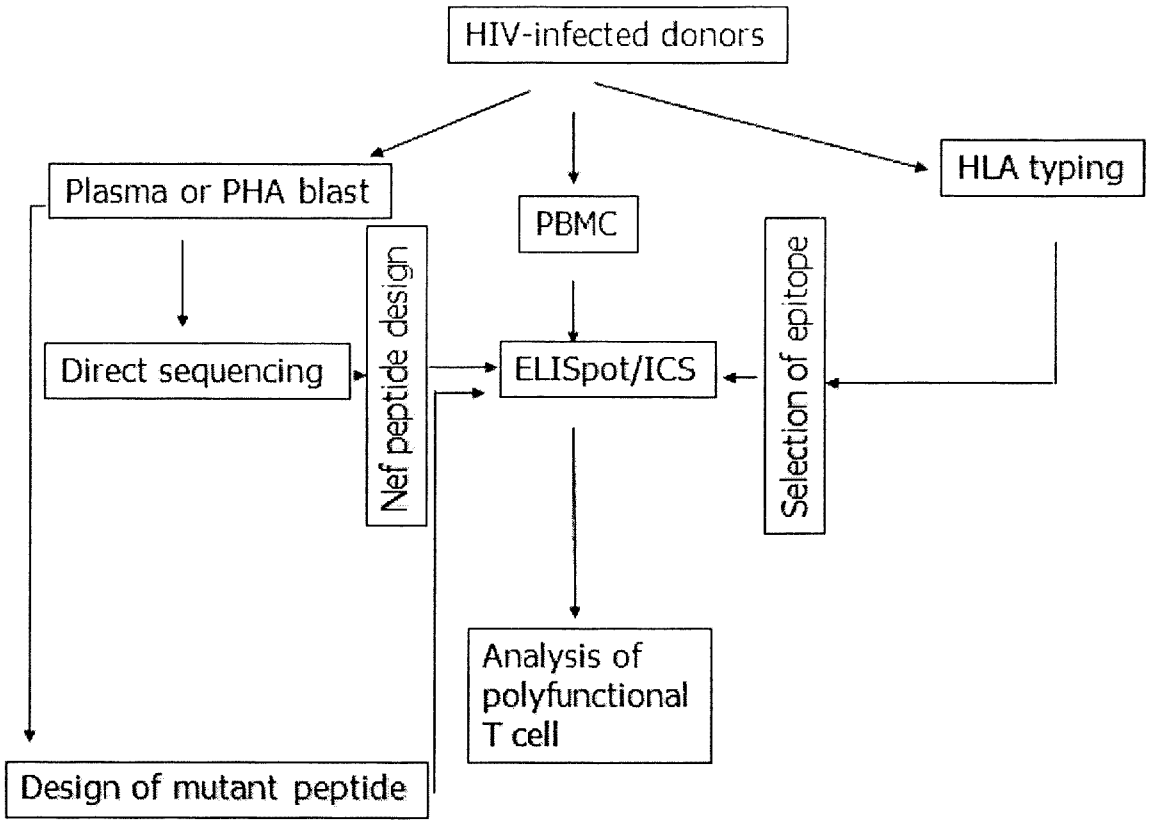
แผนภูมิแนวคิดการทำวิจัย



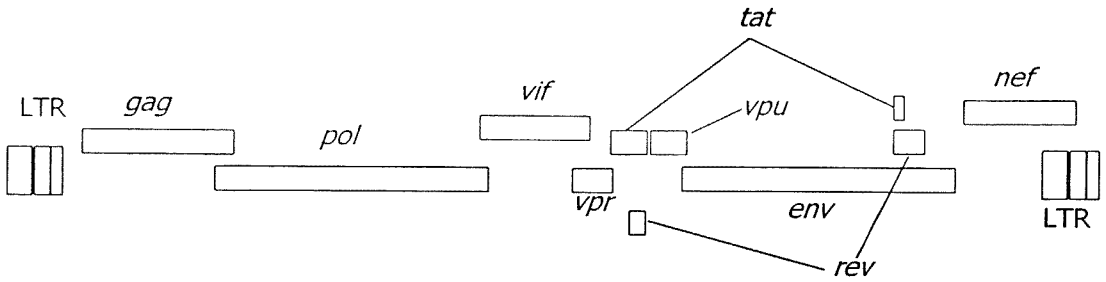
<u>บททบทวนวรรณกรรม</u>

HIV เป็นสมาชิกของไวรัสใน Genus Lentivirus ซึ่งอยู่ใน Family Retroviridae ไวรัสชนิดนี้มีพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยวสองเส้น HIV เป็น enveloped virus ที่มี glycoprotein spikes (gp160) ที่มีบทบาทสำคัญในการเข้าสู่เซลล์ของไวรัส สมาชิกของ Lentivirus นอกจาก HIV แล้วยังมี Simian Immunodeficiency Virus (SIV) ซึ่งเป็นไวรัสพบใน primate รวมทั้งสิ้น ๒๖ สายพันธุ์ อาทิ SIVagm (SIV ใน African Green Monkey) เป็นต้น SIV ใน host ตามธรรมชาติเหล่านี้ จะไม่ก่อโรคใดๆ แต่สามารถก่อโรคที่มีอาการคล้ายโรคเอดส์ได้ในลิงแสม (Rhesus macaques) ซึ่งเป็นลิงประจำถิ่นของทวีปเอเชีย[6] นอกจากนี้ นักวิทยาศาสตร์ยังเชื่ออีกว่า SIVcpz หรือ SIVที่มาจากชิมแปนซี (Pan troglodytes troglodytes)

เป็นต้นกำเนิดของ HIV-1 ที่ระบาดในมนุษย์ [7] ส่วน HIV-2 อาจจะมาจากเชื้อ SIVsm (SIV ที่มาจากลิง Sooty mangabey (Cercocebus atys)) [8]

HIV สามารถแบ่งได้เป็น ๒ ชนิดใหญ่ๆ ได้แก่ HIV-1 ที่ระบาดอยู่ทั่วโลกในขณะนี้ และ HIV-2 ซึ่งมีการระบาดส่วนใหญ่อยู่ในทวีปอัฟริกา HIV-1 สามารถแบ่งออกเป็น ๓ กลุ่มได้แก่ Major group (M), Outlier group (O) และ Non-M, non-O group (N) การระบาดในขณะนี้มาจาก group M เป็นส่วนใหญ่ นักวิทยาศาสตร์ได้แบ่งกลุ่ม HIV-1 ใน group M ตามความใกล้เคียงกันของ nucleotide sequence เรียกกลุ่มย่อยๆนี้ว่า subtype หรือ clade แต่ถ้า HIV-1 สายพันธุ์ใดที่มีลักษณะของไวรัสมากกว่าหนึ่ง subtype เรียกไวรัสสายพันธุ์นี้ว่าเป็น Circulating Recombinant Form (CRF) ตัวอย่างของ CRF ได้แก่ HIV-1 สายพันธุ์ที่ระบาดแพร่หลายมากที่สุดในประเทศไทย ซึ่งแต่เดิมถูกจัดอยู่ใน subtype E แต่ต่อมาพบว่าไวรัสชนิดนี้เป็นไวรัสลูกผสมระหว่าง subtype A และ subtype E จึงได้ตั้งชื่อใหม่เป็น CRF01_AE [9]เป็นต้น นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์ยังพบว่ายังมี HIV ลูกผสมระหว่างสายพันธุ์ CRF01_AE และ subtype B ซึ่งได้ตั้งชื่อว่า CRF15_01B[10] HIVบางสายพันธุ์เป็นลูกผสมของสายพันธุ์ต่างๆมากกว่าหรือเท่ากับ ๔ สายพันธุ์ขึ้นไป หรือที่เรียกว่าเป็น mosaic viruses จะใช้คำต่อว่า cpx ซึ่งหมายถึง complex เช่น subtype I ซึ่งปัจจุบันพบว่าเป็นสายพันธุ์ลูกผสมแบบ mosaic จึงตั้งชื่อใหม่ว่าเป็น CRF04-cpx เป็นต้น

HIV-1 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ ๑๐๐ ถึง ๑๕๐ นาโนเมตร และมีขนาดของ genome ประมาณ ๑๐ กิโลเบสซึ่งมี long-terminal repeats (LTRs) ขนาบอยู่สองข้าง HIV-1 มียีนหลักอยู่สามชนิดได้แก่ gag (ซึ่งถอดรหัสให้โครงสร้างของไวรัส) pol (ซึ่งถอดรหัสให้ enzyme ของไวรัส) และ env (ซึ่งถอดรหัสให้ไกลโคโปรตีนของ envelope) นอกจากนี้แล้ว HIV-1 ยังมียีนอีก ๖ ชนิดที่เป็น regulatory และ accessory genes ได้แก่ vif, vpr, tat, rev, nef และ vpu (รูปที่ ๑)



รูปที่ ๑ Genomic organization of HIV-1

โครงสร้างของ HIV-1 ส่วนใหญ่ได้มาจากการถอดรหัสของยีน gag ซึ่งตอนแรกจะได้เป็นโปรตีนตั้งต้น (precursor protein) ขนาดใหญ่ (pr55) หลังจากนั้นจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ protease ของไวรัสได้เป็นโปรตีนชนิดเล็กลง เช่น Matrix (MA, p17), Capsid (CA, p24) และ Nucleocapsid (NC, p7) matrix เป็นโปรตีนที่อยู่ผิวด้านในของ envelope และทำหน้าที่ในการชักนำให้เกิดการหุ้ม virion ของ HIV-1 ด้วย envelope ในกระบวนการเพิ่มจำนวนของไวรัสก่อนที่จะออกนอกเซลล์ นอกจากนี้ matrix ยังมีส่วนร่วมในกระบวนการนำ viral preintegration complex เข้าสู่นิวเคลียสของเซลล์อีกด้วย ส่วน viral capsid (p24) นั้นเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของแกนกลาง (core) ของ HIV-1 ส่วน nucleocapsid (p7) เป็น RNA binding protein และมีหน้าที่ในการบรรจุ RNA ของไวรัสเข้าสู่ virion

เอนไซม์ของไวรัสก็ถูกสร้างมาโดยการย่อยสลายโปรตีนตั้งต้นเช่นกัน โดยระหว่างการสร้างโปรตีนของ HIV-1 นั้นบางครั้งจะเกิดการสร้างโปรตีนของ gag และ pol เชื่อมกันเป็นโปรตีนขนาดใหญ่ เรียกว่า gag-pol precursor protein ซึ่งจะถูกย่อยสลายโดย viral protease ได้เป็น โปรตีน gag และเอนไซม์ของไวรัสได้แก่ protease (p11), reverse transcriptase (RT)/RNase H (p66/p51) และ Integrase (p32)

โปรตีนของไวรัสที่ได้จากการถอดรหัสของยีน env นั้น จะถูกสังเคราะห์ขึ้นใน endoplasmic reticulum (ER) ได้เป็น polypeptide ที่มีขนาด ๘๘ กิโลดาลตัน และผ่านกระบวนการ glycosylation ที่ ER และ golgi network ได้เป็นไกลโคโปรตีน gp160 ซึ่งมีขนาด ๑๖๐ กิโลดาลตัน ซึ่งภายหลังจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ของเซลล์ได้เป็น ๒ ส่วนได้แก่ gp41 ซึ่งเป็น transmembrane subunit และ gp120 ซึ่งเป็น surface subunit แต่ทั้งสองส่วนยังคงเชื่อมต่อกัน และถูกนำเข้าไปแทรกใน envelope ของไวรัสซึ่งกระบวนการนี้อาศัยปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุล ๒ ชนิดได้แก่ matrix protein และ cytoplasmic domain ของ gp41 ไกลโคโปรตีนนี้จะมีการประกอบกันเป็น trimers และมีลักษณะเป็น spike อยู่บนผิวของ virion โดยมีจำนวน spike ประมาณ ๗๒ spikes ต่อหนึ่ง virion

สำหรับยีนอีก ๖ ชนิดนั้น มียีนอยู่สองชนิดที่มีความจำเป็นสำหรับการเพิ่มจำนวนของไวรัสได้แก่ tat และ rev แต่ยีนอีกสี่ชนิดนั้น (vif, vpr, vpu และ nef) ในบางกรณีไม่จำเป็นสำหรับการเพิ่มจำนวนของไวรัสในหลอดทดลอง ดังนั้นบางทีจึงเรียกว่า accessory genes แต่อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่า ยีนทั้ง ๖ ชนิดนี้มีความสำคัญมากกว่าที่เคยคิดมาในอดีต

แอนติบอดีที่มีบทบาทสำคัญในการป้องกัน และควบคุมการติดเชื้อไวรัสได้แก่ neutralising antibody ซึ่งในกรณีของ HIV นั้นตำแหน่งที่ neutralising antibodies ไปจับมีอยู่สามตำแหน่งได้แก่ CD4-binding site ซึ่งอยู่บริเวณ V3-loop ของ gp120, co-receptor binding site และ gp41 แต่อย่างไรก็ตามการทำงานของแอนติบอดีต่อ HIV นั้นดูเหมือนว่าจะมีปัญหาในการทำหน้าที่ตามปกติ เนื่องจากนักวิทยาศาสตร์ได้พบว่าแอนติบอดีจากผู้ติดเชื้อ HIV มีคุณสมบัติในการ neutralisation เชื้อ HIV ที่เป็น primary isolate ได้ไม่ดี[11-13] และยิ่งไปกว่านั้น แอนติบอดีส่วนใหญ่ที่สร้างขึ้นเมื่อมีการติดเชื้อ HIV เป็น non-neutralizing antibodies ซึ่งจับกับ virion debris[14] และยังพบอีกว่าแอนติบอดีดังกล่าวอาจจะมีบทบาทน้อยมาก ในการควบคุมการติดเชื้อในระยะ primary infection โดยจะเห็นได้จากว่า การลดลงของปริมาณไวรัสในระยะ primary infection เกิดขึ้นก่อนมี neutralising antibodies เสียอีก[14] และที่สำคัญ neutralising

antibodies เหล่านี้ส่วนใหญ่มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ค่อนข้างสูง มี neutralising antibodies อยู่เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่มีความสามารถในการ neutralisation ข้ามสายพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในขณะที่ยังมีข้อสงสัยอยู่ว่าแอนติบอดีจะมีประสิทธิภาพเพียงใดในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อ HIV นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าภูมิคุ้มกันผ่านเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง cytotoxic T-lymphocyte (CTL) อาจจะมีบทบาทสำคัญกว่า โดยมีหลักฐานว่าในระยะ primary infection นั้น ปริมาณไวรัสในเลือดลดลงสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ CTL [15] ซึ่งอาจจะเป็นหลักฐานว่า CTL สามารถควบคุมการติดเชื้อ HIV อย่างน้อยที่สุดในช่วงแรก นอกจากนี้ยังพบอีกว่ามีความสัมพันธ์เชิงผกผันระหว่างปริมาณ HIV ในเลือด และจำนวน HIV-specific T cells ในระยะ chronic infection [16] ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อวิเคราะห์การตอบสนองของภูมิคุ้มกันในผู้ติดเชื้อ HIV ที่มีการดำเนินโรคที่ดี (Long-term slow progressor) จะพบว่าการตอบสนองของ CTL ต่อโปรตีนบางชนิดของ HIV มีบทบาทสำคัญที่ทำให้ผู้ติดเชื้อในกลุ่มนี้มีการดำเนินโรคที่ดีกว่าคนทั่วไป [17] ไม่เพียงแต่หลักฐานในผู้ที่ติดเชื้อเท่านั้น CTL ยังมีบทบาทในการป้องกันการติดเชื้อผู้ที่สัมผัสเชื้อแต่ไม่ติด (Highly-exposed persistently seronegative persons, HEPS) อีกด้วย [18-21] ด้วยหลักฐานดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ผู้เชี่ยวชาญในการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อ HIV ในปัจจุบันจึงมีแนวคิดว่าควรจะพัฒนาวัคซีนที่มีองค์ประกอบหลักในการกระตุ้น CTL ต่อโปรตีนของ HIV

ถึงแม้ว่า CTL จะมีบทบาทสำคัญในการควบคุม HIV แต่ไวรัสชนิดนี้มีความสามารถในการกลายพันธุ์หลบหลีกภูมิคุ้มกัน และในบางกรณีปรากฏการณ์ในลักษณะนี้นำไปสู่การดำเนินโรคที่เลวร้ายลง[22] และไวรัสกลายพันธุ์ดังกล่าวในกรณีที่มารดาติดเชื้อ HIV สามารถถ่ายทอดไปสู่ลูกได้ [23] อย่างไรก็ตาม การหลบหลีกจาก CTL นี้ อาจจะไม่ได้เกิดขึ้นในทุกกรณี โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อ epitope อยู่ในบริเวณที่มีความสำคัญต่อโครงสร้างของ HIV [4] Kellerher และคณะได้แสดงให้เห็นว่า epitope เส้นหนึ่งที่อยู่บริเวณ p24 (capsid) และ restricted ผ่าน HLA-B*2705 ถึงแม้ว่าจะเป็น immunodominant epitope แต่การกลายพันธุ์เกิดขึ้นได้น้อยมาก เนื่องจากบริเวณดังกล่าวเป็นส่วนสำคัญใน