งสาร mucus มากกว่าปกติเนื่องจากว่าเส้นทางสำหรับส่งถ่ายคลอไรด์ของเซลล์ไม่เปิดตามปกติ โรคนี้ยังมีผลกระทบกระเทือนต่อการสร้างเอ็นซายม์ที่ขับออกจากตับอ่อน เพื่อไปย่อยอาหารอีกด้วย ซึ่งถ้าหากไม่รักษาก็จะนำไปสู่ภาวะขาดอาหาร ทั้ง ๆ ที่กินอาหารครบหมู่ก็ได้ คนไข้พวกนี้จะสั้นชีวิต เพราะเชื้อแบคทีเรียก่อนที่จะมีอายุถึง 30 ปี หน่วยสืบพันธุ์นี้เรียกชื่อว่า Cystic Fibrosis gene หรือ CF gene

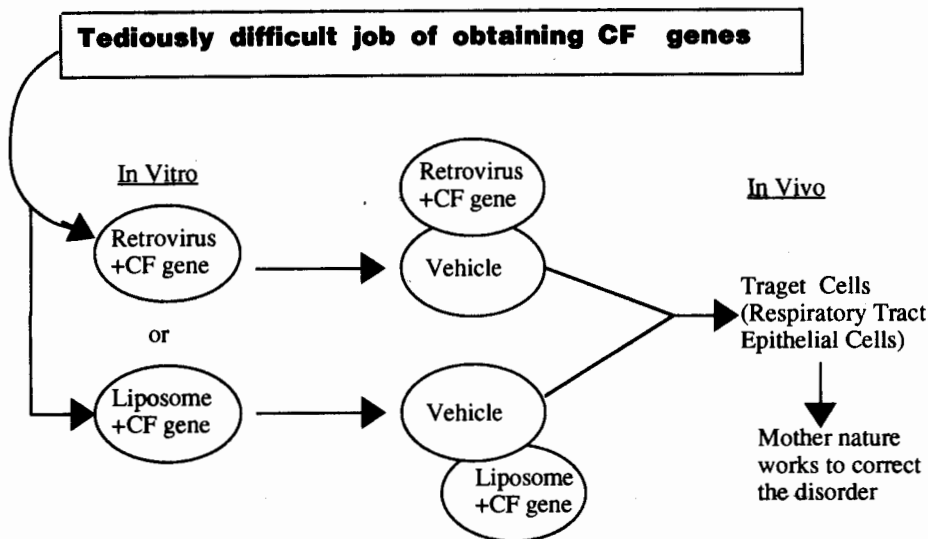
วิธีการทดลองรักษานั้นอธิบายได้ง่าย ๆ ได้ดังนี้คือ

1. นำ gene ที่ปกติสมบูรณ์ไปใส่ในเซลล์ไวรัสที่เรียกว่า retrovirus ไวรัสนี้ถูกทำให้หมดสมรรถภาพแล้ว จึงไม่สามารถฆ่าทำลายเซลล์ หรือทำให้เกิดโรคได้
2. นำผลที่ได้จากข้อ 1 นั้นไปใส่ในกลุ่มของเซลล์ ที่นำมาจากตับอ่อนของผู้ป่วยเป็นโรค cystic fibrosis (CF)
3. นำผลที่ได้จากข้อ 2 ไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเลี้ยงเซลล์
4. ตรวจสอบว่า เซลล์ที่นำไปเลี้ยงนั้นเจริญได้ดีเป็นปกติตามที่ควรจะเป็น

จึงสรุปได้ว่า เซลล์ที่เลี้ยงนั้นเป็นปกติ และสามารถสร้างโปรตีน ชื่อ cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) ได้ปกติ และโปรตีน CFTR นี้เป็นตัวขนถ่ายคลอไรด์ไอออน โดยผ่านทะลุผนังเซลล์ออกไป จึงทำให้ปอดเป็นปกติไม่มีสารเมือกปกคลุม

จึงเห็นได้ว่าความสำเร็จในห้องทดลองประสบผลแล้ว ขั้นตอนต่อไปก็ต้องหาว่าจะขนส่ง CF gene ปกติเข้าไปสู่เซลล์บุท่อทางเดินอากาศในปอดได้อย่างไร โดยใช้หนูทดลองเพื่อศึกษาว่า CF gene ที่ใส่ไว้ในเซลล์ไวรัสจะสามารถขนส่งไปสู่เซลล์บุท่อทางเดินอากาศได้ด้วยยาจำพวกใช้พ่น (aerosol) หรือไม่? หรือจะหาสารอื่นที่จะนำ gene จำนวนมากไปสู่เซลล์เป้าหมายดังกล่าว นั้น...ผลจะเป็นอย่างไร...เราต้องรอฟังกันต่อไป สัก 2-3 ปี

ขั้นตอนการทดลองที่กล่าวแล้วนั้นอาจจะเขียนเป็นแผนภูมิได้ดังนี้



นอกเหนือจากการใช้ retrovirus เป็นเซลล์นำ gene ปกติไปทดแทนอันไม่ปกติสมบูรณ์แล้ว กลุ่มนักวิจัยยังได้ทดลองใช้ liposome ซึ่งเป็นก้อนไขมันเล็ก ๆ กว่าเซลล์ที่มักจะเข้าไปสู่ภายในเซลล์ได้ดี ส่วนดีของมันคือมันไม่มีหน่วยสืบพันธุ์ของมันเองเหมือนเซลล์ไวรัส เพราะหน่วยสืบพันธุ์หน่วยอื่นของไวรัสนั้นอาจนำไปสู่ผลที่คาดไม่ถึงหลายอย่าง อันนี้อันตรายมาก แต่ก็มีข้อไม่ได้อยู่บ้างเช่นไม่สามารถไปสู่เซลล์เป้าหมายได้แน่นอน แต่จะนำ gene ที่ดีนั้นไปสู่เซลล์อื่นๆ ซึ่งไม่ต้องการ ผลที่อยากให้เกิดก็เกิดไม่ได้

James M. Wilson หัวหน้าหน่วยอายุรศาสตร์ระดับโมเลกุลของมหาวิทยาลัยมิชิแกน ได้พยายามที่จะพัฒนาการรักษาโรค Familial Hypercholesterolemia (FH) ด้วยหน่วยสืบพันธุ์โดยอาศัยแนวความคิดแบบเดียวกัน โรคนี้มีความผิดปกติที่ gene ตัวหนึ่งจึงไม่สามารถควบคุมการย่อย

โคเลสเตอรอลชนิดร้าย (LDL = low density lipoprotein) ให้เป็นไปตามปกติได้ คนอเมริกัน 1 ใน 500 จะเป็นโรค FH แบบไม่รุนแรง จึงทำให้เกิดอาการหัวใจวายก่อนอายุอันสมควร หน่วยสืบพันธุ์ตัวนี้ถูกมีโอกาสติดได้ถึง 50% มนุษย์เผ่าพันธุ์ชาติอื่นๆ ก็มีโอกาสเป็นได้ไม่แพ้กัน สำหรับแบบที่เป็นรุนแรงนั้น จะเป็นเพราะมี gene ที่ผิดปกติคือ LDL receptor genes ถึง 2 ตัว ผู้ป่วยจะมีความบกพร่องที่เซลล์ตับที่ไม่สามารถที่จะกำจัด LDL ออกจากกระแสเลือดได้ จึงสะสมในกระแสเลือดได้รวดเร็วก่อนอายุอันสมควร ก็จะมีอาการที่เจ็บปวดหน้าอกและถึงหัวใจวายได้เมื่ออายุประมาณ 10 ปีเท่านั้น โรค FH แบบรุนแรงที่กล่าวมาแล้วนี้จะเกิดเป็นได้ในอัตรา 1:1 ล้าน เท่านั้นตามที่พบในชาวอเมริกัน ผู้ป่วยที่มีการบันทึกที่ครอบครัวซึ่งได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนตับและหัวใจพร้อมกัน ก็คือเด็กหญิง Stormy Jones เธอตายอายุ 13 ปีในปี 2533

มีกระต่ายสายพันธุ์หนึ่งเรียกว่า Watanabe rabbits เป็นต้นแบบของระบบชีววิทยาที่เขาได้ผสมพันธุ์ขึ้นมาให้ขาด LDL receptor เหมือนกับที่เป็นในมนุษย์ดังที่กล่าวในตอนบน James M. Wilson ได้ทำการทดลองนำเอา LDL receptor genes ไปใส่ในเซลล์ตับของกระต่ายสายพันธุ์นี้ได้สำเร็จ และสามารถทำให้ LDL ในกระแสเลือดลดปริมาณลงได้ เรียกวิธีนี้ว่า "Autologous ex vivo gene therapy" วิธีการทดลองย่อ ๆ ก็คือ

1. แยกเซลล์ตับของ Watanabe rabbit ออกมาเลี้ยงในจานแก้วในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. เอา normal LDL receptor gene ใส่ลงไปในข้อ 1
3. เอาเซลล์ตับที่เลี้ยงไว้ในข้อ 1 และ 2 ใส่กลับเข้าไปในตับของ Watanabe rabbit

ผลของท่าน Wilson และคณะแสดงให้เห็นได้ว่า กระต่ายสายพันธุ์นี้มีระดับโคเลสเตอรอลในกระแสเลือดลดลงต่ำมากอยู่จนเป็นเวลาถึง 5 เดือน กลุ่มผู้ทดลองสำเร็จแล้วนี้ให้ความเห็นว่าการยู่ยงยากซับซ้อนมากเหมาะที่จะทำในศูนย์แพทย์เท่านั้น ซึ่งเราจัดว่าเป็น Tertiary Health Care Center การทดลองศึกษาต่อไปก็คือการเอา LDL receptor genes ฉีดเข้าหลอดเลือดดำที่ใบหูของกระต่ายเลข พาหะที่จะนำ gene ไปสู่เซลล์ตับนั้นเป็น protein+DNA จึงเรียกวิธีนี้ว่า In vivo method ความยากลำบากจะอยู่ที่การพัฒนา protein+DNA complex. การทดลองวิธีนี้ทำให้ LDL ในกระแสเลือดกระต่ายลดลงอยู่เป็นเวลาถึง 1 สัปดาห์เท่านั้น ปัญหาที่ต้องหาคำตอบต่อไปก็คือจะทำอย่างไรจะทำให้ LDL-receptor gene ไปแสดงผลอยู่ได้แบบยั่งยืน หากทำได้ก็จะมีวิธีการรักษา FH แบบไม่รุกรานทำให้

คนไข้บาดเจ็บได้ คืออย่างรุกรานก็แค่ฉีดเข้าหลอดเลือดดำเท่านั้น

อีกด้านหนึ่งนั้นกลุ่มนักวิจัยกลุ่มนี้ยังพยายามที่จะหาทางรักษาหลอดเลือดที่อุดตัน ปัจจุบันเรายังแก้ปัญหานี้ทางด้านนี้ด้วยการผ่าตัดทำ bypass ด้วยหลอดเลือดที่สังเคราะห์ขึ้น การพัฒนาก้าวแรกก็คือ เอาเซลล์บุหลอดเลือดใส่เข้าไปในหลอดเลือดสังเคราะห์ แล้วจึงเอาไปทำ bypass หลังจากผ่าตัดแล้ว 1 เดือน ก็จะเกิดแผ่น endothelium ที่ผนังด้านในของหลอดเลือดสังเคราะห์ได้ หน้าที่สำคัญอันหนึ่งของเซลล์บุนี้ก็คือ มันจะจับสารที่จะป้องกันการแข็งตัวของเลือด เช่น Plasminogen activator หากขาดสารนี้ก็จะมีการแข็งตัวพร้อมกับไขมันเกาะพอกเข้าไป การศึกษาทดลองต่อมา คือเซลล์เหล่านี้สามารถใช้ gene ดัดแปลงให้หลั่งสารที่เป็นยา รักษาเรื่องนี้ได้ด้วย โดยจะให้เซลล์เหล่านี้สร้างโปรตีนที่เป็นตัวทำหน้าที่ละลายก้อนเลือด (clot dissolving protein) แล้วปล่อยออกจากเซลล์เข้าสู่กระแสเลือด แนวคิดทาง Gene therapy เรื่องนี้เป็นตัวอย่างของการทำงานวิจัยประยุกต์ทางการแพทย์ ซึ่งจะช่วยกลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคหลอดเลือดที่เรียกว่า atherosclerosis.

นักวิจัยกลุ่มนี้ยังมีความพยายามที่จะทำให้เซลล์บุหลอดเลือดเป็นผู้ผลิตยาอยู่ภายในร่างกาย (Internal drug pumps) เซลล์พวกนี้เหมาะที่จะใช้เป็นพาหนะในการขนส่ง gene เพราะว่าเซลล์เหล่านี้ควบคุมขบวนการเกิดโรคของหลอดเลือด โดยการกีดหลังโปรตีนที่ควบคุมการแข็งตัวของเลือด และควบคุมการเจริญของเซลล์กับทั้งยังมีอยู่ทั่วไป ภายในหลอดเลือดทั่วร่างกาย ดังนั้นก็จะสามารถส่ง gene ที่ต้องการเข้าสู่กระแสเลือด ทีมสมาชิกรักษาแห่งภาควิชาอายุรศาสตร์ของมหาวิทยาลัยมิชิแกนชื่อ Elizabeth และ Gary

Nabel ได้ทำการทดลองได้สำเร็จเมื่อเดือนกันยายน 2533 โดยทำการศึกษาทดลองในหนู ใช้ double balloon catheter เป็นเครื่องมือนำ gene เข้าไปใส่เซลล์บุหลอดเลือดแดงในเฉพาะที่ที่ต้องการเอา gene ที่ต้องการใส่ไว้ใน retrovirus หรือ liposome ใส่เป็นแบบแชนด์วิทช์ไว้ระหว่างบอลลูนทั้งสอง จากนั้นก็ไปตรวจวัดหา gene เหล่านี้ได้ในเซลล์กล้ามเนื้อและในเซลล์บุหลอดเลือดที่อยู่ไกลออกไปจากจุดที่เอาไปใส่ วิธีการอันนี้จะช่วยให้เราสามารถนำ gene ไปปลูกในเซลล์เป้าหมายได้ ซึ่งอาจจะใช้ได้กับโรคอื่นๆ นอกเหนือจากโรคทางกรรมพันธุ์ด้วยเช่น catheter นี้จะนำไปขนส่ง gene ที่จะไปเป็นตัวแทนในการสร้างโปรตีนที่สามารถละลาย clot นำไปสู่บริเวณเซลล์บุหลอดเลือดในบริเวณที่อุดตันได้

ทางด้านการใช้ gene ไปรักษาโรคมะเร็งนั้น Gary Nabel ก็ได้ใช้วิธีทดลองการรักษามะเร็งโดยใช้ recombinant gene ส่งไปตามสายสวนไปสู่ก้อนมะเร็งของหนูไม่สัแล้วก็จะกระตุ้นให้สร้างเซลล์ที่จะต่อสู้มะเร็ง คือเซลล์ที่เรียกว่า Tumor infiltrating-lymphocyte (TIL) จะต้องติดตามผลอีกต่อไป วิธีการนำ gene ไปสู่ tumor โดยตรงนี้จะใช้เวลาเพียงไม่เกิน 30 นาที ส่วนวิธี ex vivo gene transfer นั้น จะกินเวลาถึง 2 เดือน โดยใช้หลักการอันเดียวกันนี้ บางคนก็ใช้วิธีฉีด gene ดีที่ปกติสมบูรณ์เข้าไปสู่อวัยวะที่เป็นเป้าหมายเลย งานส่วนใหญ่ที่กินเวลาและเงินทองได้แก่การหา gene ที่เป็นสาเหตุ เพื่อจะได้กำจัดมันออกไปแล้วเอาอันที่ดีใส่เข้าไปแทน

การปลูกเลี้ยงหลอดเลือดขึ้นมาใหม่ ก็เป็นทางหนึ่งของเรื่องการรักษาโรคด้วย gene เพราะว่าได้มีผู้ค้นพบในสัตว์ทดลองได้แล้ว โดยทีมนักวิจัยของมหาวิทยาลัยมิชิแกนได้ค้นพบว่า marker gene ของแบคทีเรีย เมื่อเอาฉีดเข้าไปใน

หัวใจของสัตว์ทดลองจะทำให้เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจมีการเจริญสร้างหลอดเลือดใหม่มาได้ ปกติการเจริญสร้างหลอดเลือดใหม่นั้น จะมีอยู่ที่ connective tissue เท่านั้น แต่ในกล้ามเนื้อหัวใจนั้นไม่เคยปรากฏ งานใหญ่ที่รออยู่ก็คือเราจะต้องค้นหาว่า gene ของโครโมโซมของมนุษย์ที่ทำหน้าที่นี้อยู่ที่คู่ไหน เราจึงจะเอาออกมาแล้วนำไปปลูกเปลี่ยนเพื่อการรักษา ischemic heart disease ได้ Jeffrey Leiden M.D., Ph.D. แห่งภาควิชาอายุรศาสตร์และจุลชีววิทยา แห่งมหาวิทยาลัยมิชิแกน ได้ทำการทดลองสำเร็จดังกล่าวมาแล้วนั้นในหนูแร็ท ทำให้หลอดเลือดฝอยเจริญขึ้นในกล้ามเนื้อหัวใจเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนถึง 900 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างชัดเจน แต่ก่อนจะนำมาใช้กับมนุษย์ได้นั้น คงจะต้องหาทางป้องกันมิให้เกิดอักเสบและ scar tissue เพราะว่า scar tissue นี้จะทำให้เป็นปัญหากับจังหวะการบีบตัวของหัวใจ ซึ่งทำให้ตายเฉียบพลันได้

สำหรับเรื่องโรคเอดส์นั้น ปัจจุบันกลุ่มของ Nabel กำลังพยายามที่จะขัดขวางการขยายพันธุ์ของเชื้อโรคนี้นี้ในเซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยง หลักการก็คือการใช้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับคุณสมบัติของเชื้อโรคเอดส์ มาทำให้มันอ่อนกำลังลง และไม่ให้ทำให้เกิดโรคถึงตาย อย่างไรก็ตามกว่าที่สังคมจะได้รับผลประโยชน์นั้นจะต้องทำการศึกษาอีกมากทีเดียว

โรคที่เป็นเป้าหมายที่จะศึกษาทดลองรักษาด้วย gene ยังมีอีกเช่น

Hemophilia A. (factor VIII-deficiency)

Duchene Muscular Dystrophy (DMD)

Lesch-Nyhan Syndrome

จาก University of Michigan Medical Center

"Advance" Summer 1991