แบบสรุปย่อการวิจัย

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

1.1 ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การพัฒนาเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดบำบัดและยีนบำบัดเพื่อรักษาภาวะโลหิตจางในโรคไตวายเรื้อรัง

(ภาษาอังกฤษ) Development of Gene Therapy Technology for Treatment of Anemia in Chronic Kidney Disease

1.2 คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

(ภาษาไทย) นายแพทย์ ดร. ชวบูลย์ เดชสุขุม

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Chavaboon Dechsukhum, M.D.

สถานที่ติดต่อ สาขาวิชาพยาธิวิทยา สำนักวิชาแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 0-4422 3947, โทรสาร 0-4422 3920
e-mail. chavaboon@sut.ac.th

ผู้ร่วมโครงการ

(ภาษาไทย) ผศ. ทนพญ. ดร. วิไลรัตน์ ลี้อนันต์ศักดิ์ศิริ

(ภาษาอังกฤษ) Asst. Prof. Dr. Wilairat Leeanansaksiri

สถานที่ติดต่อ สาขาวิชาจุลชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์
111 ถ. มหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 0-4422 4628 โทรสาร 0-4422 4633
e-mail: wilairat@sut.ac.th

1.3 งบประมาณ และระยะเวลาการทำวิจัย

ได้รับงบประมาณประจำปี 2552 จำนวน 992,000 บาท

ระยะเวลาทำวิจัย 2 ปี เริ่มทำการวิจัยเมื่อ 23 เมษายน 2552 ถึง 22 เมษายน 2554

(ทั้งนี้รายงานวิจัยนี้เป็นผลการทำวิจัยในช่วง 1 ปีแรก)

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

โรคไตวายเรื้อรัง (chronic renal failure) นับเป็นโรคที่ต้องใช้งบประมาณในการรักษาสูงมากและเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญทั้งในระดับประเทศและระดับโลก โดยมีอุบัติการณ์ของโรคดังกล่าวในประเทศไทยโดยเฉลี่ย 123 คน ต่อประชากร 1,000,000 คนและสูงสุดที่ประเทศไต้หวัน โดยเฉลี่ย 376 คน ต่อประชากร 1,000,000 คน ตามผลสำรวจของสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทยและ RDS ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี 2004 ซึ่งโรคนี้นับเป็นโรคที่ยากต่อการรักษาให้หายขาดและมีค่ารักษาที่สูงมาก ข้อมูลทางสถิติของโรคไตวายในประเทศไทยนั้นพบว่ามีสาเหตุส่วนใหญ่ เกิดจาก glomerulonephritis ร้อยละ 51.61 จากเบาหวาน ร้อยละ 20.72 ความดันโลหิตสูงร้อยละ 15.22 โรคนิ่วร้อยละ 1.44 และจากสาเหตุอื่น ๆ ร้อยละ 11.01 โดยมีผู้ป่วยส่วนใหญ่ ต้องได้รับการรักษาโดย การฟอกเลือด ในแบบ hemodialysis หรือ peritoneal dialysis รวมถึงการทำ kidney transplantation ผู้ป่วยเหล่านี้ จำเป็นต้องได้รับการดูแลที่ดี เพื่อป้องกันภาวะข้างเคียงอื่น ๆ ดังกล่าวแล้ว เพื่อให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดี และมีอัตราการตายที่น้อยลง

ภาวะซีด (Anemia) ถือเป็นภาวะที่สำคัญที่พบในผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง (chronic renal failure) ซึ่งส่งผลกระทบให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยลดลงเป็นอย่างมากและเป็นสาเหตุของการเกิดอาการข้างเคียงอื่นตามมาเพิ่มขึ้น เช่น โรคหัวใจ เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในผู้ป่วยโรคไตวาย

การใช้วิธีรักษาในแบบ gene therapy นับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาภาวะซีดในผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง โดยมีหลักการคือ ใช้ vector ที่อาจเป็น viral หรือ non – viral vector เพื่อนำพาส่วนของยีนที่สร้างโปรตีนที่เราต้องการ เข้าสู่เซลล์ของผู้ป่วย เพื่อให้เซลล์สามารถสร้างโปรตีนในร่างกายผู้ป่วยในระดับที่มากพอ เพื่อให้ผลในการรักษา วิธีนี้จะมีผลดีกว่าการฉีด recombinant protein หลายประการ เช่น ทำให้ได้โปรตีนที่มีโครงสร้างเหมือนกับโปรตีนปกติที่พบในร่างกายมนุษย์ มีระดับโปรตีนที่คงที่กว่า ทำให้มีผลการรักษาที่ดี มีค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่ามาก และไม่ต้องฉีดโปรตีนเข้าร่างกายบ่อย ๆ ทำให้มีความสะดวกในการดูแลผู้ป่วย นอกจากนี้จะไม่ทำให้เกิด antibodies ต่อโปรตีน ดังนั้น วิธีการรักษาโดยเทคนิค gene therapy ถือเป็นการรักษาที่ควรได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพสูงและใช้ในผู้ป่วยได้อย่างปลอดภัย การสร้างแหล่งการผลิตเซลล์เม็ดเลือดแดงได้เองอย่างถาวรด้วยเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดบำบัด โดยไม่ต้องฉีด erythropoietin ให้แก่ผู้ป่วยก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่น่าสนใจและสามารถทำให้ผู้ป่วยหายขาดจากภาวะโลหิตจางได้ เพิ่มโอกาสการรอดชีวิตและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยก็จะดีขึ้นตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เทคนิค การกระตุ้นการทำงานของยีน ในเซลล์มนุษย์ โดยการใช้ Lentiviral vector เป็นพาหะ นั้น เป็นเทคนิค ที่มีประสิทธิภาพสูง ในคุณลักษณะต่างๆ โดยเฉพาะในด้านประสิทธิภาพการนำพาเข้าสู่เซลล์ เป้าหมาย โดยเฉพาะเซลล์มนุษย์ ซึ่งสูงกว่า

Non-viral vector นอกจากนี้ยังสามารถ กระตุ้นการแสดงออกของยีนในเวลานานกว่า viral vector อื่นๆ เนื่องจากความสามารถในการแทรกตัวเข้าสู่ genome ของ เซลล์

ดังนั้นการใช้ Lentiviral vector จึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่งในการนำนาประยุกต์ ใช้ในการรักษาโรค ที่ต้องการให้มีการแสดงออกของยีนเป็นเวลา นาน เช่น genetic disease และ การรักษาภาวะเสื่อมหรือ ถูกทำลายของเซลล์ อย่างถาวร เช่น ภาวะไตวาย ที่สนใจในการศึกษานี้เป็นต้น

องค์ความรู้ใหม่ของเทคโนโลยียีนบำบัดและเซลล์ต้นกำเนิดบำบัดที่ได้จากโครงการวิจัยนี้จะเป็นองค์ความรู้ที่สำคัญในการนำมาใช้รักษาโรคภาวะโลหิตจางซึ่งยังไม่มีผู้ใดทำมาก่อนและเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง ในการรักษาภาวะโลหิตจางสูงให้หมดไปได้ โดยมีค่าใช้จ่ายในการรักษาต่ำกว่าวิธีให้ recombinant erythropoietin มาก และมีความปลอดภัยสูง เหมาะสำหรับการพัฒนาเพื่อนำไปสู่การรักษาโรคในทางคลินิกต่อไปในอนาคต ซึ่งจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการแก้ไขภาวะ anemiaในผู้ป่วยโรคไตวายและโรคอื่นที่มีภาวะดังกล่าว ซึ่งจะช่วยเพิ่มคุณภาพชีวิตและลดค่าใช้จ่ายในการรักษาแก่ผู้ป่วย ซึ่งท้ายที่สุดจะส่งผลที่ดีต่อประเทศไทยโดยส่วนรวม

3. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ผลิต **Lentiviral vector** ที่สามารถสร้าง **Erytropoietin** เพื่อรักษาภาวะโลหิตจางในโรคไตวาย
2. สร้าง **human fibroblast cell** ที่สามารถสร้าง **Erythropoietin (EPO)** ที่มีปริมาณเพียงพอที่จะกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดง และสามารถนำไปใช้ในทดลองขั้นต่อไป
3. ทดสอบประสิทธิภาพของ **EPO** ที่สร้างได้ต่อความสามารถในการสร้างเม็ดเลือดแดงจากเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดในห้องปฏิบัติการ
4. สร้างระบบที่สามารถทำลายเซลล์ที่ได้รับยีนบำบัดได้หากเซลล์นี้ก่อปัญหาให้แก่ร่างกาย โดยเทคนิค **suicidal gene**

4. ระเบียบวิธีวิจัย

งานวิจัยนี้จะศึกษาการรักษาภาวะโลหิตจางในโรคไตวาย ด้วยการกระตุ้นการสร้าง erythropoietinโดยใช้ Lentiviral vector system ในการนำพาส่วนของยีน Erythropoietin เข้าสู่ human fibroblast cell ซึ่งจะมีผลให้เซลล์ดังกล่าวสามารถสร้าง Erythropoietin (EPO)อย่างถาวร จากนั้นจะทำการทดสอบประสิทธิภาพการสร้าง EPO ทั้งระดับ mRNA และโปรตีน ระยะต่อไปในปีที่ 2 จะทดสอบประสิทธิภาพของ EPO ที่สร้างได้ต่อความสามารถในการกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลอง (In vitro) โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดของมนุษย์ (human hematopoietic stem cell) เป็นต้นแบบ

5. ผลการวิจัย

การวิจัยนี้สามารถได้ผลการทดลองดังนี้

1. สามารถสร้างส่วน coding sequence ของ ยีน human erythropoietin ได้สำเร็จ
2. สามารถตัดต่อส่วนของยีนดังกล่าวเข้าสู่ Lentiviral vector
3. สามารถสร้าง Lentiviral vector จาก packing cells ได้สำเร็จ
4. สามารถ transduce Lentiviral vector ที่ผลิตได้เข้าสู่เซลล์เป้าหมายได้สำเร็จ

จากการทำวิจัย ในระยะ 12 เดือน จากระยะเวลาทั้งหมด 2 ปี พบว่าได้มีการดำเนินการเป็นไปตามแผนที่ตั้งไว้ และมีผลการทดลองที่เป็นไปตามที่คาดไว้ สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ ซึ่งได้แก่การสามารถสร้าง Lentiviral vector ที่มีส่วนของยีน human erythropoietin ได้สำเร็จ และหลังการนำ Lentiviral vector ดังกล่าวเข้าสู่เซลล์ พบว่ามีประสิทธิภาพสูง ในการเข้าสู่เซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆ ที่แสดงให้เห็นว่า Lentiviral vector มีความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ทั้งชนิดที่เป็น dividing and non-dividing cells

ในระยะ เวลาประมาณ 12 เดือนของโครงการที่เหลือจะเป็นการทดสอบเพื่อดูประสิทธิภาพของการแสดงออกของยีน erythropoietin และผลการกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดง จาก human hematopoietic stem cells ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดเพื่อการนำไปรักษาในมนุษย์ ต่อไป

6. ข้อเสนอแนะ

หลังการทำวิจัยในโครงการนี้ ควรมีการศึกษาต่อยอดในสัตว์ทดลอง เพื่อแสดงให้เห็นผลการใช้ Lentiviral vector ในการกระตุ้นการสร้าง erythropoietin และ แก้ไขภาวะซีดที่เกิดจากภาวะไตวาย และควรเน้นการใช้เพื่อผลในการชะลอการเพิ่มความรุนแรงของโรคไตวายเรื้อรังด้วย

7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- กระบวนการยีนบำบัดที่มีประสิทธิภาพในการรักษาภาวะโลหิตจางและมีผลข้างเคียงน้อยที่สุด
- เซลล์บำบัดที่มีประสิทธิภาพในการรักษาภาวะโลหิตจางและมีผลข้างเคียงน้อยที่สุด
- ได้ระบบการจัดการกับเซลล์บำบัดในกรณีเกิดความผิดปกติในการเจริญเติบโต โดยใช้เทคนิค Suicidal gene
- จดสิทธิบัตร 1 เรื่อง
- ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติอย่างน้อย 2 เรื่อง

- ผลิตนักศึกษาปริญญาโท 1 คน

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โรงพยาบาล วิทยาศาสตร์การแพทย์ วงการแพทย์ ผู้ป่วยโรคมะเร็งและครอบครัว นักวิชาการ ผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจทั่วไป และเป็นส่วนส่งเสริมทางวิชาการของศูนย์วิจัยความเป็นเลิศด้านการวิจัยเทคโนโลยีการปลูกถ่ายเซลล์/เนื้อเยื่อและยีนบำบัดของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี