วารสารวิชาการสาธารณสุข
ปีที่ ๑๕ ฉบับที่ ๒ มีนาคม - เมษายน ๒๕๔๙

Journal of Health Science
Vol. 15 No. 2 March - April 2006

Review Article

ทบทวนวรรณกรรม

แนวทางการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส ไพโอจีน (GAS)

พีรยศ ภมรศิลปธรรม*
คุ้มขวัญ เพ่งรุ่งเรืองวงษ์**
**ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร (ส่วนสนามจันทร์) นครปฐม*
***กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลมะการักษ์ กาญจนบุรี*

บทคัดย่อ สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในมนุษย์ มีอาการแสดงการติดเชื้อได้หลายรูปแบบ การจัดแบ่งสายพันธุ์ของสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ สามารถทำได้โดยสกัดแยกโปรตีนเอ็ม (M protein) และทดสอบปฏิกิริยาเซรุ่มเทียบกับซีรัมมาตรฐาน และพัฒนาเป็นการตรวจหาลำดับดีเอ็นเอจากยีนที่สร้างโปรตีนเอ็ม (emm gene) ในปัจจุบันยังไม่สามารถผลิตวัคซีนสำหรับป้องกันโรคและป้องกันการเกิดภาวะตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่อร่างกายมนุษย์ที่เกิดหลังจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น ไข้รูห์มาติกเฉียบพลัน (acute rheumatic fever) และภาวะกรวยไตอักเสบหลังการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส (post-streptococcal glomerulonephritis) ปัญหาสำคัญของการพัฒนาวัคซีน คือ วัคซีนต้องสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันการติดเชื้อได้ และครอบคลุมแบคทีเรียที่มีความแตกต่างของสายพันธุ์โปรตีนเอ็มหรือสายพันธุ์ที่ไม่มีโปรตีนเอ็ม นอกจากนี้ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นต้องไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองต่อร่างกายมนุษย์เอง บทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลที่ได้มีการศึกษาในปัจจุบัน เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาวัคซีนที่มีประสิทธิภาพสำหรับสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ

คำสำคัญ: **สเตรปโตคอกคัส, การพัฒนาวัคซีน, สเตรปโตคอกคัสไพโอจีน**

บทนำ

สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ หรือ *Streptococcus pyogenes* (GAS) เป็นสาเหตุของการติดเชื้อแบคทีเรียที่เกิดการติดต่อได้ทางการสัมผัสทางผิวหนังหรือทางหายใจส่วนต้น ทำให้เกิดอาการคอหอยอักเสบ (pharyngitis) ต่อมทอนซิลอักเสบ (tonsillitis) หรือทำให้เกิดอาการลุกลาม ทำให้เยื่อบุอักเสบ (mucositis) นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อที่มีอาการรุนแรง เช่น impetigo, pyoderma, cellulitis, necrotizing fasciitis, toxic streptococcal syndrome และอาจก่อให้เกิดโรคแทรกซ้อน เช่น การติดเชื้อทั่วร่างกาย (septicemia) ปอดอักเสบ (pneumonia) และการติดเชื้อที่สมอง (meningitis)[๑] ความรุนแรงของการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังพบได้หลังจากการติดเชื้อผ่าน

Scanned by CamScanner

ไปแล้ว ๒-๔ สัปดาห์ โดยก่อให้เกิดกลุ่มอาการที่เรียกว่า post-streptococcal infections ซึ่งเป็นผลจากร่างกายของผู้ติดเชื้อสร้างแอนติบอดีต่อต้านแบคทีเรีย แต่แอนติบอดีดังกล่าวสามารถจับหรือทำปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันกับบางส่วนของร่างกายตนเอง เช่น ที่ผนังเยื่อบุหัวใจ หรือที่บริเวณเยื่อบุท่อกรวยไต ทำให้เกิดอาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อร่างกายตนเอง เช่น ไข้รูห์มาติกเฉียบพลัน กรวยไตอักเสบเฉียบพลัน และกลุ่มอาการข้ออักเสบ (reactive arthritis)[๑,๒] โดยเฉพาะช่วงเวลา ๒๐ ปีที่ผ่านมาโรคติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ และกลุ่มอาการต่าง ๆ ได้มีอุบัติการณ์ระบาดซ้ำในทั้งประเทศพัฒนาแล้ว เช่น อเมริกา ยุโรป ออสเตรีย[๒,๓] และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในกลุ่มประเทศกำลังพัฒนา รวมทั้งในประเทศไทยด้วยเช่นกัน[๔]

๑. การจัดกลุ่มและการวินิจฉัยการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ (Group A Streptococcus)

สเตรปโตคอกคัส แบ่งออกได้หลายกลุ่ม ลักษณะโดยทั่วไปเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ หลังจากย้อมเชื้อด้วยวิธีการย้อมแกรม (Gram's stain) จะเห็นเชื้อแบคทีเรียติดสีม่วงแดง (purple-red color) มีรูปร่างกลม (gram positive cocci) เรียงตัวคล้ายสายโซ่ จัดอยู่ในแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก (gram positive bacteria) การจัดสเตรปโตคอกคัส เป็นกลุ่มย่อย ๆ หรือกรุ๊ป สามารถทำได้โดยใช้เกณฑ์ที่พัฒนาจาก Rebecca Lancefield (พ.ศ. ๒๔๓๘-๒๕๒๔) โดยแบ่งสเตรปโตคอกคัส ออกเป็นกรุ๊ปเอ ถึงกรุ๊ปเอช (A-H) บนพื้นฐานความแตกต่างของคุณสมบัติและปฏิกิริยาของเซรุ่ม (serological methods) ระหว่างแอนติเจนที่อยู่บนผิวแบคทีเรียกับแอนติบอดี โดยเทียบกับซีรั่มมาตรฐาน[๑,๕] ยกเว้น สเตรปโตคอกคัส บางกลุ่มที่ไม่มีแอนติเจนบนผิวของแบคทีเรีย ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Viridian streptococci (เช่น *S. mutans, S. sanguis, S. salivarius, S. milleri*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อยู่ตามช่องปากและก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับปริทันต์หรือก่อให้เกิดอาการของเนื้อเยื่อบุโพรงหัวใจอักเสบ (endocarditis)

สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยหรือสายพันธุ์ตามความแตกต่างของโปรตีนเอ็มที่ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีมาตรฐาน เช่น สายพันธุ์ M1, M2, M3 ภายหลังการพัฒนาเทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์มีการแยกยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนเอ็มหรือ "ยีนอีเอ็มเอ็ม" *(emm genes)* ได้สำเร็จ[๕,๖] การวิเคราะห์ผลเพื่อจัดแบ่งสายพันธุ์ (typing) โดยใช้การหาลำดับพันธุกรรมจึงเป็นที่แพร่หลายมากขึ้น แต่ว่าวิธีการนี้ยังมีต้นทุนสูง จากการศึกษายีนที่ควบคุมโปรตีนเอ็ม พบว่ามีความหลากหลายมากกว่า ๑๕๐ แบบ* ในประเทศไทยมีการศึกษาทางระบาดวิทยาเกี่ยวกับเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ โดย Pimtanothai N, และคณะ[๗] ในช่วงเวลา ๕ ปี (ตั้งแต่ พ.ศ. ๒๕๓๘-๒๕๔๒) จากผู้ป่วยในของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ พบลำดับความหลากหลายของลำดับของอีเอ็มเอ็ม (*emm* sequences) ในเชื้อสเตรปโตคอกคัสกรุ๊ปเอถึง ๒๔ แบบ โดยในจำนวนนี้พบลำดับของ *emm* gene ใหม่สองแบบ โดยสายพันธุ์ที่พบได้มาก คือ emm1 (5 isolates, ร้อยละ ๑๒.๕) emm22 (4 isolates, ร้อยละ ๑๐) emm25 (3 isolates, ร้อยละ ๗.๕) emm61 (3 isolates, ร้อยละ ๗.๕) และ STNS1033 (3 isolates, ร้อยละ ๗.๕) ตามลำดับ

การตรวจวินิจฉัยเพื่อพิสูจน์การติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ (S. pyogenes) สามารถทดสอบได้หลายวิธี เช่น การตรวจโดย capillary precipitin และ slide agglutination[๕,๘] และต่อมาได้มีการพัฒนาให้มีเทคนิคการตรวจพิสูจน์ที่ได้ผลเร็วขึ้น มีความจำเพาะมากขึ้นโดยใช้ วิธี ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) หรือการตรวจโดย optical immunoassay หรือ modified one-step ELISA procedure[๙] เชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ สามารถตรวจสอบยืนยันโดยวิธีการเพาะเชื้อที่ได้จากผู้ป่วย โดยเชื้อ

ข้อมูลเพิ่มเติม เกี่ยวกับ emm types อ่านเพิ่มเติมได้ที่ http://www.cdc.gov/hcidod/ biotech/infotech__hp.html

Scanned by CamScanner

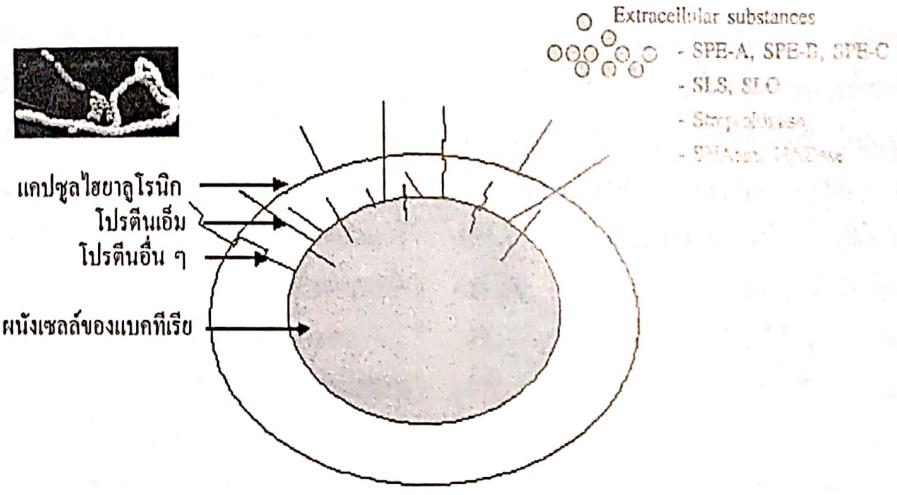
จะผลิตสารที่สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดผสม (blood agar) ทำให้เกิดลักษณะเบต้าฮีโมไลติก (beta-hemolytic) นอกจากนี้คุณสมบัติของเชื้อกลุ่มนี้ ขาดเอนไซม์คะตาเลส (catalase) จึงสามารถตรวจพิสูจน์ได้ด้วยปฏิกิริยาทางเคมีคะตาเลส[๙]

การตรวจโดยอาศัยพื้นฐานของการตอบสนองทางอิมมูโนวิทยาที่ร่างกายมนุษย์สร้างขึ้น[๑๐] สามารถแบ่งได้ตามแอนติบอดีที่สร้างขึ้นต่อ streptolysin O, DNase B, hyaluronidase, NADase และ streptokinase ใช้เป็นข้อมูลที่ช่วยวินิจฉัยเกี่ยวกับอาการไข้รูห์มาติก หรือกรวยไตอักเสบหลังการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส[๑๑]

๒. โครงสร้างภายนอกเซลล์ และสารที่สร้างจากแบคทีเรีย

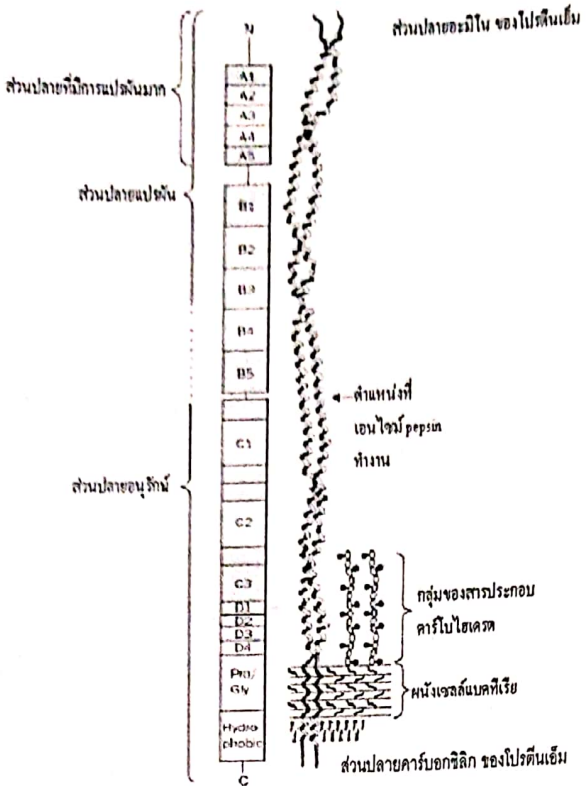
โครงสร้างภายนอกเซลล์แบคทีเรีย ได้แก่ แคปซูลไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid capsule) และโปรตีนเอ็ม (M protein) (รูปที่ ๑) Fischetti และคณะ[๑๒] ศึกษาและบรรยายลักษณะของโปรตีนเอ็มในระดับโมเลกุล โดยลำดับของโปรตีนที่ปลายสายอะมิโน (amino-terminal) อยู่ภายนอกเซลล์แบคทีเรีย และส่วนปลายคาร์บอกซี (carboxy-terminal region) อยู่ภายในเซลล์แบคทีเรีย นอกจากนี้โปรตีนเอ็มยังมีลักษณะเป็น alpha-helical coil-coil structure[๑๓] (รูปที่ ๒) ซึ่งพบลักษณะดังกล่าวได้ในเนื้อเยื่อบางชนิดของมนุษย์ เช่น tropomyosin, keratin-desmin-vimentin และกลุ่มของ keratin-myosin-epidermin-fibrinogen families

สายพันธุ์ของแบคทีเรียชนิดที่ไม่มีโปรตีนเอ็ม (M-protein-deficient strains) จะสามารถถูกกำจัดออกจากร่างกายด้วยวิธีการออฟโซไนซ์ (opsonize) และกระบวนการถูกทำลายหรือแตกตัวของแบคทีเรียโดยรวมตัวกับแอนติเจน แอนติบอดีเชิงซ้อนที่มีอยู่ในซีรั่ม (complement pathway) ในขณะที่สายพันธุ์ที่มีโปรตีนเอ็มจะสามารถจับกับโปรตีนอื่น ๆ ภายในเซลล์ เช่น อัลบูมิน (albumin) ไฟบริโนเจน (fibrinogen) ไฟโบรเนคติน (fibronectin) อิมมูโนโกลบุลิน (immunoglobulin) พลาสมิน (plasmin) และโปรตีนอื่น ๆ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการอักเสบส่งผลเพิ่มการซึมผ่านของผนังหลอดเลือด (vascular permeability) และทำให้เลือดไม่แข็งตัว นอกจากนี้ยังรบกวนการทำงาน



รูปที่ ๑ ภาพวาดจำลองลักษณะและส่วนประกอบของแบคทีเรียสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ และสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้น (extracellular substances)

Scanned by CamScanner



ที่มา : ดัดแปลงจาก Bisno A และคณะ[๐๓]

รูปที่ ๒ ภาพจำลองของลักษณะโมเลกุลของโปรตีนเอ็ม มีลักษณะแบบ alpha-helical coil-coil structures ของสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ

ของสารต่าง ๆ บริเวณนอกเซลล์ (extracellular matrix) โดยพบว่าโปรตีนเอ็มสามารถขัดขวางการทำงานของกระบวนการคอมพลีเมนต์ ในร่างกายมนุษย์

แคปซูลของแบคทีเรียเป็นปัจจัยเพิ่มความรุนแรง (virulence factors) ของการติดเชื้อแบคทีเรีย[๐,๐๔] สเตรปโคคอกคัส กรุ๊ปเอ ชนิดที่มีแคปซูลไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid capsule) มีแนวโน้มว่าจะก่อโรคได้รุนแรงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่มีแคปซูล โดยโครงสร้างของแคปซูลมีลักษณะเป็นโพลิเมอร์คล้ายกับบางส่วนของมนุษย์ อาจเป็นปัจจัยทำให้แบคทีเรียมีความสามารถเกาะเซลล์ของมนุษย์ได้มากขึ้น เช่น การศึกษาของ Schrager และคณะ[๐๔] พบว่าแคปซูลของแบคทีเรียสามารถเกาะกับเนื้อเยื่อระหว่างเซลล์ (paracellular tissue) และตัวรับ hyaluronan receptor CD44 บนเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cell) อย่างไรก็ตามแอนติบอดีต่อแคปซูลไม่มีคุณสมบัติที่ใช้ทำลายเชื้อแบคทีเรียในร่างกาย (opsonic) และไม่ป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ สามารถสร้างสารที่ก่อให้เกิดความรุนแรงอื่น ๆ เช่น Streptococcal Pyrogenic Exotoxins (SPE) A หรือ SPE-A, SPE-B และ SPE-C, สาร Streptolysin S (SLS) สาร Streptolysin O (SLO)[๐๓] หรือสามารถสร้างเอนไซม์ streptokinase หรือ hyaluronidase รวมทั้งเอนไซม์ NADase and DNAases[๐๔,๐๖]

- สาร SPE ทั้งสามชนิด (SPE-A SPE-B and C) พบว่าสามารถก่อให้เกิดอาการไข้ สาร SPE-B สามารถขัดขวางการสร้างสารตั้งต้นของ interleukin-1B (pIL-1B) ซึ่งสร้างจากเซลล์แมคโคฟาสต์ (macrophages) และสามารถทำลายไฟโบรเนคตินและไวโทรเนคติน (fibronectin and vitronectin) นอกจากนี้ SPE ยังมีคุณสมบัติเป็นซุปเปอร์แอนติเจน ซึ่งทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของทีลิมโฟไซต์ (T-lymphocytes) ในระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่เฉพาะเจาะจง[๐๗]
- Streptolysin S (SLS) มีบทบาทสำคัญทำให้เกิดลักษณะของเบต้าฮีโมไลซิส (β-hemolytic phenotype) บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดผสม SLS เป็นสารที่มีขนาดเล็ก ไม่สามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน[๐๘] ส่วน Streptolysin O (SLO) เป็นสารที่เป็นพิษต่อหัวใจเมื่อให้ผ่านเส้นเลือดแบบช้า ๆ ในสัตว์ทดลองและสารนี้มีคุณสมบัติกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ ซึ่งแอนติบอดีต่อ SLO ใช้สำหรับการตรวจหาการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ในทางคลินิก
- Streptokinase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนสารพลาสมิโนเจน (plasminogen) ให้เป็นสารพลาสมิน (plasmin) ซึ่งจะทำงานโดยขัดขวางการทำงานของไฟบริน ยับยั้งกระบวนการแข็งตัวของเกล็ดเลือดในร่างกายมนุษย์ เป็นปัจจัยช่วยทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถแพร่กระจายไปยังบริเวณกว้าง และลุกลามเข้าไปยัง

Scanned by CamScanner

เนื้อเยื่อชั้นในได้มากขึ้น[๑๗] อย่างไรก็ตามเอนไซม์ Streptokinase ที่ใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีทางชีวภาพจากสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปจี (group G streptococcus) สามารถใช้ประโยชน์ในการละลายลิ่มเลือด ในการรักษาโรคลิ่มเลือดอุดตันในมนุษย์ เอนไซม์อื่น ๆ เช่น hyaluronidase สามารถละลายสาร ground substance และอาจมีส่วนช่วยให้แบคทีเรียผ่านเข้าไปยังเนื้อเยื่อภายในได้ เอนไซม์ NADase และ DNAases พบว่าถูกสร้างในสายพันธุ์ของกรุ๊ปเอ แต่ยังไม่ทราบความสัมพันธ์และบทบาทที่เกี่ยวกับการเกิดโรค นอกจากนี้สารอื่น ๆ ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ได้แก่ F protein หรือ lipotechoic acid (LTA) หรือ immunoglobulin binding proteins (IBP) และเอนไซม์ C5 convertase กำลังศึกษาถึงบทบาทความสำคัญ[๑๔]

๓. อาการทางคลินิกและการรักษา (clinical manifestation and treatment)

การติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ทำให้เกิดอาการได้หลายรูปแบบและมีอาการรุนแรงดังที่ได้กล่าวมาแล้ว อาการทางคลินิกที่สำคัญและเป็นลักษณะเด่นชัด คือ กลุ่มอาการ toxic streptococcal syndrome และพังผืดอักเสบและมีการตายของเนื้อเยื่อ (necrotizing fasciitis)[๒๐] กลุ่มอาการคอหอยอักเสบ (pharyngitis) และไข้ดำแดง (scarlet fever) มักพบได้บ่อยและติดเชื้อได้ง่ายในช่วงอายุ ๕-๑๕ ปี จาก สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่สร้างโปรตีนเอ็ม ที่ทำให้เกิดอาการติดเชื้อบริเวณลำคอและอาการไข้รูห์มาติก คือ สายพันธุ์ชนิด ๑, ๓, ๕, ๖, ๑๔, ๑๘, ๑๙ และ ๒๔ ส่วนบางสายพันธุ์ของโปรตีนเอ็ม เช่น ๒, ๔๙, ๕๗, ๕๙, ๖๐ และ ๖๑ ทำให้เกิดการติดเชื้อแบบ pyoderma และกรวยไตอักเสบเฉียบพลัน (acute glomerulonephritis)[๑] ในการศึกษาทางคลินิกและทางระบาดวิทยาพบว่าการเกิดอาการแทรกซ้อนแบบรุนแรงและ toxic streptococcal disease สัมพันธ์กับสายพันธุ์ชนิด M types ๑, ๓, ๑๑, ๑๒ และ ๒๘ โดยที่สายพันธุ์ชนิด M1 และ M3 พบได้บ่อยที่สุด ในขณะที่สายพันธุ์อื่น ๆ พบได้น้อย[๒๑]

ยาที่เลือกใช้เป็นอันดับแรกสำหรับรักษาการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ คือ ยากลุ่มเพนนิซิลิน[๑๗,๑๘] การใช้ยากลุ่มเพนนิซิลินเพื่อป้องกันการเกิดไข้รูห์มาติก ยังเป็นข้อแนะนำสำหรับผู้ที่เคยติดเชื้อชนิดนี้[๒๒] การรักษาการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัสด้วยยาเพนนิซิลินในทันทีที่ตรวจพบการติดเชื้อนี้ ป้องกันการเกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายที่จะทำให้เกิดกลุ่มอาการไข้รูห์มาติกและท่อกรวยไตอักเสบ[๒๓] มีรายงานปัญหาของการรักษาที่ล้มเหลวแต่พบว่าเกิดเนื่องจากการติดเชื้อร่วมกับแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถผลิตเอนไซม์เลกตาเมส (lactamase-producing bacteria) ซึ่งจะทำลายฤทธิ์ของยาเพนนิซิลิน[๒๔] และในกรณีที่เชื้อลุกลามไปยังเนื้อเยื่อบุชั้นในมาก ยาเพนนิซิลินอาจออกฤทธิ์ได้ไม่ดีนัก

การรักษาอาการพิษจากแบคทีเรียหรือในกรณีที่แบคทีเรียลุกลามไปยังเนื้อเยื่อบุภายในและมีการอักเสบลุกลามเป็นบริเวณกว้าง การใช้ยาเพนนิซิลินอาจได้ผลไม่ถึงร้อยละ ๕๐ การเลือกใช้ยากลุ่มอื่น เช่น คลินดาไมซิน (clindamycin) พบว่าการศึกษาในห้องทดลองสามารถกำจัดเชื้อสเตรปโตคอกคัสได้ดีกว่าเพนนิซิลิน[๑๘] นอกจากนี้การรักษาอาการ streptococcal toxic shock syndrome (STSS) ที่มีอาการ necrotizing fasciitis ร่วมด้วย โดยการใช้อิมมูโนโกลบูลิน (intravenous immunoglobulin =IVIG) สามารถลดความรุนแรงของอาการและเพิ่มอัตราการรอดชีวิต (survival rate) โดยการตรวจพลาสมาของผู้ป่วยที่ได้รับ IVIG สามารถยับยั้งคุณสมบัติของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบ superantigen-induced T cell proliferation นอกจากนี้ IVIG สามารถยับยั้งฤทธิ์ของ SPE-A SPE-B และ SPE-C[๒๕]

๔. การศึกษาและพัฒนาวัคซีนในสัตว์ทดลอง

การศึกษาเพื่อพัฒนาวัคซีนใช้ระยะเวลานานและมีความพยายามในการศึกษาเป็นเวลาต่อเนื่อง เพื่อจะพัฒนาจากเป้าหมาย โดยทำการทดลองประสิทธิภาพ

Scanned by CamScanner

ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน รวมทั้งทดสอบความปลอดภัยเบื้องต้นในสัตว์ทดลอง (preclinical trial) เพื่อนำไปสู่วัคซีนคัดเลือก (candidate vaccine) ซึ่งเป็นระยะที่มีการทดลองใช้ในมนุษย์ แบ่งเป็นการศึกษาทางคลินิกระยะที่ ๑, ระยะที่ ๒, ระยะที่ ๓ และระยะหลังจากอนุญาตจำหน่าย (clinical trial phase I, II, III and post-marketing phase) เพื่อให้สามารถนำมาใช้ได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพสูงสุดการพัฒนาวัคซีนป้องกันเชื้อสเตรปโคคอกคัส กรุ๊ปเอ มีข้อจำกัด ได้แก่ วัคซีนต้องไม่กระตุ้นให้เกิดอาการภูมิต้านทานต่อร่างกายตนเอง (เช่น ไข้รูห์มาติกเฉียบพลัน) เนื่องจากโปรตีนเอ็มมีความสัมพันธ์กับการเกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (tissue cross-reactivity) โดยเฉพาะต่อผนังเยื่อบุหัวใจ[๒๖] วัคซีนที่ ใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นต้องสามารถป้องกันการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ได้หลายสายพันธุ์และครอบคลุมการระบาดของเชื้อได้โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่มีโปรตีนเอ็มซึ่งมีมากกว่า ๘๐ สายพันธุ์ และอาจจะต้องครอบคลุมในบางพื้นที่ที่มีการระบาดโดยสายพันธุ์ที่ไม่มีโปรตีนเอ็ม นอกจากนี้วัคซีนต้องสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้เป็นช่วงเวลาหนึ่งที่ป้องกันโรคหรือการระบาดได้ ก่อให้เกิดอาการข้างเคียงจากการใช้วัคซีนได้น้อย และมีความสะดวกในการนำไปใช้

เนื่องจากสกัดแยกโปรตีนเอ็มได้ครั้งแรกจากสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ และพบว่าเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการเกิดโรคที่รุนแรง จึงมีการศึกษาถึงความสามารถของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยใช้โปรตีนเอ็มและเป็นการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการพัฒนาวัคซีนสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ในระยะแรกจนกระทั่งปัจจุบัน โดยอาจแบ่งออกได้เป็น ๒ กลุ่มเป้าหมายสำคัญ คือ กลุ่มที่เลือกใช้ส่วนปลายอะมิโน (N-terminal region) ของโปรตีนเอ็ม และกลุ่มที่พัฒนาโดยเลือกใช้ส่วนปลายคาร์บอกซิลิก (conserved carboxy terminal region) ของโปรตีนเอ็ม โดยเลือกใช้เฉพาะส่วนที่สามารถใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ หรืออิพิโทป (epitope) สำคัญ

การศึกษาและพัฒนาวัคซีนจากส่วนปลายอะมิโนของโปรตีนเอ็ม โดย Beachey และคณะ[๒๖] พ.ศ. ๒๕๒๙ โดยใช้เปปไทด์ลูกผสม (hybrid peptide) ระหว่างสายพันธุ์ ๕ และ ๒๔ ของโปรตีนเอ็ม โดยรวมอยู่ใน tandem พบว่าเปปไทด์สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ และเป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยนำส่วนของโปรตีนเอ็มจากหลายสายพันธุ์มารวมอยู่ในวัคซีนหนึ่งชนิด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Dale และคณะ โดยการใช้ multivalent hybrid recombinant tetravalent[๒๗] และ octavalent[๒๘] ของโปรตีนเอ็ม ซึ่งเป็นส่วนปลายสายอะมิโนของโปรตีนเอ็ม ของสายพันธุ์ ๒๔, ๕, ๖, และ ๑๙ (N terminus of M types 24, 5, 6, and 19) พบว่าเมื่อนำไปฉีดในกระต่าย สามารถกระตุ้นให้เกิดแอนติบอดีต่อทั้งสี่สายพันธุ์ของโปรตีนเอ็ม และแอนติบอดีดังกล่าวไม่พบว่าเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มต่อเนื้อเยื่อมนุษย์ ต่อมาการศึกษา Hu และคณะ[๒๙] พ.ศ. ๒๕๔๕ ใช้ recombinant protein จากส่วนอะมิโนที่ประกอบด้วยสายพันธุ์ของ สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ๒๖ สายพันธุ์[๒๙] พบว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้ดี และได้พัฒนาสู่การทดลองทางคลินิกระยะที่ ๑ เช่นกัน นอกจากนี้การศึกษาของ Bruner และคณะ[๓๐] โดยการใช้ multiple synthetic M type-specific peptides จากปลายอะมิโนของโปรตีนเอ็ม ๓ สายพันธุ์ที่พบได้บ่อยในอเมริกา พบว่าการใช้เปปไทด์สังเคราะห์สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันที่เฉพาะต่อโปรตีนเอ็ม และอาจใช้เป็นสารกระตุ้นสำหรับการพัฒนาวัคซีนได้

อย่างไรก็ตาม การศึกษาโดยใช้ส่วนปลายอะมิโนอาจไม่เพียงพอสำหรับการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ที่มีมากกว่า ๘๐ สายพันธุ์ จึงมีการศึกษาเปปไทด์โดยใช้ส่วนของปลายคาร์บอกซิลิกที่เป็นส่วนอนุรักษ์พบได้หลายสายพันธุ์ในเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ การให้วัคซีนที่เยื่อบุทางปากหรือให้ผ่านทางหายใจ[๓๑] หรือการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ[๓๒] ที่ประกอบด้วยเปปไทด์สังเคราะห์จากปลายคาร์บอกซิลของโปร-

Scanned by CamScanner

ตีนเอ็ม หรือเปปไทด์และสารช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (adjuvant)[๓๑] สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดอิมมูโนโกลบุลินเอ (IgA) เมื่อให้ในหนูทดลองและสามารถป้องกันการเกิดการเกาะกลุ่ม (colonization) ของแบคทีเรียที่บริเวณผิวเยื่อบุ เมื่อให้แบคทีเรียจากสายพันธุ์ชนิดเดียวกับวัคซีนซ้ำ (GAS challenge) และสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ต่างสายพันธุ์ได้ (homologous and heterologous serotypes)[๓๐] แม้ว่าเปปไทด์จากส่วนปลายคาร์บอกซิล ที่เป็นส่วนอนุรักษ์ (conserved region) เมื่อให้ทางโพรงจมูก (intranasal) ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันชนิด opsonic antibody หรือกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในซีรั่ม (mainly IgG immunoglobulin) แต่ว่าสามารถลดการเกิดการเกาะกลุ่มที่บริเวณทางหายใจบริเวณเยื่อบุได้ การศึกษาของ Bronze และคณะ[๓๓,๓๔] ได้แสดงให้เห็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เยื่อบุสามารถเพิ่มระดับของภูมิคุ้มกันที่เยื่อบุได้ โดยการให้เชื้อแบคทีเรียที่ฆ่าด้วยความร้อน (heat-killed M24 strep) หรือเปปไทด์ (pep M24) ทางจมูก ในหนูทดลองแสดงให้ถึงประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อเมื่อให้เชื้อแบคทีเรียซ้ำแบบเกาะกลุ่มได้

ในส่วนของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อแบคทีเรีย ภูมิคุ้มกันชนิดอิมมูโนโกลบุลินจี (IgG) ที่จำเพาะต่อโปรตีนเอ็ม (M protein-specific opsonic IgG) สามารถจับที่ผิว หรือโปรตีนบนผิวของเชื้อแบคทีเรีย สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ และเกิดกระบวนการทำให้แบคทีเรียและเซลล์อื่นถูกกลืนกิน (opsonization) เพื่อกำจัดแบคทีเรีย โดยพบว่าภูมิคุ้มกันชนิดนี้ป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ และป้องกันการติดเชื้อในร่างกาย ส่วนภูมิคุ้มกันชนิดอิมมูโนโกลบุลินเอ (IgA) ที่จำเพาะต่อโปรตีนเอ็ม สามารถป้องกันการติดเชื้อที่เยื่อบุโดยยับยั้งการเกาะกลุ่มของแบคทีเรียที่เยื่อบุผิว ลดการกระจายเชื้อแบคทีเรียและทำหน้าที่สำคัญที่เยื่อบุผิว ดังเช่นการศึกษาในหนูทดลอง โดยใช้ส่วนของเปปไทด์ของโปรตีนเอ็ม (ลำดับกรดอะมิโนที่ ๒๐๖ ถึง ๒๓๕, ๒๔๘ ถึง ๒๖๙, และ ๒๗๕ ถึง ๒๘๔) ซึ่งทำการคอนจูเกต (conjugate) กับ cholera toxin B subunit พบว่าบทบาทของอิมมูโนโกลบุลินเอ (IgA) ที่บริเวณเยื่อบุสามารถป้องกันหนูจากการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัส และสามารถลดอัตราการตายในหนูทดลอง[๓๕] นอกจากนี้อิมมูโนโกลบุลินเอที่จำเพาะต่อโปรตีนเอ็ม สามารถป้องกันการเกาะกลุ่มของเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ต่อเซลล์เยื่อบุผิวบริเวณคอหอย (pharyngeal epithelial cells) ในการทดลองแบบภายนอกร่างกาย (in vitro study) ส่วนอิมมูโนโกลบุลินจี (IgG) ที่จำเพาะต่อโปรตีนเอ็มไม่ได้ลดการเกาะกลุ่มของแบคทีเรียแต่ทำหน้าที่ลดการลุกลามภายในเซลล์เยื่อบุผิวบริเวณคอหอย[๓๖] จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า อิมมูโนโกลบุลินจีป้องกันการลุกลาม และอิมมูโนโกลบุลินเอ ป้องกันการเกาะติดเซลล์และการเกาะกลุ่ม ดังเช่นการศึกษาของ Fischetti และคณะ[๓๗] แสดงให้เห็นว่าการให้อิมมูโนโกลบุลินเอที่จำเพาะต่อโปรตีนเอ็ม มีผลต่อการติดเชื้อและการเกิดการเกาะกลุ่มของแบคทีเรีย โดยพบว่าอิมมูโนโกลบุลินเอ สามารถลดอัตราการติดเชื้อและอัตราการตายจากการติดเชื้อสายพันธุ์โปรตีนเอ็มของสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าอิมมูโนโกลบุลินเอ ไม่ได้กำจัดแบคทีเรียโดยกระบวนการ opsonization

นอกจากนี้ การศึกษาในปัจจุบันยังขยายไปยังเป้าหมายต่าง ๆ ของแบคทีเรียสเตรปโคคอกคัส กรุ๊ปเอ ที่อยู่บนผิวเซลล์ของแบคทีเรีย นอกเหนือจากโปรตีนเอ็ม เช่น full-length fibronectin-binding protein I (SfbI)[๓๘] C5a peptidase[๓๙] fibronectin binding protein (FBP54)[๔๐] และ cell-wall polysaccharide (CWPS)[๔๑] ซึ่งกำลังเป็นเป้าหมายใหม่สำหรับการพัฒนาวัคซีนเช่นกัน และยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้น เช่น SPE-A, SPE-B และ SPE-C เพื่อนำมาใช้กับผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรียและมีอาการทางคลินิกรุนแรง โดยกลไก

Scanned by CamScanner

การสะเทิน (neutralizing) สารพิษจากแบคทีเรีย[๔๒]

๕. การศึกษาวัคซีนระดับคลินิก ระยะที่ ๑

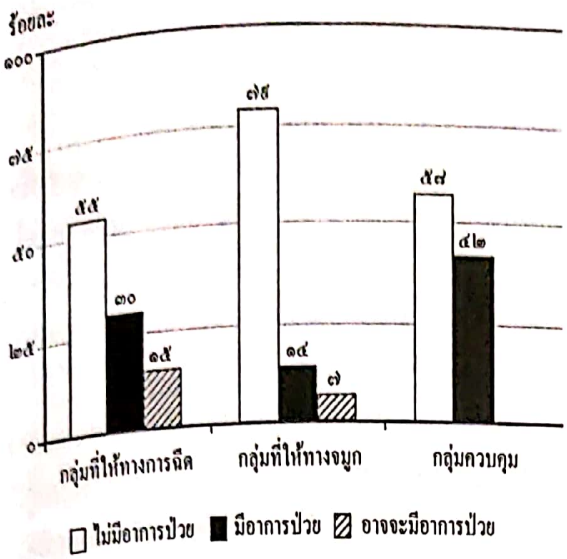
ตั้งแต่ พ.ศ. ๒๔๗๓ มีการศึกษาวัคซีนป้องกันเชื้อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ในมนุษย์ โดยการใช้เชื้อแบคทีเรียที่ตายแล้วของสเตรปโตคอกคัส ฉีดเข้าเส้นเลือดดำในเด็กที่มีอาการไข้รูห์มาติก มีรายงานว่าลดอัตราการกลับเป็นซ้ำ (recurrence rate) ของโรคได้[๔๓] ต่อมาใน พ.ศ. ๒๔๘๓ มีการใช้ความร้อนและแสงอุลตราไวโอเลต เพื่อการฆ่าเชื้อสเตรปโตคอกคัส แล้วนำมาฉีดใต้ผิวหนังเป็นจำนวนหลายครั้ง ในกลุ่มทหารเกณฑ์ใหม่ พบอุบัติการของการเกิดพิษและไม่ให้ผลในการป้องกันโรค[๔๔]

บทบาทของภูมิคุ้มกันต่อโปรตีนเอ็มในมนุษย์ ได้มีการศึกษาใน พ.ศ. ๒๔๙๓ จากกลุ่มคนวัยทำงานที่มีแอนติบอดีเฉพาะต่อโปรตีนเอ็ม พบว่ามีการติดเชื้อแบคทีเรียได้น้อยกว่า ๖ เท่าของกลุ่มที่ไม่มีแอนติบอดีเฉพาะต่อโปรตีนเอ็ม แต่ว่าแอนติบอดีชนิดนี้ไม่ได้มีผลต่อการเกิดอาการทางคลินิกของสเตรปโตคอกคัส (tonsillopharyngeal acquisition of GAS)[๔๕] ในช่วงพ.ศ. ๒๕๑๒ รายงานผลการทดลองด้วยการให้วัคซีน ในอาสาสมัครสุขภาพดี ๒๓ คนที่ไม่มีประวัติการเจ็บป่วยด้วยไข้รูห์มาติก ด้วยวิธีฉีดโปรตีนสายพันธุ์เอ็ม ๓ กึ่งบริสุทธิ์ (partially purified serotype M3 protein) เข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneously) เป็นจำนวน ๑๘-๓๓ ครั้ง พบว่ามีค่าแอนติบอดีต่อสเตรปโตไลซิน โอ (anti-Streptolysin O titer) สูงขึ้น ซึ่งเป็นเกณฑ์หนึ่งที่ใช้วินิจฉัยการเกิดอาการไข้รูห์มาติกแบบเฉียบพลัน (acute rhumatic fever: ARF) พบ ๒ รายเกิดอาการไข้รูห์มาติก และ ๑ รายที่อาจจะเป็นไข้รูห์มาติกแบบเฉียบพลัน แสดงให้เห็นถึงอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดหลังจากการให้วัคซีน[๔๖]

ตั้งแต่ พ.ศ. ๒๕๑๓ เป็นต้นมา มีการศึกษาโดยใช้โปรตีนเอ็มบริสุทธิ์ (purified M protein vaccines from type 3 and type 12 group A streptococcus) ฉีดเข้าทางผิวหนังหรือให้ทางเยื่อบุ โดย D'Alessandri และคณะ[๔๗] ศึกษาในอาสาสมัครวัยทำงาน ๒๐๐ คน แบ่งออกเป็น ๓ กลุ่ม กลุ่มแรกได้รับวัคซีนหลอก โดยวิธีการฉีดเข้าผิวหนัง และทางโพรงจมูก กลุ่มที่สอง ได้รับวัคซีนทางการฉีดเข้าผิวหนัง (ทั้งสายพันธุ์โปรตีนเอ็มชนิด ๓ หรือ ๑๒) และได้รับวัคซีนหลอกทางโพรงจมูก และกลุ่มที่สามได้รับวัคซีนหลอกทางการฉีดเข้าผิวหนัง และได้รับวัคซีนทางโพรงจมูก (ทั้งสายพันธุ์โปรตีนเอ็มชนิด ๓ หรือ ๑๒) โดยอาสาสมัครได้รับวัคซีนเป็นจำนวน ๓ ครั้ง ครั้งละ ๑ เดือนของการให้วัคซีน

หลังจากให้วัคซีนขนาดสุดท้ายเป็นเวลา ๓๐-๕๐ วัน อาสาสมัครได้รับการทดสอบด้วยเชื้อสเตรปโตคอกคัสสายพันธุ์เดียวกับที่ได้รับวัคซีน โดยการให้ทางช่องปาก พบว่า ๖ คน (คิดเป็นร้อยละ ๓๐) ที่ให้วัคซีนทางการฉีดเข้าผิวหนังมีอาการป่วยด้วยเชื้อ โดยอาสาสมัคร ๓ คน (ร้อยละ ๑๕) อาจมีอาการป่วย และ ๑๑ คน (ร้อยละ ๕๕) ไม่มีอาการป่วย ในกลุ่มที่ให้วัคซีนทางโพรงจมูก พบว่า ๔ คน (ร้อยละ ๑๔) มีอาการป่วย และมี ๒ คน (ร้อยละ ๗) อาจจะมีอาการป่วย และ ๒๒ คน (ร้อยละ ๗๙) ไม่มีอาการป่วย โดยในกลุ่มควบคุม มีอาการป่วย ๑๕ คน (ร้อยละ ๔๒) และ ๒๑ คน (คิดเป็นร้อยละ ๕๘) ไม่มีอาการป่วย[๔๗] (รูปที่ ๓) เมื่อศึกษาถึงอัตราการเกิดการเกาะกลุ่ม ในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนทางโพรงจมูก มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยค่าเฉลี่ยทางคลินิกและการเกิดอาการข้างเคียงจากวัคซีน ลดลงในกลุ่มที่ให้วัคซีนทางโพรงจมูกเช่นเดียวกัน นอกจากนี้การวัดค่าระดับแอนติบอดีในซีรั่มที่จำเพาะต่อแบคทีเรีย โดยวิธี passive hemagglutination ไม่พบว่าสัมพันธ์กับการทำนายความสามารถต่อต้าน สเตรปโตคอกคัสได้ อาสาสมัครทุกคนได้รับยาเพนนิซิลิน เป็นเวลา ๕ วันหลังจากได้รับเชื้อสเตรปโตคอกคัส โดยไม่พบการติดเชื้อหรืออาการหลังการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัสหลังจากได้รับยา การให้วัคซีนทางโพรงจมูกด้วยโปรตีนเอ็ม แสดงผลช่วยลดการเกิดการเกาะกลุ่มของแบคทีเรียและการติดเชื้อหลังจากมีการให้เชื้อแบคทีเรียด้วยสายพันธุ์เดียวกันกับ

Scanned by CamScanner



รูปที่ ๓ การวัดผลอาการทางคลินิก ในกลุ่มทดลองที่ให้วัคซีนทางการฉีดทางผิวหนัง (parenteral group) กลุ่มทดลองที่ให้วัคซีนทางโพรงจมูก (intranasal group) และกลุ่มควบคุม (control group) ที่ได้จากการศึกษาของ D'Alessandri และคณะ[๔๗]

วัคซีน และพบว่าการให้วัคซีนที่เยื่อบุ หรือวิธีการฉีดให้ประสิทธิภาพในการป้องกันโรคหลังจากมีการให้สเตรปโตคอกคัส ซ้ำ (challenge) ประมาณร้อยละ ๘๖ และ ๗๐ ตามลำดับ[๔๗]

Polly และคณะ[๔๘] ศึกษาการให้วัคซีนแบบละอองฝน (aerosol spray) โดยการให้วัคซีนทุกเดือน เป็นเวลา ๓ เดือน ด้วยสายพันธุ์โปรตีนเอ็ม ๑ ที่บริสุทธิ์ (purified type 1 M protein of group A streptococcus) วัคซีนถูกละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ และบริหารยาด้วยวิธีพ่นเป็นละอองเข้าทางจมูกและทางช่องปาก (the nares and oropharynx) ในกลุ่มควบคุมอาสาสมัคร ๒๓ คน ได้รับแต่สารละลายบัฟเฟอร์เช่นเดียวกับกลุ่มทดลอง เมื่อสุ่มตรวจค่าระดับแอนติบอดีในซีรั่มและในน้ำล้างช่องจมูก หลังจากให้วัคซีนขนาดที่สามประมาณ ๓๐ วัน อาสาสมัครได้รับการทดสอบซ้ำ ด้วยสายพันธุ์โปรตีนเอ็ม ๑ สเตรปโตคอกคัส ทางช่องปากบริเวณคอหอยและต่อมทอนซิล ด้วยการวัดผลแบบ double-blind system จากอาการทางคลินิกและกลุ่มอาการที่วินิจฉัยว่ามีการติดเชื้อ อาการป่วยได้รับการยืนยันด้วยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ จากการตรวจเพาะเชื้อแบคทีเรียที่ลำคอ ระดับอุณหภูมิของร่างกาย (มีไข้) และการนับเซลล์เม็ดเลือดขาว (white blood cell count) ที่มีค่าสูงขึ้นเกิน ๒ เท่าของระดับปรกติ อาการติดเชื้อมีหนองที่บริเวณคอหอย (exudative pharyngitis) และอาการต่อมน้ำเหลืองโตที่คอมดลูก (cervical adenopathy) จากเกณฑ์วินิจฉัยดังกล่าว อาสาสมัครในกลุ่มทดลอง ๔ คนและกลุ่มควบคุม ๑๑ คนมีอาการป่วย ในกลุ่มทดลองมี ๑ คนและในกลุ่มควบคุม ๖ คน แสดงว่าอาจมีอาการป่วย และในกลุ่มทดลอง ๑๖ คนและในกลุ่มควบคุม ๖ คนไม่มีอาการป่วย ($p< 0.001$) การเพาะเชื้อแบคทีเรียจากลำคอพบผลบวก ๕ คนจากกลุ่มทดลอง และ ๑๖ คนในกลุ่มควบคุม ($p< 0.001$)[๔๘] อาสาสมัครทุกคนได้รับยาเพนนิซิลินเป็นเวลา ๕ วันหลังจากได้รับเชื้อสเตรปโตคอกคัส โดยไม่พบการติดเชื้อหรืออาการหลังการติดเชื้อสเตรปโตคอกคัสหลังจากได้รับยา ดังนั้น การให้วัคซีนบริเวณเฉพาะที่ด้วยโปรตีนเอ็มบริสุทธิ์ สามารถป้องกันทั้งการเกิดการเกาะกลุ่มและอาการทางคลินิกหลังจากให้แบคทีเรียซ้ำด้วยสายพันธุ์เดียวกันกับวัคซีน

ใน พ.ศ. ๒๕๒๒ Beachey และคณะ[๔๙] ได้ศึกษาถึงความปลอดภัยของวัคซีนโปรตีนเอ็ม โดยใช้การสกัดด้วยเปปซิน และผลิตโปรตีนชื่อ pep M24 เมื่อนำไปใช้ในอาสาสมัคร สามารถกระตุ้นให้เกิดแอนติบอดี (opsonic antibody) ต่อเชื้อสเตรปโตคอกคัสชนิดสายพันธุ์โปรตีนเอ็ม ๒๔ โดยแอนติบอดีต่อ pep M24 นำมาตรวจสอบหลายวิธี (๑) type-specific humoral antibodies (opsonophagocytic tests) (๒) total humoral antibodies (complement fixation and enzyme-linked immunosorbent assay) (๓) cellular immunity (skin tests) และ (๔) heart cross-reactive antibodies (immunofluorescence) พบว่าการใช้ pep M24 ในคนไม่ก่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบ delayed-type hypersensitivity reac-

Scanned by CamScanner

tion นอกจากนี้ ไม่พบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม ต่อเนื้อเยื่อหัวใจด้วยวิธี immuno-fluorescence tests[๔๙]

และในรายงานทางการแพทย์ พ.ศ. ๒๕๔๗ การศึกษาโดย Kotloff และคณะ[๕๐] แสดงความปลอดภัยของการทดสอบวัคซีนในคน จากการทดลองทางคลินิกระยะที่ ๑ ด้วยวัคซีนที่มีส่วนประกอบของโปรตีนเอ็ม ๖ สายพันธุ์ (hexavalent M types recombinant fusion protein from serotypes 1, 3, 5, 6, 19, and 24) ในอาสาสมัครจำนวน ๒๘ คน (อายุระหว่าง ๑๘-๕๐ ปี) เมื่อให้วัคซีนด้วยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อต้นแขน (intramuscular injections: deltoid muscle) ด้วยปริมาณน้อย (๕๐ ไมโครกรัม) ๘ คน ปริมาณ ๑๐๐ ไมโครกรัม ๑๐ คน และปริมาณ ๒๐๐ ไมโครกรัม ๑๐ คน

การประเมินผล โดยใช้ความปลอดภัยทางคลินิก (assessments of clinical safety) ด้วยการวัดแอนติบอดีต่อวัคซีน ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเนื้อเยื่อของผู้รับวัคซีน และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และวัดการเกิด opsonophagocytic และ bactericidal-antibody responses จากการติดตามผล ๑ ปี แสดงให้เห็นว่าวัคซีนมีความปลอดภัย (well tolerated) ไม่พบอุบัติการณ์ปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม หรืออาการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่พึงประสงค์ และในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนขนาด ๒๐๐ ไมโครกรัม มีค่าระดับแอนติบอดีเฉลี่ยต่อโปรตีนเอ็มทั้ง ๖ สายพันธุ์ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.00$) เมื่อวัดผลโดยวิธี ELISA และพบว่ามีค่า opsonophagocytosis assay ($p< 0.05$) นอกจากนี้ หลังจากให้วัคซีนพบค่าระดับซีรั่มต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (serum bactericidal activity) สูงขึ้นอย่างน้อยร้อยละ ๓๐[๕๐] แสดงให้เห็นว่า การให้วัคซีนด้วย hybrid fusion protein สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกัน แบบ type-specific opsonic antibodies ต่อสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ในหลายสายพันธุ์ โดยไม่เกิดแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มต่อเนื้อเยื่อของผู้ที่ได้รับวัคซีน แสดงให้เห็นความก้าวหน้าของการพัฒนาวัคซีนสำหรับสเตรปโตคอกคัสกรุ๊ปเอ

สรุป

ปัญหาสำคัญของการพัฒนาวัคซีนสำหรับ สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ที่ต้องพิจารณาคือความปลอดภัยในการนำมาใช้ในมนุษย์ และประสิทธิภาพในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้สามารถป้องกันแบคทีเรียที่มีความแตกต่างได้หลายสายพันธุ์

วัคซีนเป้าหมายที่พัฒนาโดยเลือกใช้ส่วนปลายอะมิโนของโปรตีนเอ็ม สามารถกระตุ้นให้เกิดระบบภูมิคุ้มกันที่ป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียในซีรั่ม และภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นสามารถกำจัดแบคทีเรียและป้องกันการลุกลามภายในเซลล์ โดยกระบวนการออฟโซนิเซชัน ในขณะที่การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อส่วนอนุรักษ์คาร์บอกซิลิกของโปรตีนเอ็ม ป้องกันการเกิดการเกาะกลุ่ม สเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ที่บริเวณเยื่อบุผิวได้ แม้ว่าจะต้องคัดเลือกเฉพาะส่วนที่ไม่ก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อร่างกายตนเองจากการตอบสนองแบบปฏิกิริยาข้ามกลุ่มของเนื้อเยื่อในมนุษย์

นอกจากนี้เป้าหมายใหม่ของการพัฒนาวัคซีนสเตรปโตคอกคัส กรุ๊ปเอ ยังจำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาต่อไป เพื่อให้ได้วัคซีนที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้

เอกสารอ้างอิง

๑. Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. Clin Microbiol Rev 2000; 13:470-511.

๒. Carapetis JR, Currie BJ, Kaplan EL. Epidemiology and prevention of group A streptococcal infections: acute respiratory tract infections, skin infections, and their sequelae at the close of the twentieth century. Clin Infect Dis 1999; 28:205-10.

๓. O'Brien KL, Beall B, Barrett NL, Cieslak PR, Reingold A, Farley MM, et al. Epidemiology of invasive group a streptococcus disease in the United States, 1995-1999. Clin Infect Dis 2002; 35:268-76.

Scanned by CamScanner

๔. Suankratay C, Nunthapisud P, Wilde H. Invasive group A Streptococcal infections at Chulalongkorn University Hospital. J Med Assoc Thai 2001; 84:1594-603.

๕. Facklam RF, Martin DR, Lovgren M, Johnson DR, Efstratiou A, Thompson TA, et al. Extension of the Lancefield classification for group A streptococci by addition of 22 new M protein gene sequence types from clinical isolates: emm103 to emm124. Clin Infect Dis 2002; 34:28-38.

๖. Beall B, Facklam R, Thompson T. Sequencing emm-specific PCR products for routine and accurate typing of group A streptococci. J Clin Microbiol 1996; 34:953-8.

๗. Pimtanothai N, Orataiwun P, Nilgate S, Suankatay C, Nunthapisud P. Emm types of invasive group A streptococcal isolates from Thai patients at King Chulalongkorn Memorial Hospital from 1995-1999. J Med Assoc Thai 2002; 85 Suppl 1: S371-7.

๘. Rehder CD, Johnson DR, Kaplan EL. Comparison of methods for obtaining serum opacity factor from group A streptococci. J Clin Microbiol 1995; 33:2963-7.

๙. Redd SC, Facklam RR, Collin S, Cohen ML. Rapid group A streptococcal antigen detection kit: effect on antimicrobial therapy for acute pharyngitis. Pediatrics 1988; 82:576-81.

๑๐. Jansen TL, Janssen M, Traksel R, de Jong AJ. A clinical and serological comparison of group A versus non-group A streptococcal reactive arthritis and throat culture negative cases of post-streptococcal reactive arthritis. Ann Rheum Dis 1999; 58:410-4.

๑๑. Beall B, Facklam R, Hoenes T, Schwartz B. Application of emm gene sequencing and T antigen serology for typing group A streptococcal systemic isolates. Survey of random and outbreak-related isolates. Adv Exp Med Biol 1997; 418:307-11.

๑๒. Fischetti VA. Streptococcal M protein. Sci Am 1991; 264:58-65.

๑๓. Bisno A, Brito M, Collins C. Molecular basis of group A streptococcal virulence. Lancet Infect Dis 2003; 3:191-200.

๑๔. Fischetti VA. Streptococcal M protein: molecular design and biological behavior. Clin Microbiol Rev 1989; 2:285-314.

๑๕. Schrager HM, Alberti S, Cywes C, Dougherty GJ, Wessels MR. Hyaluronic acid capsule modulates M protein-mediated adherence and acts as a ligand for attachment of group A Streptococcus to CD44 on human keratinocytes. J Clin Invest 1998; 101:1708-16.

๑๖. Robinson JH, Kehoe MA. Group A streptococcal M proteins: virulence factors and protective antigens. Immunol Today 1992; 13:362-7.

๑๗. Stevens DL. Invasive group A streptococcus infections. Clin Infect Dis 1992; 14:2-11.

๑๘. Stevens DL. Invasive group A streptococcal disease. Infect Agents Dis 1996; 5:157-66.

๑๙. Jenkinson HF, Lamont RJ. Streptococcal adhesion and colonization. Crit Rev Oral Biol Med 1997; 8:175-200.

๒๐. Eriksson BK, Andersson J, Holm SE, Norgren M. Epidemiological and clinical aspects of invasive group A streptococcal infections and the streptococcal toxic shock syndrome. Clin Infect Dis 1998; 27:1428-36.

๒๑. Banks DJ, Beres SB, Musser JM. The fundamental contribution of phages to GAS evolution, genome diversification and strain emergence. Trends Microbiol 2002; 10:515-21.

๒๒. Pichichero ME. Group A streptococcal tonsillopharyngitis: cost-effective diagnosis and treatment. Ann Emerg Med 1995; 25: 390-403.

๒๓. Johnston F, Carapetis J, Patel MS, Wallace T, Spillane P. Evaluating the use of penicillin to control outbreaks of acute poststreptococcal glomerulonephritis. Pediatr Infect Dis J 1999; 18:327-32.

๒๔. Sela S, Barzilai A. Why do we fail with penicillin in the treatment of group A streptococcus infections? Ann Med 1999; 31:303-7.

๒๕. Cawley MJ, Briggs M, Haith LR Jr, Reilly KJ, Guilday RE, Braxton GR, et al. Intravenous immunoglobulin as adjunctive treatment for streptococcal toxic shock syndrome associated with necrotizing fasciitis: case report and review. Pharmacotherapy 1999; 19:1094-8.

๒๖. Beachey EH, Gras-Masse H, Tarter A, Jolivet M, Audibert F, Chedid L, et al. Opsonic antibodies evoked by hybrid peptide copies of types 5 and 24 streptococcal M proteins synthesized in tandem. J Exp Med 1986; 163:1451-8.

๒๗. Dale JB, Chiang EY, Lederer JW. Recombinant tetravalent group A streptococcal M protein vaccine. J Immunol 1993; 151:2188-94.

๒๘. Dale JB, Simmons M, Chiang EC, Chiang EY. Recombinant, octavalent group A streptococcal M protein vaccine. Vaccine 1996; 14:944-8.

๒๙. Hu MC, Walls MA, Stroop SD, Reddish MA, Beall B, Dale JB. Immunogenicity of a 26-valent group A streptococcal vaccine. Infect Immun 2002; 70:2171-7.

๓๐. Bruner M, James A, Beall B, Carlone GM, Ades E, Johnson S, et al. Evaluation of synthetic, M type-specific peptides as antigens in a multivalent group A streptococcal vaccine. Vaccine 2003; 21:2698-703.

๓๑. Bessen D, Fischetti VA. Influence of intranasal immunization with synthetic peptides corresponding to conserved epitopes of M protein on mucosal coloniza-

Scanned by CamScanner

tion by group A streptococci. Infect Immun 1988; 56:2666-72.

๓๒. Pamonsinlapatham P, Decroix N, Mihaila-Amrouche L, Bouvet A, Bouvet JP. Induction of a mucosal immune response to the streptococcal M protein by intramuscular administration of a PADRE-ASREAK peptide. Scand J Immunol 2004; 59:504-10.

๓๓. Bronze MS, McKinsey DS, Beachey EH, Dale JB. Pathogenesis of group A streptococci in mice and efficacy of locally administered streptococcal vaccines. Trans Assoc Am Physicians 1988; 101:88-92.

๓๔. Bronze MS, McKinsey DS, Beachey EH, Dale JB. Protective immunity evoked by locally administered group A streptococcal vaccines in mice. J Immunol 1988; 141:2767-70.

๓๕. Hall MA, Stroop SD, Hu MC, Walls MA, Reddish MA, Burt DS, et al. Intranasal immunization with multivalent group A streptococcal vaccines protects mice against intranasal challenge infections. Infect Immun 2004; 72:2507-12.

๓๖. Yokoyama Y, Harabuchi Y. Intranasal immunization with lipoteichoic acid and cholera toxin evokes specific pharyngeal IgA and systemic IgG responses and inhibits streptococcal adherence to pharyngeal epithelial cells in mice. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2002; 63:235-41.

๓๗. Fischetti VA, Bessen DE, Schneewind O, Hruby DE. Protection against streptococcal pharyngeal colonization with vaccines composed of M protein conserved regions. Adv Exp Med Biol 1991; 303:159-67.

๓๘. Schulze K, Medina E, Chhatwal GS, Guzman CA. Stimulation of long-lasting protection against Streptococcus pyogenes after intranasal vaccination with non adjuvanted fibronectin-binding domain of the SfbI protein. Vaccine 2003; 21:1958-64.

๓๙. Shet A, Kaplan EL, Johnson DR, Cleary PP. Immune response to group A streptococcal C5a peptidase in children: implications for vaccine development. J Infect Dis 2003; 188:809-17.

๔๐. Kehoe MA. Group A streptococcal antigens and vaccine potential. Vaccine 1991; 9:797-806.

๔๑. Hoog C, Rotondo A, Johnston BD, Pinto BM. Synthesis and conformational analysis of a pentasaccharide corresponding to the cell-wall polysaccharide of the group A Streptococcus. Carbohydr Res 2002; 337:2023-36.

๔๒. Roggiani M, Stoehr JA, Olmsted SB, Matsuka YV, Pillai S, Ohlendorf DH, et al. Toxoids of streptococcal pyrogenic exotoxin A are protective in rabbit models of streptococcal toxic shock syndrome. Infect Immun 2000; 68:5011-7.

๔๓. Collis WRF, Sheldon W. Intravaneous vaccines of haemolytic streptococci in rhumatism in childhood. Lancet 1932; 220:1261-64.

๔๔. Rantz Lowell A, Randall E, Rantz H. Immunization of human beings with group A hemolytic streptococci. Am J Med 1949; 6:424-32.

๔๕. Wannamaker L, Denny F, Perry W. Studies on immunity to streptococcal infections in man. AMA J Dis Child 1953; 86:347-8.

๔๖. Massell B, Honikman L, Amezcua J. Rheumatic fever following streptococcal vaccination: report of three cases. JAMA 1969; 207:1115-9.

๔๗. D'Alessandri R, Plotkin G, Kluge RM, Wittner MK, Fox EN, Dorfman A, et al. Protective studies with group A streptococcal M protein vaccine. III. Challenge of volunteers after systemic or intranasal immunization with Type 3 or Type 12 group A Streptococcus. J Infect Dis 1978; 138:712-8.

๔๘. Polly SM, Waldman RH, High P, Wittner MK, Dorfman A. Protective studies with a group A streptococcal M protein vaccine. II. Challange of volenteers after local immunization in the upper respiratory tract. J Infect Dis 1975; 131:217-24.

๔๙. Beachey EH, Stollerman GH, Johnson RH, Ofek I, Bisno AL. Human immune response to immunization with a structurally defined polypeptide fragment of streptococcal M protein. J Exp Med 1979; 150:862-77.

๕๐. Kotloff KL, Corretti M, Palmer K, Campbell JD, Reddish MA, Hu MC, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant multivalent group a streptococcal vaccine in healthy adults: phase 1 trial. JAMA 2004; 292:709-15.

Scanned by CamScanner

Abstract **Vaccine Development for Prevention of *Streptococcus pyogenes* (GAS) Infection**

Perayot Pamonsinlapatham*, Koomkwan Pengrungrangwong**

*Biopharmacy department, Faculty of Pharmacy Silpakorn University (Sanum Chandra Palace campus), Changwat Nakhon Pathom

**Pharmacy Department Makarak Hospital, Amphoe Tha Maka, Changwat Kanchanaburi

Journal of Health Science **2006; 15:163-75.**

Group A Streptococcus (GAS) is a specific bacterial pathogen that can cause a wide variety of human diseases. Classification of GAS is made by identifying M protein type corresponding to standard serum and future by DNA sequencing of emm gene (gene encoding M protein). Until now, numerous researchers have attempted to develop an effective vaccine against group A streptococcal infections and their immunologically mediated sequels (acute rheumatic fever and post-streptococcal glomerulonephritis) have been challenging. The two major problems are the ability of the highly protective cell-surface M proteins to elicit immunity potentially harmful to the host and the existence of a large number of distinct serotypes of M proteins or non-M type proteins. This article discusses current studies that was aimed to develop an effective group A streptococcal vaccine.

Key words: **Streptococcus, vaccine development, GAS**

Scanned by CamScanner