



บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

เรื่องการพัฒนาวัคซีนเชื้อตายไข้วัดใหญ่ H1N1 2009 เพื่อใช้ทางคลินิก
Development of inactivated influenza HINI 2009 vaccine for
clinical use

ศาสตราจารย์ เกษักรหญิง ดร. กาญจน์พิมล ฤทธิเดช

ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ดร. สาธิต พิษญาญกูร

Department of Immunology and medicine, US armed forces Research Institute of Medical Science

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง อรุณี ธิติธัญญานนท์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ศาสตราจารย์ นายแพทย์เกียรติ รัชชรุ่งธรรม

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง รังสิณี มหานนท์

ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ดร. อนันต์ จงแก้ววัฒนา

ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยาและเซลล์วิทยา ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ที่ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ปีงบประมาณ 2552 (ธันวาคม 2552-พฤศจิกายน 2553)

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

สืบเนื่องจากการแพร่ระบาดของโรคไข้หวัดใหญ่ ในศตวรรษนี้ คือไข้หวัดใหญ่สเปน (H1N1) เมื่อปี 1918-1919 ไข้หวัดใหญ่เอเชีย (H2N2) เมื่อปี 1957-1958 ไข้หวัดใหญ่ฮ่องกง (H3N2) ปี 1968-1968 รวมทั้งไข้หวัดใหญ่ชนิดใหม่ H1N1 2009 ซึ่งมีการแลกเปลี่ยนชิ้นโนมของไวรัสไข้หวัดใหญ่ของหมู นก และคน ทำให้นักวิทยาศาสตร์มีความกังวลว่าเชื้อไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านพันธุกรรมซึ่งอาจนำไปสู่การเกิดโรครุนแรงในอนาคตข้างหน้าได้

วัคซีนจัดเป็นเครื่องมือปฐมภูมิในการป้องกันโรคต่างๆ ซึ่งทั่วโลกรวมทั้งองค์การอนามัยโรคได้ประกาศเพิ่มความสำคัญของการป้องกันโรคมกกว่าการรักษา สำหรับวัคซีนไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ในปัจจุบันยังไม่มีการจัดจำหน่าย วัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ วัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ตามฤดูกาลไม่แสดงการป้องกันต่อไวรัสโรคไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ได้ ปัจจุบันบริษัทที่ผลิตและจำหน่ายวัคซีนระดับนานาชาติหลายบริษัทกำลังเร่งมือในการผลิตวัคซีนไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 สำหรับประเทศไทย องค์การเภสัชกรรมก็เร่งมือในการผลิตวัคซีนเช่นกัน โดยจะผลิตวัคซีนไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ชนิดเชื้อเป็นสำหรับพ่นจมูกด้วยการซื้อเทคโนโลยีจากประเทศรัสเซีย และเช่นกันกำลังการผลิตจะไม่เพียงพอ ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

การศึกษานี้คณะผู้วิจัยซึ่งประกอบด้วยผู้เชี่ยวชาญจากหลากหลายสาขามีความมุ่งมั่นที่จะพัฒนาวัคซีนไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ชนิดเชื้อตายสำหรับฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยการผลิตไวรัสด้วยกรรมวิธีเพาะในไข่ไก่ฟักและนำเอาแอดจูแวนท์ซึ่งเป็นสารเสริมฤทธิ์ผสมในสูตรตำรับเพื่อช่วยลดปริมาณของแอนติเจนที่จะใช้ รวมทั้งจะทำให้ภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อวัคซีนมีความครอบคลุมและมีอายุยาวนาน เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งให้รัฐในการผลิตวัคซีนโดยในกรณีที่มีการระบาดของโรคระบาดใหม่ โดยสามารถใช้กระบวนการผลิตของวัคซีนที่มีการผลิตที่องค์การเภสัชกรรมในปัจจุบันได้ นอกจากนี้องค์ความรู้ที่ได้สามารถนำไปประยุกต์กับแอนติเจนและระบบนำส่งแอนติเจนอื่นๆ รวมทั้งเป็นการพัฒนาบุคลากรด้านวัคซีนให้เพียงพอกับความต้องการของประเทศ ให้สามารถพึ่งพาตนเองได้

ก่อนดำเนินการวิจัยจะทำการปรับปรุงห้องปฏิบัติการที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ให้เป็นห้องชีวโมเลกุล ระดับ 2+ สำหรับเพาะไวรัส ทำให้ได้ห้องปฏิบัติการที่ผ่าน เกณฑ์มาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการ BSL2+ และผ่านการรับรองการประเมินความเสี่ยงทางชีวภาพในระดับมหาวิทยาลัย การเพาะไวรัสจากไข่ไก่ฟักและผลิตเป็นวัคซีนแอนติเจน จะผลิตจากหัวเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 สายพันธุ์วัคซีน A/California/07/09NYMC X-179A (H1N1) ที่ได้รับการแนะนำจาก WHO และได้รับจาก US-CDC โดยการฉีดในไข่ไก่ฟัก (embryonated egg) โดยศึกษาได้ขั้นตอนเทคนิคการผลิตที่ให้ปริมาณไวรัสมากที่สุด และสามารถทำให้เชื้อตายจากการตรวจสอบเชื้อตาย ตามวิธีการของ CDC แล้วทำให้ไวรัสแอนติเจนบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการเตรียมเป็นตำรับวัคซีน ทั้งนี้ได้เปรียบเทียบกับแอนติเจนมาตรฐานและแอนติบอดีสำหรับตรวจวัดปริมาณแอนติเจน H1N1 2009 ที่ได้จาก UK-CDC, Division of Virology, National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom ซึ่งได้มาตรฐานโลก

การเตรียมตำรับวัคซีนผสมแอดจูแวนท์ จะใช้แอดจูแวนท์ที่นำเข้าสู่ชนิดอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำจาก Infectious Disease Research Institute ประเทศสหรัฐอเมริกาที่ผ่านการทดสอบแล้วว่าปลอดภัย และได้พัฒนาสูตรตำรับแอดจูแวนท์ ชนิดอนุภาคขนาดไมโครเมตรที่ผลิตเองจาก polylactide-co-glycolide (PLGA), ไคโตซาน (CS) และ aluminium hydroxide, $(Al(OH)_3)$ ซึ่งสารแต่ละชนิดได้ยอมรับให้ใช้ได้ ในเภสัชตำรับ และเตรียมโดยเทคนิค double emulsion solvent evaporation ซึ่งขั้นตอนไม่ยุ่งยาก และสามารถขยายการผลิตได้ง่าย อนุภาคทั้ง 3 ชนิด ที่ได้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมทางเคมีฟิสิกส์ในการ เป็นแอดจูแวนท์ ซึ่งต้องศึกษาคุณสมบัติอื่นๆต่อไป

ตำรับวัคซีนที่เตรียมตามมาตรฐาน GMP เมื่อทดสอบหาประสิทธิภาพของแอนติเจนที่เตรียมขึ้นเองและประสิทธิภาพของ แอดจูแวนท์ ในหนู BALB/c mice เพศผู้ 16 ตัว พบว่าแอนติเจนที่ผลิตขึ้นเองนี้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ให้เกิด HAI titer อย่าง มีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับน้ำกลั่น เมื่อเพิ่ม แอดจูแวนท์ Complete Freund's adjuvant พบว่า titer จะขึ้นสูง มากกว่าเมื่อไม่มี แอดจูแวนท์อย่างเด่นชัดโดยเฉพาะเมื่อให้ dose ที่ 2 เมื่อใช้ TLR3 agonist เป็นแอดจูแวนท์ พบว่าสามารถ เพิ่ม titer ได้เช่นกัน แต่ประสิทธิภาพการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน จะน้อยกว่าการใช้ Complete Freund's adjuvant เมื่อทำการ ทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพของแอนติเจนที่ผลิตขึ้น lot ใหม่และประสิทธิภาพของแอดจูแวนท์ Complete Freund's adjuvant ในหนู BALB/c mice เพศเมีย 12 ตัวเปรียบเทียบกับตำรับแอนติเจนที่ผลิตขึ้นเดิม พบว่า แอนติเจนที่ผลิตขึ้นใหม่นี้สามารถ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ให้เกิด HAI titer อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพิ่ม Complete Freund's adjuvant ผลยืนยันการทดลองเดิมว่า Freund's complete adjuvant จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ HAI titer สูงกว่าเมื่อไม่มี แอดจูแวนท์อย่างเด่นชัด เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของแอนติเจนที่เตรียม lot เดิมและไม่มีแอดจูแวนท์ใดๆ พบว่า แอนติเจนสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ให้ เกิด HAI titer อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ที่ได้จะต่ำกว่าที่ได้กับหนูเพศผู้ แม้เมื่อทดสอบทางสถิติ ไม่พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งโดยปกติแล้ว การตอบสนองของหนูเพศเมียมักให้ค่าสูงกว่าหนูเพศผู้ เนื่องจาก ระดับของ HAI titer ในหนูมีค่าไม่สูงพอที่จะตัดสินใจทำในลิง ทำให้คณะผู้วิจัยตัดสินใจยุติการทดสอบในลิง

ประโยชน์จากการศึกษาจะได้ขั้นตอนในการผลิตแอนติเจนเชื้อตายไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 จากไข้ไก่ฟ้าซึ่งยังไม่มีผู้ ศึกษามาก่อนในประเทศ ได้แอดจูแวนท์ชนิดอนุภาคที่มีขนาดไมโครเมตรที่ผลิตเองในประเทศด้วยกรรมวิธีที่ไม่ยุ่งยาก ได้สูตร ตำรับวัคซีนที่ผสมกับแอดจูแวนท์ Complete Freund's adjuvant ทำให้สามารถลดจำนวนแอนติเจนในตำรับ ทราบผลการ กระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์เล็ก รวมทั้งได้พัฒนา ผลิตและเกิดความร่วมมือของบุคลากรด้านวัคซีนซึ่งมีจำนวนน้อยมากใน ประเทศ และเป็นการเตรียมพร้อมเพื่อการพึ่งพาตนเองไม่เฉพาะเมื่อมีการระบาดของโรค