

บทนำรวม

ปัจจุบันโรคภูมิแพ้และภาวะความเจ็บป่วยจากโรคภูมิแพ้มีอุบัติการณ์ที่เพิ่มสูงขึ้นทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนารวมทั้งประเทศไทย (Burr *et al.*, 1989; Vichyanond *et al.*, 1998) นอกจากนี้ความรุนแรงของอาการเจ็บป่วยก็เพิ่มขึ้นด้วย มีความชัดเจนว่าโรคภูมิแพ้เป็นสาเหตุของโรคเรื้อรังของประชากรไทยที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่ง โรคภูมิแพ้เกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ โรคภูมิแพ้เป็นโรคที่เกิดจากปัจจัยหลายอย่าง ที่สำคัญคือปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ซึ่งเกิดจากการสัมผัสสารก่อภูมิแพ้ (allergen exposure) ที่ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้น (allergen sensitization) อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้เกิดอาการแพ้ในเวลาต่อมา ซึ่งอาการแพ้เมื่อเริ่มเป็นอาจมีอาการเพียงเล็กน้อย เช่น คันที่ผิวหนัง คันคอ คันตา และจมูก แต่เมื่อมีการสัมผัสสารก่อภูมิแพ้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน อาการอาจเพิ่มขึ้นจนถึงขั้นหอบหืด หายใจไม่ออก และต้องได้รับการรักษาในหน่วยผู้ป่วยฉุกเฉิน หรือต้องเข้ารับการรักษาทันทีในโรงพยาบาล ปัญหาของโรคภูมิแพ้รวมทั้งโรคภูมิแพ้ไรฝุ่นจึงเป็นปัญหาใหญ่ที่มีผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมอย่างมาก เพราะนอกจากค่าใช้จ่ายในการดูแลผู้ป่วยที่ค่อนข้างสูงและผู้ป่วยต้องได้รับการรักษาเยี่ยงยาอย่างต่อเนื่องแล้ว ยังทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตลดลงและมีประสิทธิภาพในการทำกิจกรรมประจำวัน และการทำงาน หรือการศึกษาต่ำกว่าคนปกติ

สารก่อภูมิแพ้มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ทั้งภายนอกอาคาร (outdoor allergens) และภายในอาคาร (indoor allergens) ซึ่งพบว่า สารก่อภูมิแพ้ภายในอาคารเป็นสาเหตุของการแพ้ในอัตราที่สูงกว่าสารก่อภูมิแพ้ภายนอกอาคาร แหล่งที่มาของสารก่อภูมิแพ้ภายในอาคารที่สำคัญๆ ได้แก่ ไรฝุ่น แมลงสาบ ขนและรังแคจากสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข แมว หนูตะเภา ฝุ่นจากผ้า นุ่น สปอร์ของเชื้อรา เก้าอี้หวี เป็นต้น

การศึกษาในประเทศไทย เช่น การศึกษาโดย สฤชดิวงศ์ วงศ์ถ้วทอง และคณะ (Wongsathuaythong *et al.*, 1972) พิพัฒน์ ชูรวะ และคณะ (Choovavivathanavanich *et al.*, 1971) อารีย์ ก้องพานิชกุล และคณะ (Kongpanichkul *et al.*, 1997) และทัศนภา แดงสุวรรณ และคณะ (Dangsuwan *et al.*, 2002) ให้ผลการศึกษาที่คล้ายคลึงกันว่า สารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นเป็นสารก่อภูมิแพ้ที่ก่อให้เกิดการแพ้ในผู้ป่วยด้วยโรคภูมิแพ้มากที่สุด (อัตราการแพ้ไรฝุ่นในผู้ป่วยเด็กประมาณร้อยละ 70 ผู้ป่วยผู้ใหญ่ประมาณร้อยละ 50 และคนปกติประมาณร้อยละ 30) ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สอดคล้องกับการศึกษาในประเทศอื่นๆ

ไรฝุ่นบ้าน (house dust mite; HDM) เป็นแมลงในกลุ่ม arthropod ที่มีขนาดเล็กประมาณ 200-300 ไมโครเมตร พบในบ้านเรือนเกือบทุกบ้าน แม้ว่าไรฝุ่นจะไม่ใช่ปรสิต ไม่กัดคน ไม่ฝังตัวที่ผิวหนังหรือรูขุมขนของคนเหมือนไร (mites) ชนิดอื่นๆ แต่เป็นตัวผลิตสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่น ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดอาการของโรคภูมิแพ้ที่พบบ่อยคือโรค allergic rhinitis, asthma, allergic dermatitis และ allergic conjunctivitis เป็นต้น ไรฝุ่นที่พบบ่อยในประเทศไทยแบ่งเป็น 2 สายพันธุ์ คือ *Dermatophagoides pteronyssinus* (D.p) และ *D. farinae* (D.f) โดยปกติในฝุ่นมีไรฝุ่นอยู่หลายชนิดปะปนกัน (Malainual *et al.*, 1995) การตรวจจำแนกชนิดไรฝุ่นจะช่วยบอกแหล่งของสารก่อภูมิแพ้ได้อย่างถูกต้อง ในปัจจุบันการตรวจจำแนกชนิดไรฝุ่นใช้รูปร่างลักษณะภายนอกของไรฝุ่น

ซึ่งต้องอาศัยผู้ที่มีความชำนาญทางด้านโรวิทยาซึ่งมีอยู่ไม่มากในประเทศไทย ทำให้การตรวจสอบชนิด/สายพันธุ์ของไรฝุ่นในตัวอย่างฝุ่นจากที่อยู่อาศัยของผู้ป่วยไม่เป็นที่ยอมรับนัก ในปัจจุบันมีการค้นพบยีนต่างๆ ของไรฝุ่นหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งยีนเหล่านั้นมีความเฉพาะเจาะจงกับไรฝุ่นแต่ละสายพันธุ์ หากนำมาพัฒนาและนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยสายพันธุ์ของไรฝุ่นในตัวอย่างฝุ่นที่มีไรฝุ่นปะปนกันหลายสายพันธุ์ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา เช่น Polymerase chain reaction (PCR; Singleplex หรือ Multiplex PCR) ก็จะสามารถจำแนกชนิดของไรฝุ่นแต่ละสายพันธุ์ได้อย่างถูกต้อง จะช่วยให้การตรวจจำแนกชนิดไรฝุ่นเป็นไปได้ง่ายขึ้น สะดวกและรวดเร็วขึ้น ซึ่งจะเป็นที่ยอมรับโดยเฉพาะหน่วยงานที่ขาดบุคลากรที่มีความชำนาญด้านอนุกรมวิธานของไรฝุ่น

สารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นมีคุณสมบัติเป็นโปรตีน ปัจจุบันมีความก้าวหน้าทางวิทยาการและเทคโนโลยีในการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆ ช่วยทำให้การวิจัยทางคลินิกที่เกี่ยวกับโรคภูมิแพ้มีการพัฒนาก้าวหน้าไปมากและได้องค์ความรู้ใหม่ๆ ซึ่งเป็นความรู้พื้นฐานที่จะช่วยให้เข้าใจกลไกการเกิดโรคภูมิแพ้ โครงสร้างและหน้าที่ของสารสกัดสารก่อภูมิแพ้จากธรรมชาติ ดังนั้น การศึกษาสารก่อภูมิแพ้ชนิดต่างๆ จากไรฝุ่นด้วยเทคนิคโปรตีโอมิกส์ร่วมกับอิมมูโนมิกส์ ย่อมทำให้ทราบถึงชนิดของสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นที่ผู้ป่วยแพ้และความสัมพันธ์กับการก่อโรคซึ่งเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์มากในการป้องกันและดูแลรักษาผู้ป่วย

การดูแลรักษาผู้ป่วยด้วยโรคภูมิแพ้นั้น มีหลักการรักษาใหญ่ๆ 3 ประการคือ 1) การหลีกเลี่ยงไม่ให้ผู้ป่วยสัมผัสกับสารก่อภูมิแพ้ (intervention of morbidity) 2) รักษาโดยการให้ยาซึ่งเป็นการรักษาตามอาการ (symptomatic treatment) และไม่หายขาด รวมทั้งยาบางอย่างมีผลข้างเคียงต่อสุขภาพและกดระบบภูมิคุ้มกัน และ 3) รักษาโดยใช้กรรมวิธีทางวิทยาภูมิคุ้มกัน (immunotherapy) โดยการให้วัคซีนรักษาภูมิแพ้ (therapeutic allergen vaccine) แก่ผู้ป่วย ซึ่งผู้ป่วยบางรายอาจไม่ตอบสนองต่อวัคซีน มีการใช้ anti-IgE ในการรักษาและพบว่าการใช้ anti-IgE ในการรักษาเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอในการยับยั้งการเกิด airway hyper-responsiveness (AHR) ดังนั้นการพัฒนาวิธีการรักษาโรคภูมิแพ้แบบใหม่ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง

จากการศึกษากลไกการเกิดการตอบสนองของร่างกายในสภาวะภูมิแพ้ พบว่าอาการของโรคภูมิแพ้มีผลจากการที่ T helper 2 cells หลั่ง cytokines ต่างๆ ทำให้เกิดการสร้าง IgE ที่ทำให้เกิดอาการของโรคภูมิแพ้ขึ้น ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับ airway epithelial cells ซึ่งเป็นด่านป้องกันของร่างกายด่านแรกที่สัมผัสกับสารก่อภูมิแพ้ มีรายงานเกี่ยวกับโปรตีน thymic stromal lymphopoietin (TSLP) ซึ่งพบว่ามีโครงสร้างจาก epithelial cells บริเวณทางเดินหายใจ keratinocytes และ stromal cells ที่ถูกกระตุ้นด้วยสารก่อภูมิแพ้ โดย TSLP สามารถกระตุ้นให้ immune cells ต่างๆ ให้หลั่ง T helper 2 cytokines รวมถึง mediator ต่างๆ มีผลการกระตุ้นให้ผู้ป่วยเกิด airway hyper-responsiveness (AHR), airway inflammation และ atopic dermatitis จากการศึกษาในสัตว์ทดลองที่เป็นโรคภูมิแพ้พบว่าหากยับยั้งการทำงานของ TSLP จะสามารถยับยั้งการเกิด eosinophil airway infiltration และสามารถป้องกันการเกิด airway inflammation ได้

ดังนั้น การพัฒนาวิธีการยับยั้งการทำงานของโปรตีน TSLP จึงมีประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ คณะผู้วิจัยจึงเสนอโครงการวิจัยในการเตรียม human monoclonal antibody จาก human antibody phage library ที่สามารถยับยั้งการทำงานของโปรตีน TSLP ผลผลิต

จากงานวิจัยนี้ สามารถนำไปดำเนินการต่อยอดเป็นเชิงพาณิชย์ได้ เช่น therapeutic fully human monoclonal antibodies ต่อ TSLP ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้ในการประกอบการรักษาโรคภูมิแพ้ อื่นๆ ที่มีสาเหตุมาจากโปรตีน TSLP ได้

แนวคิดของแผนงานวิจัยนี้คือ การพัฒนากระบวนการวิจัยภายใต้กรอบของโรคภูมิแพ้ไรฝุ่น ให้ครอบคลุมทั้งการอัตรารูขุมและการกระจายตัวของไรฝุ่นในบ้านพักอาศัย โดยพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยสายพันธุ์ของไรฝุ่นด้วยเทคนิค PCR ศึกษาสารก่อภูมิแพ้จากไรฝุ่นสายพันธุ์ที่ผู้ป่วยแพ้ รวมทั้งการรักษาด้วย fully human monoclonal antibodies เมื่อประสบความสำเร็จจะเป็นแนวทางในการวิจัยและพัฒนาสารก่อภูมิแพ้ชนิดอื่นต่อไป

วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย

- การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยสายพันธุ์ของไรฝุ่นด้วยเทคนิค PCR
- นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใช้จำแนกชนิด (genus, species) และศึกษาหาอัตรารูขุมและการกระจายตัวของไรฝุ่นในบ้านพักอาศัยเปรียบเทียบกับวิธี conventional
- การศึกษาสารก่อภูมิแพ้จากไรฝุ่นสายพันธุ์ *D. pteronyssinus* โดยใช้เทคนิคโปรตีน โอมิกส์และอิมมูโนมิกส์ เพื่อให้ทราบถึงชนิดของสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นที่ผู้ป่วยแพ้
- คัดเลือกสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นที่สำคัญ เพื่อทำการผลิต recombinant allergen(s) ด้วยเทคนิค molecular cloning, genetic engineering และ gene expression technology เพื่อใช้เป็นสารก่อภูมิแพ้มาตรฐานที่สามารถใช้ในการตรวจวินิจฉัย และรักษาผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ไรฝุ่น รวมทั้งใช้ในการตรวจวัดปริมาณสารก่อภูมิแพ้ในฝุ่นบ้านของผู้ป่วย
- เพื่อพัฒนาแอนติบอดีต้นแบบสำหรับรักษาโรคภูมิแพ้ที่เกิดจากผลของโปรตีน TSLP

ทฤษฎี สมมติฐาน และ/หรือ กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย

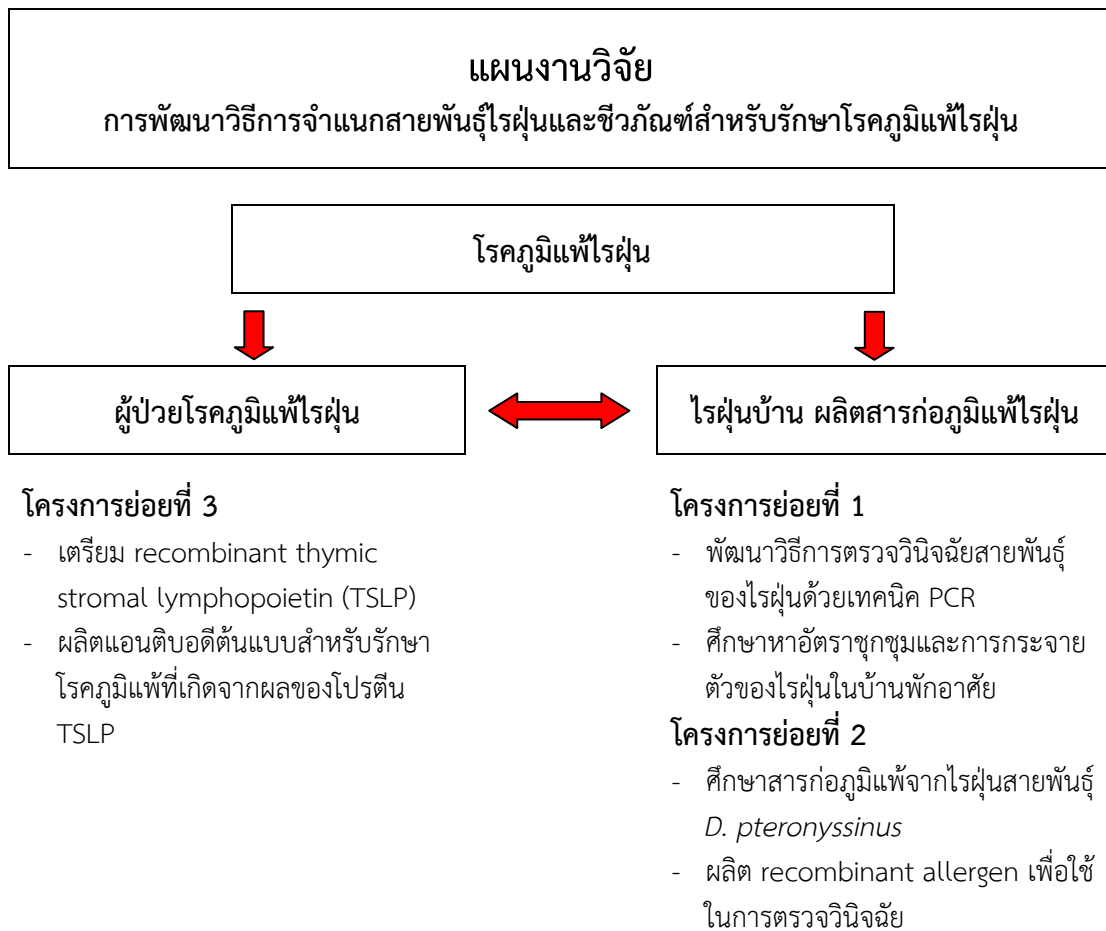
โรคภูมิแพ้ไรฝุ่นมีสาเหตุจากไรฝุ่นบ้านหลายสายพันธุ์ ซึ่งการจำแนกสายพันธุ์ของไรฝุ่นต้องอาศัยลักษณะสัณฐานภายนอกของไรฝุ่นเป็นหลัก ในปัจจุบันผู้ที่มีความชำนาญทางด้านไรวิทยามีอยู่ไม่มากและมีแนวโน้มน้อยลงไปเรื่อยๆ ทำให้การศึกษาทางระบาดวิทยาของไรฝุ่นทำได้ยากและใช้เวลานานมาก จึงเกิดแนวคิดในการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยสายพันธุ์ของไรฝุ่นด้วยเทคนิค PCR เพื่อมาประยุกต์ใช้ในการจำแนกชนิด (genus, species) และศึกษาหาอัตรารูขุมและการกระจายตัวของไรฝุ่นในบ้านพักอาศัย

การศึกษาวินิจฉัยหาชนิดของสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นที่มีความสัมพันธ์กับการก่อโรคที่ผู้ป่วยคนไทย ในการ ศึกษาวิจัยนี้แพ้ จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่เป็นตัวแทนในการคัดเลือกลำดับสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นหลัก (major allergen) ที่ผู้ป่วยคนไทยแพ้ และนำมาผลิต recombinant allergen(s) เพื่อจะใช้เป็นสารก่อภูมิแพ้มาตรฐานที่สามารถใช้ในการตรวจวินิจฉัย และรักษาผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ไรฝุ่นต่อไปรวมทั้งใช้ในการตรวจวัดปริมาณสารก่อภูมิแพ้ในฝุ่นบ้านของผู้ป่วย

รายละเอียดความเชื่อมโยงระหว่างโครงการย่อย

ในปัจจุบัน ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธีมาตรฐานมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมากทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทย ดังนั้น การพัฒนาวิธีการรักษาแบบใหม่ด้วยการยับยั้งการทำงานของโปรตีน TSLP ซึ่งเป็นสาเหตุเบื้องต้นของการเกิดพยาธิสภาพต่างๆ จึงเป็นทางเลือกใหม่ที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ไรฝุ่น

แนวคิดของแผนงานวิจัยนี้ คือต้องการศึกษาให้ครอบคลุมเกี่ยวกับไรฝุ่นบ้าน *D. pteronyssinus* ที่เป็นสาเหตุของโรคภูมิแพ้ไรฝุ่น รวมทั้งการตรวจวินิจฉัย และการรักษาโรคภูมิแพ้ไรฝุ่น โดยพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยสายพันธุ์ของไรฝุ่น การผลิตสารก่อภูมิแพ้มาตรฐานที่สามารถใช้ในการวินิจฉัย และรักษาผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ไรฝุ่น และการพัฒนาวิธีการรักษาแบบใหม่ ซึ่งเป็นนวัตกรรมที่มีศักยภาพในการต่อยอดเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในด้านการบริการทางการแพทย์ (รูปที่ 1.1)



รูปที่ 1.1 รายละเอียดความเชื่อมโยงระหว่างโครงการย่อย

ตารางที่ 1.1 เป้าหมายของผลผลิต (output) และตัวชี้วัดของแผนงานวิจัย

ผลผลิต	ตัวชี้วัด	
	เชิงคุณภาพ	เชิงปริมาณ
1. วิธีการตรวจวินิจฉัยชนิดของไรฝุ่นด้วยเทคนิค PCR	เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสะดวก และรวดเร็ว	อย่างน้อย 1 วิธี
2. ผลงานวิจัยตีพิมพ์	ในวารสารนานาชาติที่มี impact factor	อย่างน้อย 3 เรื่อง
3. องค์ความรู้เกี่ยวกับชนิดของสารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่นสายพันธุ์ <i>D. pteronyssinus</i>	ทราบว่าโปรตีนใดเป็นสารก่อภูมิแพ้หลัก (major allergen) ในคนไทย	อย่างน้อย 1 ชนิด
4. มี recombinant major house dust mite allergen[s]	ใช้เป็นสารมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัย และตรวจวัดปริมาณสารก่อภูมิแพ้ในฝุ่น	อย่างน้อย 1 ชนิด
5. มี therapeutic fully human antibodies	antibodies ที่สามารถยับยั้งการทำงานของ human thymic stromal lymphopoietin	อย่างน้อย 1 ชนิด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- วิธีการตรวจวินิจฉัยสายพันธุ์ของไรฝุ่นด้วยเทคนิค PCR
- ทราบอัตราชุกชุมและการกระจายตัวของไรฝุ่นในบ้านพักอาศัย
- ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับสารก่อภูมิแพ้จากไรฝุ่นบ้านสายพันธุ์ *D. pteronyssinus* ที่คนไทยแพ้
- ทราบว่าโมเลกุลใดจากไรฝุ่น *D. pteronyssinus* ก่อให้เกิดอาการแพ้มากและน้อยในผู้ป่วยที่นำมาทดสอบ
- มีสารก่อภูมิแพ้มาตรฐาน สำหรับใช้ตรวจคัดกรองผู้ป่วยและใช้เป็นสารมาตรฐานในการตรวจวัดปริมาณสารก่อภูมิแพ้ในฝุ่นบ้านของผู้ป่วย ซึ่งเป็นมาตรการหนึ่งในการป้องกันไม่ให้ผู้ป่วยเกิดอาการแพ้ (morbidity)
- มี therapeutic fully human antibodies ที่สามารถยับยั้งการทำงานของ human thymic stromal lymphopoietin (neutralize TSLP activities)
- ผลงานที่คาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติที่มี impact factor อย่างน้อย 3 เรื่อง
- ประโยชน์ในเชิงข้อมูลซึ่งสามารถถ่ายทอดให้นักศึกษา นักวิจัย และผู้สนใจ
- การนำเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ
- นักศึกษาและนักวิจัยรุ่นใหม่ มีส่วนร่วมในการทำการศึกษาวิจัย เป็นผลให้มีการผลิตบัณฑิตในระดับบัณฑิตศึกษา และการพัฒนาบุคลากรการวิจัยอันเป็นเป้าหมายหนึ่งของการพัฒนาประเทศ