บทความวิชาการ

สัตวแพทย์มหานครสาร

JOURNAL OF MAHANAKORN VETERINARY MEDICINE

Available online: www.tci-thaijo.org/index.php/jmvm/

แนวคิดและหลักการของยีนบำบัด

เนาวรัตน์ สุธัมนาถพงษ์[1,#] และอรัญญา พลพรพิสิฐ[2]

[1]ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330;
[2]ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

บทคัดย่อ: แนวคิดเกี่ยวกับวิธีการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดเกิดขึ้นเมื่อร้อยกว่าปีมาแล้ว อย่างไรก็ตาม งานวิจัยและพัฒนาเพื่อพิสูจน์ถึงประสิทธิภาพทางการรักษาโรคและความปลอดภัยของยีนบำบัดใช้เวลายาวนานและใช้เงินลงทุนจำนวนมหาศาล นอกจากนี้ ยีนบำบัดยังต้องพึ่งพาเทคโนโลยีทางด้านการจัดการกับสารพันธุกรรมซึ่งเพิ่งจะมีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็วเมื่อไม่นานมานี้ ประวัติความเป็นมาของการทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับยีนบำบัดจากอดีตจนถึงปัจจุบันมีทั้งที่ประสบความสำเร็จและล้มเหลว ดังนั้นการทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับยีนบำบัดจะต้องผ่านการตรวจสอบจากคณะกรรมการทางวิทยาศาสตร์และทางจริยธรรมว่ามีประโยชน์เหนือความเสี่ยงหรือไม่ ในปัจจุบันมีเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดที่ได้รับการอนุมัติให้ขึ้นทะเบียนเพื่อใช้รักษาโรคได้จำนวนหลายชนิด รวมทั้งยังมียีนบำบัดอีกจำนวนมากที่กำลังอยู่ในระหว่างกระบวนการการทดลองทางคลินิกหรือรอการอนุมัติ พัฒนาการของยีนบำบัดปรับเปลี่ยนไปตามนวัตกรรมที่มาต่อยอดองค์ความรู้ที่มีอยู่แล้ว เช่น CRISPR/Cas9 gene editing ที่ช่วยให้สามารถใช้ยีนบำบัดให้เป็นประโยชน์และทำให้มีความทันสมัยยิ่งขึ้น บทความนี้มีเนื้อหาเกี่ยวกับแนวคิดและหลักการของยีนบำบัด ได้แก่ นิยาม ประวัติความเป็นมา ข้อบ่งใช้ทางการรักษา ประเภทของยีนบำบัด กลยุทธ์ของยีนบำบัด การทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* และ *in vivo* ระบบการนำส่งยีนบำบัด ปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน ผลไม่พึงประสงค์ และความกังวลด้านจริยธรรม

คำสำคัญ: Gene therapy, History, Delivery systems, Safety, Ethics

[#]ผู้รับผิดชอบบทความ
สัตวแพทย์มหานครสาร. 2566. 18(1): 99-128.
E-mail address: Nawara.a@chula.ac.th

Concepts and Principles of Gene Therapy

Naowarat Suthamnatpong[1,#] and Aranya Ponpornpisit[2]

[1]Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Henry Dunant road, Bangkok, Thailand 10330; [2] Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Henry Dunant road, Bangkok, Thailand 10330

Abstract: The concept of gene therapy has been around for over a hundred years. However, the research and development for proving the efficacy and safety of gene therapy is tremendously time-consuming and requires huge investments. Moreover, application of gene therapy depends on management techniques of genetic materials which has advanced rapidly just recently. The history of clinical trials on gene therapy from the past to the present reveals both successes and failures. Correspondingly, a clinical trial on gene therapy has to be approved by scientific review and an ethics committee to check that the benefits outweigh the risk. At present, there are several approved gene therapy products for treatment of some diseases, while many products are currently undergoing late phase of clinical trials or waiting for approval. The development of gene therapy is adapted accordingly to the innovations such as CRISPR/Cas9 gene editing that enables the utilization and modernization of gene therapy. In this review, we describe about concepts and principles of gene therapy, namely, the definition, key events in the history of gene therapy, therapeutic indications, type of gene therapy, strategy of gene therapy, ex vivo and in vivo gene therapy, delivery systems, immune responses and adverse drug reactions, and lastly we address some concerns about ethical issues.

Keywords: Gene therapy, History, Delivery systems, Safety, Ethics

[#]Corresponding author

E-mail address: Nawara.a@chula.ac.th

J. Mahanakorn Vet. Med. 2023 18(1): 99-128.

บทนำ

การค้นหาวิธีการรักษาโรคและยาแบบใหม่ที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย จัดเป็นเป้าหมายสำคัญของงานวิจัยและพัฒนานวัตกรรมทางชีวการแพทย์มาโดยตลอด อย่างไรก็ตาม โรคที่เกิดทั้งในมนุษย์และในสัตว์หลากหลายโรคยังมีความคลุมเคลือทางด้านพยาธิกำเนิดและมีความสลับซับซ้อนเนื่องจากเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่าง ๆ หลากหลายปัจจัย ซึ่งก่อให้เกิดอุปสรรคที่สำคัญและยากต่อการรักษาให้หายขาดอย่างสมบูรณ์ ยิ่งไปกว่านั้นโรคต่าง ๆ จำนวนมากยังมีปัจจัยทางพันธุกรรมเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ทำให้การระบุเป้าหมายของยาและวิธีการรักษาโรคที่กระบวนการทำงานของเซลล์เป็นไปได้ยากลำบากยิ่งขึ้น ในช่วงศตวรรษที่ผ่านมา ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโครงสร้างของดีเอ็นเอ การค้นพบโมเลกุลที่

มีบทบาทหน้าที่เกี่ยวข้องกับกลไกทางพันธุศาสตร์ เช่น การถอดรหัส (transcription) และการแปลรหัส (translation) และพัฒนาการด้านเทคโนโลยีในการจัดการและตัดต่อสารพันธุกรรม ทำให้เกิดแนวคิดใหม่เกี่ยวกับกลยุทธ์ที่ใช้ดีเอ็นเอเพื่อการรักษาโรคขึ้นมา

จากความสำเร็จในก้าวแรกในปีพ.ศ.2533 (ค.ศ. 1990) ที่มีคณะวิจัยได้ทำการทดลองพิสูจน์ให้เห็นว่าโรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมบางโรคสามารถรักษาได้ด้วยการให้ยาที่อยู่ในรูปแบบของดีเอ็นเอจากภายนอกเข้าสู่ร่างกาย โดย R.M. Blaese และคณะ (Blaese, et al., 1995) จากมหาวิทยาลัยเพนซิลเวเนีย ได้ให้การรักษาผู้ป่วยโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องอย่างรุนแรง (severe combined immunodeficiency หรือ SCID) ด้วยวิธียีนบำบัด ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้ประสบความสำเร็จอย่างดี ในเวลาต่อมานักวิทยาศาสตร์ได้พัฒนาเทคโนโลยีด้านชีวการแพทย์ขั้นสูงขึ้นมาได้อย่างรวดเร็ว จนทำให้ความสำเร็จในก้าวต่อไปเกิดขึ้นตามมาภายในระยะเวลาไม่นาน เช่น การศึกษาการเรียงลำดับรหัสจีโนมของมนุษย์ และการพัฒนา high-throughput techniques ที่มีส่วนช่วยในการประยุกต์ใช้ยีนบำบัดอย่างมีประสิทธิภาพในบริบทของการรักษาโรคต่าง ๆ เมื่อเร็ว ๆ นี้ มียาประเภทยีนบำบัดหลายชนิดได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยาของหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา จีนและยุโรป ซึ่งทำให้เกิดกระบวนทัศน์ใหม่ในการรักษาโรคและเปิดศักราชใหม่สำหรับการนำยีนบำบัดมาใช้ประโยชน์ในทางคลินิก (Sayed, et al., 2022) บทความนี้เรียบเรียงขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ข้อมูลเกี่ยวกับแนวคิดและหลักการของยีนบำบัด ได้แก่

I. นิยามของยีนบำบัด (definition of gene therapy)
II. ประวัติความเป็นมาของยีนบำบัด (history of gene therapy)
III. ข้อบ่งใช้ทางการรักษาของยีนบำบัด (therapeutic indication of gene therapy)
IV. ประเภทของยีนบำบัด (type of gene therapy)
V. กลยุทธ์ของยีนบำบัด (strategy of gene therapy)
VI. การทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* และ *in vivo*
VII. ระบบการนำส่งยีนบำบัด (delivery systems)
VIII. ปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน (immune responses) และผลไม่พึงประสงค์ (adverse drug reactions) ของยีนบำบัด
IX. ความกังวลด้านจริยธรรม (ethical concerns)

I. นิยามของยีนบำบัด

US FDA (US FDA, 2018) ได้ให้คำนิยามของยีนบำบัดอย่างเรียบง่ายไว้ว่าหมายถึง “สารพันธุกรรมที่ใช้ปรับเปลี่ยนหรือจัดการกับการแสดงออกของยีน หรือเพื่อเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางชีวภาพของเซลล์เพื่อให้เกิดผลทางการรักษา”

นิยามของยีนบำบัดดังกล่าวนี้มุ่งเน้นถึงแนวคิดของวิธีการรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติของยีน โดยวิธีการให้ยีนใหม่ที่เป็นยีนปกติ (normal gene) เข้าสู่ร่างกาย เพื่อให้ยีนดังกล่าวทำงานสร้างโปรตีนออกมาแทนที่/ชดเชยยีนที่ขาดหายไป (deleted gene) หรือมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้น (mutated gene) เรียกว่าการรักษาแบบให้ยีนใหม่เข้าไปแทนที่ (replacement gene therapy) คำนิยามนี้จัดเป็นนิยามของ "ยีนบำบัด เวอร์ชัน 1.0" เนื่องจากสื่อถึงแนวคิดพื้นฐานของยีนบำบัดในยุคเริ่มต้นได้อย่างค่อนข้างตรงไปตรงมา ซึ่งเป็นแนวคิดที่ใช้งานได้จริงและในปัจจุบันก็ยังคงมีการนำมาใช้อยู่ อย่างไรก็ตาม ในทศวรรษที่ผ่านมาความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีก่อให้เกิดวิธีการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดยุคใหม่ ซึ่งไม่ใช่วิธีการแบบดั้งเดิมที่ใช้วิธีส่งมอบยีนปกติให้เข้าไปทำงานแทนที่ยีนผิดปกติ แต่เป็นนวัตกรรมใหม่ที่ใช้ระบบ gene-editing system ในการซ่อมแซมยีนผิดปกติให้กลับมาเป็นปกติได้อย่างแม่นยำ เรียกได้ว่าเป็นนิยามของ "ยีนบำบัด เวอร์ชัน 2.0" (Landhuis, 2021) นวัตกรรมนี้เกิดจากการค้นพบ CRISPR-Cas9 ซึ่งเป็นระบบภูมิคุ้มกันของแบคทีเรียที่ใช้ปกป้องตัวเองจากไวรัส โดยอาศัยกลไกตรวจจับดีเอ็นเอ

ตารางที่ 1 ข้อดีและข้อเสียของยีนบำบัด

ข้อดีของยีนบำบัด	ข้อเสียของยีนบำบัด
มีส่วนช่วยในการกำจัดโรค	ค่าใช้จ่ายสูง
มีส่วนช่วยในการป้องกันโรค	มีข้อกังวลด้านจริยธรรม
ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคในคน/สัตว์รุ่นหลัง	ปัญหาด้านความปลอดภัย
ช่วยยืดอายุขัย (life expectancy)	มีความเสี่ยงทำให้เกิดโรคเพิ่มขึ้น
ช่วยลดความจำเป็นในการใช้ยาอย่างต่อเนื่อง	อาจส่งผลปรับเปลี่ยนคุณสมบัติของร่างกาย
ช่วยทำหน้าที่ชดเชย/แทนที่เซลล์ที่ผิดปกติ	อาจส่งผลทำให้สารพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไป
มีศักยภาพในการรักษาโรคที่ปัจจุบันยังไม่ได้สำรวจ	อาจไม่ได้ผลในการรักษาโรคที่มีความซับซ้อน
ช่วยให้เกิดความรู้ความเข้าใจในกลไกการทำงานของยีน	กลยุทธ์การทำยีนบำบัดบางอย่างให้ผลแค่ชั่วคราว

ของไวรัสที่บุกรุกเข้ามาในเซลล์และใช้เอนไซม์ในการตัดย่อยจีโนมของไวรัสได้อย่างจำเพาะเจาะจง นักวิทยาศาสตร์ค้นพบและมองเห็นประโยชน์ของระบบ CRISPR-Cas9 จึงนำมาประยุกต์ใช้ในการตัดต่อและแก้ไขยีนของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เทคโนโลยีนี้ได้รับการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว จากงานวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการแบบ *in vitro* ที่ใช้เซลล์เพาะเลี้ยงในการทดลองไปสู่การทดลองทางคลินิกภายในเวลาเพียงเจ็ดปี (Wang, et al., 2022)

การรักษาด้วยวิธี CRISPR-based therapies มิได้เป็นเพียงการนำส่งยีนใหม่ให้แก่เซลล์ แต่เป็นนำส่ง “gene-editing system” ซึ่งเป็นระบบแก้ไขยีนเข้าสู่เซลล์ในรูปของสารประกอบ RNA-protein complex หรืออาศัยพาหะในการนำส่ง เช่น ไวรัส หรือ อนุภาคนาโน CRISPR-based therapies สามารถทำการแก้ไขยีนที่เกิดการกลายพันธุ์หรือเกิดความผิดปกติใด ๆ ขึ้นให้กลับมาเป็นปกติ และส่งผลทางการรักษาทำให้หายจากโรคได้ (Chen, et al., 2022) ดังนั้น คำนิยามในปัจจุบันของยีนบำบัดจึงมีความหมายที่กว้างขึ้นคือหมายถึง การ “ให้” สารพันธุกรรมหรือการ “แก้ไข” สารพันธุกรรมเพื่อปรับเปลี่ยนการแสดงออกของยีน โดยทำให้ยีนมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นหรือยับยั้งการแสดงออกของยีน หรือทำให้เซลล์มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไปเพื่อประโยชน์ทางการรักษาโรค

ในส่วนของสำนักงานยาแห่งยุโรป (The European Medicines Agency, EMA) ได้ระบุคำนิยามของเภสัชภัณฑ์ (pharmaceuticals) ประเภทยีนบำบัด (gene therapy medicinal product, GTMP) ไว้ว่าหมายถึงเภสัชภัณฑ์ชีวภาพที่มีสารออกฤทธิ์ซึ่งมีหรือประกอบด้วยรีคอมบิแนนท์นิวคลีอิกแอซิด (recombinant nucleic acids) ที่ใช้ในหรือที่ให้แก่มนุษย์ เพื่อควบคุม ซ่อมแซม แทนที่ เพิ่มหรือลดลำดับสารพันธุกรรม และส่งผลทางการรักษา การป้องกันโรค หรือการวินิจฉัยโรค ที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการเรียงลำดับของรีคอมบิแนนท์นิวคลีอิกแอซิดที่มีอยู่ หรือเกี่ยวข้องโดยตรงกับเภสัชภัณฑ์ของการแสดงออกทางพันธุกรรมของลำดับสารพันธุกรรมนี้ ในส่วนของวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อนั้น ไม่จัดว่าเป็น GTMP (Hanna, et al., 2017) ในทวีปยุโรป ยีนบำบัดจัดเป็นเภสัชภัณฑ์เพื่อการรักษาขั้นสูง (Advanced Therapy Medicinal Products, ATMPs) ATMP เป็นประเภทของเภสัชภัณฑ์เพื่อการรักษาที่เป็นนวัตกรรมใหม่ ซึ่งนอกเหนือจากยีนบำบัดแล้ว ยังรวมถึงเซลล์บำบัดและเภสัชภัณฑ์วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineered products) ในสหภาพยุโรป (EU) กรอบกฎหมายและข้อบังคับสำหรับ ATMPs

ก่อตั้งขึ้นโดยคณะกรรมาธิการสหภาพยุโรปในปีพ.ศ. 2550 (ค.ศ. 2007) (Regulation EC No. 1394/2007) และมีผลบังคับใช้ครั้งแรกในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 (ค.ศ. 2008) (Hanna, et al., 2017)

II. ประวัติความเป็นมาของยีนบำบัด

ในปีพ.ศ. 2506 Joshua Lederberg (Lederberg, 1963) ได้เขียนบทความชื่อ “Molecular Biology, Eugenics and Euphenics” ซึ่งมีส่วนหนึ่งของบทความกล่าวว่า “เราอาจทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สืบพันธุ์ในรูปแบบ *in vitro* และทำการจัดการกับสารพันธุกรรม เช่น การแลกเปลี่ยนโครโมโซมและส่วนต่าง ๆ ของโครโมโซม การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีทางอณูชีววิทยาขั้นสูงสุดคือ การควบคุมลำดับของนิวคลีโอไทด์ภายในโครโมโซมของมนุษย์ได้โดยตรง ควบคู่ไปกับการรับรู้ การเลือกและการแทรกยีนที่ต้องการ” บทความนี้ได้กระตุ้นทำให้นักคิดและนักวิทยาศาสตร์จำนวนมากมองไปข้างหน้าเกี่ยวกับสิ่งที่จะเกิดขึ้นในอนาคต โดยเฉพาะอย่างยิ่งการประยุกต์ใช้องค์ความรู้ทางพันธุกรรม ซึ่งนำมาสู่โลกในปัจจุบันซึ่งเป็นยุคของการนำยีนบำบัดมาใช้ประโยชน์ในทางคลินิก ประวัติความเป็นมาของยีนบำบัดนั้นสามารถแบ่งออกเป็นสี่ระยะ ได้แก่ (1) พ.ศ. 2452-2516 (ค.ศ.1909-1973) ระยะการทำวิจัยขั้นพื้นฐาน (basic research) (2) พ.ศ.2532-2546 (ค.ศ. 1989-2003) ระยะเริ่มต้นการทดลองทางคลินิก (clinical trials) (3) พ.ศ. 2546-2565 (ค.ศ. 2003–2022) ระยะเริ่มต้นการอนุมัติเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดในการรักษาโรค (4) พ.ศ. 2565-2568 (ค.ศ. 2022–2025) ระยะพัฒนายีนบำบัดสำหรับอนาคต (Arabi, et al., 2022)

1) พ.ศ. 2452-2516 (ค.ศ. 1909-1973): ระยะการทำวิจัยขั้นพื้นฐาน

ระยะการทำวิจัยขั้นพื้นฐานเริ่มต้นจากช่วงเวลาที่ความรู้เรื่อง "ยีน" ถือกำเนิดขึ้น ไปจนถึงช่วงเวลาที่มีการพัฒนายีนบำบัดเพื่อเป็นเครื่องมือในการรักษาโรค โดยมีเหตุการณ์สำคัญที่เกี่ยวข้องเกิดขึ้นตามลำดับดังต่อไปนี้: (1) องค์ความรู้เกี่ยวกับ "ยีน" ได้ถือกำเนิดขึ้น หลังจากที่ Wilhelm Johannsen ได้กำหนดคำว่า "ยีน (gene)" ขึ้นมา (Portin & Wilkins, 2017); (2) หลังจากนั้นประมาณครึ่งศตวรรษ Francis Crick และ James Watson ได้รายงานการค้นพบโครงสร้างของดีเอ็นเอแบบเกลียวคู่ (Watson & Crick, 1953); (3) คำว่า "พันธุวิศวกรรม (genetic engineering)" ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรก ในทศวรรษที่ 1930 (พ.ศ. 2473-2482) (Wolff & Lederberg, 1994); (4) ในปีพ.ศ. 2503 (ค.ศ. 1960) มีการค้นพบหลักการพื้นฐานของการถ่ายโอนยีน (gene transfer) ในแบคทีเรีย ซึ่งต่อมาได้รับการพัฒนาจนเกิดเป็นเทคนิคการทำ gene transfection ในยูคาริโอติกเซลล์ (Wolff & Lederberg, 1994) ซึ่งเป็นเทคนิคที่นำเอายีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนที่ต้องการ ใส่เข้าไปในยูคาริโอติกเซลล์ที่เหมาะสม เพื่อให้ยูคาริโอติกเซลล์ชนิดนั้นสร้างโปรตีนให้; (5) ในปีพ.ศ. 2513 (ค.ศ. 1970) มีการค้นพบและใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ในกลุ่มเรสตริกชัน เอนไซม์ (restriction enzymes) และไลเกชัน เอนไซม์ (ligation enzymes) ซึ่งเป็นรากฐานสำคัญของการตัดต่อยีนและการจัดการกับยีนในด้านต่าง ๆ ในเวลาต่อมา (Arber & Linn, 1969; Lehman, 1974) (6) มีการพัฒนาองค์ความรู้ด้านรีคอมไบแนนท์ดีเอ็นเอเทคโนโลยี ช่วยให้นักวิทยาศาสตร์สามารถนำยีนเพื่อการรักษาใส่ลงไปในเวกเตอร์ได้ (Friedmann, 1992; Mulligan, 1993) และ (7) การค้นพบความสามารถของไวรัสในการถ่ายโอนสารพันธุกรรม ทำให้ไวรัลเวกเตอร์ได้กลายเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสำหรับการถ่ายโอนยีน (Mulligan, 1993; Williams, et al., 1984) ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีเหล่านี้ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถสร้างเวกเตอร์ที่สามารถถ่ายโอนสารพันธุกรรมไปยังเซลล์เป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจง (Wolff & Lederberg, 1994)

(8) ในปีพ.ศ. 2515 (ค.ศ. 1972) แนวคิดของการรักษาโรคด้วยวิธีการยีนบำบัดถือกำเนิดขึ้นครั้งแรกเมื่อ 50 ปีที่แล้ว โดย Theodore Friedman และ Richard Roblin (Friedmann & Roblin, 1972) ได้เขียนบทความชื่อ “Gene therapy for human genetic disease?: proposals for genetic manipulation in humans raise difficult scientific and ethical problems” ที่แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของยีนบำบัดเพื่อการรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม โดยอาศัยหลักการพื้นฐานทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์ซึ่งเป็นเทคนิคใหม่ในขณะนั้น ต่อมา (I) มีการพัฒนาวิธีการโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคอย่างจำเพาะขึ้นมาและทำการถ่ายโอนหรือนำส่งสำเนาของยีนดังกล่าวที่เป็นยีนปกติให้แก่ผู้ป่วย เพื่อให้ทำหน้าที่แทนหรือชดเชยยีนที่บกพร่องซึ่งเป็นสาเหตุของโรค การค้นพบเกี่ยวกับเทคนิคในการโคลนยีนและการนำส่งยีนดังกล่าวทำให้เกิดความหวังที่จะใช้ยีนบำบัดในการรักษาโรคต่าง ๆ ให้หายได้ และนำไปสู่กระแสของการทำโครงการวิจัยและพัฒนาทางด้านยีนบำบัดอย่างกว้างขวางในทศวรรษต่อ ๆ มา

2) พ.ศ. 2532-2546 (ค.ศ. 1989–2003): ระยะเริ่มต้นการทดลองทางคลินิก

ระยะเริ่มต้นของการทดลองทางคลินิกนี้กินเวลานาน 15 ปี ซึ่งในช่วงเริ่มต้นมีทั้งโครงการที่ประสบความสำเร็จและโครงการที่ประสบความล้มเหลว ในเดือนธันวาคม ปีพ.ศ. 2532 (ค.ศ. 1989) จุดเปลี่ยนที่สำคัญอย่างยิ่งของวงการวิจัยยีนบำบัดได้เกิดขึ้น เมื่อ Steven A. Rosenberg และคณะ (Rosenberg, et al., 1990) แห่งสถาบันมะเร็งแห่งชาติ (National Cancer Institute) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้รับการอนุมัติอย่างเป็นทางการจากคณะกรรมการ Recombinant DNA Advisory Committee (RAC) ของ US FDA ให้ทำการทดลองทางคลินิก (clinical trials) ที่เกี่ยวข้องกับยีนบำบัดในมนุษย์ได้เป็นครั้งแรก อย่างไรก็ตาม การทดลองในครั้งนี้เป็นการทดลองระยะแรกที่ทดสอบวิธีการนำส่งยีนจากภายนอกเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ซึ่งยังไม่ให้ผลทางการรักษา แต่มุ่งเป้าไปที่การพิสูจน์เทคนิคการทำเครื่องหมายของยีน (gene marking techniques) เพื่อติดตามการเคลื่อนไหวของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่แทรกตัวเข้าไปในก้อนมะเร็ง (tumour- infiltrating lymphocytes หรือ TILs) ในร่างกายของผู้ป่วยโรคมะเร็งผิวหนังชนิดเมลาโนมา (melanoma) ระยะแพร่กระจาย ในการทดลองนี้คณะผู้วิจัยใช้รีโทรไวรัลเวกเตอร์ (retroviral vectors) เป็นพาหะในการนำส่งยีนต้านนีโอมัยซินเข้าไปในเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อยู่ในก้อนมะเร็ง จากนั้นคณะผู้วิจัยก็นำ TILs ที่ใส่ยีนเข้าไปให้แล้วเหล่านี้ กลับมาฉีดเข้าไปในร่างกายผู้ป่วยห้ารายที่เป็นโรคมะเร็ง โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อพิสูจน์ว่า TILs ที่ถูกดัดแปลงด้วยยีนบำบัดเหล่านี้ จะสามารถเดินทางกลับเข้าไปแทรกตัวเข้าไปในก้อนมะเร็งได้หรือไม่ หากทำได้ การทดลองขั้นต่อไปคือการพิสูจน์ว่า TILs ที่ถูกดัดแปลงด้วยยีนบำบัดและกลับเข้าไปในก้อนมะเร็งเหล่านี้ มีความสัมพันธ์ทางคลินิกกับประสิทธิภาพในการกำจัดเซลล์มะเร็งหรือไม่ ผลการทดลองทั้งสองระยะประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีเยี่ยม โดยพบว่า TILs สามารถเดินทางกลับเข้าไปแทรกตัวเข้าไปในก้อนมะเร็งได้ รวมทั้งสามารถส่งผลยับยั้งก้อนมะเร็งไม่ให้เจริญเติบโตได้ด้วย การทดลองนี้จัดเป็นหลักฐานที่แสดงให้เห็นถึงความปลอดภัยและความเป็นไปได้ของวิธีการใช้รีโทรไวรัลเวกเตอร์เพื่อนำส่งยีนในการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดในมนุษย์ ซึ่งทำให้เกิดความหวังว่าเทคนิคยีนบำบัดนี้จะช่วยในการรักษาโรคทางพันธุกรรมชนิดรุนแรงซึ่งไม่สามารถรักษาให้หายได้ด้วยวิธีการหรือยาตามมาตรฐานใด ๆ นอกจากนี้ยังเป็นงานที่สร้างรากฐานการจัดทำข้อกำหนดเบื้องต้นที่สำคัญหลายประการที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนยีน (gene transfer) ในทางคลินิก (Merrouche, et al., 1995)

ในเวลาใกล้เคียงกัน ในปีพ.ศ. 2533 (ค.ศ. 1990) R.M. Blaese และคณะจากมหาวิทยาลัยเพนซิลเวเนียได้

ทำการทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดซึ่งประสบความสำเร็จอย่างงดงามเช่นกัน (French, 1990; Blaese, et al., 1995) โดยทำการทดลองในเด็กหญิงอายุสี่ขวบชื่อ Ashanti Desilva ที่ป่วยด้วยโรคภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอย่างรุนแรงชนิด severe combined immunodeficiency (SCID) ชนิดที่เกิดจากความผิดปกติของยีนอะดีโนซีน ดีอะมีเนส (adenosine deaminase, ADA) ทำให้เกิดภาวะพร่องเอนไซม์ ADA ขึ้น ส่งผลทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งทีลิมโฟซัยท์ (T lymphocytes) บีลิมโฟซัยท์ (B lymphocytes) และแนเชอรัล คิลเลอร์ เซลล์ (natural killer cells) มีพัฒนาการที่ผิดปกติและไม่สามารถทำงานป้องกันร่างกายจากเชื้อจุลชีพได้ ทำให้เกิดภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอย่างร้ายแรง (T-B-NK-SCID) ทารกที่ป่วยด้วยโรคนี้ หากไม่ได้รับการรักษา ส่วนใหญ่เกือบทั้งหมดเสียชีวิตภายใน 1-2 ปีแรกเนื่องจากการติดเชื้อ (Secord & Hartog, 2022)

คณะผู้วิจัยได้ทดลองให้การรักษาผู้ป่วยโรคนี้โดยวิธีให้ยีนใหม่เพื่อสร้างเอนไซม์ขึ้นมาทดแทนยีนเดิมที่บกพร่อง (gene replacement therapy) โดยใช้แกมมา-รีโทรไวรัลเวคเตอร์ (gamma-retroviral vectors) ในการนำส่ง ADA gene ซึ่งเป็นยีนปกติให้แก่ที-ลิมโฟซัยท์ (Blaese, et al., 1995) ผลการรักษาประสบความสำเร็จอย่างยิ่ง โดยยีนบำบัดทำให้ระดับของที-ลิมโฟซัยท์ในเลือดกลับมาเป็นปกติ เช่นเดียวกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันทั้งในส่วน cell-mediate immunity และ humoral immunity การรักษาด้วยยีนบำบัดยุติลงหลังจากเวลาผ่านไป 2 ปี แต่พบว่าทั้ง integrated vectors และเอนไซม์ ADA ในที-ลิมโฟซัยท์ยังคงอยู่มีการแสดงออกอยู่ในร่างกาย และเด็กหญิง Ashanti Desilva ซึ่งเป็นผู้ป่วยด้วยโรคดังกล่าวก็ยังคงมีชีวิตอยู่รอดต่อไปได้ แม้ว่ายังคงจำเป็นต้องได้รับเอนไซม์เสริมในรูปของ recombinant ADA (PEG-ADA) อยู่ก็ตาม แต่ยีนบำบัดที่ให้ไปก็ส่งผลที่ดีในการช่วยสร้างเอนไซม์ ADA ในร่างกายในระดับหนึ่งซึ่งรวมกับเอนไซม์เสริมแล้วสามารถช่วยให้เธอใช้ชีวิตได้ตามปกติ (King & Bishop, 2017) โดย Ashanti Desilva ปรากฏตัวล่าสุดในปีพ.ศ. 2561 ในวิดีโอการให้สัมภาษณ์ในรายการในยูทูบ (Biotechnology Innovation Organization, 2018) แม้ว่าวิธียีนบำบัดจะยังคงไม่สมบูรณ์แบบ แต่ผลการทดลองทางคลินิกในมนุษย์ครั้งนี้เป็นหลักฐานสนับสนุนอย่างชัดเจนว่าการรักษาด้วยยีนบำบัดอาจเป็นการรักษาเสริมที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ สำหรับใช้รักษาผู้ป่วยบางรายที่เป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องอย่างรุนแรงเช่น ADA-SCID (Onodera, et al., 1999) นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยท์ อาจเหมาะสำหรับใช้ในการรักษาด้วยยีนบำบัดสำหรับโรคอื่น ๆ ด้วย เนื่องจากเป็นเซลล์ที่สามารถคงอยู่เป็นระยะเวลายาวนานในระบบไหลเวียนโลหิตและในเนื้อเยื่อ (Misaki, et al., 2001)

ในปีพ.ศ. 2533-2538 (ช่วงต้นและกลางของทศวรรษ 1990) โครงการวิจัยเกี่ยวกับยีนบำบัดมีจำนวนสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม ในปีพ.ศ. 2542 เป็นต้นมา (ปลายทศวรรษ 1990) ความหวังที่มีต่อยีนบำบัดได้สลายลงไปอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกัน หลังจากเกิดเหตุร้ายที่ทำให้ผู้ป่วยชื่อ Jesse Gelsinger ซึ่งเป็นเด็กหนุ่มอายุเพียง 18 ปีเสียชีวิตไปเป็นครั้งแรก ในปีพ.ศ. 2542 (ค.ศ. 1999) ผู้ป่วยรายนี้ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคทางระบบเมตาบอลิซึมที่หายากโรคหนึ่ง เขาได้อาสาสมัครเข้าร่วมโครงการทดลองทางคลินิกที่ให้ยีนปกติของเอนไซม์ออร์นิธีน ทรานส์คาร์บาไมเลส (ornithine transcarbamylase) เข้าสู่ร่างกายเพื่อการรักษา อย่างไรก็ตาม ภายหลังจากได้รับการรักษาด้วยยีนบำบัดได้เพียง 98 ชั่วโมง ผู้ป่วยเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว เนื่องจากร่างกายเกิดปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันอย่างรุนแรงขึ้นต่ออะดีโนไวรัลเวคเตอร์ที่ใช้ในการทำยีนบำบัดในครั้งนั้น ทำให้เกิดกลุ่มอาการการตอบสนองด้วยการอักเสบทั้งระบบ (systemic

inflammatory response syndrome) ขึ้น เกิดความผิดปกติในการแข็งตัวของเลือดอย่างรุนแรงและการทำงานของอวัยวะสำคัญทั่วร่างกายล้มเหลวตามมา (Howe, et al., 2008; Raper, et al., 2003)

ในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน ในปีพ.ศ. 2543 (ค.ศ. 2000) มีรายงานการทดลองทางคลินิกเพื่อรักษาผู้ป่วยโรค X-linked SCID ด้วยยีนบำบัดที่ประเทศฝรั่งเศส ซึ่งคณะผู้วิจัยให้ยีน IL2RG ซึ่งเป็นตัวรับของไซโตคายน์ (cytokine receptors) ชนิด IL-2 เพื่อให้ยีนดังกล่าวเข้าไปทำหน้าที่แทนยีนในร่างกายผู้ป่วยเองที่ผิดปกติเนื่องจากเกิดการกลายพันธุ์ แม้ว่าผลการทดลองทางคลินิกนี้ประสบความสำเร็จ (Cavazzana-Calvo, et al., 2000) แต่ในเวลาต่อมา พบว่าผู้ป่วยซึ่งเป็นเด็ก 5 ใน 20 คนที่ได้รับการรักษาได้เกิดโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวขึ้น ซึ่งเกิดจาก transgene ไปส่งผลกระตุ้นอองโคยีน (oncogenes) (Hacein-Bey-Abina, et al., 2008) และในปีพ.ศ. 2545 (ค.ศ. 2002) ที่กรุงลอนดอน มีการรายงานผลทดลองยีนบำบัดที่คล้ายคลึงกันในผู้ป่วยโรค SCID-X1 ซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งของโรค SCID ที่พบบ่อยที่สุด โดยคณะผู้วิจัยพบปัญหาจากโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยหลังจากรับการรักษาด้วยยีนบำบัดเรียบร้อยแล้ว ซึ่งเกิดจากการแทรกตัวของรีโทรไวรัลเวคเตอร์ที่ส่งผลก่อมะเร็งขึ้นเช่นกัน (Howe, et al., 2008; Hacein-Bey-Abina, et al., 2003)

หลังจากเกิดจากเหตุการณ์ร้ายแรงดังกล่าวนี้ องค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (US FDA) ได้สั่งระงับการทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับยีนบำบัดเป็นเวลานานนับสิบปี (Prado, et al., 2020) ความวิตกกังวลต่ออันตรายที่อาจเกิดขึ้นจนทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ส่งผลกระทบจนทำให้เกิดภาวะซบเซาในแวดวงการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับยีนบำบัด แต่นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกยังคงพยายามศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมด้วยความมุ่งมั่น ทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจใหม่ ๆ เกี่ยวกับวิธีการป้องกันและแก้ไขผลไม่พึงประสงค์ที่เป็นอันตรายจากยีนบำบัด และทำให้ความเชื่อมั่นในศักยภาพและความปลอดภัยของยีนบำบัดกลับมาอีกครั้ง (Ledford, 2022)

3) พ.ศ. 2546-2565 (ค.ศ. 2003–2022): ระยะเริ่มต้นการอนุมัติเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดในการรักษาโรค

หลังจากผ่านเหตุการณ์ร้ายแรงที่ทำให้การพัฒนายีนบำบัดหยุดชะงักไปเป็นเวลานาน และมีการกำหนดระเบียบข้อบังคับใหม่ที่เข้มงวดมากขึ้นในการขออนุมัติดำเนินการทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับยีนบำบัด โดยทั่วไปแต่ละประเทศมักตรวจสอบโดยคณะกรรมการที่ดูแลเฉพาะด้าน เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา ตรวจสอบโดย Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) ของ US FDA ซึ่งทำหน้าที่กำกับดูแลเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัด เซลล์บำบัด และอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับเซลล์และยีนบำบัด อย่างไรก็ตามโครงการวิจัยและการพัฒนายีนบำบัดในรูปแบบต่าง ๆ สามารถผ่านกระบวนการตรวจสอบอย่างเข้มข้น จนกระทั่งกลับมาได้รับการยอมรับอีกครั้ง ตัวอย่างเช่น ในปีพ.ศ. 2552 มีการทดลองทางคลินิกที่ทดสอบประสิทธิภาพของยีนบำบัดในผู้ป่วยที่เป็นโรคเลเบอร์ คอนเจนิทัล อะเมาโรสิส (Leber's congenital amaurosis, LCA) ชนิดรุนแรง คณะผู้วิจัยใช้อะดีโน-แอสโซซิเอทด์ เวคเตอร์ (adeno-associated vectors, AAV) ชนิด AAV2 ในการนำส่ง RPE65 gene โดยทำการฉีด AAV2-RPE65 เข้าจอประสาทตา พบว่าภายหลังจากทำยีนบำบัด ผู้ป่วยหลายรายมีอาการดีขึ้นโดยกลับมามีการมองเห็นที่ใกล้เคียงปกติได้ (Cideciyan, et al., 2009; Boye, et al., 2013) อาจกล่าวได้ว่ายีนบำบัดได้รับการพิสูจน์ให้เห็นถึงศักยภาพในการใช้รักษาโรคได้อีกครั้งอย่างน่าประทับใจ

ช่วงเวลาตั้งแต่พ.ศ. 2546 จนถึงปัจจุบัน เป็นช่วงเวลาที่เภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดหลายชนิดได้รับการอนุมัติให้ขึ้นทะเบียนสำหรับใช้ในการรักษาโรคได้ ตัวอย่างเช่น

(1) Recombinant adenovirus human p53 (rAd-p53) ซึ่งมีชื่อการค้าว่า เจนดิซีน® (Gendicine®) เป็น

เภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดชนิดแรก ได้รับการอนุมัติจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแห่งรัฐของประเทศจีน (China Food and Drug Administration, CFDA) ให้ขึ้นทะเบียนสำหรับใช้รักษาโรคมะเร็งศีรษะและลำคอ (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) ในปีพ.ศ. 2546 หลังจากที่โครงการทดลองทางคลินิกจำนวนมากถึง 686 โครงการที่ไม่ผ่านกระบวนการตรวจสอบในประเทศจีน (Li, et al., 2021; Zhang, et al., 2018)

(2) Recombinant human adenovirus type 5 ซึ่งมีชื่อการค้าว่า อองโครีน® (Oncorine®) ได้รับการอนุมัติจาก CFDA สองปีหลังจากเจนดิซีน® ได้รับการอนุมัติ โดยอองโครีน® เป็นไวรัสชนิดออองโคไลติก (oncolytic virus) ขนิดแรกสำหรับใช้รักษาโรคมะเร็งโพรงจมูก (nasopharyngeal carcinoma) (Liang , 2018) และสิบปีต่อมา ยีนบำบัดกลับมาได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางจนกระทั่งการทดลองทางคลินิกมีจำนวนเพิ่มขึ้นเกือบสองเท่า

(3) อะลิโปจีน ทิปาร์โวเวค (alipogene tiparvovec) มีชื่อการค้าว่า กลัยเบอรา® (Glybera®) ได้รับการอนุมัติจาก European Medicines Agency (EMA) ในปีพ.ศ.2555 (ค.ศ.2012) ให้ขึ้นทะเบียนเป็นเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดของยุโรปตัวแรก สำหรับใช้รักษาภาวะพร่องไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase deficiency) (Gruber, 2012);

(4) สทริมเวลิส® (Strimvelis®) ประกอบด้วยเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดชนิด $CD34^+$ cells ที่มี ADA gene ซึ่งได้จากรีโทรไวรัลเวกเตอร์เป็นพาหะนำส่งดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ สำหรับใช้รักษาโรค SCID-ADA deficiency สทริมเวลิส® จัดเป็นยีนบำบัดในรูปแบบ *ex-vivo* ชนิดแรก ได้รับการอนุมัติจาก EMA ในปีพ.ศ. 2559 (ค.ศ. 2016) (EMA, 2016; Zhao, et al., 2022)

(5) เภสัชภัณฑ์ในกลุ่มไคเมอริก แอนติเจนรีเซพเตอร์ (chimeric antigen receptor, CAR) products) สองชนิดคือ ทิสะเจนเลคลิวเซล (tisagenlecleucel) มีชื่อการค้าว่า คิมไรอาห์® (Kymriah®) และแอซิแค็บทาจีน ซิโลลิวเซล (axicabtagene ciloleucel) มีชื่อการค้าว่า เยสคาร์ทา® (Yescarta®) ได้รับการอนุมัติจาก US FDA ในปีพ.ศ. 2560 (ค.ศ.2017) สำหรับใช้รักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) และโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) (Seimetz, et al., 2019) ซึ่งนับเป็นก้าวสำคัญที่ปูทางไปสู่เภสัชภัณฑ์ที่อาศัยเทคโนโลยีขั้นสูงแห่งอนาคต

(6) โวเรติยีน เนปาร์โวเวค-อาร์ซีวายแอล (voretigene neparvovec-rzyl) มีชื่อการค้าว่า ลักซ์เทอร์นา® (Luxturna®) ได้รับการรับรองจาก US FDA ในปีพ.ศ. 2560 (ค.ศ.2017) สำหรับรักษาโรคจอประสาทตาเสื่อมซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของ RPE65 gene ส่งผลทำให้เกิดการสูญเสียการมองเห็นอย่างรุนแรง เรียกว่าโรคเลเบอร์ คอนเจนิทัล อะเมาโรสิส (Leber's congenital amaurosis, LCA) บางตำราเรียกว่าโรคเรติไนติส พิกเมนโตซา (retinitis pigmentosa) ชนิดรุนแรง (Padhy, et al., 2020) ลักซ์เทอร์นา® เป็นเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดชนิดแรกที่ใช้ไวรัลเวคเตอร์ชนิด adeno-associated viral vector serotype 2 (AAV2) ในการนำส่ง RPE65 gene ไปให้เซลล์เยื่อบุผิวของจอประสาทตาชนิด retinal pigment epithelial (RPE) cells เพื่อให้ทำงานชดเชย RPE65 gene ที่เกิดการกลายพันธุ์ หลังจากรักษาด้วยลักซ์เทอร์นา® ผู้ป่วยหลายรายสามารถกลับมามีการมองเห็นที่ใกล้เคียงปกติได้

(7) โอนาเซ็มโนจีน อะเบพาร์โวเวค (onasemnogene abeparvovec) มีชื่อการค้าว่า โซลเจนซมา® (Zolgensma®) ได้รับการอนุมัติจาก US FDA ในปีพ.ศ. 2562 (ค.ศ.2019) สำหรับใช้ในการรักษาโรคกล้ามเนื้อกระดูกสันหลังฝ่อ (spinal muscular atrophy) ในเด็ก (Mahajan, 2019)

(8) ทาลิโมจีน ลาเฮอร์ปาเรปเวค (talimogene laherparepvec) มีชื่อการค้าว่า อิมลิจิก® (Imlygic®)

เป็นไวรัสชนิด oncolytic herpes virus ที่ใช้สำหรับรักษาโรคมะเร็งผิวหนังเมลาโนมา

ในปัจจุบัน มีเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดสำหรับรักษาโรคต่าง ๆ หลากหลายชนิด ได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยาในหลายประเทศ เช่น US FDA, EMA และ CFDA (Shahryari, et al., 2019; Ma, et al., 2020; Arabi, et al., 2022) จำนวนเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดที่ได้รับอนุมัติให้นำมาใช้ทางการรักษาได้เพิ่มสูงขึ้นทุกปี ซึ่งนับว่าเป็นหลักฐานที่แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ายีนบำบัดได้รับความเชื่อมั่นในด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการรักษาโรคมากขึ้น และด้วยความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีด้านพันธุกรรมใหม่ ๆ เช่น เทคโนโลยี clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) และ zinc fingers ส่งผลทำให้เภสัชภัณฑ์ประเภทสารพันธุกรรม เช่น ยีนบำบัด มีอัตราการผลิตเร่งเร็วตัวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เทคโนโลยี CRISPR เป็นเทคโนโลยีที่เพิ่งถูกนำมาใช้ในรูปแบบ *ex vivo* เพื่อรักษาโรคเม็ดเลือดแดงรูปเคียว (sickle cell disease) และโรคเบตาธาลัสซีเมีย (beta-thalassemia) (Frangoul, et al., 2021) และมีการนำมาใช้ในรูปแบบ *in vivo* เพื่อรักษาโรคทรานส์เฟอริน อะมัยลอยโดสิส (transthyretin amyloidosis, ATTR) (Gillmore, et al., 2021)

4) ระยะพัฒนายีนบำบัดสำหรับอนาคต (ค.ศ. 2022–2025)

ยีนบำบัดจัดเป็นนวัตกรรมที่ปฏิวัติวงการวิทยาศาสตร์สุขภาพและเภสัชกรรม จากการรักษาด้วยยาที่เป็นสารเคมีมาสู่การรักษาด้วยสารพันธุกรรม ในปัจจุบัน หน่วยงานและองค์กรทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ทั่วโลกต่างให้ความสนใจในการวิจัยและพัฒนายีนบำบัดเพื่อการรักษาโรคต่าง ๆ อย่างหลากหลาย และมีแนวโน้มว่ากระแสความเชื่อมั่นในการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดจะมีมากขึ้นกว่าเดิมในอนาคต จากจำนวนการทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับยีนบำบัดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทั่วโลก คาดว่าจะมียีนบำบัดชนิดใหม่ที่ได้รับการอนุมัติเพิ่มขึ้นอีกหลายรายการในอนาคตอันใกล้ ขณะนี้มีเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดจำนวนมากกำลังรอการอนุมัติจากหน่วยงานกำกับดูแลของประเทศต่าง ๆ ซึ่งผลการอนุมัติจะทำให้ยีนบำบัดเพื่อการรักษาโรคมีจำนวนรวมสูงขึ้นและสามารถใช้ในการรักษาโรคได้อย่างหลากหลายมากขึ้น ส่งผลสนับสนุนพัฒนาการของยีนบำบัดในทิศทางที่ดี (Arabi, et al., 2022) โดยในช่วงกลางปีพ.ศ. 2565 มีโครงการวิจัยและพัฒนายีนบำบัดมากกว่า 2,000 โครงการกำลังดำเนินการอยู่ทั่วโลก โดยมีตั้งแต่โครงการวิจัยพรีคลินิกในระยะเริ่มต้น ไปจนถึงโครงการทดลองทางคลินิกในระยะท้าย ซึ่งจำนวนโครงการดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้นเป็นสองเท่าเมื่อเทียบกับเมื่อสามปีก่อน การทุ่มเทสรรพกำลังของหน่วยงานทางวิทยาศาสตร์ในโครงการเหล่านี้กำลังแปลเป็นผลประโยชน์ทางเศรษฐกิจ โดยมูลค่าทางการตลาดของยีนบำบัดทั่วโลกคาดว่าจะเพิ่มขึ้นจาก 202,447 ล้านบาท (5.33 พันล้านดอลลาร์) ในปีพ.ศ. 2565 เป็น 758,223 ล้านบาท (19.88 พันล้านดอลลาร์) ภายในปีพ.ศ. 2570 (คำนวณจากอัตราแลกเปลี่ยนที่ 1 ดอลลาร์สหรัฐอเมริกาเท่ากับ 38.14 บาท) (Doxzen, 2022)

III. ข้อบ่งใช้ทางการรักษาของยีนบำบัด

การรักษาโรคด้วยยีนบำบัดเป็นความหวังใหม่ที่จะช่วยเปลี่ยนแปลงชีวิตของผู้ป่วยและสัตว์ป่วยให้กลับมาเป็นปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคบางโรค เช่น โรคทางพันธุกรรม ซึ่งจัดเป็นโรคที่ไม่มียารักษาให้หายขาดได้ ทำได้เพียงให้ยาเพื่อบรรเทาอาการและชะลอความรุนแรงของโรคเท่านั้น เรียกว่าต้องใช้ยาไปตลอดชีวิต แต่วิธีการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดแตกต่างจากวิธีการรักษาด้วยยาในกรณีดังกล่าว ตรงที่ยีนบำบัดสามารถแก้ไขได้ที่ต้นตอของปัญหาซึ่งทำให้เกิดโรคและส่งผลทางการรักษาใน

ตารางที่ 2 ชื่อโรคและจำนวนโครงการทดลองทางคลินิก (#) ที่ทดสอบยีนบำบัดในมนุษย์ ที่มีจำนวนมากที่สุด 20 อันดับแรกในแต่ละกลุ่มโรค ได้แก่ (A) โรคมะเร็ง, (B) โรคทางพันธุกรรม, (C) โรคติดเชื้อ (Arabi, et al., 2022)

ลำดับ	(A) โรคมะเร็ง	#	(B) โรคทางพันธุกรรม	#	(C) โรคติดเชื้อ	#
1	Leukemia	268	Spinal muscular atrophy	23	HIV	62
2	Lymphoma	232	Duchenne Muscular Dystrophy	18	COVID19	29
3	Melanoma	84	Hemophilia B	17	Malaria	20
4	Multiple Myeloma	84	ADA-SCID	16	Ebola	19
5	Lung cancer	65	Beta Thalassemia	16	HCV	13
6	Pancreatic Cancer	58	Leber congenital amaurosis	15	HPV	12
7	Ovarian cancer	56	Hemophilia A	14	HBV	10
8	Breast cancer	55	Retinitis Pigmentosa	10	Influenza	9
9	Glioblastoma	53	Choroideremia	9	*M. Tuberculosis*	9
10	Hepatocellular carcinoma	51	Sickle cell anemia	9	Respiratory Diseases	7
11	Colorectal cancer	42	Primary Hyperoxaluria	9	RSV	7
12	Sarcoma	39	Epidermolysis bullosa	9	CMV	5
13	Prostate cancer	36	Transthyretin Amyloidosis	8	Anthrax	3
14	Glioma	35	Achromatopsia	6	HSV	3
15	Bladder cancer	28	Granulomatous disease	6	Zika virus	3
16	Gastric cancer	26	Parkinson	6	Hantaan virus	2
17	Head and Neck cancer	24	Mucopolysaccharidosis type 3	6	Hantaan virus	2
18	Mesothelioma	22	Adrenoleukodystrophy	6	Leishmania	2
19	Renal cell carcinoma	21	Type 1 diabetes mellitus	5	Mers virus	2
20	Non-small cell lung carcinoma	20	Fabry disease	5	Neisseria	2

ระยะยาวหรือทำให้หายขาดจากโรคได้ ความรู้ความเข้าใจด้านพยาธิกำเนิดและกลไกการเกิดโรคที่มีเพิ่มขึ้น ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถระบุเป้าหมายทางการรักษาใหม่ ๆ ได้มากขึ้นเรื่อย ๆ นำไปสู่การทดลองทางคลินิกเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดในโรคต่าง ๆ หลากหลายโรค

ข้อบ่งใช้ทางการรักษาของยีนบำบัดหมายถึงโรคที่ยีนบำบัดแต่ละชนิดได้รับการอนุมัติให้ใช้ในการรักษาได้ ซึ่งในแต่ละปีมีจำนวนมากขึ้นเรื่อย ๆ โดยในระยะแรกงานวิจัยและพัฒนายีนบำบัดส่วนใหญ่มีเป้าหมายเพื่อการรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม เช่น โรคเม็ดเลือดแดงรูปเคียว (sickle cell disease) และโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง เนื่องจากผลการทดลองทางคลินิกในผู้ป่วยด้วยโรคเหล่านี้พบว่าได้ผลทางการรักษาที่ดี แม้จะประสบอุปสรรคอยู่บ้าง อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันโรคที่เป็นเป้าหมายของการรักษาด้วยยีนบำบัดได้ขยายขอบเขตออกไปอย่างกว้างขวางมากขึ้น มีโครงการทดลองทางคลินิกที่กำลังศึกษาประสิทธิภาพของยีนบำบัดในการรักษาโรคต่าง ๆ จำนวนมากมายที่ก้าวหน้าไปถึงระยะท้าย เช่น phase 2 หรือ phase 3 ได้แล้ว เช่น โรคติดเชื้อชนิดต่าง ๆ โรคมาลาเรีย โรคเอดส์ โรคติดเชื้อ HPV (human papillomavirus) โรคหลอดเลือดส่วนปลาย โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary artery disease) โรคข้อเข่าเสื่อม โรคจอประสาทตาเสื่อม โรคของระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคหัวใจล้มเหลว โรค

จมูกอักเสบ โรคภูมิแพ้ โรคทางระบบประสาท โรคอัลไซเมอร์ และโรคทางระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น

สำหรับโรคที่มีจำนวนโครงการทดลองทางคลินิกเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของการรักษาด้วยยีนบำบัดมากที่สุด 5 อันดับแรกในกลุ่มโรคมะเร็ง ได้แก่ โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (268) โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (232), โรคมะเร็งชนิดเมลาโนมา (84) โรคมะเร็งมัลติเพิล มัยอีโลมา (multiple myeloma) (84), โรคมะเร็งปอด (65) ในส่วนของกลุ่มโรคทางพันธุกรรมที่มีจำนวนโครงการมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ โรคกล้ามเนื้อกระดูกสันหลังเสื่อม (spinal muscular dystrophia) (84), โรคกล้ามเนื้อเสื่อมชนิด Duchenne muscular dystrophy (18), โรคฮีโมฟีเลียบี (17), โรค ADA-SCID (16) โรค Beta Thalassemia (16) และสำหรับในกลุ่มโรคติดเชื้อ 5 อันดับแรก ได้แก่ โรคเอชไอวี (62), โรคโควิด (29), โรคมาลาเรีย (20) และโรคอีโบลา (19) โรค HCV (13) (Arabi, et al., 2022)

IV. ประเภทของยีนบำบัด (types of gene therapy)

การแบ่งประเภทของยีนบำบัดสามารถแบ่งตามชนิดของเซลล์เป้าหมายได้เป็น 2 ประเภทคือยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่โซมาติกเซลล์ (somatic gene therapy) และยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่เซลล์สืบพันธุ์ (germline gene therapy) (Nóbrega, et al., 2020) ดังในตารางที่ 3 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่างคุณสมบัติของยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่โซมาติกเซลล์เทียบกับยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่เซลล์สืบพันธุ์

V. กลยุทธ์ของการรักษาด้วยยีนบำบัด

แนวคิดของการรักษาโรคโดยมุ่งเป้าที่ยีนภายในเซลล์เกิดขึ้นเมื่อประมาณ 50 ปีที่แล้ว แม้จะพบอุปสรรรคที่ทำให้เกิดความชะงักงันบ้างในบางช่วงเวลาที่ผ่านมา แต่การวิจัยและพัฒนายีนบำบัดได้รับการปรับปรุงให้มีความก้าวหน้าไปอย่างมาก ในช่วงห้าปีที่ผ่านมาองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้อนุมัติเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดมากกว่า 6 ชนิด สำหรับใช้รักษาโรคมะเร็งและโรคทางพันธุกรรม การรักษาด้วยยีนบำบัดอาศัยกลยุทธ์ต่าง ๆ หลากหลายกลยุทธ์ เช่น ส่งยีนที่ปกติดีไปให้เซลล์ที่มีปัญหาเนื่องจากยีนผิดปกติ หรือโมเลกุลที่มีฤทธิ์ปรับเปลี่ยนคุณสมบัติหรือการทำหน้าที่ของยีน ทำให้การทำงานของยีนที่มีอยู่แล้วมีประสิทธิภาพดีขึ้น หรือใช้กลยุทธ์การแก้ไขที่ความผิดปกติในจีโนมโดยตรง ซึ่งกลยุทธ์ใหม่ล่าสุดที่ประสบความสำเร็จอย่างดีในการทดลองทางคลินิกระยะแรก คาดว่าเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดชนิดที่ใช้กลยุทธ์ใหม่ดังกล่าวนี้ น่าจะได้รับการอนุมัติเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในอนาคตอันใกล้นี้ อย่างไรก็ตาม กลยุทธ์เหล่านี้แต่ละกลยุทธ์ต่างมีทั้งข้อดีและข้อเสีย รวมถึงมีความแตกต่างกันในด้านระยะเวลาการรักษาและผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้ สำหรับกลยุทธ์ของการรักษาด้วยยีนบำบัดที่ใช้อยู่ในปัจจุบันได้แก่ (1) gene replacement therapy (2) gene silencing therapy (3) gene editing therapy (4) suicide gene therapy.

ตารางที่ 3 ความแตกต่างระหว่างยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่โซมาติกเซลล์กับยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่เซลล์สืบพันธุ์

ยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่โซมาติกเซลล์	ยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่เซลล์สืบพันธุ์
เซลล์ส่วนใหญ่ของร่างกายเป็นโซมาติกเซลล์	ในร่างกายมีเซลล์สืบพันธุ์จำนวนน้อยกว่ามาก
การเปลี่ยนแปลงส่งผลจำกัดเฉพาะสัตว์ป่วย/ผู้ป่วย	การเปลี่ยนแปลงสามารถถ่ายทอดไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นต่อไป
ไม่ส่งต่อไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นต่อไป	ผลต่อสิ่งมีชีวิตรุ่นต่อไปยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน
สร้างความกังวลทางชีวจริยธรรมน้อย	สร้างความกังวลทางชีวจริยธรรมมาก

1) Gene replacement therapy

กลยุทธ์ของการประยุกต์ใช้ยีนบำบัดซึ่งตรงไปตรงมามากที่สุด คือกลยุทธ์ gene replacement therapy ซึ่งมีเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า gene augmentation therapy ซึ่งเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับใช้เพื่อรักษาโรคซึ่งเกิดจากยีนขาดหายไป (missing) หรือมียีน แต่เป็นยีนที่กลายพันธุ์ (mutated) หรือมียีน แต่ยีนไม่ทำงาน (malfunctioning) ด้วยสาเหตุต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมประเภท recessive inheritance ซึ่งหมายความว่ายีนทั้งสองยีนจะต้องผิดปกติจึงจะก่อให้เกิดโรค การมียีนที่บกพร่องเพียงยีนเดียวในคู่ เรียกว่าพาหะซึ่งจะไม่ป่วยเป็นโรค ดังนั้นการทำยีนบำบัด โดยการถ่ายโอนยีนที่ปกติดีเข้าสู่ร่างกายเพียงหนึ่งยีน จะสามารถเปลี่ยนฟีโนไทป์ให้กลับมาเป็นปกติ (ไม่เป็นโรค) ได้ เนื่องจากยีนดังกล่าวจะสร้างโปรตีนออกมาทำงานแทนที่ยีนที่ขาดหายไป หรือชดเชยยีนผิดปกติที่ไม่สามารถทำหน้าที่ได้และก่อให้เกิดโรค (Sayed, et al., 2022)

ในการรักษาโรคซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนที่นำไปสู่การทำงานผิดปกติของโปรตีนหรือทำให้เกิดภาวะพร่องของโปรตีนเกิดขึ้น ซึ่งในทางทฤษฎีแล้ว การทำยีนบำบัดด้วยการเพิ่มยีนให้มีการแสดงออกมาเป็นโปรตีนที่ทำงานได้ปกติ น่าจะประสบความสำเร็จในการรักษาโรคเหล่านี้ได้ไม่ยาก อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติการที่จะประสบความสำเร็จในการรักษาโรคเหล่านี้ มีเงื่อนไขอย่างน้อยสองปัจจัยคือ (i) การทำยีนบำบัดในรูปแบบนี้ ยีนที่ให้เข้าไปใหม่จะต้องมีการแสดงออกของยีนแบบ over-expression เพื่อเพิ่มระดับของโปรตีนให้มีปริมาณมากเพียงพอ ที่จะส่งผลในทางสรีรวิทยาเพื่อช่วยแก้ไขความผิดปกติในร่างกายได้ และ (ii) ผลกระทบที่เกิดจากโรคยังคงอยู่ในสถานะที่สามารถย้อนกลับมาเป็นปกติได้ (reversible) (Nóbrega, et al., 2020)

กลยุทธ์ในการทำยีนบำบัดดังกล่าวนี้ ถูกนำมาใช้ในการทดลองทางคลินิกในมนุษย์เป็นครั้งแรกของโลก ซึ่งเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของยีนบำบัดในการรักษาโรคระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องชนิด ADA-SCID และประสบความสำเร็จ รวมทั้งเป็นกลยุทธ์ที่น่าจะมีประสิทธิภาพดีสำหรับรักษาโรค SCID ชนิดอื่น ๆ, โรคซิสติกไฟโบรซิส (cystic fibrosis, CF) และโรคอื่น ๆ อีกมากมาย (Battu, et al., 2022) อย่างไรก็ตาม กลยุทธ์นี้ใช้ได้ผลดีกับโรคซึ่งเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนเพียงยีนเดียว แต่จะไม่ได้ผลในกรณีที่เป็นโรคที่เกิดจากปัจจัยทางพันธุกรรมหลายปัจจัย หรือเกิดจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมหลายปัจจัย (Choi & Engelhardt, 2021)

2) Gene silencing therapy (หรือ gene inhibition therapy)

ในการรักษาโรคบางชนิด การฟื้นฟูการทำงานของโปรตีนปกติจะไม่เพียงพอที่จะเปลี่ยนฟีโนไทป์ของโรค และยีนที่กลายพันธุ์จำเป็นต้องถูกยับยั้งไม่ให้มีการแสดงออกของยีนด้วย กลยุทธ์นี้มีชื่อเรียกว่า gene silencing therapy หรือ gene inhibition therapy ซึ่งเหมาะสมสำหรับใช้รักษาโรคที่มีสาเหตุจากปัจจัยทางพันธุกรรมบางชนิด โรคมะเร็งบางชนิด หรือโรคติดเชื้อบางชนิด ในกรณีของโรคที่มีสาเหตุจากปัจจัยทางพันธุกรรม การใช้กลยุทธ์นี้ในทางทฤษฎีคือการนำส่งยีนที่สามารถส่งผลยับยั้งการแสดงออกของยีนที่กลายพันธุ์ หรือสามารถส่งผลรบกวนการทำงานของโปรตีนที่เกิดจากยีนที่กลายพันธุ์ (Alshaer, et al., 2021)

การค้นพบเทคโนโลยี RNA interference (RNAi) ในปีพ.ศ. 2541 (ค.ศ. 1998) โดย Andrew Fire และ Craig Mello (Fire, et al., 1998) เป็นการค้นพบที่ก่อให้เกิดกลยุทธ์ gene silencing therapy ในเวลาต่อมา RNAi pathway เป็นกลไกการทำงานของเซลล์ซึ่งได้รับการอนุรักษ์มาอย่างยาวนาน เพื่อควบคุมการแสดงออกของยีนโดยอาศัยโมเลกุลประเภท small RNA ร่วมกับ mRNA การทำยีนบำบัดด้วยเทคโนโลยี RNAi ใช้กลไกการทำงานภายในเซลล์ดังกล่าวนี้ ในการยับยั้งการ

แสดงออกของยีนที่ผิดปกติ/บกพร่องในระดับ mRNA (post-transcriptional gene silencing) กลยุทธ์ gene silencing strategy สำหรับโรคต่าง ๆ หลากหลายชนิด ได้ผ่านกระบวนการทดสอบในขั้นตอนพรีคลินิกแล้ว และกำลังได้รับการทดสอบในการทดลองทางคลินิก (Chakraborty, et al., 2017) ตัวอย่างของยีนบำบัดที่อาศัยกลยุทธ์ gene silencing therapy ได้แก่ โมเลกุลประเภทแอนติเซนส์ โอลิโกนิวคลีโอไทด์ (antisense oligonucleotides, ASO), ไมโคร ไรโบนิวคลีอิก แอซิด (micro ribonucleic acid, miRNA), สะมอล อินเตอร์เฟียริงก์ ไรโบนิวคลีอิก แอซิด (small interfering ribonucleic acid, siRNA) และช็อท แฮร์-พิน ไรโบนิวคลีอิก แอซิด (short hair-pin ribonucleic acid, shRNA) ซึ่งหลังจากที่ให้เข้าสู่ภายในเซลล์แล้ว จะทำหน้าที่ยับยั้งการแปลรหัสจาก mRNA ในไซโตซอล ลดการสร้างโปรตีนและลดการหมุนเวียนของโปรตีน (protein turnover) (Deng, et al., 2014; Nashimoto, 2022) กลยุทธ์การทำยีนบำบัดโดยส่งโอลิโกนิวคลีโอไทด์ที่มีอิทธิพลต่อการสร้างโปรตีนไปยังเนื้อเยื่อที่ได้รับผลกระทบดังกล่าวนี้ แตกต่างจากกลยุทธ์การทำยีนบำบัดในรูปแบบ gene replacement therapy หรือ gene editing therapy ประการหนึ่งคือกลยุทธ์การรักษาด้วยวิธีการนี้ส่งผลไม่ถาวร จำเป็นต้องให้ทางการฉีดเข้าสู่ร่างกายเป็นประจำ เพื่อประโยชน์ทางการรักษาอย่างต่อเนื่อง

ตัวอย่างหนึ่งของการรักษาด้วยยีนบำบัดในรูปแบบแอนติเซนส์ โอลิโกนิวคลีโอไทด์คือ Spinraza® (nusinersen, Ionis Pharmaceuticals/Biogen) ซึ่งได้รับการอนุมัติจาก US FDA ให้ใช้สำหรับรักษา SMA ในปีพ.ศ. 2559 (ค.ศ. 2016) Spinraza®เป็นเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดในรูปแบบแอนติเซนส์ โอลิโกนิวคลีโอไทด์ และจัดเป็นการรักษาด้วยกลยุทธ์ที่เรียกว่า *in vivo* gene modulators โดย Spinraza® มีกลไกการออกฤทธิ์แบบมุ่งเป้าที่ messenger RNA ของ SMN2 ทำให้มีการสร้างโปรตีน SMN ที่ใช้งานได้ออกมาเพิ่มมากขึ้น SMN เป็นโปรตีนที่มีบทบาทหน้าที่สำคัญสำหรับการทำงานของเซลล์ประสาทสั่งการ (motor neuron) (Reilly, et al., 2022) ในการทดลองใช้ Spinraza® รักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคกล้ามเนื้อกระดูกสันหลังลีบ (spinal muscular atrophy) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ SMN gene ทำให้การผลิต SMN ลดลง ผลการทดลองพบว่า Spinraza® ให้ผลทางการรักษาที่ดี โดยหลังจากให้ทางการฉีดเข้าไปในไขสันหลัง (intrathecal injection) 4 ครั้ง (วันที่ 0, วันที่ 14, วันที่ 28 และวันที่ 63) และทุก ๆ สี่เดือนหลังจากนั้น พบว่า Spinraza® ส่งผลกระตุ้นให้ SMN gene ที่ไม่กลายพันธุ์ (unmutated gene) ทำการผลิต SMN ออกมามากขึ้น อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับ Spinraza® เป็นประจำอย่างต่อเนื่องในตลอดชีวิตซึ่งอาจปรับให้เป็นปีละครั้ง (Jablonka, et al., 2022)

3) Gene editing therapy

การค้นพบเทคนิคการแก้ไขยีนโดยใช้เอนไซม์นิวคลีเอส (nucleases) ที่ได้จากแบคทีเรียหรือสร้างขึ้นด้วยวิธีการทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์ ในการปรับเปลี่ยนลำดับจีโนมในเซลล์ ก่อให้เกิดกลยุทธ์ใหม่สำหรับการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดคือการรักษาโดยแก้ไขยีนที่ผิดปกติให้กลับมาเป็นปกติ ซึ่งในภาษาอังกฤษเรียกว่า “gene editing therapy” หรือเรียกได้อีกชื่อหนึ่งว่า “corrective gene therapy” กลยุทธ์นี้จุดมุ่งหมายเพื่อแก้ไขความผิดปกติของยีนโดยตรงอย่างจำเพาะเจาะจงภายในเซลล์ซึ่งได้รับผลกระทบ ทำให้ยีนที่กลายพันธุ์ถูกกำจัดไปและ/หรือได้รับการแก้ไขจนกลับมาเป็นปกติ ได้รับการถอดรหัสและแปลรหัสออกมาเป็นโปรตีนที่ทำงานได้ และส่งผลในการรักษาโรค เอนไซม์นิวคลีเอสที่ใช้เพื่อแก้ไขยีนในจีโนมได้อย่างแม่นยำเป็นเอนไซม์ประเภทโปรแกรมเอเบิล นิวคลีเอส (programmable nucleases) เช่น เอฟเฟคเตอร์ นิวคลีเอส (effector nucleases, TALENs), ซิงค์ ฟิงเกอร์ นิวคลีเอส (zinc

finger nucleases, ZFNs), และคริสเปอร์/แคส-แอสโซซิเอทด์ นิวคลีเอส (CRISPR/Cas-associated nucleases) เป็นต้น

4) Suicide gene therapy

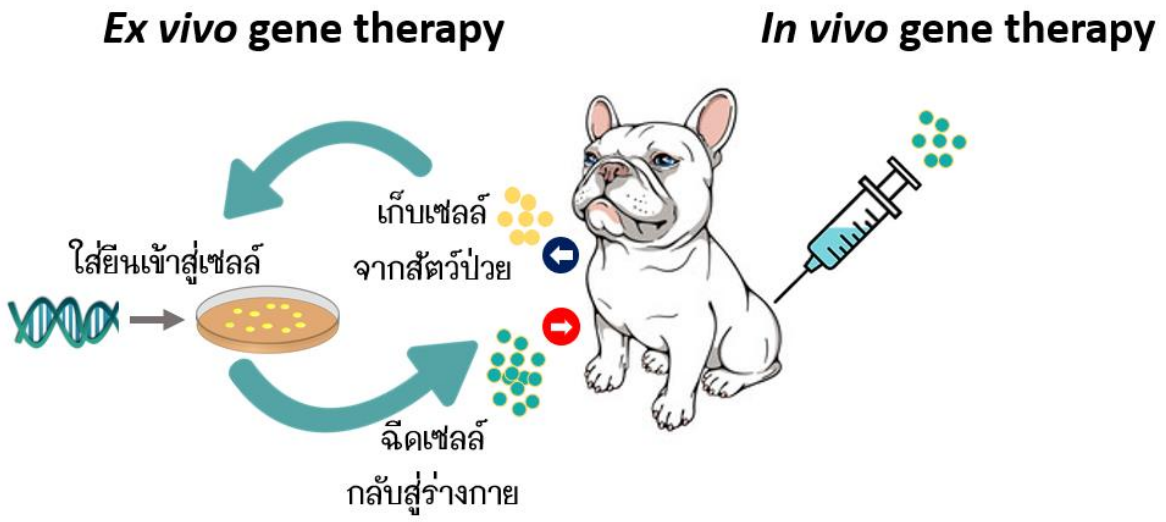
กลยุทธ์ทั้งสามกลยุทธ์ที่กล่าวถึงข้างต้นมีจุดมุ่งหมายเพื่อฟื้นฟูภาวะสมดุลของเซลล์ โดยการทำให้ความผิดปกติทางพยาธิวิทยากลับมาเป็นปกติ ไม่ว่าจะเป็นการรักษาโดยการใส่ยีนปกติเข้าไปแทนที่ยีนที่ผิดปกติ (gene replacement therapy), การรักษาโดยยับยั้งไม่ให้ยีนที่กลายพันธุ์มีการแสดงออก (gene silencing therapy) หรือการรักษาโดยแก้ไขที่ยีน (gene editing therapy) อย่างไรก็ตามในโรคบางชนิด เช่น โรคมะเร็ง เป้าหมายทางการรักษาคือการฆ่าเซลล์มะเร็งให้หมดไปจากร่างกาย การรักษาด้วยยีนบำบัดสามารถใช้ในบริบทนี้ได้ โดยใช้กลยุทธ์การนำส่ง transgene ที่แสดงออกเป็นโปรตีนที่มีความเป็นพิษสูง สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งหรือเซลล์ที่ทำให้เกิดโรค หรือให้ transgene ที่แสดงออกเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เสมือนเป็นเครื่องหมายบนผิวของเซลล์มะเร็งหรือเซลล์ที่ทำให้เกิดโรค เพื่อให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเข้ามากำจัดทำลายโดยการเหนี่ยวนำให้เซลล์ฆ่าตัวตายด้วยกลไกอะพ็อพโทซิส (apoptosis) กลยุทธ์การทำยีนบำบัดแบบนี้ จึงเรียกว่ากลยุทธ์ยีนบำบัดที่ทำให้เซลล์ฆ่าตัวตาย (suicide gene therapy)

VI. การทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* และรูปแบบ *in vivo*

วิธีการทำยีนในปัจจุบันสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือการทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* และรูปแบบ *in vivo* โดยการทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* หมายถึงการนำเซลล์ออกมาภายนอกร่างกาย โดยการสกัดแยกเฉพาะเซลล์ที่ต้องการจากเลือด ไขกระดูกหรือเนื้อเยื่ออื่น ๆ จากนั้นจึงนำยีนเพื่อการรักษา (therapeutic genes) ใส่เข้าไปในเซลล์ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ทำในห้องปฏิบัติการ จากนั้นจึงนำเซลล์ที่ได้รับยีนบำบัดเรียบร้อยแล้วเหล่านั้นกลับเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งโดยทั่วไปนิยมให้ทางการฉีดเข้าหลอดเลือดดำหรือฉีดเข้าไปในไขสันหลัง อาจกล่าวง่าย ๆ ว่า *ex vivo* gene therapy เป็นการนำเซลล์ออกมานอกร่างกาย เพื่อใส่ยีนใหม่เข้าไปในเซลล์ แล้วค่อยนำกลับสู่ร่างกาย ทำให้สามารถควบคุมเซลล์ที่ได้รับการรักษาได้มากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็ค่อนข้างมีความซับซ้อนในทางเทคนิคมากกว่าเมื่อเทียบกับการให้ยีนบำบัดในรูปแบบ *in vivo* การนำเซลล์ของสัตว์ป่วย/ผู้ป่วยออกมาทำการดัดแปลงทางพันธุกรรม (ซึ่งส่วนใหญ่มักใช้ไวรัลเวกเตอร์) เสร็จแล้วค่อยส่งกลับคืนเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ป่วย/ผู้ป่วยในภายหลังแบบนี้อาจเรียกว่าเป็นเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดระดับเซลล์ที่ได้จากสัตว์ป่วย/ผู้ป่วย (patient-derived cellular gene therapy products)

ตัวอย่างหนึ่งของการทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* คือวิธีการที่เรียกว่า “ไคเมอริค แอนติเจน รีเซพเตอร์ ที-เซลล์ ธีราปีย์” (chimeric antigen receptor T-cell therapy) หรือ คาร์ ที-เซลล์ ธีราปีย์ (CAR T-cell therapy) ซึ่งใช้ไวรัสในการนำส่งยีนของตัวรับให้เข้าสู่ที-เซลล์ของผู้ป่วยที่แยกออกมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จากนั้นจึงนำที-เซลล์ที่มีการแสดงออกของตัวรับที่ได้จากยีนบำบัดกลับเข้าสู่ร่างกาย ที-เซลล์เหล่านี้สามารถรับรู้และฆ่าเซลล์มะเร็งในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพและจำเพาะเจาะจง วิธีการนี้จึงสามารถเรียกได้ว่าเป็นกลยุทธ์การทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* cell-based gene therapy (Lu & Jiang, 2022) โดยมีทิสะเจนเลคลิวเซล (คิมไรอาห์®) เป็นเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดชนิดแรกที่ได้รับการอนุมัติจาก US FDA เพื่อรักษาโรคมะเร็งโดยใช้ร่วมกันกับเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเองด้วยวิธีคาร์ ที-เซลล์ ธีราปีย์ (US FDA, 2017)

สำหรับการทำยีนบำบัดในรูปแบบ *in vivo* หมายถึงการให้ยีนเข้าสู่ร่างกายโดยตรง โดยทำการฉีดยีนเพื่อการรักษาพร้อมกับเวคเตอร์เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งหาก



รูปที่ 1 วิธีการให้ยีนเข้าสู่ร่างกายในรูปแบบ *ex vivo* และรูปแบบ *in vivo*

ต้องการให้เข้าถึงเนื้อเยื่อหรืออวัยวะเป้าหมายอย่างจำเพาะเจาะจง มักใช้วิธีการฉีดผ่านสายสวนที่สอดเข้าไปในอวัยวะนั้น วิธีนี้จัดว่าเป็นวิธีการที่ค่อนข้างจะรุนแรง (invasive) ต่อร่างกาย แต่หากใช้วิธีฉีดเข้าหลอดเลือดดำตามปกติทั่วไปก็ไม่จัดว่ารุนแรง แต่มีโอกาสที่จะส่งผลกระทบนอกเป้าหมาย (off-target effects) ได้มากกว่า อย่างไรก็ตาม การทำยีนบำบัดทั้งในรูปแบบ *in vivo* และ *ex vivo* ผลที่ได้เหมือนกันคือยีนเพื่อการรักษาจะต้องเข้าสู่ภายในนิวเคลียสของเซลล์เป้าหมาย ได้รับการถอดรหัสเป็น mRNA และแปลรหัสไปเป็นโปรตีนที่สามารถทำงานชดเชยหรือแทนที่โปรตีนที่ขาดแคลนหรือผิดปกติได้อย่างเพียงพอ เพื่อให้ช่วยบรรเทาอาการหรือหยุดการลุกลามของโรคและทำให้หายจากโรคได้ในที่สุด และการทำยีนบำบัดในยุคปัจจุบัน นอกจากจะใช้ยีนเพื่อการรักษา (therapeutic genes) แล้ว ยังมีการทำยีนบำบัดโดยใช้โมเลกุลที่ทำหน้าที่ปรับเปลี่ยนยีน (gene modulators) หรือ gene-editing system ด้วย

การทำยีนบำบัดในรูปแบบ *ex vivo* และรูปแบบ *in vivo* มีลักษณะที่แตกต่างกันหลายประการดังที่แสดงในตารางที่ 4 การตัดสินใจเลือกวิธีการให้ยีนบำบัดเข้าสู่ร่างกายนั้นขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ หลายปัจจัย โดยมีปัจจัยหลักที่สำคัญคือตำแหน่งของเซลล์เป้าหมายหรืออวัยวะเป้าหมาย นอกจากนี้ ชนิดของเวกเตอร์ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นพาหะนำส่งยีน (gene delivery vehicle) ก็มีความสำคัญเช่นกัน การให้ยีนบำบัดเข้าสู่ร่างกายนั้นในทางปฏิบัติแล้วมีความสลับซับซ้อนมากกว่าที่คิด ตัวอย่างเช่น ในการให้ยีนบำบัดเข้าสู่ร่างกายโดยตรงในรูปแบบ *in vivo* คำถามสำคัญที่ควรนำมาพิจารณาคือ (1) ยีนเพื่อการรักษาสามารถเข้าถึงเซลล์หรืออวัยวะเป้าหมายได้โดยตรงหรือไม่ (2) หลังจากให้ยีนเพื่อการรักษาเข้าสู่ร่างกายแล้ว ปริมาณของยีนที่เข้าถึงภายในเซลล์หรืออวัยวะเป้าหมายเป็นสัดส่วนเท่าใดจากปริมาณที่ให้ทั้งหมด (3) ยีนเพื่อการรักษาที่คงเหลืออยู่ในร่างกายอาจเป็นพิษได้หรือไม่ ดังนั้น ในการออกแบบวิธีการให้ยีนบำบัดเข้าสู่ร่างกาย จึงจำเป็นต้องพิจารณาคำถามเหล่านี้อย่างรอบคอบก่อนการนำใช้ในทางคลินิก รวมทั้งคำถามที่เกี่ยวข้องกับวิธีการให้ยีนบำบัดเข้าสู่ร่างกายอื่น ๆ ตัวอย่างเช่น ในกรณีที่อวัยวะเป้าหมายเป็นระบบประสาทส่วนกลาง การให้ยีนบำบัดเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางโดยตรง ต้องคำนึงถึง blood-brain barrier (BBB) ซึ่งเป็นระบบของเซลล์บุผนังหลอดเลือดขนาดเล็ก (microvascular endothelial cells, BMVEC) ที่ทำหน้าที่ป้องกันสมองจากสารพิษและสิ่งแปลกปลอมในเลือด และคัดกรองสารต่าง ๆ ที่อาจเป็นอันตรายออก

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบวิธีการทำยีนบำบัดในรูปแบบ *in vivo* กับ *ex vivo*

In vivo gene therapy	*Ex vivo* gene therapy
ความรุนแรง -ขึ้นกับวิธีการให้ หากให้โดยการฉีด IV จัดว่าไม่รุนแรง แต่หากมีการสอดสายสวนเข้าไปในอวัยวะจัดว่ารุนแรง	ความรุนแรง -จัดว่ารุนแรง หากเก็บเซลล์จากไขกระดูกหรืออวัยวะอื่น ๆ
เป็นวิธีที่ค่อนข้างง่ายในทางเทคนิค	เป็นวิธีที่ค่อนข้างมีความซับซ้อนในทางเทคนิค
ตรวจสอบความปลอดภัยได้ยากกว่า	ตรวจสอบความปลอดภัยได้ง่ายกว่า
ควบคุมเซลล์หลังทำยีนบำบัดได้น้อยกว่า	ควบคุมเซลล์หลังทำยีนบำบัดได้มากกว่า
นำไปใช้รักษาโรคได้หลากหลายมากกว่า	นำไปใช้รักษาโรคได้น้อยขนิดกว่า
ผลที่ได้มักจะคงอยู่นานกว่า (ขึ้นอยู่กับระบบการจัดส่งยีน)	ผลที่ได้มักจะคงอยู่ชั่วคราว (ขึ้นกับอายุของเซลล์)
เข้าถึงเซลล์/เนื้อเยื่อบางตำแหน่งได้ยาก	มีความเสี่ยงในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์
มีโอกาสส่งผลกระทบนอกเป้าหมายได้มากกว่า	มีความจำเพาะต่อเซลล์ที่ได้รับยีนเพื่อการรักษา

จากสมองกลับสู่กระแสเลือด ดังนั้นจึงเป็นด่านสำคัญในการป้องกันไม่ให้ยีนบำบัดเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลาง วิธีหนึ่งในการแก้ไขปัญหาที่เกิดจาก BBB คือการฉีดยีนบำบัดเข้าไปในสมองโดยวิธี intraparenchymal injection หรือการฉีดเข้าไปในชั้นของเหลวในไขสันหลัง (cerebrospinal fluid) อย่างไรก็ตาม การให้ยีนบำบัดเข้าสู่ร่างกายโดยวิธีดังกล่าวเหล่านี้มีข้อจำกัดในการนำมาใช้ เนื่องจากค่อนข้างมีความรุนแรงอย่างมาก สำหรับวิธี ex vivo therapy ก็เป็นวิธีที่มีความซับซ้อนเช่นกัน เช่น ชนิดของเซลล์ที่จะใช้ โดยหากเลือกใช้เซลล์ประเภทอัลโลเจนิกเซลล์ (allogenic cells) มักจะมีปัญหาเรื่องความเข้ากันได้ของเซลล์ที่จะใช้กับระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ เนื่องจากเป็นเซลล์ของบุคคลอื่นหรือสัตว์ตัวอื่นซึ่งไม่เกี่ยวข้องกัน มีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน (genetically non-identical) ในขณะที่เซลล์ประเภทออโตโลกัสเซลล์ (autologous cells) ซึ่งเป็นเซลล์ของตัวเอง ก็มักจะมีข้อบกพร่องและข้อจำกัดบางประการที่ทำให้ไม่เหมาะสำหรับใช้ในการรักษา

VII. ระบบนำส่งยีนบำบัด (delivery systems)

ในการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดให้ประสบความสำเร็จ สิ่งสำคัญที่ต้องพิจารณาคือระบบการนำส่งสารพันธุกรรมเข้าสู่ภายในเซลล์ที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัยและมีความเหมาะสมกับบริบทต่าง ๆ รอบด้านมากที่สุด ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเลือกระบบการนำส่งยีน (delivery system) สำหรับการทำยีนบำบัดนั้นมีหลายปัจจัย เช่น ขนาดของยีน ผลที่คาดหวัง ความเป็นพิษ เป็นต้น เป็นเวลานานหลายทศวรรษมาแล้วที่นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามค้นหาและทดสอบวิธีการต่าง ๆ หลายหลายวิธีในการนำส่งยีนเพื่อการรักษาหรือโมเลกุลที่ทำหน้าที่แก้ไขยีนที่ผิดปกติให้แก่เซลล์เป้าหมาย ซึ่งโดยธรรมชาติการนำสารพันธุกรรมจากภายนอกเข้าไปในเซลล์หรือเนื้อเยื่อไม่ใช่เรื่องที่ทำได้ง่าย ๆ เนื่องจากสิ่งมีชีวิตมีวิวัฒนาการในการพัฒนากลยุทธ์และด่านป้องกันรูปแบบต่าง ๆ เพื่อไม่ให้สารพันธุกรรมแปลกปลอมบุกรุกเข้ามาได้อย่างง่ายดาย ดังนั้นวิธีการนำส่งยีนจึงไม่เพียงแต่จะต้องนำส่งยีนเพื่อการรักษาให้เข้าสู่เซลล์เป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงเท่านั้น แต่ยังต้องมีความสามารถในการหลบเลี่ยงกลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันที่มักถูกกระตุ้นให้ทำการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายด้วย ในปัจจุบัน ระบบนำส่งยีนมีสองระบบหลักที่ใช้กันอยู่โดยทั่วไปคือ ระบบที่ใช้ไวรัส (viral systems) และระบบที่ไม่ใช้ไวรัส (non-viral systems) ซึ่งทั้งสองระบบต่างก็มีข้อดีและข้อด้อยที่

แตกต่างกันหลายประการดังที่แสดงในตารางที่ 5 (ตารางที่ 5 ข้อดีและข้อด้อยของระบบที่ใช้ไวรัสและระบบที่ไม่ใช้ไวรัส)

ระบบนำส่งยีนประเภทที่ใช้ไวรัส (viral systems)

ไวรัสมีความสามารถตามธรรมชาติในการนำส่งสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์ ดังนั้นไวรัล เวกเตอร์ (viral vectors) จึงจัดเป็นพาหะสำหรับนำส่งยีนที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตาม ไวรัสจะต้องถูกนำมาดัดแปลงก่อนเพื่อทำให้หมดความสามารถในการก่อโรค หลังจากนั้นจึงจะสามารถใช้ไวรัสที่ถูกดัดแปลงแล้วเหล่านี้เป็นเวกเตอร์เพื่อนำส่งยีนเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ป่วยหรือผู้ป่วยได้ นักวิจัยได้พัฒนาไวรัลเวคเตอร์ขึ้นมาแล้วหลากหลายชนิดสำหรับใช้ในการนำส่งยีนหรือโมเลกุลสำหรับแก้ไขยีนที่ผิดปกติให้เข้าสู่เซลล์ร่างกาย เช่น อะดีโนไวรัส (adenovirus), เลนติไวรัส (lentivirus), รีโทรไวรัส (retrovirus) (Imbert, et al., 2017) ข้อดีที่สำคัญอย่างยิ่งของระบบที่ใช้ไวรัสคือมีประสิทธิภาพสูงในการเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ นำส่งยีนให้เข้าไปแทรกตัวอยู่ในจีโนมของโฮสต์เซลล์ได้ดีและในปริมาณมาก ซึ่งจัดเป็นความสามารถตามธรรมชาติของไวรัสอยู่แล้ว ทำให้มีการการแสดงออกของ transgenes ออกมาควบคุมจีโนมของโฮสต์ได้อย่างยาวนานหรือตลอดชีวิต นอกจากนี้ไวรัสยังมีจำนวนมากมายหลากหลายชนิดให้เลือก ในขณะที่ข้อด้อยหลักที่สำคัญของระบบที่ใช้ไวรัสคือความเสี่ยงด้านความปลอดภัยจากการกลายพันธุ์ของการแทรกยีนในจีโนมของโฮสต์ (insertion mutation) และผลไม่พึงประสงค์อื่น ๆ ที่อาจเกิดขึ้นภายหลังจากการให้ไวรัสเข้าสู่ร่างกาย เช่น ปฏิกิริยาตอบสนองจากระบบภูมิคุ้มกันที่เป็นอันตราย และผลกระทบที่ไม่ได้ตั้งใจที่มีต่อเซลล์ปกติของร่างกาย ซึ่งในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์กำลังพยายามพัฒนาไวรัลเวคเตอร์ให้มีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น สำหรับข้อด้อยอื่น ๆ ของระบบที่ใช้ไวรัสคือมีค่าใช้จ่ายสูง ความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เป้าหมายไม่ดีและไม่สามารถใช้ในการถ่ายโอนยีนขนาดใหญ่ได้ (Sarvari, et al., 2022; Sung & Kim , 2019)

ตัวอย่างของยีนบำบัดซึ่งใช้ไวรัลเวคเตอร์ในการนำส่งยีนได้แก่ โอนาเซ็มโนจีน อะเบพาร์โวเวค (onasemnogene abeparvovec) ซึ่งมีชื่อการค้าว่า Zolgensma® ได้รับการอนุมัติจาก US FDA ในเดือนพฤษภาคม ปีพ.ศ. 2562 (2019) และจากสถาบันสุขภาพและการดูแลที่เป็นเลิศแห่งชาติ (National Institute for Health and Care Excellence, NICE) ของประเทศอังกฤษ ในเดือนมีนาคม ปีพ.ศ. 2565 (ค.ศ. 2022) Zolgensma® จัดเป็นยาที่มีราคาแพงที่สุดที่เคยได้รับการอนุมัติจาก NICE และ US FDA มีราคาประมาณ 71,182,324 บาท (1.9 ล้านยูโร คำนวณจากอัตราแลกเปลี่ยน 37.47 บาท/ยูโร) ต่อคอร์สของการรักษา (Nuijten, 2022) Zolgensma® เป็นยีนบำบัดที่ใช้ adeno-associated viral vector–9-based (scAAV9) ในการนำส่ง SMN gene ให้แก่เซลล์ประสาทสั่งการ (motor neurons) สำหรับการรักษาโรคกล้ามเนื้อกระดูกสันหลังลีบ (SMA) ซึ่งเป็นโรคร้ายแรงที่ทำให้เกิดการสูญเสียมวลกล้ามเนื้อและทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแอ เรียกว่าเป็น AAV gene therapy โดยให้เข้าสู่ร่างกายทางการฉีดเพียงครั้งเดียว อย่างไรก็ตาม เมื่อไม่นานมานี้มีรายงานการเสียชีวิตของผู้ป่วยสองรายเนื่องจากภาวะตับวายเฉียบพลัน โดยทั้งสองกรณีเกิดขึ้นที่ประมาณ 5-6 สัปดาห์ภายหลังการรักษาด้วย Zolgensma® จนถึงปัจจุบัน มีการใช้ Zolgensma® เป็นยีนบำบัดเพื่อรักษาผู้ป่วยจำนวนไม่ต่ำกว่า 2,300 รายทั่วโลก ทั้งในการทดลองทางคลินิกและโดยผ่านการจำหน่ายเป็นเภสัชภัณฑ์เพื่อการรักษา รายงานนี้ได้สร้างความกังวลด้านความปลอดภัยและความเป็นพิษ และมีการเสนอให้ระบุภาวะตับวายเฉียบพลันร้ายแรง (fatal acute liver failure) ในฉลากและให้แสดงในระบบสั่งจ่ายยาส่วนที่เรียกว่า “black box” warning ซึ่งเป็นคำเตือนที่

ร้ายแรงที่สุดที่กำหนดโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (Philippidis, 2022)

ระบบนำส่งยีนประเภทที่ไม่ใช้ไวรัส (non-viral systems)

ในปัจจุบัน มีระบบนำส่งยีนประเภทที่ไม่ใช้ไวรัสหลายชนิดกำลังได้รับการวิจัยและพัฒนาเพื่อใช้ในการทำยีนบำบัดสำหรับรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคทางพันธุกรรมและโรคติดเชื้อ (Sarvari, et al., 2022) ระบบนำส่งยีนที่ไม่ใช้ไวรัสมีข้อดีคือมีความปลอดภัยมากกว่า แต่ในขณะเดียวกันก็มีข้อด้อยคือมีประสิทธิภาพในการนำส่งยีนเข้าสู่เซลล์ที่ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับระบบนำส่งยีนประเภทไวรัส ตัวอย่างของระบบนำส่งยีนที่ไม่ใช้ไวรัส เช่น (1) พลาสมิดดีเอ็นเอ (plasmid DNA): พลาสมิดดีเอ็นเอเป็นดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างแบบวงกลม ในปัจจุบันนักวิทยาศาตร์สามารถใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในการตัดต่อพลาสมิดดีเอ็นเอและทำการเชื่อมต่อยีนเพื่อการรักษาเข้ากับพลาสมิดดีเอ็นเอได้อย่างรวดเร็วง่ายดาย จากนั้นจึงให้พลาสมิดดีเอ็นเอเข้าสู่ร่างกายสัตว์ป่วยหรือผู้ป่วย เพื่อให้นำส่งยีนให้เข้าสู่เซลล์และส่งผลทางการรักษาโรคต่อไป (2) แบคทีเรียล เวกเตอร์ (bacterial vectors): แบคทีเรียบางชนิดสามารถถูกปรับเปลี่ยนเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดโรคติดเชื้อแล้วใช้เป็นพาหะนำส่งยีนการรักษาเข้าสู่เซลล์ได้ (3) อนุภาคนาโน (nanoparticles): มีการพัฒนาอนุภาคนาโนหลายชนิด เพื่อใช้ในการนำส่งยีนเพื่อการรักษาหรือนำส่งโมเลกุลที่ทำหน้าที่แก้ไขยีนที่ผิดปกติเข้าสู่เซลล์ที่ผิดปกติในร่างกายได้โดยตรง ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์กำลังพยายามพัฒนาอนุภาคนาโนโดยการปรับเปลี่ยนทางเคมี เพื่อให้อนุภาคนาโนที่ใช้สำหรับการนำส่งยีนสามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันและสามารถนำส่งยีนเข้าสู่เซลล์เป้าหมายอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (4) ระบบที่ไม่ใช้ไวรัสอื่น ๆ เช่น วิธีการทางเคมี วิธีการทางกายภาพ เช่น อุปกรณ์นำส่งยีนประเภท gene gun, ระบบใช้ไฟฟ้าทำให้ผิวเซลล์เป็นรูเพื่อเปิดรับยีนเข้าไปในเซลล์ (electric perforation) และระบบอัลตราโซนิกส์ (ultrasonics) หรือเหนือเสียง (คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่า 20 KHz ขึ้นไป) ซึ่งค่อนข้างมีอุปสรรคมาก เนื่องจากสร้างความเสียหายต่อเซลล์ ทำให้ประสิทธิภาพในการนำส่งยีนต่ำ นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการใหม่ ๆ สำหรับส่งโมเลกุลที่ทำหน้าที่แก้ไขยีน ซึ่งในปัจจุบัน กำลังมีการทดสอบในระยะการทดลองทางคลินิกเกี่ยวกับการใช้โมเลกุลหลายชนิดในรูปคอมเพล็กซ์ที่ทำงานร่วมกันในการตัดต่อยีนได้ตรงกับตำแหน่งตามการเรียงลำดับดีเอ็นเออย่างแม่นยำ เพื่อลบหรือแก้ไขยีนเป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจง (Landhuis, 2021; Sarvari, et al., 2022; Gayong, et al., 2018) ตัวอย่างของยีนบำบัดที่ใช้อนุภาคนาโนนำส่งยีนคือ NTLA-2001 (Intellia Therapeutics /Regeneron) ซึ่งเป็นชื่อของเภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดในรูปแบบของ *in vivo* CRISPR/Cas9 genome editing therapy ที่ใช้อนุภาคนาโนเป็นพาหะนำส่ง CRISPR-Cas9 เข้าสู่เซลล์ตับ เพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีนชื่อทรานสไธเรทิน (transthyretin, TTR) ซึ่งทำให้เซลล์สร้างโปรตีนที่มีการงอตัวผิดปกติ (Liu, et al., 2022) ในการทดลองรักษาผู้ป่วยด้วยโรคทางพันธุกรรมชนิด transthyretin amyloidosis โดยการให้ NTLA-2001 เข้าทางหลอดเลือดดำเพียงครั้งเดียว ผลการทดลองพบว่าผู้ป่วยตอบสนองได้ดีต่อ NTLA-2001 ข้อมูลจากการทดลองนี้สนับสนุนศักยภาพของ NTLA-2001 ในการยับยั้งยีน TTR ได้อย่างถาวรและลดปริมาณโปรตีนก่อโรคได้ (Chavez, et al., 2022)

VIII. ปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน (immune responses) และผลไม่พึงประสงค์ (adverse drug reactions) ต่อยีนบำบัด

ปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันเป็นปัญหาสำคัญในการรักษาโรคด้วยยีนบำบัด (ยกเว้นในกรณีที่เป้าหมายคือการฉีดวัคซีนหรือการกำจัดเซลล์มะเร็ง) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ใช้ระบบนำส่งยีนด้วยไวรัสเวกเตอร์ กลไกการทำงานที่สลับซับซ้อนของระบบ

ตารางที่ 5 ข้อดีและข้อด้อยหลักของระบบที่ใช้ไวรัสและระบบที่ไม่ใช้ไวรัส

ระบบนำส่งยีนที่ใช้ไวรัส (viral systems)	
ข้อดี	**ข้อด้อย**
– นำส่งยีนเข้าสู่เซลล์ได้หลากหลายชนิด – มีไวรัสจำนวนมากมายหลากหลายชนิดให้เลือก – การนำส่งยีนมีประสิทธิภาพสูงทั้งในรูปแบบ *ex vivo* และ *in vivo* – การคงอยู่ของผลทางการรักษาค่อนข้างนาน (ในบางกรณี) – มีคุณสมบัติตามธรรมชาติที่จะเข้าไปอยู่ในโฮสต์เซลล์และนำส่งยีนเข้าไปแทรกในจีโนมของโฮสต์ – มีกลไกสำหรับนำส่งดีเอ็นเอเข้าสู่นิวเคลียสอยู่แล้วตามธรรมชาติ (ในบางกรณี)	– มีค่าใช้จ่ายสูง – ความสามารถในการโคลนนิ่งมีจำกัด – กระบวนการผลิตมีความสลับซับซ้อน – ความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เป้าหมายไม่ดี – ไม่สามารถใช้ในการถ่ายโอนยีนขนาดใหญ่ได้ – ความรู้ที่เกี่ยวกับกลไกการติดเชื้อในระดับโมเลกุลยังคงมีอยู่จำกัด – อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันและปฏิกิริยาอักเสบ – มีความเสี่ยงในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ สร้างความกังวลด้านความปลอดภัยและความเป็นพิษ – การเข้าไปในโฮสต์เซลล์และนำส่งยีนให้แก่โฮสต์เซลล์มีข้อจำกัด (ในบางกรณี)
ระบบนำส่งยีนที่ไม่ใช้ไวรัส (non-viral systems)	
ข้อดี	**ข้อด้อย**
– ความเป็นพิษต่ำ – กระบวนการผลิตสะดวกง่ายดาย – มีความสามารถในการโคลนนิ่งที่ไม่จำกัด	– ประสิทธิภาพต่ำ/การแสดงออกของยีนต่ำ – ไม่มีคุณสมบัติตามธรรมชาติที่จะเข้าไปในโฮสต์เซลล์ – ไม่สามารถนำส่งยีนเข้าไปแทรกในจีโนมของโฮสต์

ภูมิคุ้มกันอาศัยโมเลกุลและเซลล์หลากหลายชนิดในการปกป้องร่างกายจากสิ่งแปลกปลอมและจุลชีพ เช่น ไวรัสและแบคทีเรีย ระบบภูมิคุ้มกันแบ่งออกเป็นสองส่วนหลัก ได้แก่ (i) ระบบภูมิคุ้มกันส่วน innate immunity ซึ่งเริ่มต้นทำงานได้ทันทีหรืออย่างรวดเร็ว ไม่จำเพาะเจาะจง และไม่มีความทรงจำ (ii) ระบบภูมิคุ้มกันส่วน adaptive immunity ซึ่งประกอบด้วย cell-mediated immunity (T lymphocytes) และ humoral immunity (B lymphocytes) ทั้งคู่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานโดยการจับตัวทำปฏิกิริยากันระหว่างแอนติเจนกับตัวรับที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจน หลังจากถูกกระตุ้นให้เกิดการทำงานแล้ว จะมีเซลล์แห่งความทรงจำคงเหลืออยู่ หากเชื้อโรคบุกรุกเข้ามาในร่างกายอีก เซลล์แห่งความทรงจำจะตอบสนองต่อแอนติเจนได้อย่างรวดเร็ว และช่วยให้เกิดความต้านทานต่อการติดเชื้อที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าเดิม (Murphy & Weaver, 2022)

เวกเตอร์ทั้งประเภทไวรัสและประเภทที่ไม่ใช่ไวรัสต่างก็สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันได้ทั้งสองประเภท ซึ่งอาจทำให้ทั้งเวกเตอร์และเซลล์ที่เวคเตอร์เข้าไปนำส่งยีนถูกระบบภูมิคุ้มกันกำจัดออกไปจากร่างกาย และส่งผลทำให้การรักษาโรคด้วยยีนบำบัดไม่มีประสิทธิภาพหรือมีประสิทธิภาพลดลง นอกจากนี้ยังอาจทำให้เซลล์หลั่งไซโตไคน์ในกลุ่ม

proinflammatory cytokines และคีโมไคน์ (chemokines) ออกมาทำให้เกิดผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ (Bucher, et al., 2021) ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่อเวกเตอร์มีหลากหลายปัจจัย เช่น (i) วิธีการบริหาร (route of administration) (ii) ปริมาณของเวกเตอร์ (iii) ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วย/สัตว์ป่วย เช่น อายุ เพศ สถานะทางระบบภูมิคุ้มกัน ยาที่ได้รับอยู่ (iv) ประเภทของโปรโมเตอร์ (promoters) และ/หรือตัวเพิ่มประสิทธิภาพ (enhancers) ที่ใช้ และ (v) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับลำดับจีโนมของเวกเตอร์และ/หรือโครงสร้างของเวกเตอร์ (Arruda, et al., 2009; Yahya & Alqadhi, 2021) เพื่อให้แน่ใจว่าการรักษาด้วยยีนบำบัดจะประสบความสำเร็จ นักวิทยาศาสตร์จึงพยายามพัฒนากลยุทธ์หลายอย่าง เช่น ใช้กลยุทธ์หลีกเลี่ยงปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันที่มีต่อยีนบำบัด โดยวิธีการหนึ่งคือยับยั้งการแสดงออกของ transgenes ภายในเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen-presenting cells, APCs) เช่น เดนไดรท์ติกเซลล์ (dendritic cells), แมคโครฟาจ (macrophages) และบี ลิมโฟซัยท์ (B lymphocytes) (Sack & Herzog, 2009; Sung & Kim , 2019) การควบคุมการแสดงออกของ transgenes เป็นกลยุทธ์ที่ใช้เพื่อหลีกเลี่ยงปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน เพื่อชะลอหรือลดระดับการแสดงออกของยีนออกไปจนกว่าเซลล์และเนื้อเยื่อจะฟื้นตัวจากปฏิกิริยาอักเสบที่เกิดจากเวกเตอร์ อีกกลยุทธ์หนึ่งที่มีการนำมาใช้กันคือการส่งยีนไปยังตำแหน่งที่เป็น immune-privileged sites (หมายถึงตำแหน่งของร่างกายที่ไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจน ทำให้สามารถนำส่งยีนบำบัดเข้าไปในบริเวณนั้นได้โดยที่ไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาอักเสบ) เช่น สมอง ลูกตา (Faldu & Shah, 2022) นอกจากนี้ กลยุทธ์อื่น ๆ ที่มีการนำมาใช้ ได้แก่ การปรับเปลี่ยนเวกเตอร์ที่ใช้ เช่น การปรับเปลี่ยนทางพันธุกรรม (ไวรัสเวกเตอร์) หรือการปรับเปลี่ยนด้วยวิธีการทางเคมีและวิธีอื่น ๆ กับโครงสร้างของเวกเตอร์ (ทั้งเวกเตอร์ประเภทไวรัสและไม่ใช่ไวรัส) รวมทั้งกลยุทธ์ที่ใช้วิธีการกดภูมิคุ้มกันซึ่งคล้ายคลึงกันกับการกดภูมิคุ้มกันหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ อย่างไรก็ตาม การใช้กลยุทธ์การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ควรได้รับการพิจารณาและวางแผนอย่างรอบคอบ เนื่องจากอาจรบกวนการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดในด้านอื่น ๆ เช่น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเข้าสู่ภายในเซลล์ (internalization), ลดเสถียรภาพและประสิทธิภาพในการนำส่งยีนของเวกเตอร์ หรืออาจนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนในระยะยาวได้ เช่น ทำให้มีความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งเพิ่มขึ้น (Nóbrega, et al., 2020)

IX. ความกังวลด้านจริยธรรม (ethical concerns)

เนื่องจากเซลล์ในร่างกายส่วนใหญ่เกือบทุกเซลล์ล้วนมีสารพันธุกรรมอยู่ภายใน ทำให้เซลล์เหล่านี้สามารถตกเป็นเซลล์เป้าหมายของยีนบำบัดด้วย ซึ่งรวมถึงเซลล์สืบพันธุ์ (germline cells) หมายความว่า ยีนที่ให้เพื่อการรักษาจากกระบวนการทำยีนบำบัดสามารถเข้าไปส่งผลกระทบ ไม่เพียงแต่เฉพาะเซลล์เป้าหมายที่ต้องการรักษาซึ่งเป็นโซมาติกเซลล์ (somatic cells) เท่านั้น แต่อาจเข้าไปในเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งจะส่งผลต่อไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นลูกรุ่นหลานในอนาคตด้วย จึงมีคำแนะนำว่าการรักษาด้วยยีนบำบัดควรดำเนินการเฉพาะในโซมาติกเซลล์เท่านั้น ยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่เซลล์สืบพันธุ์จึงก่อให้เกิดปัญหาทางจริยธรรมที่สำคัญ ทำให้ไม่ได้รับอนุญาตให้ทำได้ อย่างน้อยในประเทศทางตะวันตก (Hildt, 2016) การค้นพบวิธีการแก้ไขยีนโดยการทำ gene editing ในเวลาต่อมา ได้ทำให้เกิดการถกเถียงถึงประเด็นเหล่านี้อีกครั้งเมื่อเร็ว ๆ นี้ US National Academy of Sciences ได้ทำการพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการอนุญาตให้มีการแก้ไขยีนของตัวอ่อนเพื่อป้องกันโรค โดยจำกัดให้ทำได้เฉพาะในบางกรณีที่มีความจำเป็นอย่างยิ่ง และให้ทำได้

ภายใต้เงื่อนไขให้มีการวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติม (National Academies of Sciences, Engineering & Medicine, 2017; Davies, 2022) สำหรับในประเทศสหรัฐอเมริกา เภสัชภัณฑ์ยีนบำบัดโดยทั่วไปจัดเป็นเภสัชภัณฑ์ทางชีวภาพ (biological products) ที่กำกับดูแลโดยศูนย์ประเมินและวิจัยเภสัชภัณฑ์ทางชีวภาพ (Center for Biologics Evaluation and Research, CBER) ของ US FDA การศึกษาประสิทธิภาพของยีนบำบัดในระดับการทดลองทางคลินิกในมนุษย์ จำเป็นต้องส่งคำขอประเภท Investigational New Drug Application (IND) เพื่อขออนุญาตจากองค์การอาหารและยา ก่อนที่จะเริ่มการศึกษาทางคลินิก รวมทั้งต้องส่งและขออนุมัติใบอนุญาตทางชีววิทยา (BLA) (Nóbrega, et al., 2020)

การทำยีนบำบัดที่มีเป้าหมายที่เซลล์สืบพันธุ์ด้วยวิธี genome editing นั้น นอกจากจะสร้างความกังวลเนื่องจากทำให้เกิดความเปราะบางศีลธรรมที่สำคัญและก่อให้เกิดปัญหาทางจริยธรรมแล้ว ยังมีประเด็นทางเทคนิคอื่น ๆ ที่ลดทอนความจำเป็นในการทำ genome editing ลง เช่น การมีเทคโนโลยีที่ช่วยให้สามารถทำการวินิจฉัยได้ตั้งแต่ยังเป็นตัวอ่อนในระยะก่อนฝังตัวในมดลูก (preimplantation) เพื่อระบุการกลายพันธุ์ของยีนที่ทำให้เกิดโรคได้หลายชนิด จึงทำให้ไม่จำเป็นต้องทำ genome editing ก็ได้ และในปัจจุบัน การพัฒนาวิธีแก้ไขสารพันธุกรรมในไซโกต (zygote editing) ยังไม่ประสบความสำเร็จอย่างสมบูรณ์ แม้แต่ในโมเดลสัตว์ทดลองประเภทสัตว์ฟันแทะ (Nóbrega, et al., 2020) นอกจากนี้ ยังมีความเสี่ยงของการเกิดอันตรายจากผลไม่พึงประสงค์ในรูปแบบของ off-target effects เนื่องจากการทำ genome editing ที่อาจทำให้สารพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปโดยไม่ได้ตั้งใจ เช่น ทำให้สายดีเอ็นเอขาด หรือทำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งต่าง ๆ บนจีโนมซึ่งมีการเรียงลำดับเบสคล้ายคลึงกัน (แต่ไม่เหมือนกันอย่างสมบูรณ์กับตำแหน่งเป้าหมาย) (Shmakova, et al., 2022; Sandor, 2022) อย่างไรก็ตาม แม้จะมีข้อโต้แย้งทางจริยธรรมและปัญหาทางเทคนิคอยู่ก็ตาม การทำยีนบำบัดด้วยวิธี gene editing ก็ยังคงอยู่ในกระแสความสนใจของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทดลองกับตัวอ่อนของมนุษย์ ในปีพ.ศ. 2551 (ค.ศ. 2018) (Cyranoski, 2018) นักวิทยาศาสตร์ชาวจีนชื่อ He Jiankui อ้างว่าเขาได้ทำ gene editing ให้แก่ตัวอ่อนของมนุษย์ซึ่งได้คลอดออกมาแล้วถึงสามคน อาจเรียกได้ว่าเป็น gene edited babies รุ่นแรกของโลก เป้าหมายของการทดลองของเขา คือการสร้างความต้านทานต่อเชื้อเอชไอวีให้กับทารก โดยใช้ CRISPR/Cas9 เพื่อแก้ไข CCR5 gene วงการวิทยาศาสตร์และสังคมโดยทั่วไปต่างรู้สึกตกใจกับการกระทำที่สุ่มเสี่ยงต่อปัญหาทางจริยธรรมอย่างมากนี้ แม้จะยังไม่มีหลักฐานที่สามารถยืนยันได้อย่างชัดเจนว่า คำกล่าวอ้างดังกล่าวเป็นความจริงหรือไม่ อย่างไรก็ตาม เขาได้รับการติดสินศาลของประเทศจีนให้ติดคุกเป็นเวลา 3 ปี โดยครบกำหนดพ้นโทษในปีพ.ศ. 2565 (ค.ศ. 2022) นี้ (Cohen, 2022) แน่นอนว่า ในอนาคต ย่อมจะต้องมีเหตุการณ์ในเรื่องแบบนี้ที่นำมาซึ่งการถกเถียงกันมากขึ้นอีก แม้ว่าจะมีการกำหนดกรอบการกำกับดูแลเกี่ยวกับเทคโนโลยีที่เกิดขึ้นใหม่แล้วก็ตาม แต่การปฏิบัติจริงยังคงมีข้อจำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งกฎระเบียบที่คลุมเครือหรือล้าสมัยจะไม่สามารถบริหารจัดการเทคโนโลยีชีวภาพที่เกิดขึ้นใหม่ซึ่งมีความสลับซับซ้อนและมีลักษณะของความไม่แน่นอนสูงได้ จึงจำเป็นต้องใช้กฎเกณฑ์ข้อบังคับทางกฎหมายและการรักษามาตรฐานทางจริยธรรมในระดับสูง องค์กรทางวิทยาศาสตร์และหน่วยงานภาครัฐที่มีหน้าที่กำกับดูแล จึงควรเป็นส่วนเสริมที่สำคัญต่อการแก้ไขปัญหาใหม่ ๆ และปรับปรุงกฎเกณฑ์ข้อบังคับในการควบคุมการทำ gene editing ให้เหมาะสมเพื่อสร้างแนวทางในการวิจัยให้ได้อย่างทันท่วงทีและมีประสิทธิภาพ (Zhang, et al., 2021; Nelson, et al., 2021)

สรุป

ผลงานวิจัยทางด้านยีนบำบัดได้ปูทางให้นักวิทยาศาสตร์สามารถนำไปพัฒนาให้เป็นเภสัชภัณฑ์ทางการรักษาเพื่อใช้ประโยชน์ได้จริงในทางคลินิกดังที่นิยมเรียกกันว่า “from the bench to the bedside” นับตั้งแต่การรักษาโรคด้วยยีนบำบัดประสบความสำเร็จในครั้งแรกเป็นต้นมา เหตุการณ์สำคัญหลายเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในวงการวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับยีนบำบัด จัดเป็นบทเรียนที่สำคัญที่ก่อให้เกิดความร่วมมือและความพยายามในการแก้ไขปัญหาและความท้าทายต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคด้วยยีน จากประสบการณ์ด้านการทดลองทั้งระดับพรีคลินิกและระดับคลินิกของยีนบำบัดที่ผ่านมา มีการค้นพบกลยุทธ์ในการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดหลากหลายกลยุทธ์ ซึ่งแต่ละกลยุทธ์ก็มีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลลัพธ์ที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นจึงจำเป็นต้องนำมาปัจจัยดังกล่าวมาพิจารณาประกอบร่วมด้วยเพื่อความสำเร็จในการรักษา สำหรับสถานการณ์ของวงการยีนบำบัดในปัจจุบัน อาจกล่าวได้ว่าประสบความสำเร็จพอสมควร เนื่องจากเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดหลายชนิดได้รับอนุมัติให้ขึ้นทะเบียนสำหรับใช้รักษาโรคได้ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา และยังมีโครงการทดลองทางคลินิกอีกจำนวนมากที่ดำเนินการอยู่ในปัจจุบัน

อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าในช่วงศตวรรษที่ 21 ที่ผ่านมา การทดลองเกี่ยวกับยีนบำบัดจำนวนมากประสบความสำเร็จอย่างน่าทึ่ง แต่ก็ยังมีคำถามที่สำคัญหลายข้อที่ยังรอคอยคำตอบ ซึ่งคาดว่าจะได้มาอย่างแน่นอนจากผลการทดลองทางคลินิกที่กำลังดำเนินการอย่างต่อเนื่องในปัจจุบัน ข้อมูลเชิงลึกที่มีคุณค่าเหล่านี้จะก่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจที่ดีและลึกซึ้งมากยิ่งขึ้น ทั้งในด้านที่เกี่ยวกับพยาธิสรีรวิทยาและวิธีการนำส่งยีนอย่างมุ่งเป้าให้สามารถเข้าสู่เซลล์และอวัยวะเป้าหมายได้อย่างแม่นยำ ซึ่งจะนำไปสู่ในการพัฒนาเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้นในอนาคต ยีนบำบัดจัดเป็นกลยุทธ์ทางนวัตกรรมที่ให้ข้อมูลที่มีค่ายิ่งสำหรับการกำหนดนโยบายและการออกแบบงานวิจัยในอนาคต เพื่อให้สามารถดำเนินเข้าสู่ยุคใหม่ของการรักษาโรคด้วยยีนบำบัดได้อย่างเหมาะสม มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และมีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ แม้ว่าเภสัชภัณฑ์ในกลุ่มของยีนบำบัดในทางสัตวแพทย์จะยังคงมีอยู่น้อยมาก แต่ยังมีความหวังว่าในอนาคตอันใกล้นี้ จะมีการอนุมัติเภสัชภัณฑ์ประเภทยีนบำบัดสำหรับสัตว์ป่วยเพิ่มเติม สัตวแพทย์จึงควรศึกษาเกี่ยวกับหลักการสำคัญและแนวคิดพื้นฐานของยีนบำบัดและการใช้ยีนบำบัดเพื่อประโยชน์ในทางคลินิก เนื่องจากการรักษาด้วยยีนบำบัดอาจเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคหลายโรคที่ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการรักษาหรือรักษาได้ยาก

เอกสารอ้างอิง

Alshaera, W., H. Zureigat, A. Al-Karaki, A. Al-Kadash, L. Gharaibeh, M. M. Hatmal, A. A. A. Aljabali, and A. Awidi. 2021. siRNA: Mechanism of action, challenges, and therapeutic approaches. Eur. J. Pharmacol. 905: 174178.

Hacein-Bey-Abina S., A. Garrigue, G. P. Wang, J. Soulier, A. Lim, E. Morillon, E. Clappier, L. Caccavelli, E. Delabesse, K. Beldjord, V. Asnafi, E. MacIntyre, L. D. Cortivo, I. Radford, N. Brousse, F. Sigaux, D. Moshous, J. Hauer, A. Borkhardt, B. H. Belohradsky, U. Wintergerst, M. C. Velez, L. Leiva, R. Sorensen, N. Wulffraat, S. Blanche, F. D. Bushman, A. Fischer, and M. Cavazzana-Calvo. 2008. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. J. Clin. Investig. 118:3132-3142.

Arabi, F., V. Mansouri, and N. Ahmadbeigi. 2022. Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. Biomed. Pharmacother. 153:113324.

Arber, W. and S. Linn. 1969. DNA modification and restriction. Annu. Rev. Biochem. 38:467-500.

Arruda, V., P. Favaro, and J. Finn. 2009. Strategies to modulate immune responses: a new frontier for gene therapy. Mol. Ther. 17:1492–1503.

Battu, R., D. Ratra, and L. Gopal. 2022. Newer therapeutic options for inherited retinal diseases: Gene and cell replacement therapy. Indian J Ophthalmol. 70(7):2316-2325.

Biotechnology Innovation Organization. 2018. Ashanthi DeSilva—Very First Gene Therapy Patient. https://www.youtube.com/watch?v=IgES04-cSr8&t=19s&ab_channel=BiotechnologyInnovationOrganization (Accessed 3 November 2022).

Blaese, R. M., K. W. Culver, A. D. Miller, C. S. Carter, T. Fleisher, M. Clerici, G. Shearer, L. Chang, Y. Chiang, P. Tolstoshev, J. J. Greenblatt, S. A. Rosenberg, H. Klein, M. Berger, C. A. Mullen, W. J. Ramsey, L. Muul, R. A. Morgan, and W. F. Anderson. 1995. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. Science. 270:475-480.

Boye, S. E., S. L. Boye, A. S. Lewin, A. SLewin, and W. W. Hauswirth. 2013. A comprehensive review of retinal gene therapy. Mol. Ther. 21(3):509–519.

Bucher, K., E. Rodríguez-Bocanegra, D. Dauletbekov, and M. D. Fischer. 2021. Immune responses to retinal gene therapy using adeno-associated viral vectors–Implications for treatment success and safety. Prog. Retin. Eye Res. 83:100915.

Cavazzana-Calvo, M., S. Hacein-Bey, G. de Saint Basile, F. Gross, E. Yvon, P. Nusbaum, F. Selz, C. Hue, S. Certain, J. L. Casanova, P. Bousso, F. L. Deist, and A. Fischer. 2000. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. Science. 288:669-672.

Chakraborty, C., A. Sharma, G. Sharma, C. Doss, and S. Lee. 2017. Therapeutic miRNA and siRNA: moving from bench to clinic as next generation medicine. Mol. Ther. Nucleic. Acids. 8:132–143.

Chavez, M., X. Chen, P. Finn, and L. Qi. 2022. Advances in CRISPR therapeutics. Nat. Rev. Nephrol. 24:1-14.

Chen, Y., R. Wen, Z. Yang, and Z. Chen. 2022. Genome editing using CRISPR/Cas9 to treat hereditary hematological disorders. Gene Ther. 29:207–216.

Choi, S. H. and J. F. Engelhardt. 2021. Gene therapy for cystic fibrosis: Lessons learned and paths forward. Mol. Ther. 29(2):428-430.

Cideciyan, A. V., W. W. Hauswirth, T. S. Aleman, S. Kaushal, S. B. Schwartz, S. L. Boye, E. A. M. Windsor, T. J. Conlon, A. Sumaroka, J. J. Pang, A. J. Roman, B. J. Byrne, S. G. Jacobson. 2009. Human RPE65 gene therapy for Leber congenital amaurosis: Persistence of early visual improvements and safety at 1 year. Hum. Gene. Ther. 20(9):999-1004.

Cohen, J. 2022. As creator of 'CRISPR babies' nears release from prison, where does embryo editing stand?. https://www.science.org/content/article/creator-crispr-babies-nears-release-prison-where-does-embryo-editing-stand. (Accessed 3 November 2022)

Cyranoski, D. 2018. CRISPR-baby scientist fails to satisfy critics. Nature. 564(7734):13-14.

Davies, K. 2022. 30 years of progress from positional cloning to precision genome editing. Nat. Genet. 54:908–910.

Deng, Y., C. Wang, K. Choy, Q. Du, J. Chen, Q. Wang, L. Li, T. K. H. Chung, and T. Tang. 2014. Therapeutic potentials of gene silencing by RNA interference: Principles, challenges, and new strategies. Gene. 538(2):217-227.

Doxzen, K. 2022. 8 things you should know about gene therapy. https://www.weforum.org/agenda/2022/09/what-is-gene-therapy-things-you-should-know/ (Accessed 3 November 2022)

European Medicines Agency. 2016. Summary of opinion. Strimvelis. Autologous CD34+-enriched cell fraction that contains CD34+ cells transduced with retroviral vector that encodes for the human ADA cDNA sequence. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/003854/WC500203918.pdf (Accessed 3 November 2022).

Faldu, K. and J. Shah. 2022. Gene therapy for retina and eye diseases. In: Gene Delivery Systems. 1st ed. CRC Press, London. p. 17-36.

Fire, A., S. Xu, M. Montgomery, S. Kostas, S. Driver, and C. Mello. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans. Nature. 391:806–811.

Frangoul, H., D. Altshuler, M. D. Cappellini, Y. S. Chen, J. Domm, B. K. Eustace, J. Foell, J. de la Fuente, S. Grupp, R. Handgretinger, T. W. Ho, A. Kattamis, A. Kernytsky, J. Lekstrom-Himes, A. M. Li, F. Locatelli, M. Y. Mapara, M. de Montalembert, D. Rondelli, A. Sharma, S. Sheth, S. Soni, M. H. Steinberg, D. Wall, A. Yen, S. Corbacioglu. 2021. CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and beta-thalassemia. N. Engl. J. Med. 384:252-260.

French, A. W. 1990. September 14, 1990: The beginning. Hum. Gene. Ther. 1:371-372.

Friedmann, T. 1992. A brief history of gene therapy. Nat. Genet. 2:93-98.

Friedmann, T. and R. Roblin. 1972. Gene therapy for human genetic disease? Science. 175:949–955.

Gayong, S., K. Dongyoon, L. Quoc-Viet, T. Gyu, K. Taekhyun, and O. Yu-Kyoung. 2018. Nonviral delivery systems for cancer gene therapy: strategies and challenges. Curr. Gene. Ther. 18(1):3-20.

Gillmore, J., E. Gane, J. Taubel, J. Kao, M. Fontana, M. L. Maitland, J. Seitzer, D. O'Connell, K. R. Walsh, K. Wood, J. Phillips, Y. Xu, A. Amaral, A. P. Boyd, J. E. Cehelsky, M. D. McKee, A. Schiermeier, O. Harari, A. Murphy, C. A. Kyratsous, B. Zambrowicz, R. Soltys, D. E. Gutstein, J. Leonard, L. Sepp-Lorenzino, and D. Lebwohl. 2021. CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin amyloidosis. N. Engl. J. Med. 385:493-502.

Gruber, K. 2012. Europe gives gene therapy the green light. Lancet. 380:e10.

Hacein-Bey-Abina, S., A. Garrigue, G. P. Wang, J. Soulier, A. Lim, E. Morillon, E. Clappier, L. Caccavelli, E. Delabesse, K. Beldjord, V. Asnafi, E. MacIntyre, L. Dal Cortivo, I. Radford, N. Brousse, F. Sigaux, D. Moshous, J. Hauer, A. Borkhardt, B. H. Belohradsky, U. Wintergerst, M. C. Velez, L. Leiva, R. Sorensen, N. Wulffraat, S. Blanche, F.D. Bushman, A. Fischer, and M. Cavazzana-Calvo. 2008. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. J. Clin. Investig. 118:3132-3142.

Hacein-Bey-Abina, S., C. von Kalle, M. Schmidt, F. Le Deist, N. Wulffraat, E. McIntyre, I. Radford, J. L. Villeval, C. C. Fraser, M. Cavazzana-Calvo, and A. Fischer. 2003. A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. N. Engl. J. Med. 348(3): 255-266.

Hanna, E., C. Rémuzat, P. Auquier, and M. Toumi. 2017. Gene therapies development: slow progress and promising prospect. J. Mark. Access Health Policy. 5(1):1265293.

Hildt, E. 2016. Human germline interventions-think first. Front. Genet. 7:81-98.

Howe, S. J., M. R. Mansour, K. Schwarzwaelder, C. Bartholomae, M. Hubank, H. Kempski, M. H. Brugman, K. Pike-Overzet, S. J. Chatters, D. de Ridder, K. C. Gilmour, S. Adams, S. I. Thornhill, K. L. Parsley, F. J. T. Staal, R. E. Gale, D. C. Linch, J. Bayford, L. Brown, M. Quaye, C. Kinnon, P. Ancliff, D. K. Webb, M. Schmidt, C. von Kalle, H. B. Gaspar, and A. J. Thrasher. 2008. Insertional mutagenesis combined with acquired somatic mutations causes leukemogenesis following gene therapy of SCID-X1 patients. J. Clin. Investig, 118:3143-3150.

Imbert, M., G. Dias-Florencio, and A. Goyenvalle. 2017. Viral vector-mediated antisense therapy for genetic diseases. Genes. 8(2):51-74.

Jablonka, S., L. Hennlein, and M. Sendtner. 2022. Therapy development for spinal muscular atrophy: perspectives for muscular dystrophies and neurodegenerative disorders. Neurol. Res. Pract. 4:Article number 2.

King, N. P. and C. E. Bishop. 2017. New treatments for serious conditions: ethical implications. Gene Ther. 24:534-538.

Landhuis, E. 2021. The definition of gene therapy has changed. https://www.nature.com/articles/d41586-021-02736-8 (Accessed date: 3 November 2022)

Lederberg, J. 1963. Molecular biology, eugenics and euphenics. Nature. 198:428–429.

Ledford, H. 2022. How scientists are trying to make gene therapy safer. Nature. 606:443-444.

Lehman, I. R. 1974. DNA ligase: structure, mechanism, and function. Science 186:790-797.

Li, Y., W. Guo, X. Li, J. Zhang, M. Sun, Z. Tang, W. Ran, K. Yang, G. Huang, and Li, L. (2021). Expert consensus on the clinical application of recombinant adenovirus human p53 for head and neck cancers. Int. J. Oral Sci. 13:38-57.

Liang, M. 2018. Oncorine, the world first oncolytic virus medicine and its update in China. Curr. Cancer Drug Targets. 18:171-176.

Liu, Z., Z. Li, and B. Li. 2022. Nonviral delivery of CRISPR/Cas systems in mRNA format. Adv. NanoBiomed. Res. 2200082:1-16.

Lu, J. and G. Jiang. 2022. The journey of CAR-T therapy in hematological malignancies. Mol. Cancer. 21:194-202.

Ma, C., Z. Wang, T. Xu, Z. He, and Y. Wei. 2020. The approved gene therapy drugs worldwide: from 1998 to 2019. Biotechnol. Adv. 40:107502.

Mahajan, R. 2019. Onasemnogene abeparvovec for spinal muscular atrophy: the costlier drug ever. Int. J. Appl. Basic Med. Res. 9:127-128.

Merrouche, Y., S. Negrier, C. Bain, V. Combaret, A. Mercatello, B. Coronel, J. F. Moskovtchenko, P. Tolstoshev, R. Moen, and T. Philip. 1995. Clinical application of retroviral gene transfer in oncology: Results of a French study with tumor-infiltrating lymphocytes transduced with the gene of resistance to neomycin. J. Clin. Oncol. 13(2):410-418.

Misaki, Y., I. Ezaki, T. Ariga, N. Kawamura, Y. Sakiyama, and K. Yamamoto. 2001. Gene-transferred oligoclonal T cells predominantly persist in peripheral blood from an adenosine deaminase-deficient patient during gene therapy. Mol. Ther. 3(1):24-27.

Mulligan, R. C. 1993. The basic science of gene therapy. Science. 260:926-932.

Murphy, K. and C. Weaver. 2022. Janeway's Immunobiology. 9th ed. Garland Science, New York.

Nashimoto, M. 2022. True gene silencing. Int. J. Mol. Sci. 23(10):5387.

National Academies of Sciences, Engineering, & Medicine. 2017. Human genome editing, science, ethics, and governance. The National Academies Press. Washington DC.

Nelson, J. P., C. L. Selin, and C. T. Scott. 2021. Toward anticipatory governance of human genome editing: A critical review of scholarly governance discourse. J. Responsible Innov. 8(3):382-420.

Nóbrega, C., L. Mendonça, and C. A. Matos. 2020. Gene and cell therapy. In: A handbook of gene and cell therapy. Springer Cham, Switzerland, AG. p. 1-22.

Nuijten, M. 2022. Pricing Zolgensma-the world's most expensive drug. J. Mark. Access Health Policy. 10(1):2022353.

Onodera, M., D. M. Nelson, Y. Sakiyama, F. Candotti, and R. M. Blaese. 1999. Gene therapy for severe combined immunodeficiency caused by adenosine deaminase deficiency: improved retroviral vectors for clinical trials. Acta. Haematol. 101:89-96.

Padhy, S., B. Takkar, R. Narayanan, P. Venkatesh, and S. Jalali. 2020. Voretigene, neparvovec and gene therapy for leber's congenital amaurosis: review of evidence to date. Appl. Clin. Genet. 13:179-208.

Philippidis, A. 2022. Novartis confirms deaths of two patients treated with gene therapy Zolgensma. Hum. Gene Ther. 33(17-18):842-844.

Portin, P. and A. Wilkins. 2017. The evolving definition of the term "gene". Genetics. 205:1353-1364.

Prado, D. A., M. Acosta-Acero, and R. S. Maldonado. 2020. Gene therapy beyond luxturna: a new horizon of the treatment for inherited retinal disease. Curr. Opin. Ophthalmol. 31(3):147-154.

Raper, S. E., N. Chirmule, F. S. Lee, N. A. Wivel, A. Bagg, G. P. Gao, J. M. Wilson, M. L. Batshaw. 2003. Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. Mol. Genet. Metab. 80:148-158.

Reilly, A., L. Chehade, and R. Kothary. 2022. Curing SMA: Are we there yet? Gene Ther. https://doi.org/10.1038/s41434-022-00349-y.

Rosenberg, S. A., P. Aebersold, K. Cornetta, A. Kasid, R. A. Morgan, R. Moen, E. M. Karson, M. T. Lotze, J. C. Yang, S. L. Topalian, M. J. Merino, K. Culver, A. D. Miller, R. M. Blaese, and W. F. Anderson. 1990. Gene transfer into humans—immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction. N. Engl. J. Med. 323:570–578.

Sack, B. and R. Herzog. 2009. Evading the immune response upon in vivo gene therapy with viral vectors. Curr. Opin. Mol. Ther. 11:493–503.

Sandor, J. 2022. Genome editing: Learning from its past and envisioning its future. Eur. J. Health Law, 29(3-5):341–358.

Sarvari, R., M. Nouri, S. Agbolaghi, L. Roshangar, A. Sadrhaghighi, A. Seifalian, and P. Keyhanvar. 2022. A summary on non-viral systems for gene delivery based on natural and synthetic polymers. Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater. 71(4):246-265.

Sayed, N., P. Allawadhi, A. Khurana, V. Singh, U. Navik, S. K. Pasumarthi, I. Khurana, A. K. Banothu, R. Weiskirchen, and K. K. Bharani. (2022). Gene therapy: Comprehensive overview and therapeutic applications. Life. Sci. 294:120375.

Secord, E. and N. L. Hartog. 2022. Review of treatment for adenosine deaminase deficiency (ADA) severe combined immunodeficiency (SCID). Ther. Clin. Risk. Manag. 18:939–944.

Seimetz, D., K. Heller, and J. Richter. 2019. Approval of first CAR-Ts: Have we solved all hurdles for ATMPs? Cell. Med. 11:2155179018822781.

Shahryari, A., M. S. Jazi, S. Mohammadi, H. R. Nikoo, Z. Nazari, E. S. Hosseini, I. Burtscher, S. J. Mowla, and H. Lickert. 2019. Development and clinical translation of approved gene therapy products for genetic disorders. Front. Genet. 10:868-881.

Shmakova, A. A., O. P. Shmakova, A. A. Karpukhina, and Y. S. Vassetzky. 2022. CRISPR/Cas: History and Perspectives. Russ. J. Dev. Biol. 53:272–282.

Sung, Y. and S. Kim. 2019. Recent advances in the development of gene delivery systems. Biomater. Res. 23:8.

US FDA. 2017. FDA approval brings first gene therapy to the United States. https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approval-brings-first-gene-therapy-united-states. (Accessed 3 November 2022).

US FDA. 2018. What is gene therapy. https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/what-gene-therapy#:~:text=Gene%20therapy%20is%20a%20technique,that%20is%20not%20functioning%20properly. (Accessed 3 November 2022).

Wang, S., C. Gao, Y.-M. Zheng, L. Yi, J. Lu, X. Huang, J-B. Cai, P-F. Zhang, Y-H. Cui, A.W. Ke. 2022. Current applications and future perspective of CRISPR/Cas9 gene editing in cancer. Mol. Cancer. 21:57-84.

Watson, J. D. and F. H. Crick. 1953. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature. 171:737-738.

Williams, D. A., I. R. Lemischka, D. G. Nathan, and R. C. Mulligan. 1984. Introduction of new

genetic material into pluripotent haematopoietic stem cells of the mouse. Nature. 310:476-480.

Wolff, J. A. and J. Lederberg. 1994. An early history of gene transfer and therapy. Hum. Gene Ther. 5:469-480.

Yahya, E. and A. Alqadhi. 2021. Recent trends in cancer therapy: A review on the current state of gene delivery. Life Sci. 269:119087.

Zhang, H., C. Zhang, J. Wang, Y. Yang, Y. Wei, Z. Zhang, and Y. Wang. 2021. Governance of Emerging Biotechnologies: Lessons from Two Chinese Cases. Am. J. Bioeth. 22(1):56-58.

Zhang, W. W., L. Li, D. Li, J. Liu, X. Li, W. Li, X. Xu, M. J. Zhang, L. A. Chandler, H. Lin, A. Hu, W. Xu, and D. M-K. Lam. (2018). The first approved gene therapy product for cancer Ad-p53 (gendicine): 12 years in the clinic. Hum. Gene Ther. 29:160-179.

Zhao, Z., A. C. Anselmo, and S. Mitragotri. 2022. Viral vector-based gene therapies in the clinic. Bioeng. Transl. Med. 7(1):e10258