บทบรรณาธิการ

Gene Therapy

วินัย สุวัตถี พ.บ., Ph.D.

ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า โรคหลายโรคเกิดจากความผิดปกติของยีน (gene) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่อยู่ใน DNA ของเซลล์ทุกชนิดของร่างกาย ดังนั้นโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมส่วนใหญ่จะสามารถค้นพบความผิดปกติของยีนได้ ซึ่งยีนนั้นอาจแหว่งไป (deletion) หรือทำหน้าที่ผิดปกติไป (dysfunction) ก็ได้ นอกจากนี้โรคที่เกิดขึ้นภายหลัง เช่น โรคมะเร็ง ก็เป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบันแล้วว่าเกิดจากความผิดปกติของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ชนิด somatic cell เช่นเดียวกัน[1] โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเราเริ่มจะมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการกระตุ้น หรือการยับยั้งการทำงานของ oncogenes และ tumor suppressor genes ซึ่งในภาวะปกติทำหน้าที่เกี่ยวกับการผลิต, การเคลื่อนย้ายและการทำหน้าที่ของ growth factors ต่าง ๆ เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ให้อยู่ในเกณฑ์ปกติตลอดเวลา ถ้ามีความผิดปกติในการควบคุมนี้ก็จะเกิดมะเร็งขึ้น เมื่อมีความรู้และมีการพัฒนาเทคนิคต่าง ๆ ทาง molecular biology มากขึ้น ในปัจจุบันเราสามารถรักษาโรคที่มีความผิดปกติของยีนเหล่านี้ให้หายขาดได้โดยการเปลี่ยนถ่ายยีนที่ปกติเข้าไปทดแทนยีนที่ผิดปกติทำให้เซลล์ที่ทำงานผิดปกตินั้นกลับมาทำงานเป็นปกติได้ซึ่งเรียกว่า "Gene therapy"[7,25]

หลักการของ gene therapy ก็คือ แยกเซลล์ต้นตอที่มียีนผิดปกติออกมาแล้ว จึงทำการเปลี่ยนถ่ายยีนซึ่งอาจจะใส่ยีนที่ปกติไปแทนที่ยีนที่ผิดปกติ (homologous recombination) หรือใส่ยีนปกติไปทดแทนยีนที่แหว่งขาดหายไป (gene replacement) ก็ได้แล้วจึงนำเซลล์นั้นกลับคืนไปยังผู้ป่วยอีกครั้งหนึ่ง วิธีการที่นำยีนที่ต้องการเข้าไปในเซลล์เพื่อทดแทนยีนที่ผิดปกตินั้นทำได้ 2 วิธีใหญ่ ๆ คือ[10]

1. Physical methods เป็นการนำเอาส่วนของยีนที่ต้องการเข้าไปในเซลล์โดยผ่านผิวนอกของเซลล์ (cell membrane) และผิวของนิวเคลียส (nuclear membrane) โดยตรงด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น calcium phosphate precipitation, electrocoporation, microinjection, protoplast fusion, liposomal transfer หรือ receptor-mediated delivery ก็ได้ แต่วิธีต่าง ๆ เหล่านี้ได้ผลไม่แน่นอน และไม่สามารถควบคุมปริมาณของยีนที่จะใส่เข้าไปได้ตามที่ต้องการจึงไม่เป็นที่นิยมกัน

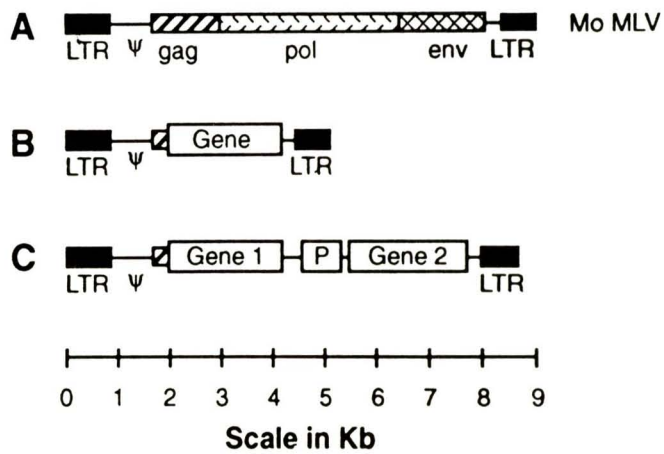
2. Virus mediated method เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย วิธีนี้จะใส่ยีนที่ต้องการเข้าไปในไวรัส แล้วให้ไวรัสนั้น infect เข้าไปในเซลล์ที่มียีนผิดปกติพร้อมกับนำยีนที่ต้องการเข้าไปด้วยเพื่อไปทดแทนยีนที่ผิดปกติได้[9,29] ไวรัสที่นิยมใช้เป็นพาหะนำยีนที่ต้องการเข้าไปคือ retrovirus เนื่องจากไวรัสนี้มีประสิทธิภาพใน

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

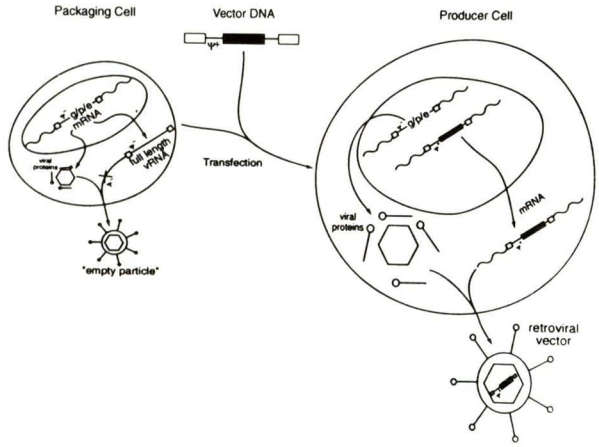
การ infect เซลล์ของมนุษย์ได้เป็นอย่างดี และในตัวไวรัสเองมี proteins ต่าง ๆ ครบถ้วนที่จะช่วยให้ viral genome รวมตัวเข้าไปกับ genome ของเซลล์ที่ถูก infect ได้ดี นอกจากนี้อาจจะใช้ modified adenovirus หรือ herpes simplex virus ก็ได้เนื่องจากไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถ infect เซลล์ของร่างกายได้อย่างจำเพาะเจาะจง เช่น เซลล์เยื่อบุ (epithelial cell)[9] เป็นต้น

Retroviral-mediated gene transfer

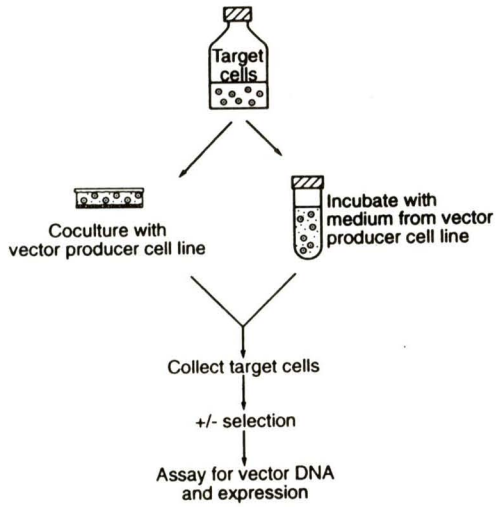
Retrovirus ที่ใช้เป็นพาหะในการเปลี่ยนถ่ายยีนที่นิยมใช้กันมากคือ single-strand RNA virus เช่น Molony murine leukemia virus (MoMLV) โดยนำมาตัดเอา viral genome ออกไปได้แก่ gag, pol และ env genes ซึ่งทำหน้าที่สร้าง structural proteins, เอนไซม์ต่าง ๆ และผนังของตัวไวรัสแล้วจึงใส่ยีนที่ต้องการเข้าไปแทน[15] (รูปที่ 1) ได้เป็นไวรัสที่เป็นพาหะของยีนที่ต้องการได้ แต่ไวรัสตัวนี้ไม่สามารถแบ่งตัวเองเพื่อเพิ่มจำนวนได้ เนื่องจากขาดยีน gag, pol และ env จึงต้องอาศัยเซลล์อื่นที่เรียกว่า "packaging cell line"[19] ซึ่งสามารถสร้าง gag-pol-env sequence ได้ แต่ไม่สามารถสร้าง psi หรือ encapsidation sequence ซึ่งทำหน้าที่รวบรวม mRNA ของไวรัสประกอบเข้าเป็นตัวไวรัสได้สมบูรณ์แต่ไวรัสที่เป็นพาหะของยีนที่ต้องการยังสามารถสร้าง psi หรือ encapsidation sequence ได้[19] ดังนั้นเมื่อใส่ไวรัสที่เป็นพาหะของยีนที่ต้องการเข้าไปใน packaging cell line จะทำให้เซลล์นั้นกลายเป็น "producer cell line" สามารถสร้าง



รูปที่ 1 แสดงการเรียงตัวของยีนในไวรัสที่ใช้เป็นพาหะ ในการเปลี่ยนถ่ายยีน
(A) Retrovirus ที่ได้จาก Moloney murine leukemia virus (MoMLV) (B) Single gene vector (C) Double gene vector. คำย่อ : LTR = long terminal repeat region ทำหน้าที่เป็น viral promotor และ enhancer, ψ = encapsidation sequence, gag = ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ รวมทั้ง reverse transcriptase, env = ยีนที่ควบคุมการสร้าง envelope protein ของตัวไวรัส, Gene = ยีนที่ต้องการสอดใส่เข้าไปใหม่, P = exogenous promotor สำหรับกระตุ้นให้ gene ทำงาน (จาก Cornetta K. Br J Haematol. 1992 ; 80 : 421-6)



รูปที่ 2 การผลิตไวรัสที่ใช้เป็นพาหะในการเปลี่ยนถ่ายยีน เซลล์ทางซ้ายมือเป็น packaging cell line ซึ่งมียีนของไวรัสทุกอย่างยกเว้น encapsidation sequence (ψ-) จึงสามารถสร้าง protein ทุกชนิดของไวรัสได้ครบแต่ไม่สามารถรวบรวม mRNA ของไวรัสประกอบเข้าเป็นตัวไวรัสได้ แต่จะต้องอาศัย vector DNA ที่มียีน (ψ+) อยู่และมียีนที่ต้องการสอดใส่ไว้แล้ว (ตรงกลางส่วนบนของภาพ) ใส่เข้าไปใน packaging cell line จึงจะกลายเป็น producer cell line (เซลล์ทางขวามือ) ซึ่งจะสามารถผลิตไวรัสที่สมบูรณ์ เป็นไวรัสพาหะที่ใช้ในการเปลี่ยนถ่ายยีนได้ (จาก Cornetta K. Br J Haematol. 1992 ; 80 : 421-6)



รูปที่ 3 แสดงวิธีการนำไวรัสที่เป็นพาหะของยีนที่ต้องการเข้าไปใน target cell (Transduction protocol) ซึ่งอาจทำได้ 2 วิธี คือ (1) เพาะเลี้ยง target cell กับ vector producer cell line ไว้ด้วยกัน (ซ้ายมือ) หรือ (2) ใช้ส่วนน้ำจากการเพาะเลี้ยง producer cell line มาใส่ในหลอดที่เพาะเลี้ยง target cells หลังจากนั้นจึงแยก target cell ออกมาทำการคัดเลือกเฉพาะเซลล์ ที่มีผลผลิตจากยีนที่ต้องการต่อไป (จาก Cornetta K. Br J Haematol. 1992 ; 80 : 421-6)

ไวรัสที่เป็นพาหะของยีนที่ต้องการโดยเป็นตัวไวรัสที่สมบูรณ์สามารถแบ่งตัวเองได้ตามปกติ (รูปที่ 2) ขั้นต่อไปในการที่จะให้ไวรัสที่เป็นพาหะของยีนที่ต้องการ infect เข้าไปในเซลล์ที่ต้องการเปลี่ยนยีน (target cell)[29] อาจจะทำได้โดยนำ producer cell line และ target cell มาผสมกันแล้วเพาะเลี้ยงไว้ด้วยกัน หรือนำส่วนน้ำที่เพาะเลี้ยง producer cell line มา incubate กับ target cell ก็ได้[5] (รูปที่ 3)

ถึงแม้ว่า retrovirus จะเป็นพาหะในการนำยีนที่ต้องการเข้าไปในเซลล์ที่นิยมใช้กันมาก แต่ก็มีข้อจำกัดหลายอย่าง ประการแรก ไวรัสนี้มีขนาดเล็ก การสอดใส่ยีนเข้าไปได้อย่างมากไม่เกิน 10 kilobases แต่ยีนของมนุษย์บางอันมีขนาดใหญ่มากจึงไม่สามารถใส่ไปในไวรัสนี้ได้ ประการที่สอง retrovirus จะ infect ได้เฉพาะเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวเท่านั้น เซลล์ที่อยู่ในระยะพักจึงไม่สามารถนำมาเปลี่ยนยีนได้ ประการที่สาม ตัว retrovirus เองมักจะถูกทำลายได้ง่ายในซีรั่มของผู้ป่วยภายในเวลาอันรวดเร็วโดยระบบอิมมูนของร่างกายผู้ป่วย (complement-dependent immune response)[24] ดังนั้นจึงมีผู้ค้นคว้าหาไวรัสที่ใหญ่กว่า เช่น Herpes simplex virus ซึ่งสามารถสอดใส่ยีนที่มีขนาดใหญ่กว่าเข้าไปได้[9] นอกจากนั้น ได้มีวิธีการที่จะให้ไวรัสที่เป็นพาหะนำยีนที่ต้องการไปยังอวัยวะที่มีความผิดปกติได้โดยตรงเช่นใช้ adenovirus และ adeno-associated virus (AAV) มาเป็นพาหะ เนื่องจาก AAV ชอบที่จะ infect เซลล์เยื่อบุต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง AAV บางชนิดมีความจำเพาะเจาะจงต่อเยื่อบุในระบบทางเดินหายใจมาก จึงสามารถนำมาใช้เป็นพาหะในการนำยีนปกติไปที่อวัยวะนี้เพื่อรักษาโรค cystic fibrosis ซึ่งเกิดเนื่องจากการขาด protein ที่สร้างจากเซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจ ทำให้มีการติดเชื้อบ่อย ๆ จนทำให้เนื้อเยื่อของปอดชำรุดเสียหายไป[7]

Gene replacement

ในการนำเอา gene therapy มาใช้รักษาโรคที่มีความผิดปกติของยีนนั้น มีหลักการคัดเลือกโรคที่จะสามารถรักษาได้ด้วยวิธีนี้สำเร็จคือ (1) จะต้องเป็นโรคที่มีอาการรุนแรงคุกคามต่อชีวิต (2) สามารถ clone ยีนที่เป็นต้นเหตุของโรคนี้ได้แล้ว (3) ทราบความผิดปกติที่เกิดจากผลผลิตของยีนนี้แล้วเป็นอย่างดี (4) มีวิธีการที่จะเปลี่ยนถ่ายยีนนี้ได้[5,10] ส่วนใหญ่ของนักวิจัยค้นคว้าจึงมุ่งที่จะรักษาโรคที่เกิดจาก single gene disorders ที่ทราบแน่นอนแล้ว เช่น adenosine deaminase immunodeficiency[6] และธาลัสซีเมีย[27] เป็นต้น ในโรคภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องที่เกิดจากการขาดเอนไซม์ adenosine deaminase (ADA) นั้น ทำการเปลี่ยนถ่ายยีนได้โดยแยก T-cell ออกมาจากผู้ป่วยแล้วนำมาให้ถูก infect โดย retrovirus ที่ได้สอดใส่ยีน ADA ปกติไว้แล้ว รวมทั้งสอดใส่ยีน neomycin-resistance gene เข้าไปด้วยเพื่อใช้เป็น marker ในการติดตามยีนที่เปลี่ยนถ่ายให้ใหม่ โดยเลี้ยง T-cell นี้ไว้ให้เจริญเติบโตในหลอดทดลอง จนกว่า T-cell นี้จะมียีนที่เปลี่ยนถ่ายให้ใหม่มีจำนวนมากพอแล้วจึงนำกลับเข้าไปในตัวผู้ป่วย T-cell เหล่านี้สามารถผลิตเอนไซม์ ADA ได้ตามปกติ ซึ่งปรากฏว่าได้มีการทำ gene therapy ในผู้ป่วยเด็กหญิง 2 รายที่เป็นโรคนี้ได้เป็นผลสำเร็จ ผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันกลับมาเป็นปกติสามารถดำเนินชีวิตอย่างปกติได้[6] แต่ T-cell เหล่านี้มีชีวิตอยู่ในตัวผู้ป่วยเพียงชั่วคราวเท่านั้น ผู้ป่วยจะต้องกลับไปเปลี่ยนถ่ายยีนใน T-cell นี้ทุก 2-3 เดือน ดังนั้นจึงต้องแยก stem cell ของตัวผู้ป่วยออกมาทำการเปลี่ยนถ่ายยีนให้แล้วจึงนำกลับไปในตัวผู้ป่วยใหม่ เพื่อให้ stem cell ที่ปกตินี้สร้าง T-cell ที่ปกติต่อไปผู้ป่วยจึงหายขาดจากโรคนี้ได้[25]

การรักษาโรคมะเร็งด้วย gene therapy

การรักษาโรคมะเร็งที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน คือ การผ่าตัด การฉายแสงรังสีรักษา และการใช้ยาเคมีบำบัด มีข้อจำกัดที่การผ่าตัด และการฉายแสงรังสีรักษา ไม่สามารถรักษามะเร็งที่ได้ลุกลามออกไปนอก

บริเวณที่ทำการผ่าตัดหรือบริเวณที่ได้รับการฉายแสงรังสีรักษาได้ ส่วนการให้ยาเคมีบำบัดไม่สามารถให้ยาในขนาดที่สูงพอที่จะทำลายเซลล์มะเร็งทั้งหมดได้เนื่องจากเซลล์ปกติของร่างกายจะถูกทำลายด้วยรวมทั้งเซลล์มะเร็งสามารถดื้อยาได้ในเวลาต่อมา จึงทำให้การรักษามะเร็งไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร จากความรู้ในระดับโมเลกุลและยีนเกี่ยวกับการเกิดโรคมะเร็ง ซึ่งเกิดจากมีการกระตุ้น oncogenes และ/หรือมีการกด tumor suppressor genes ทำให้การควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ผิดปกติไปจึงเกิดเป็นมะเร็งขึ้น[1] ได้เป็นแนวทางให้มีการนำเอา gene therapy มาใช้สำหรับรักษาโรคมะเร็งให้หายขาดได้ ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี[10,24] ตั้งแต่การสร้าง antisense nucleic acid และ ribozyme ซึ่งเป็นเสมือนหนึ่ง informational drugs ที่ใช้สำหรับควบคุมการทำงานของยีนที่ทำหน้าที่สร้างสารมากระตุ้นให้เซลล์มีการเจริญเติบโตแบ่งตัว จึงเป็นการยับยั้งไม่ให้เซลล์มะเร็งเจริญงอกงามขึ้นมาได้[18], หรือการสอดใส่ยีนที่ทำหน้าที่สร้าง cytokines ต่าง ๆ เข้าไปในเซลล์มะเร็ง[4,8] หรือ lymphocyte เพื่อ ส่งเสริมให้เซลล์มะเร็งถูกทำลายด้วยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมากยิ่งขึ้น[22] หรือการสอดใส่ยีนเข้าไปในเซลล์มะเร็งทำให้เซลล์มะเร็งนั้นถูกฆ่าด้วยยาเคมีบำบัดได้มากขึ้น[11] หรือสอดใส่ยีนเข้าไปในเซลล์ปกติทำให้เซลล์ปกติมีความต้านทานต่อยาเคมีบำบัดเพิ่มขึ้นจึงสามารถให้ยาเคมีบำบัดในขนาดสูงได้ โดยไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ปกติ[14] จนกระทั่งการสอดใส่ยีนโดยเฉพาะอย่างยิ่ง tumor suppressor genes เข้าไปทดแทนยีนที่ขาดหาย ไปในเซลล์มะเร็งทำให้ tumor suppressor genes สามารถทำงานได้ตามปกติ ผู้ป่วยก็จะหายขาดจากมะเร็งได้[16] วิธีการต่าง ๆ เหล่านี้สามารถทำได้ดังนี้[22,24]

1. Antisense agents[3] ปัจจุบันมีการใช้ antisense oligodeoxynucleotides ซึ่งเป็นโมเลกุลของ nucleotides ที่สังเคราะห์ขึ้นมาให้มีคุณสมบัติไปจับกับส่วนของ DNA หรือ RNA ที่เป็น oncogenes ได้อย่างจำเพาะเจาะจง (complementary) ทำให้ oncogenes นั้น ๆ ไม่สามารถทำงานได้ คือ การ transcription หรือ การ translation ของยีนส่วนนั้นถูกกดไว้หมดจึงไม่สามารถไปกระตุ้นเซลล์มะเร็งให้เจริญงอกงามได้ ตัวอย่าง เช่น การสังเคราะห์ antisense oligodeoxynucleotides ความยาวเพียง 21 base pairs ให้ไปจับกับ abnormal c-myc gene ในเซลล์ของ Burkitt's lymphoma[18] สามารถลดการสร้าง c-myc protein และยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ Burkitt's lymphoma ได้ทำนองเดียวกันได้มีผู้สังเคราะห์ antisense oligodeoxynucleotides ต่อ N-myc gene ใน neuroblastoma[28], c-myb ใน colon adenocarcinoma[17], bcr-abl ใน chronic myeloid leukemia, และ c-raf 1 ใน raf-transformed NIH3T3 cells[18] เป็นต้น การสังเคราะห์ antisense oligonucleotides ต่อ mRNA ทำได้ง่ายกว่าที่จะให้ไปจับกับ DNA เนื่องจาก mRNA มีอยู่ใน cytoplasm ของเซลล์แต่อาจจะสังเคราะห์ antisense oligonucleotide ให้ไปจับกับส่วนใดส่วนหนึ่ง (major groove) ของ DNA ทำให้เกิดเป็น triple helix ขึ้น ยีนที่อยู่บริเวณนั้นก็ไม่สามารถทำหน้าที่ transcription ได้ ข้อเสียอีกอย่างหนึ่งของวิธีการนี้ก็คือ oligonucleotide เหล่านี้เมื่อให้เข้าไปในเซลล์แล้วจะถูกทำลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์ nucleases จึงต้องดัดแปลงรูปร่างของโมเลกุล ให้เป็น α- oligodeoxynucleotides จึงจะมีสภาวะคงทนมากขึ้น[3]

2. Genetic immunomodulation[23] เซลล์มะเร็งเป็นสิ่งแปลกปลอมของร่างกายจึงถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย แต่ในผู้ป่วยมะเร็งส่วนใหญ่มีระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอไม่สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งได้ดี ดังนั้นจึงมีผู้พยายามสอดใส่ยีนที่สร้าง cytokines ต่าง ๆ เช่น ยีนที่สร้าง tumor necrosis factor (TNF) เข้าไปใน lymphocyte ที่แทรกตัวอยู่รอบ ๆ ก้อนมะเร็ง (tumor-infiltrating lymphocyte-TIL)[22] แล้วจึงใส่ lymphocyte นั้นเข้าไปในตัวผู้ป่วยใหม่ ปรากฏว่าจากการรักษาผู้ป่วย melanoma 50 ราย

ด้วยวิธีนี้สามารถแสดงให้เห็นว่า การรักษาด้วย TIL ได้ผลถึงร้อยละ 30 ของผู้ป่วยทั้งหมด[21] อีกวิธีหนึ่งของการรักษามะเร็งก็คือ การทำให้เซลล์มะเร็งมีแอนติเจนเพิ่มขึ้นจะได้ถูกทำลายด้วยระบบอิมมูนของร่างกายได้ดีขึ้น[26] ทั้งนี้เนื่องจากพบว่าเซลล์มะเร็งส่วนใหญ่มี major histocompatibility (MHC) class I น้อยหรือผิดปกติ ไปดังนั้นจึงมีผู้พยายามสอดใส่ยีนที่สร้าง MHC class I เข้าไปในเซลล์มะเร็งในผู้ป่วย lymphoma, sarcoma และ melanoma เพื่อให้เซลล์มะเร็งมีแอนติเจน MHC class I ที่ผิวของเซลล์มากขึ้นปรากฏว่า สามารถทำให้ผู้ป่วยมี remission ได้ถึงแม้ว่าผู้ป่วยนั้นโรคได้แพร่กระจายไปมากแล้ว[13]

3. Drug targeting ปัญหาสำคัญของการใช้ยาเคมีบำบัดในโรคมะเร็งก็คือ การที่จะให้ยาฆ่าเฉพาะเซลล์มะเร็งแต่ไม่ทำลายเซลล์ปกติแต่อาจจะใช้วิธีการทาง gene therapy มาช่วยให้ยาเคมีบำบัดเลือกออกฤทธิ์โดยตรงต่อเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งเรียกว่า virally directed enzyme-prodrug therapy (VDEPT)[10,11], หลักการของวิธีการนี้ก็คือสร้างยีนลูกผสม (chimeric gene) ขึ้นมาซึ่งประกอบด้วยยีนที่ได้มาจากเซลล์มะเร็งทำหน้าที่เป็น promotor gene ผสมกับยีนที่สร้างเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนยาเคมีบำบัดที่ยังไม่ออกฤทธิ์ (non toxic prodrug) ให้เป็นยาเคมีบำบัดที่ออกฤทธิ์ได้ (cytotoxic drug) เมื่อสอดใส่ยีนลูกผสมนี้เข้าไปในเซลล์ของร่างกายผู้ป่วย หากเข้าไปในเซลล์มะเร็งยีนของเซลล์มะเร็งจะทำหน้าที่กระตุ้นให้ยีนที่สร้างเอนไซม์ทำงาน ผลิตเอนไซม์มาเปลี่ยนยา prodrug ให้เป็น cytotoxic drug ได้ แต่หากเป็นเซลล์ปกติไม่สามารถกระตุ้นยีนที่สร้างเอนไซม์ได้ เซลล์ปกตินั้นจึงได้รับแต่ prodrug ที่ไม่มีอันตรายจึงรอดพ้นจากการทำลายของยาเคมีบำบัดได้ ตัวอย่างเช่น ในการรักษา hepatocellular carcinoma โดยการสอดใส่ยีน herpes simplex thymidine kinase gene ผสมกับ α- fetoprotein promotor เข้าไปใน retrovirus ให้เป็นพาหะเข้าไปในเซลล์ของตับ[11] ยีนนี้จะทำงานได้หลังจากถูกกระตุ้นด้วยยีน α- fetoprotein ซึ่งมีอยู่ในเซลล์มะเร็งตับเท่านั้น แต่ในเซลล์ตับปกติจะไม่ถูกกระตุ้นเอนไซม์ thymidine kinase จึงถูกสร้างขึ้นมาเฉพาะในเซลล์ตับที่เป็นมะเร็ง ซึ่งจะเปลี่ยน prodrug 6-methoxypurine arabinoside (Ara-M) ซึ่งไม่มีอันตรายต่อเซลล์ตับปกติ ให้เป็น phosphates Ara AMP, ADP และ ATP ซึ่งเป็น potent cytotoxic drug จึงมีผลทำลายเฉพาะเซลล์ตับที่เป็นมะเร็ง

4. Gene replacement therapy ในเซลล์มะเร็งที่พบว่ามี oncogenes ที่ทำหน้าที่ผิดปกติไป หรือขาด tumor-suppressor gene ก็อาจจะใช้การรักษาโดยสอดใส่ยีนที่ปกติเข้าไปแทนได้[10] จากการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่าการเปลี่ยนแปลงยีนบางอันในเซลล์มะเร็งสามารถเปลี่ยนรูปร่าง, ลักษณะ และความรุนแรงของเซลล์มะเร็งลงได้ เช่น ras, rap 1A, และ c-jun เป็นต้น[24] ยีนบางตัว เช่น mm23 สามารถยับยั้งความสามารถของการแพร่กระจาย (metastasis potential) ของเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์ มะเร็งจาก colorectal cancer ได้[10] หรือยีน wild type p 53 (WT p 53) ซึ่งเป็น tumor-suppressor gene เมื่อสอดใส่เข้าไปในเซลล์มะเร็งจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลายชนิดได้[16] หรือ retinoblastoma (RB) gene ซึ่งเป็น tumor-suppressor gene ที่ขาดหายไปในผู้ป่วย retinoblastoma รวมทั้งในผู้ป่วยบางรายของ breast cancer, osteosarcoma และ prostate carcinoma เมื่อสอดใส่ RB gene เข้าไปในเซลล์จากมะเร็งเหล่านี้จะกดการเจริญเติบโต และลดความรุนแรงในการแพร่ กระจายของเซลล์มะเร็งได้[12]

ข้อจำกัดในการรักษาโรคมะเร็งด้วย gene replacement therapy คือ ถ้าต้องการสอดใส่ยีนปกติเข้าไปแทนยีนที่ผิดปกติหรือ ยีนที่ขาดหายไป เช่น tumor-suppressor gene จำเป็นต้องสอดใส่ยีนนี้เข้าไปในเซลล์มะเร็งทุกเซลล์ หากมีเซลล์มะเร็งที่ยังไม่ได้เปลี่ยนแปลงยีนหลงเหลืออยู่ เซลล์มะเร็งนั้นก็จะเจริญเติบโตแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นต่อไปจนกลายเป็นมะเร็ง

ขึ้นมาอีกได้ การรักษาก็ไม่ได้ผล[10,24] แต่อย่างไรก็ตาม นักวิจัยก็มิได้ย่อท้อ ยังคงพยายามต่อไปในการรักษามะเร็งด้วยวิธีนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว และ มะเร็งปอด

ปัญหาทางจริยธรรม

การรักษาโรคด้วย gene therapy มีวิธีการใหญ่ ๆ อยู่ 2 วิธีคือ การสอดใส่ยีนใหม่เข้าไปใน somatic cells ซึ่งได้แก่เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายที่ไม่ใช่ germ cells วิธีนี้มีปัญหาทางจริยธรรมน้อยเพราะหลักการจะเหมือนกับการปลูกถ่ายอวัยวะธรรมดา หากมีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ทางพันธุกรรมย่อมมีอยู่แต่เฉพาะเซลล์ของร่างกายของผู้ป่วยที่ได้รับการสอดใส่ยีนให้ใหม่เท่านั้น[2] การสอดใส่ยีนใหม่เข้าไปใน germ cells เช่น ในไข่ที่ได้รับการผสมและกำลังฟักตัวเซลล์ทุกชนิดของร่างกายทั้งใน somatic cells และ germ cells จะมียีนที่เปลี่ยนให้ใหม่ ซึ่งจะต้องมีผลถ่ายทอดไปจนถึงชั้นลูกชั้นหลานต่อไป จึงมีผลกระทบต่อทางจริยธรรมเป็นอย่างมาก

ดังนั้นในการรักษาโรคด้วย gene therapy จำเป็นต้องมีวิธีเลือก target cell มาทำการเปลี่ยนถ่ายยีนให้ใหม่อย่างเหมาะสม, และหาพาหะ (vector) ที่ปลอดภัยแต่มีประสิทธิภาพในการนำยีนใหม่เข้าไปในเซลล์ที่ต้องการ[5] นอกจากนี้จะต้องมีหลักฐานการวิจัยอย่างแน่ชัดในสัตว์ทดลองแล้วว่ายีนที่ทำการสอดใส่เข้าไปใหม่นั้นสามารถทำงานได้เป็นปกติเป็นเวลานานสามารถแก้ไขความผิดปกติของผู้ป่วยได้ และที่สำคัญก็คือไม่มีผลเสีย หรือมีอันตรายต่อตัวผู้ป่วยแต่อย่างใด

เอกสารอ้างอิง

1. Bishops JM. Molecular themes in oncogenesis. Cell 1991 ; 64 : 235-48.
2. Brenner MK, Rill DR, Moen RC, et al. Gene-marking to trace origin of relapse after autologous bone marrow transplantation. Lancet 1993 ; 341 : 85-6.
3. Carter CT, Lemoine NR. Antisense technology for cancer therapy : dose it make sense ? Br J Cancer 1993 ; 67 : 869-76.
4. Colombo MP, Ferrari G, Stoppacciaro A, et al. Granulocyte colony-stimulating factor gene transfer suppresses tumorigenicity of a murine adenocarcinoma in vivo. J Exp Med. 1991 ; 173 : 889-97.
5. Cornetta K. Safety aspects of gene therapy. Br J Haematol. 1992 ; 421-6.
6. Culver KW, Osborne WRA, Miller AD, et al. Correction of ADA deficiency in human T lymphocytes using retroviral-mediated gene transfer. Transplantation Proc. 1991 ; 23 : 170-1.
7. Friedman T. Progress towards gene therapy. Science 1989 ; 244 : 1275-80.
8. Gansbacher B, Bannerji R, Daniel B, et al. Retroviral vector-mediated &-interferon gene transfer into tumor cells generates potent and long lasting antitumor immunity. Cancer Res. 1990 ; 50 : 7820-5.
9. Geller AI, Keyomarsi K, Bryan J, et al. An efficient deletion mutant packaging system for defective herpes simplex virus vectors : potential application to human gene therapy and neuronal physiology. Proc Natl Acad Sci USA. 1990 ; 87 : 8950-4.
10. Gutierrez AA, Lemoine NR, Sikora K. Gene therapy for cancer. Lancet 1992 ; 715-21.
11. Huber BE, Richards CA, Krenitsky TA. Retroviral mediated gene therapy for the treatment of hepatocellular carcinoma : an innovative approach for cancer therapy. Proc Natl Acad Sci USA. 1991 ; 88 : 8039-43.
12. Huang HJS, Yee JK, Shew JY, et al. Suppression of the neoplastic phenotype by replacement of the RB gene in human cancer cells. Science 1988 ; 242 : 1563-6.
13. Kawakami Y, Zakut R, Topalian SL, et al. Shared human melanoma antigens : recognition by tumor-infiltrating lymphocytes in HLA-A 2.1 transfected melanoma. J Immunol. 1992 ; 148 : 638-43.
14. Keith WN, Brown R, Pragnell IB. Retrovirus mediated transfer and expression of GM-CSF in hemopoietic cells. Br J Cancer 1990 ; 62 : 388-94.
15. Kohn DB, Kantoff PW, Rglitis MA, et al.

Retroviral mediated gene transfer into mammalian cells. Blood 1987 ; 13 : 285-98.
16. Mercer WE, Shields MT, Lin D, et al. Growth suppression induced by wild-type P 53 protein is accompanied by selective down-regulation of proliferating-cell nuclear antigen expression. Proc Natl Acad Sci USA. 1991 ; 88 : 1958-62.
17. Melani C, Rivoltini L, Parmiani G, et al. Inhibition of proliferation by c-myb antisense oligodeoxynucleotides in colon adenocarcinoma cell lines that express c-myb. Cancer Res. 1991 ; 51 : 2897-901.
18. Mc Manaway ME, Neckers LM, Loke SL, et al. Tumour-specific inhibition of lymphoma growth by an antisense oligodeoxynucleotides. Lancet 1990 ; 335 : 808-11.
19. Miller AD. Retrovirus packaging cells Human Gene Ther. 1990 ; 1 : 5-14.
20. Motulsky AG. Impact of genetic manipulation on society and medicine. Science 1983 ; 219 : 135-40.
21. Rosenberg SA, Aebersold P, Cornetta K, et al. Gene transfer into humans : immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by viral gene transduction N Eng J Med. 1990 ; 323 : 570-8.
22. Rosenberg SA. Gene therapy of cancer. JAMA 1992 ; 268 : 2416-9.
23. Rosenberg SA. The immunotherapy and gene therapy of cancer. J Clin Oncol 1992 ; 10 : 180-99.
24. Sikora K. Gene therapy for cancer : several routes seem promissing. Adv Oncol. 1993 ; 9 : 3-6.
25. Thompson L. At age 2, gene therapy enters a growth phase. Science 1992 ; 258 : 744-6.
26. Van der Bruggen P, Traversari C, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Science 1991 ; 254 : 1643-7.
27. Weatherall DJ. Gene therapy in perspective. Nature 1991 ; 349 : 255-76.
28. Whitesell L, Rosolen A, Neckers Lm. Episome-generated N-myc antisense RNA restricts the differentiation potential of primitive neuroectodermal cell lines. Mol Cell Biol 1991 ; 11 : 1360-70.
29. Wu Ch, Wilson JM, Wu Gy. Targeting genes : delivery and persistent expression of a foreign gene driven by mammalian regulatory elements in vivo. J Biol Chem. 1989 ; 264 : 1685-7.