ประโยชน์ของพันธุวิศวกรรมในทางการแพทย์

Applications of genetic engineering in medicine

ภัทรา ยี่ทอง[1] รัชนีกร ธรรมโชติ[1]*

Patra Yeetong[1], Rachaneekorn Tammachote[1]*

[1]กลุ่มวิจัยพันธุศาสตร์มนุษย์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[1]Human Genetics Research Group, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

**Corresponding author: ratchaneekorn.t@chula.ac.th*

บทคัดย่อ

พันธุวิศวกรรม เป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการดัดแปลงสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เพื่อให้มีคุณสมบัติดังที่ต้องการ พันธุวิศวกรรมเป็นวิธีการหนึ่งในการผลิตยาหลายชนิดที่ใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เช่น ฮอร์โมน วัคซีน แอนติบอดี และยาปฏิชีวนะหลากหลายชนิด โดยทำให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพดีขึ้น และมีราคาต่ำลง นอกจากนี้ยังมีการใช้พันธุวิศวกรรมในการสร้างแบบจำลองในสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาโรคทางพันธุกรรมของมนุษย์ และเป็นขั้นตอนสำคัญของการทำยีนบำบัด ซึ่งเริ่มมีการใช้บำบัดรักษาโรค และได้รับการยอมรับในโรคบางชนิด โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อรักษาโรคทางพันธุกรรมที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนเดี่ยว ชนิดรุนแรงที่ปัจจุบันยังไม่มีทางรักษา เช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องรวม ฮีโมฟีเลีย และธาลัสซีเมีย จนถึงปัจจุบันมีการทำการศึกษาด้านยีนบำบัดมากกว่า 2000 การศึกษาใน 36 ประเทศ ด้วยเทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์ที่ก้าวหน้าขึ้นอย่างรวดเร็วในทศวรรษที่ผ่านมา จึงมีความเป็นไปได้อย่างยิ่งที่พันธุวิศวกรรมจะเป็นเทคโนโลยีสำคัญในการวินิจฉัย ป้องกันและรักษาโรคต่างๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชากรต่อไป

ABSTRACT

Genetic engineering is a process involving modification of genetic material in different organisms to have the desired characteristics. Genetic engineering is an approach to produce several medical substances that are widely used, such as hormones, vaccines, antibodies and antibiotics, by improving the efficiency and lowering the cost. Moreover, genetic engineering is also used to generate animal models to study human genetic disease. This technique is also used in gene therapy, which is approved to treat single-gene diseases that are severe and have no other means of treatment, such as immune deficiency, hemophilia and thalassemia. Up to now, there have been more than 2,000 gene therapy studies in 36 countries. With the rapid progress of genetic technology in the past decade, it is highly possible that genetic engineering will be an important part in diagnosis, prevention and treatment of various diseases, which will be beneficial in improving quality of life of people.

คำสำคัญ: พันธุวิศวกรรม; การแพทย์; ยีนบำบัด

Keywords: genetic engineering; medicine; gene therapy

บทนำ

พันธุวิศวกรรม (genetic engineering) เป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการดัดแปลงสารพันธุกรรม โปรตีน และเมทาบอลิก โดยทำให้สามารถผลิตเพปไทด์ โปรตีน และสารชีวเคมีหลากหลายชนิดในเซลล์ที่ไม่สามารถผลิตสิ่งเหล่านั้นได้ตามธรรมชาติ หรือผลิตสารที่มีคุณสมบัติแตกต่างไปจากเดิม เช่น ให้มีความเสถียร สามารถเก็บได้นานขึ้น อันได้แก่ ฮอร์โมนอินซูลิน หรือ

การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต โดยจะกล่าวถึงต่อไป โดยในช่วง 30 ปีที่ผ่านมา พันธุวิศวกรรมเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญในการผลิตยาและสารที่ใช้อยู่อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เช่น ฮอร์โมน วัคซีน และแอนติบอดี นอกจากนี้ พันธุวิศวกรรมเป็นขั้นตอนของการทำยีนบำบัด (gene therapy) ซึ่งเริ่มมีการใช้บำบัดรักษาโรค และได้รับการยอมรับในโรคหลายชนิด

ขั้นตอนของเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมเริ่มจากการใส่ยีนที่ต้องการเข้าไปในพาหะ เช่น พลาสมิด ซึ่งเป็นดีเอ็นเอที่อยู่นอกเหนือโครโมโซมของแบคทีเรีย จากนั้นนำพลาสมิดที่ได้รับการตัดต่อยีนนี้ใส่กลับเข้าไปในแบคทีเรีย โดยนิยมใช้แบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* (*E. coli*) จากนั้นคัดเลือกเซลล์แบคทีเรียที่ได้รับการถ่ายยีนแล้วนำไปเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย ใส่สารเพื่อกระตุ้นให้แบคทีเรียผลิตสารที่เป็นผลผลิตของยีนนั้นๆ แล้วนำไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์

อย่างไรก็ตามการใช้แบคทีเรียเป็นแหล่งผลิตโปรตีนที่ได้จากการตัดต่อพันธุกรรมยังมีข้อจำกัด เนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดโปรแคริโอต จึงไม่สามารถดัดแปลงพอลิเพปไทด์ในขั้นตอน post-translation modification เช่น การเติมหมู่น้ำตาลลงบนโปรตีนได้ จึงมีการใช้สิ่งมีชีวิตอื่น เช่น ยีสต์ และเซลล์จากหนูเพื่อเป็นแหล่งในการผลิตโปรตีนบางชนิดที่ต้องการการดัดแปลงที่ซับซ้อนยิ่งขึ้น

ตัวอย่างยาที่ผลิตโดยวิธีพันธุวิศวกรรม

ปัจจุบันมีสารที่ใช้ในการบำบัดรักษาที่ผลิตโดยวิธีพันธุวิศวกรรมมากกว่า 151 ชนิดที่ได้รับการอนุมัติโดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาและ The European Medicines Agency (EMA) (Huang *et al*., 2012) ดังตัวอย่างใน Table 1 โดยบทความนี้ขอยกตัวอย่างการผลิตสารบางชนิด ดังนี้

Table 1 Examples of drug generated by genetic engineering

Reagents	Diseases/ conditions
Adenosine deaminase (ADA)	Severe combined immunodeficiency (SCID)
Dornase alfa	Cystic fibrosis
Erythropoietin (EPO)	Anemia
Factor VIII	Hemophilia A
Factor IX	Hemophilia B
Follicle-stimulating hormone (FSH)	Infertility in female
Glucocerebrosidase	Gaucher's disease
Human growth hormone	Growth hormone deficiency
Insulin	Diabetes
Interferon beta 1b (Extavia)	Multiple sclerosis
Interleukin-2 (IL-2)	Dancer, immune deficiency
Prourokinase	Stroke
Taxol	Cancer
t-PA	Blood clots
Tumor necrosis factor	Certain types of tumor

ยาและฮอร์โมน

ฮอร์โมนอินซูลิน

อินซูลินเป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยอินซูลินตามธรรมชาติผลิตจากบีตาเซลล์ในไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์ภายในตับอ่อน อินซูลินเป็นสารสำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 1 (insulin-dependent) โดยก่อนที่จะมีเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมนั้น อินซูลินที่ใช้ในการแพทย์เป็นฮอร์โมนที่สกัดจากตับอ่อนของสุกรหรือโค จากนั้นในช่วงต้นของทศวรรษที่ 1980s ก็เริ่มมีการใช้อินซูลินที่ได้จากพันธุวิศวกรรม ซึ่งนับได้ว่าเป็นยาชนิดแรกที่ใช้เทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมในการผลิตในปริมาณมากเพื่อใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ในธรรมชาติร่างกายผลิตฮอร์โมนอินซูลินออกมาในรูปของ proinsulin ซึ่งประกอบด้วยสาย B สาย C และสาย A ตามลำดับ จากนั้นจะมีการม้วนตัวเพื่อให้สาย A และสาย B เชื่อมติดกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และตัดส่วน C ออก จนได้เป็นฮอร์โมนอินซูลินที่สมบูรณ์ (Figure 1A) ซึ่งจะปล่อยออกสู่กระแสเลือด ส่วนฮอร์โมนอินซูลินที่ได้จากพันธุวิศวกรรม เริ่มจากการใส่ยีนที่ผลิตอินซูลินจากมนุษย์เข้าไปในพลาสมิด แล้วใส่เข้าไปในแบคทีเรีย *E. coli* โดยผลิตแยกเป็นพอลิเพปไทด์ 2 สาย คือ สาย A และสาย B จากนั้นทำให้พอลิเพปไทด์บริสุทธิ์ แล้วนำพอลิเพปไทด์ทั้ง 2 สายมาเชื่อมกันเพื่อให้ได้เป็นอินซูลินที่สมบูรณ์ (Johnson, 1983) (Figure 1B)

หลังจากนั้นได้มีการพัฒนาวิธีการผลิตอินซูลินให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยสร้างโปรอินซูลินขึ้นใน *E. coli* แต่ผลิตเป็นพอลิเพปไทด์สายเดียว โปรอินซูลินนี้ประกอบด้วยสาย A และสาย B ที่เชื่อมต่อกันด้วยสาย C จากนั้นโปรอินซูลินจะถูกทำให้บริสุทธิ์ แล้วสาย C จะถูกตัดออกด้วยเอนไซม์

อินซูลินชนิดให้ผลเร็วที่ได้รับการอนุมัติให้ใช้ทางการค้าเป็นผลิตภัณฑ์แรก คือ Lispro ซึ่งพัฒนาโดยนักวิจัยที่บริษัท Eli Lilly ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยได้มีการดัดแปลงกรดอะมิโน 2 ตัวในตำแหน่งที่ 28 และ 29 ของพอลิเพปไทด์สาย B จากโปรลีน-ไลซีน เป็น ไลซีน-โปรลีน ซึ่งส่งผลให้มีความเสถียรมากขึ้น และสามารถเก็บในความเข้มข้นที่ใช้ในการรักษาได้ (Kucera and Graham, 1998)

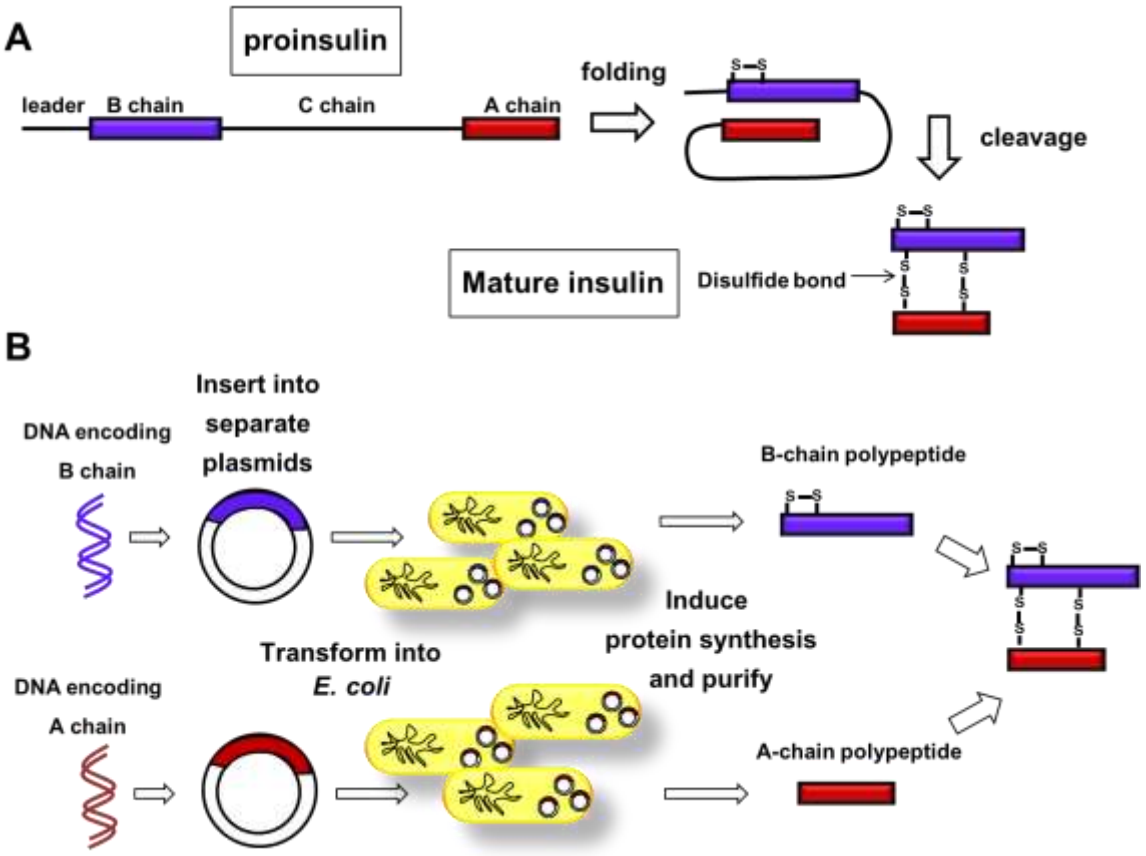

Figure 1 Insulin production. (A) In humans, insulin is generated as proinsulin and then modified into mature insulin. (B) Production by genetic engineering. The A and B chains are produced separately, by cloning into plasmids, transforming into *E. coli*, inducing for synthesis and purification, and then the two chains are combined to generate mature insulin.

ฮอร์โมนโซมาโทสแทติน (somatostatin)

โซมาโทสแทตินเป็นฮอร์โมนที่ยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนโซมาโทโทรปิน (somatotropin) ที่ผลิตจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า รวมทั้งฮอร์โมนอื่นๆ เช่น อินซูลิน และกลูคากอน ฮอร์โมนโซมาโทสแทตินเป็นยาที่ใช้ในการรักษาภาวะการหลั่งโซมาโทโทรปินมากเกินไป ซึ่งทำให้ร่างกายเจริญเติบโตเกินไม่สมส่วน นอกจากนี้ได้มีการใช้ยาที่เป็นแอนาล็อกของฮอร์โมนในการรักษามะเร็งบางชนิด

เนื่องจากยีนที่ผลิตฮอร์โมนโซมาโทสแทตินเป็นยีนที่มีขนาดเล็ก นักวิจัยจึงใส่ออลิโกนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์ที่เหมือนกับยีนในมนุษย์เข้าไปในพาหะ และทำการดัดแปลงกรดอะมิโนบริเวณปลาย N และปลาย C เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตให้มากขึ้น (Maicas *et al*., 2013)

ยาละลายลิ่มเลือด

สาร tissue plasminogen activator (t-PA) เป็นไกลโคโปรตีนชนิดหนึ่ง ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นให้พลาสมิโนเจนเปลี่ยนเป็นพลาสมิน ซึ่งเป็นรูปที่สามารถทำงานได้ มีสมบัติป้องกันเลือดแข็งตัวและละลายลิ่มเลือดในหลอดเลือด เพื่อใช้รักษาผู้ป่วยที่มีภาวะสมองขาดเลือดภายใน 3 ชั่วโมงแรกที่แสดงอาการ ยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือ ACTIVASE® ซึ่งเป็นยาที่ผลิตในปริมาณมากโดยบริษัท Genentech สหรัฐอเมริกา โดยผู้ผลิตได้ใช้ cDNA จากเซลล์เมลาโนม่าของมนุษย์ ใส่เข้าไปในเซลล์รังไข่ของหนูแฮมสเตอร์ ซึ่งเมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นจะผลิตสารละลายลิ่มเลือดและหลั่งออกจากเซลล์สู่อาหารเลี้ยงเซลล์ จากนั้นผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์แล้วทำให้แห้งและเย็นจัดเป็นผงเพื่อเก็บรักษาได้เป็นเวลานาน (Grossbard, 1987)

สาร Darbepoetin alfa

สาร Darbepoetin alfa เป็นสารที่เร่งการผลิตเม็ดเลือดแดงเพื่อรักษาอาการโลหิตจาง ซึ่งเกี่ยวข้องกับผู้ที่มีภาวะไตวายเรื้อรัง และผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับคีโมบำบัด สารนี้เป็นที่รู้จักในชื่อการค้า Aranesp™ ซึ่งผลิตโดยบริษัท Amgen สหรัฐอเมริกา โดยทำการใส่ยีนที่ผลิตสารนี้เข้าไปในเซลล์รังไข่ของหนูแฮมสเตอร์ และเพิ่มสาย N-linked oligosaccharide จากปกติ 3 สาย เพิ่มเป็น 5 สาย (Kiss *et al*., 2010)

Monoclonal antibody (mAb)

ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากโมโนโคลนอลแอนติบอดีในทางการแพทย์อย่างแพร่หลาย ทั้งในด้านการวินิจฉัยโรคและการรักษา ในแง่ของการวินิจฉัยโรคนั้น สามารถใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีในการวัดปริมาณฮอร์โมน เช่น สเตียรอยด์ในกระแสเลือด หรือใช้ศึกษาชนิดของแอนติเจนบนผิวเซลล์มะเร็ง สำหรับการรักษานั้นโมโนโคลนอลแอนติบอดีสามารถใช้ในการรักษามะเร็งโดยโมโนโคลนอลแอนติบอดีไปจับกับรีเซพเตอร์ที่ผิวเซลล์มะเร็ง เช่น ยา Trastuzumab เป็นแอนติบอดีที่จับกับ HER2 receptor ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านม (Goldenberg, 1999) หรือเพื่อนำส่งยารักษามะเร็งได้อย่างจำเพาะเจาะจงกับชนิดของเซลล์ รวมทั้งใช้ในการจับกับสารพิษเพื่อนำออกจากกระแสเลือด เช่น raxibacumab ซึ่งเป็นโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จับกับสารแอนแทร็กซ์ เพื่อใช้ในการรักษาผู้ที่หายใจเอาสารแอนแทร็กซ์เข้าไป (Nestorovich and Bezrukov, 2014)

สาเหตุที่โมโนโคลนอลแอนติบอดีเป็นที่นิยมเนื่องจากมีความสามารถในการตรวจสอบแอนติเจนได้อย่างจำเพาะเจาะจงมากกว่าพอลิโคลนอลแอนติบอดี โดยมีการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีจากเซลล์ลูกผสมระหว่างเซลล์เม็ดเลือดขาว B lymphocytes ของหนู กับเซลล์มะเร็งที่ได้จากม้าม (Figure 2) โดยเซลล์ลูกผสมที่ได้ (hybridoma) มีคุณสมบัติที่ต้องการ คือ มีอายุยืนยาวและสามารถผลิตแอนติบอดีได้ และนักวิจัยผลิตสารแอนติเจนที่จะให้แอนติบอดีจดจำขึ้นด้วยวิธีพันธุวิศวกรรม จากนั้นคัดเลือกโคลนที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนสูงที่สุดเพื่อนำเพิ่มปริมาณต่อไป

วัคซีน

พันธุวิศวกรรม เป็นขั้นตอนหนึ่งในการผลิตวัคซีนชนิดที่สร้างเฉพาะโปรตีนบางส่วนของไวรัสหรือแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ (recombinant subunit vaccines) และเนื่องจากวัคซีนเหล่านี้สร้างเฉพาะบางส่วนของไวรัสหรือแบคทีเรีย แต่ขาดส่วนประกอบอื่นๆ จึงมีโอกาสที่จะก่อโรคได้ต่ำมาก มีผลข้างเคียงน้อย

และปราศจากข้อกังวลว่าไวรัสหรือแบคทีเรียนั้นจะกลับมาก่อโรคได้อีก เมื่อเทียบกับไวรัสเชื้อเป็น (live-attenuated) และวัคซีนเชื้อตาย (killed inactivated) ซึ่งมีความสามารถในการกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานต่อการติดเชื้อจากสารก่อโรคภายในเซลล์ที่มักก่อให้เกิดโรคเรื้อรัง (Soria-Guerra *et al*., 2015) ส่วนใหญ่แล้วการผลิตวัคซีนชนิดที่สร้างเฉพาะโปรตีนบางส่วนนี้จะใช้ epitope ซึ่งเป็นส่วนของจุลชีพที่ระบบภูมิคุ้มกันในมนุษย์จดจำได้ ซึ่งทำให้สร้างภูมิคุ้มกันได้ดี จึงต้องมีการวิจัยอย่างละเอียดเพื่อจะหาบริเวณที่สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกายได้ดีที่สุด ซึ่งมักใช้ระยะเวลานานในการทดสอบ (Plotkin, 2014)

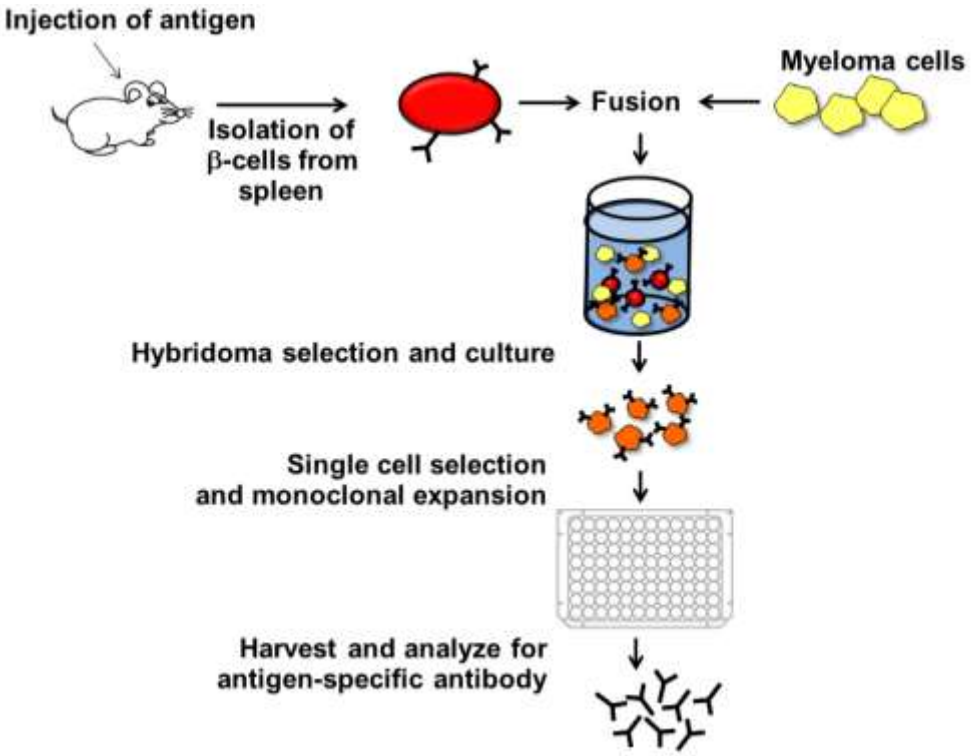

Figure 2 Monoclonal antibody production. Monoclonal antibodies are produced from hybridoma, which are myeloma cells fused with β-cells isolated from spleen of immunized animals. Single cell selection and expansion are performed prior to antibody harvesting and analysis for antigen-specific antibodies.

การผลิตวัคซีนโดยใช้เทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมมีมามากกว่า 30 ปีแล้ว เริ่มจากการผลิตวัคซีนไวรัสตับอักเสบ B (Valenzuela *et al*., 1982) ที่ก่อให้เกิดโรคเรื้อรัง ที่มีผลเสียต่อคุณภาพความเป็นอยู่ของผู้ป่วยและครอบครัวเป็นอย่างมาก ปัจจุบันมีการผลิตวัคซีนไวรัสตับอักเสบ B โดยใช้ยีสต์เป็นเจ้าบ้านในการผลิต surface antigen เพิ่มปริมาณการผลิต แล้วผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ มีหลายประเทศทั่วโลกที่ใช้วัคซีนชนิดนี้ ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ B ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Soria-Guerra *et al.,* 2015) นอกจากนี้วัคซีนต้านไวรัส Human papillomavirus (HPV) ที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งปากมดลูก อันเป็นโรคที่ติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่พบได้บ่อย ซึ่งผ่านกระบวนการที่ผลิตโดยกระบวนการพันธุวิศวกรรมเช่นกัน (Nascimento and Leite, 2012) โดยใช้โปรตีน L1 ที่กระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีได้ โดยวัคซีนนี้สามารถผลิตได้ในยีสต์ หรือในระบบเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เนื่องจากแมลงและยีสต์เป็นยูแคริโอต จึงมีกระบวนการดัดแปลงโปรตีนหลังจากการแปลรหัสที่แบคทีเรียไม่มี สำหรับวัคซีนโรคไข้หวัดใหญ่ผลิตขึ้นโดยการสร้างโปรตีน hemagglutinin (HA) ในเซลล์แมลง (Johansson *et al*., 1989) โดยไม่ก่อให้เกิดภูมิแพ้เหมือนกับวัคซีนที่ผลิตในไข่ โดยในแต่ละปี องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) องค์การอนามัยโลก ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ และผู้เชี่ยวชาญจากทั่วโลกจะ

ค้นหาสายพันธุ์ที่ก่อโรคมากที่สุด เพื่อผลิตเป็นวัคซีนโรคไข้หวัดใหญ่ สำหรับ Flublok ซึ่งเป็นวัคซีนที่ได้รับการอนุมัติจาก FDA ประกอบไปด้วยโปรตีน HA 3 ชนิด เพื่อป้องกันไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ A 2 ชนิด และสายพันธุ์ B 1 ชนิด (US Food and Drug Administration, 2013) รวมถึงการผลิตวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HIV ซึ่งขณะนี้อยู่ในขั้นตอนการทดลองทางคลินิกระยะที่ 3 (US Food and Drug Administration, 2013; Adrio and Demain, 2010) นอกจากโรคติดเชื้อแล้ว ปัจจุบันมีการผลิตวัคซีนเพื่อใช้รักษามะเร็ง โดยสร้างโปรตีนที่จำเพาะกับเซลล์มะเร็ง (tumor-associated antigen) เพื่อให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันมาต่อต้าน โดยมีการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพและความจำเพาะของวัคซีนชนิดนี้ในการป้องกันการเกิดมะเร็ง (Andries *et al*., 2005)

นอกจากเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมจะมีประโยชน์ในการผลิตโปรตีนบางส่วนของจุลชีพก่อโรคแล้ว ยังเป็นกระบวนการที่ใช้ดัดแปลงสารพันธุกรรมเพื่อให้จุลชีพนั้นไม่สามารถก่อโรคได้ แต่กระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันได้ เช่น วัคซีนป้องกันโรคไทฟอยด์ (Ty21a) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมในแบคทีเรีย *Salmonella typhi* ให้ก่อโรคไม่ได้ (Germanier and Fuer, 1975) และวัคซีนป้องกันอหิวาตกโรค CVD 103-HgR ที่ทำให้ไม่สามารถผลิตสารก่อโรคได้ (Levine *et al*., 1988)

นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์กำลังพัฒนาวัคซีนชนิดใหม่ เรียกว่า DNA vaccine โดยมีหลักการให้เซลล์ร่างกายมนุษย์ทำหน้าที่เป็นแหล่งผลิตวัคซีนเอง (Figure 3) เพื่อให้วัคซีนนี้มีผลข้างเคียงน้อยที่สุด ราคาถูก แต่ได้ประสิทธิภาพสูงที่สุดในการต้านทานโรค และกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีได้อย่างยาวนาน (Nascimento and Leite, 2012) โดยพบว่าดีเอ็นเอวัคซีนนี้สามารถกระตุ้นทั้ง cellular response และ humoral response ได้ (de Souza *et al*., 2012) ปัจจุบันมีความพยายามในการสร้างดีเอ็นเอวัคซีนสำหรับหลายโรค เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก (Colluru *et al*., 2013) และวัคซีนป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ C (Eyre *et al*., 2014) รวมถึงการใช้ชีวสารสนเทศในการทำนาย epitope ที่จะทำให้ร่างกายตอบสนองได้อย่างจำเพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพที่สุด (Soria-Guerra *et al*., 2015)

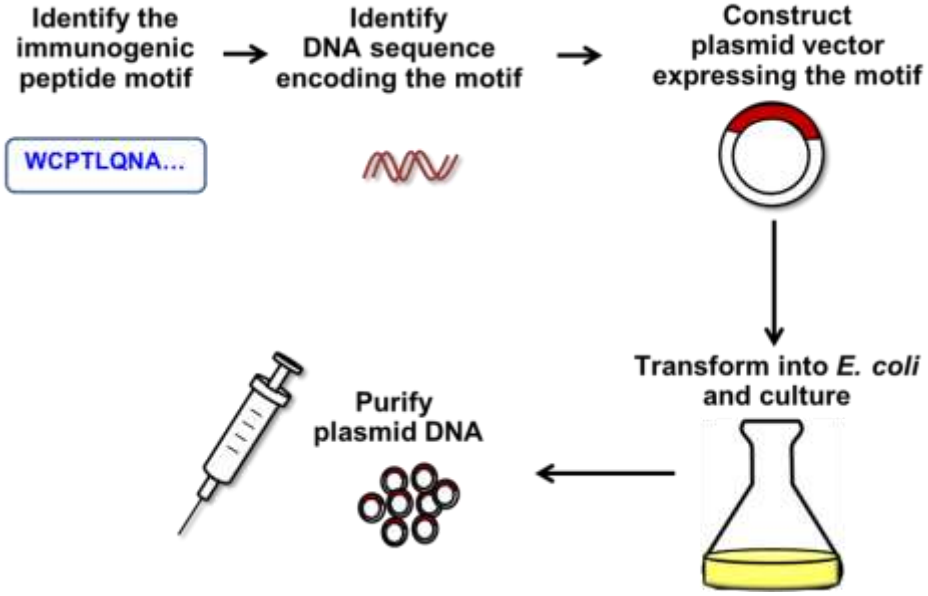

Figure 3 DNA vaccine production. The process begins with identification of peptide motifs that are optimal immunogenic and activates strong host immune response. The cDNA sequences that encode the motifs are then generated and inserted into plasmid expression vectors. The plasmids are transformed into *E. coli* for propagation. The purified plasmids are later used as DNA vaccine.

ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะมีบทบาทสำคัญในด้านสาธารณสุข สังคม จนถึงเศรษฐกิจ ยาปฏิชีวนะเป็นสารประกอบทุติยภูมิที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิต ปัจจุบันมีสารต้านจุลชีพมากกว่า 350 ชนิดในท้องตลาด (Adrio and Demain, 2010) ซึ่งเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมเป็นส่วนหนึ่งในการผลิตยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพดี ผลิตได้ในปริมาณมาก และมีราคาถูกลง โดยใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุด และในการสร้างสายพันธุ์กลายที่ผลิตยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ เช่น การดัดแปลงพันธุกรรมของรา *Cephalosporium acremonium* ทำให้สามารถผลิตสาร cephalosporin ได้ในปริมาณมาก (Diez *et al*., 1997) หรือการพัฒนาการผลิตยาปฏิชีวนะเพนนิซิลินในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งมีทั้งการปรับปรุงสายพันธุ์ของ *Penicillium chrysogenum* เช่น การเพิ่มจำนวนยีนที่ผลิตสารที่ต้องการ หรือการถ่ายยีนไปผลิตในยีสต์และในแบคทีเรีย (Senerovic *et al*., 2006) ซึ่งทั้งเพนนิซิลลินและเซฟาโรสปอริน จัดอยู่ในกลุ่มยาปฏิชีวนะ β-lactam นอกจากนี้ มีการใช้เทคนิค protoplast fusion ซึ่งเป็นการสร้างสิ่งมีชีวิตลูกผสม หรือการทำให้เกิดการกลายในสิ่งมีชีวิตต่างๆ เพื่อสร้างยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น penicillin G, cephalosporin C, cephamycin C และ rifamycin (Medema *et al*., 2011) ด้วยเทคโนโลยีที่มีอยู่ในปัจจุบัน ทั้งการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม (whole genome sequencing) และ ทรานสคริปโทม (transcriptome) ทำให้การผลิตยาปฏิชีวนะในระดับอุตสาหกรรมมีแนวโน้มที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น มีการค้นพบว่า F0 subunit ในยีน ATP synthase ของ *Mycobacterium tuberculosis* เป็นเป้าหมายของยา bedaquiline ซึ่งทำให้ยานี้เป็นยากลุ่มใหม่ที่ได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาเพื่อใช้รักษาวัณโรคในรอบ 40 ปี (Andries *et al*., 2005; Koser *et al*., 2014) รวมทั้งมีการใช้ประโยชน์ในการแยกแยะการติดเชื้อโรคใหม่ออกจากการกลับมาเป็นโรคจากเชื้อเดิม ซึ่งใช้ประเมินประสิทธิภาพของยาที่อยู่ในขั้นการทดลองทางคลินิกได้ (Eyre *et al*., 2014)

พันธุวิศวกรรมกับการสร้างแบบจำลองในสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาโรคทางพันธุกรรมของมนุษย์

มีการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในสัตว์หลายชนิด เพื่อประโยชน์ในด้านการแพทย์ เช่น หนู ปลา และลิง การใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในหนูเป็นที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากมีขนาดเล็ก มีช่วงชีวิตสั้น และมีความคล้ายคลึงกับมนุษย์ ดังนั้นการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมของยีนที่สนใจ เช่น การทำให้ยีนนั้นหยุดการทำงาน (knockout mice) แล้วสังเกตลักษณะที่เกิดขึ้น ทำให้นักวิจัยเข้าใจได้ว่ายีนนั้นมีบทบาทอย่างไร และสามารถอนุมานได้ว่ายีนนั้นจะทำหน้าที่คล้ายกันในมนุษย์ ตัวอย่างเช่น กลไกการเกิดมะเร็ง ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีการเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอนและมีความซับซ้อน (Fearon, 1991) โดยพบว่าหนูที่มีความบกพร่องของยีน *p53* มีการพัฒนาของเซลล์มะเร็งเป็นจำนวนมาก (Donehower *et al*., 1992) และจากข้อมูลนี้จึงมีการศึกษาต่อยอดในระดับเซลล์และโมเลกุล (Toledo and Wahl, 2006) เพื่อทำให้สามารถเข้าใจกลไกการเกิดมะเร็งในมนุษย์ได้

พันธุวิศวกรรมกับยีนบำบัด

ยีนบำบัด (gene therapy) คือ เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมที่เปลี่ยนแปลงยีนเพื่อการรักษาหรือป้องกันโรค โดยเฉพาะโรคทางพันธุกรรม ซึ่งเป็นการรักษาโรคที่ต้นเหตุ แตกต่างจากการรักษาด้วยยาที่เพียงรักษาตามอาการ ดังนั้นพันธุวิศวกรรมจึงมีบทบาทอย่างมากกับยีนบำบัด กล่าวคือการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเพื่อการตัดต่อ เปลี่ยนแปลง ใส่ยีนที่ปกติ นำยีนที่ผิดปกติออกไป หรือแทนที่ยีนที่ผิดปกติด้วยยีนที่ปกติในเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ผิดปกติเพื่อให้สามารถทำงานได้ โดยจำแนกยีนบำบัดตามชนิดของเซลล์ที่บำบัดได้เป็นสองชนิด คือ

1. ยีนบำบัดในเซลล์สืบพันธุ์ (germline gene therapy) เป็นการนำยีนที่ปกติใส่เข้าไปในไข่ที่เกิดการปฏิสนธิและแบ่งเซลล์ ที่ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในทุกเซลล์ของร่างกายและสามารถส่งผ่านการเปลี่ยนแปลงนี้ไปสู่รุ่นต่อไปได้ (Resnik and Langer, 2001) ปัจจุบันในประเด็นนี้ยังเป็นที่ถกเถียงถึงผลที่จะตามมา และในหลายประเทศ ได้แก่ ออสเตรเลีย แคนาดา เยอรมัน อิสราเอล สวิตเซอร์แลนด์ และเนเธอร์แลนด์ ได้มีกฎหมายควบคุมไม่ให้มีการทำยีนบำบัดในเซลล์สืบพันธุ์

2. ยีนบำบัดในเซลล์ร่างกาย (somatic gene therapy) เป็นการนำยีนที่ปกติใส่เข้าไปในเซลล์ร่างกายของผู้ป่วย ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงและผลที่เกิดขึ้นจะจำกัดอยู่เพียงแค่ตัวของผู้ป่วยเท่านั้น (Resnik and Langer,

2001) ไม่สามารถส่งต่อไปยังลูกหลานได้ ปัจจุบันทั่วโลกมีการศึกษายีนยำบัดในเซลล์ร่างกาย แต่ส่วนมากยังอยู่ในขั้นการทดลองทางคลินิกหรือการวิจัยแบบทดลองทางคลินิกเพื่อเปรียบเทียบ โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อรักษาโรคทางพันธุกรรมมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนเดี่ยวชนิดรุนแรงที่ปัจจุบันยังไม่มีทางรักษา เช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง ฮีโมฟีเลีย และธาลัสซีเมีย (Mavilio and Ferrari, 2008)

การนำยีนบำบัดมาใช้รักษาโรคในคน เริ่มครั้งแรกในปี ค.ศ.1990 เพื่อรักษาโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (Severe Combined Immunodeficiency Disorder - SCID) ที่เกิดจากการขาดเอนไซม์ adenosine deaminase (ADA deficiency) (Cavazzana-Calvo *et al*., 2000) ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายไม่สามารถป้องกันร่างกายจาก แบคทีเรีย ไวรัส และราได้ ผู้ป่วยจะมีการติดเชื้อซ้ำซ้อนและต่อเนื่องทำให้เป็นอันตรายถึงชีวิตได้ อาการสำคัญของโรคนี้คือ ปอดบวม ท้องเสียเรื้อรัง มีผื่นที่ผิวหนังบริเวณกว้าง ผู้ป่วยเด็กมีพัฒนาการช้าผู้ป่วยส่วนใหญ่จะได้รับการวินิจฉัยภายใน 6 เดือนแรก แต่ถ้าหากไม่ได้รับการรักษาผู้ป่วยจะเสียชีวิตภายใน 2 ปี โดยโรคนี้มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนด้อยบนออโตโซม ซึ่งเกิดจากการกลายในยีน *ADA* ที่สร้างเอนไซม์ adenosine deaminase ซึ่งสามารถพบได้ทั่วร่างกาย แต่จะทำงานมากในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ หน้าที่ของเอนไซม์ adenosine deaminase คือ ย่อยโมเลกุลที่เรียกว่า deoxyadenosine ซึ่งเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ ให้กลายเป็น deoxyinosine ที่ไม่เป็นพิษ ดังนั้นเมื่อเกิดการกลายของยีน *ADA* ทำให้เกิดการคั่งของ deoxyadeosine มีผลทำให้เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ระยะตัวอ่อนถูกทำลายและส่งผลให้ร่างกายติดเชื้อง่าย วิธีการรักษาทั่วไปคือใช้การแทนที่ด้วยเอนไซม์ (enzyme-replacement therapy) โดยให้เอนไซม์ adenosine deaminase ในปริมาณน้อย แก่ผู้ป่วยตลอดเวลา อาทิตย์ละหนึ่งครั้ง (Gaspar *et al*., 2009) ส่วนการรักษาโดยยีนบำบัดทำได้โดยแยก T-cell จากเลือดผู้ป่วยมาเลี้ยง แล้วฝากถ่ายยีนที่ผลิตเอนไซม์ adenosine deaminase เข้าไปโดยไวรัสพาหะเป็นตัวนำ จากนั้นจึงถ่าย T-cell นี้ให้แก่ผู้ป่วย

กระบวนการของการทำยีนบำบัด

เริ่มจากการนำยีนปกติเข้าสู่เซลล์ ซึ่งมี 2 วิธี คือ direct (*in vivo*) gene transfer คือ การนำยีนปกติเข้าสู่เซลล์ภายในร่างกายโดยตรง และ indirect (*ex vivo*) gene transfer คือ การนำยีนปกติเข้าสู่เซลล์ที่นำมาแยกเลี้ยงนอกร่างกาย แล้วจึงนำเซลล์ที่ได้รับการถ่ายยีนที่แก้ไขให้ถูกต้องถ่ายกลับคืนสู่ร่างกายผู้ป่วย (Romano *et al*., 1999) ซึ่งการนำยีนปกติเข้าสู่เซลล์เป้าหมายนั้นจำเป็นต้องใช้โมเลกุลพาหะ หรือ เวคเตอร์ (vector) โดยคุณสมบัติที่สำคัญของเวคเตอร์คือไม่สามารถส่งสารพันธุกรรมของตัวเองสู่เซลล์เป้าหมายได้ สามารถแบ่งเวคเตอร์ออกเป็นสองแบบ ได้แก่ แบบใช้ไวรัส (viral vector) และ ไม่ใช้ไวรัส (non-viral vector) (Figure 4) แบบใช้ไวรัสอาศัยความสามารถของไวรัสในการทำให้เซลล์ติดเชื้อได้เพื่อขนส่งยีนเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย ไวรัสที่นำมาใช้ประโยชน์ในงานทางด้านพันธุวิศวกรรมมีหลายชนิด เช่น retroviruses (Tan *et al*., 2012) adenoviruses (Volpers and Kochanek, 2004) adeno-associated viruses (AAV) (Sibbald, 2001) และ lentivirus (O'Connor and Boulis, 2015) โดยแต่ละชนิดมีข้อดีข้อด้อย แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในงานที่ศึกษา (O'Connor and Boulis, 2015) สำหรับแบบไม่ใช้ไวรัสมีข้อได้เปรียบเหนือวิธีที่ใช้ไวรัส เช่น สามารถผลิตได้เป็นจำนวนมาก และไม่ต้องกังวลถึงการกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของโฮสต์ (host immunogenicity) สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การฉีด naked DNA (Wolff *et al*., 1990), hybrid method (Huang and Kamihira, 2013), electroporation (Heller and Heller, 2010), gene gun (Niidome and Huang, 2002), sonoporation (Liang *et al*., 2010) และการใช้ oligonucleotides lipoplexes (Caplen *et al*., 1995), dendrimers (Lakshminarayanan *et al*., 2013) และ inorganic nanoparticles (Bhattacharyya *et al*., 2011)

ปัญหาที่พบในการทำยีนบำบัด

ปัญหาที่พบในการทดยีนบำบัด เช่น ความปลอดภัยในกรณีที่ใช้ไวรัสเวคเตอร์ เนื่องจากอาจเกิดปัญหาในด้านความเป็นพิษ การตอบสนองของระบบ

ภูมิคุ้มกันและการอักเสบ และประเด็นด้านการควบคุมยีนเมื่อเข้าไปสู่เซลล์เป้าหมาย ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อไวรัสเวคเตอร์เข้าไปในร่างกายของผู้ป่วยแล้วอาจทำให้เกิดโรคอื่นได้ (Walther and Stein, 2000) จากการรายงานการศึกษาในอดีตมีผู้ป่วยอย่างน้อยสามรายเสียชีวิตจากการทำยีนบำบัด โดยรายแรกคือ นายเจสซี่ เกลซิงเกอร์ เป็นผู้ป่วยโรคการขาดเอนไซม์ ornithine transcarbamylase (OTC) ซึ่งมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนด้อยบนโครโมโซม X โดยการขาดเอนไซม์นี้ทำให้เกิดการคั่งของแอมโมเนีย มีผลทำให้เกิดการทำลายสมอง การรักษาคือการรับประทานอาหารที่มีโปรตีนปริมาณน้อยและยาที่ช่วยกำจัดแอมโมเนีย ในปี 1999 ได้มีโครงการทำยีนบำบัดในผู้ป่วยโรคนี้โดยใช้ adenovirus ที่นำยีน *OTC* ที่ปกติเข้าสู่ร่างกายของผู้ป่วย เจสซี่สมัครเข้าร่วมโครงการและเสียชีวิตเพียง 4 วันหลังจากการทำยีนบำบัด เนื่องจากมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่มากเกินไป และภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ (Marshall, 1999)

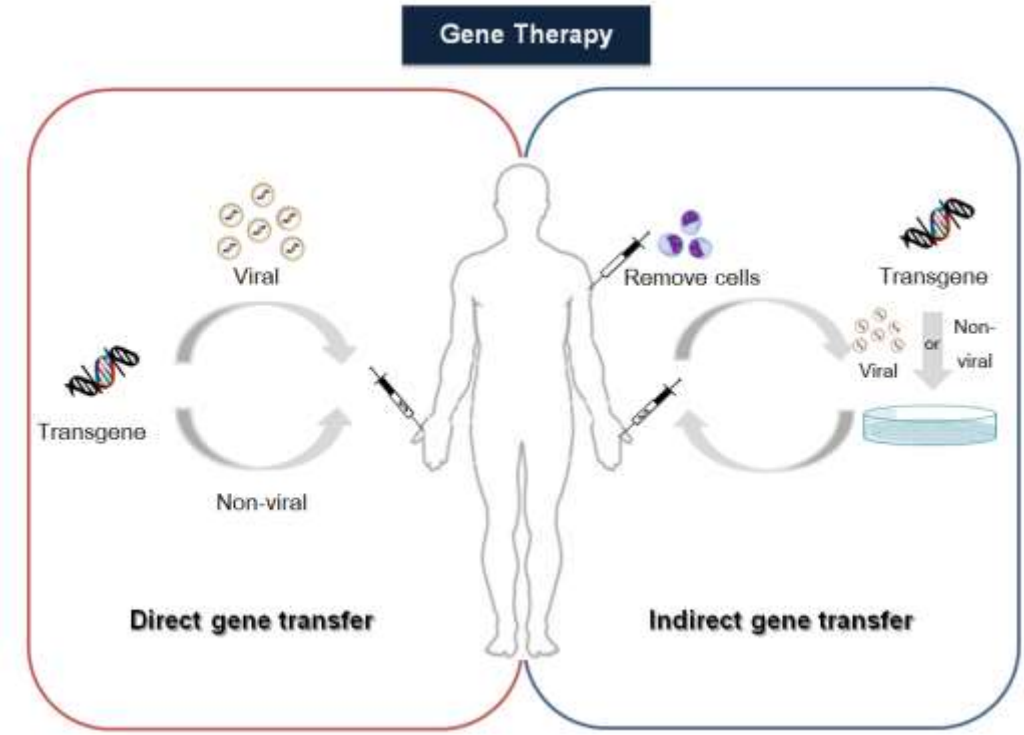

Figure 4 Gene therapy process. Gene therapy can be administered into the body by either direct gene transfer (left) or indirect gene transfer (right), using viral or non-viral vectors.

อีกปัจจัยที่ควรคำนึงถึงก่อนใช้ยีนบำบัดเพื่อรักษาโรค คือ ความเสถียร เนื่องจากธรรมชาติของเซลล์หลายชนิดมีการแบ่งตัวเร็ว ทำให้ยีนที่ใส่เข้าไปแทรกตัวในจีโนมของโฮสต์ไม่เสถียร จึงเป็นอุปสรรคทำให้ผู้ป่วยต้องได้รับการทำยีนบำบัดหลายครั้ง (Thomas *et al*., 2003)

นอกจากนี้ ปัจจุบันการศึกษายีนบำบัดยังมีขอบเขตอยู่ในโรคทางพันธุกรรมที่มีการถ่ายทอดแบบยีนเดี่ยวเท่านั้น ดังนั้นสำหรับโรคที่พบได้บ่อย เช่น โรคหัวใจ โรคความดันสูง โรคเบาหวาน โรคอัลไซเมอร์ โรคข้ออักเสบ ซึ่งเกิดจากหลายยีนร่วมกับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม จึงเป็นเรื่องยากที่จะใช้ยีนบำบัดในการรักษา (Baum, 2014)

สถานการณ์ของการทำยีนบำบัดในปัจจุบันและอนาคต

จนถึงปัจจุบันมีการทำยีนบำบัดมากกว่า 2000 การศึกษาทั่วโลกใน 36 ประเทศ (Gene Therapy Clinical Trials Worldwide, 2015) โดยประเทศที่มีการทำยีนบำบัดมากเป็นสามลำดับแรก คือ ประเทศสหรัฐอเมริกา สหราชอาณาจักร และเยอรมนี ซึ่งพบร้อยละ 64.1 ที่มุ่งเน้นเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง ตามมาด้วยโรคที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนเดี่ยวร้อยละ 9.1 และ โรคหัวใจร้อยละ 8.2 โดยเวคเตอร์ที่ได้รับความนิยมอย่างมาก คือ adenovirus และ retrovirus ตามลำดับ

ปี 2003 ประเทศจีนได้กลายเป็นประเทศแรกที่

อนุมัติให้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากยีนบำบัดในการรักษามีชื่อทางการค้าว่า Gendicine™ เพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งชนิดสความัสเซลล์บริเวณศีรษะและลำคอ (Peng, 2005) โดย Gendicine™ คือ adenovirus ลูกผสมที่ตัดต่อทางพันธุกรรมให้มีการแสดงออกของยีน *p53* ที่ปกติเพื่อใช้รักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งที่มีความบกพร่องของยีน *p53* และในปี 2005 องค์การอาหารและยาของประเทศจีน หรือ SFDA ได้รับรองผลิตภัณฑ์ตัวที่สอง คือ Oncorine™ เพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งโพรงหลังจมูก ร่วมกับการทำเคมีบำบัด (Bischoff *et al*., 1996) ต่อมาในปี 2008 Cerepro® เป็นเวคเตอร์ adenovirus ตัวแรกที่ผ่านเฟสสามของ clinical trial และนำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งสมองร่วมกับการฉายรังสีและเคมีบำบัด (Wirth *et al*., 2009)

ปี 2012 European Medicines Agency (EMA) ได้รับรองผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อทางการค้าว่า Glybera เป็นการใช้ยีนบำบัดในการรักษาโรคเป็นครั้งแรกในทวีปยุโรป โดย Glybera เป็นเวคเตอร์ชนิด adeno-associated virus ที่มีการใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรมเพื่อให้มีการแสดงออกของเอนไซม์ lipoprotein lipase ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อเพื่อใช้รักษาภาวะการขาดเอนไซม์นี้ (Yla-Herttuala, 2012) จนถึงปัจจุบันมีการศึกษายีนบำบัดในหลายโรค เช่น Leber's congenital amaurosis (Maguire *et al*., 2009), β-thalassemia (Cavazzana-Calvo *et al*., 2010), X-linked severe combined immunodeficiency (Hacein-Bey-Abina *et al*., 2010), ADA-SCID (Aiuti *et al*., 2009), hemophilia B (Jaski *et al*., 2009), Wiskott-Aldrichsyndrome (Boztug *et al*., 2010), multiple myeloma (Adachi *et al*., 2008), acute lymphoblastic leukemia (Mullighan, 2012), choroideremia (MacLaren *et al*., 2014) และในปี 2014 ได้มีการรายงานการศึกษายีนบำบัดในผู้ป่วยโรคเอดส์จำนวน 12 ราย ซึ่งได้ผลการรักษาเป็นที่น่าพอใจ โดยพบว่าในระยะเวลาสามปีที่ศึกษาผู้ป่วยส่วนมากมีปริมาณของไวรัส HIV ลดลงและผู้ป่วย 4 คนตรวจไม่พบอาร์เอ็นเอของไวรัส (Tebas *et al*., 2014)

พันธุวิศวกรรมกับการแพทย์ในประเทศไทย

สำหรับในประเทศไทย มีการใช้วัคซีนและยาหลายชนิดที่ผลิตโดยเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรมมาเป็นเวลานาน เช่น อินซูลิน ยาละลายลิ่มเลือด วัคซีนป้องกันโรคตับอักเสบบี และวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ รวมถึงมีการทดลองทางคลินิกของวัคซีนบางชนิด เช่น วัคซีนรักษามะเร็งตับ (https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02409524) และวัคซีนป้องกันการติดเชื้อไวรัส HIV (Kim *et al*., 2015) ส่วนการทำยีนบำบัดนั้นยังอยู่ในขั้นตอนการวิจัย โดยมีการตั้งศูนย์วิจัยเกี่ยวกับด้านนี้ เช่น Institute of Personalized Genomics and Gene Therapy (IPGG) โดยคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล และ Center for Cell & Gene Therapy โดย Thailand Center of Excellence for Life Sciences

ดังจะเห็นได้ว่า พันธุวิศวกรรมได้มีบทบาทสำคัญในทางการแพทย์มาเป็นระยะเวลานาน ทั้งในการผลิตยารักษาโรคต่างๆ ฮอร์โมน และวัคซีน ซึ่งได้รับการยอมรับในหลายประเทศทั่วโลก และทำให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพดีขึ้น มีผลข้างเคียงน้อยลง ผลิตได้ในปริมาณมากในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งทำให้ลดต้นทุนการผลิตและส่งผลให้ยามีราคาถูกลง นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาการทำยีนบำบัดในโรคหลากหลายชนิด ด้วยเทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์ที่ก้าวหน้าขึ้นอย่างรวดเร็วในทศวรรษที่ผ่านมา รวมทั้งองค์ความรู้ด้านจีโนม โปรตีโอม และทรานสคริปโทม จึงมีความเป็นไปได้อย่างยิ่งที่พันธุวิศวกรรมจะเป็นส่วนสำคัญในการวินิจฉัย ป้องกัน และรักษาโรคต่างๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชากรทั่วโลกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Adachi Y, Yoshio-Hoshino N, Nishimoto N (2008) Gene therapy for multiple myeloma. Curr Gene Ther 8: 247–255.

Adrio JL, Demain AL (2010) Recombinant organisms for production of industrial products. Bioeng Bugs 1: 116–131.

Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S, Benninghoff U, Cassani B, Callegaro L, Scaramuzza S, Andolfi G, Mirolo M, Brigida I*, et al.* (2009) Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. N Engl J Med 360: 447–458.

Andries K, Verhasselt P, Guillemont J, Gohlmann HW,

Neefs JM, Winkler H, Van Gestel J, Timmerman P, Zhu M, Lee E*, et al.* (2005) A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis*. Science 307: 223–227.

Baum BJ (2014) Gene therapy. Oral Dis 20: 115–118.

Bhattacharyya S, Kudgus RA, Bhattacharya R, Mukherjee P (2011) Inorganic nanoparticles in cancer therapy. Pharm Res 28: 237–259.

Bischoff JR, Kirn DH, Williams A, Heise C, Horn S, Muna M, Ng L, Nye JA, Sampson-Johannes A, Fattaey A*, et al.* (1996) An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. Science 274: 373–376.

Boztug K, Schmidt M, Schwarzer A, Banerjee PP, Diez IA, Dewey RA, Bohm M, Nowrouzi A, Ball CR, Glimm H*, et al.* (2010) Stem-cell gene therapy for the Wiskott-Aldrich syndrome. N Engl J Med 363: 1918–1927.

Caplen NJ, Alton EW, Middleton PG, Dorin JR, Stevenson BJ, Gao X, Durham SR, Jeffery PK, Hodson ME, Coutelle C*, et al.* (1995) Liposome-mediated CFTR gene transfer to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. Nat Med 1: 39–46.

Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nusbaum P, Selz F, Hue C, Certain S, Casanova JL*, et al.* (2000) Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. Science 288: 669–672.

Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G, Hehir K, Fusil F, Down J, Denaro M, Brad T, Westerman K*, et al.* (2010) Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia. Nature 467: 318–322.

Colluru VT, Johnson LE, Olson BM, McNeel DG (2013) Preclinical and clinical development of DNA vaccines for prostate cancer. Urol Oncol. (in press).

de Souza MS, Ratto-Kim S, Chuenarom W, Schuetz A, Chantakulkij S, Nuntapinit B, Valencia-Micolta A, Thelian D, Nitayaphan S, Pitisuttithum P*, et al.* (2012) The Thai phase III trial (RV144) vaccine regimen induces T cell responses that preferentially target epitopes within the V2 region of HIV-1 envelope. J Immunol 188: 5166–5176.

Diez B, Mellado E, Rodriguez M, Fouces R, Barredo JL (1997) Recombinant microorganisms for industrial production of antibiotics. Biotechnol Bioeng 55: 216–226.

Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA Jr, Butel JS, Bradley A (1992) Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. Nature 356: 215–221.

Eyre DW, Babakhani F, Griffiths D, Seddon J, Del Ojo Elias C, Gorbach SL, Peto TE, Crook DW, Walker AS (2014) Whole-genome sequencing demonstrates that fidaxomicin is superior to vancomycin for preventing reinfection and relapse of infection with Clostridium difficile. J Infect Dis 209: 1446–1451.

Fearon ER (1991) A genetic basis for the multi-step pathway of colorectal tumorigenesis. Princess Takamatsu Symp 22: 37–48.

Gaspar HB, Aiuti A, Porta F, Candotti F, Hershfield MS, Notarangelo LD (2009) How I treat ADA deficiency. Blood 114: 3524–3532.

Germanier R, Fuer E (1975) Isolation and characterization of Gal E mutant Ty 21a of *Salmonella typhi*: a candidate strain for a live, oral typhoid vaccine. J Infect Dis 131: 553–558.

Goldenberg MM (1999) Trastuzumab, a recombinant DNA-derived humanized monoclonal antibody, a novel agent for the treatment of metastatic breast cancer. Clin Ther 21: 309–318.

Grossbard EB (1987) Recombinant tissue plasminogen activator: a brief review. Pharm Res 4: 375-378.

Hacein-Bey-Abina S, Hauer J, Lim A, Picard C, Wang GP, Berry CC, Martinache C, Rieux-Laucat F, Latour S, Belohradsky BH*, et al.* (2010) Efficacy

of gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. N Engl J Med 363: 355–364.

Heller LC, Heller R (2010) Electroporation gene therapy preclinical and clinical trials for melanoma. Curr Gene Ther 10: 312–317.

Huang CJ, Lin H, Yang X (2012) Industrial production of recombinant therapeutics in *Escherichia coli* and its recent advancements. J Ind Microbiol Biotechnol 39: 383–399.

Huang S, Kamihira M (2013) Development of hybrid viral vectors for gene therapy. Biotechnol Adv 31: 208–223.

Jaski BE, Jessup ML, Mancini DM, Cappola TP, Pauly DF, Greenberg B, Borow K, Dittrich H, Zsebo KM, Hajjar RJ (2009) Calcium upregulation by percutaneous administration of gene therapy in cardiac disease (CUPID Trial), a first-in-human phase 1/2 clinical trial. J Card Fail 15: 171–181.

Johansson BE, Bucher DJ, Kilbourne ED (1989) Purified influenza virus hemagglutinin and neuraminidase are equivalent in stimulation of antibody response but induce contrasting types of immunity to infection. J Virol 63: 1239–1246.

Johnson IS (1983) Human insulin from recombinant DNA technology. Science 219: 632–637.

Kim JH, Excler JL, Michael NL (2015) Lessons from the RV144 Thai phase III HIV-1 vaccine trial and the search for correlates of protection. Annu Rev Med 66: 423–437.

Kiss Z, Elliott S, Jedynasty K, Tesar V, Szegedi J (2010) Discovery and basic pharmacology of erythropoiesis-stimulating agents (ESAs), including the hyperglycosylated ESA, darbepoetin alfa: an update of the rationale and clinical impact. Eur J Clin Pharmacol 66: 331–340.

Koser CU, Ellington MJ, Peacock, SJ (2014) Whole-genome sequencing to control antimicrobial resistance. Trends Genet 30: 401–407.

Kucera ML, Graham JP (1998) Insulin lispro, a new insulin analog. Pharmacotherapy 18: 526–538.

Lakshminarayanan A, Ravi VK, Tatineni R, Rajesh YB, Maingi V, Vasu KS, Madhusudhan N, Maiti PK, Sood AK, Das S*, et al.* (2013) Efficient dendrimer-DNA complexation and gene delivery vector properties of nitrogen-core poly(propyl ether imine) dendrimer in mammalian cells. Bioconjug Chem 24: 1612–1623.

Levine MM, Kaper JB, Herrington D, Ketley J, Losonsky G, Tacket CO, Tall B, Cryz S (1988) Safety, immunogenicity, and efficacy of recombinant live oral cholera vaccines, CVD 103 and CVD 103-HgR. Lancet 2: 467–470.

Liang HD, Tang J, Halliwell M (2010) Sonoporation, drug delivery, and gene therapy. Proc Inst Mech Eng H 224: 343–361.

MacLaren RE, Groppe M, Barnard AR, Cottriall CL, Tolmachova T, Seymour L, Clark KR, During MJ, Cremers FP, Black GC*, et al.* (2014) Retinal gene therapy in patients with choroideremia: initial findings from a phase 1/2 clinical trial. Lancet 383: 1129–1137.

Maguire AM, High KA, Auricchio A, Wright JF, Pierce EA, Testa F, Mingozzi F, Bennicelli JL, Ying GS, Rossi S*, et al.* (2009) Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. Lancet 374: 1597–1605.

Maicas S, Moukadiri I, Nieto A, Valentin E (2013) Construction of an expression vector for production and purification of human somatostatin in *Escherichia coli*. Mol Biotechnol 55: 150–158.

Marshall E (1999) Gene therapy death prompts review of adenovirus vector. Science 286: 2244–2245.

Mavilio F, Ferrari G (2008) Genetic modification of somatic stem cells. The progress, problems and prospects of a new therapeutic technology. EMBO Rep 9 Suppl 1: S64–69.

Medema MH, Alam MT, Breitling R, Takano E (2011)

The future of industrial antibiotic production: from random mutagenesis to synthetic biology. Bioeng Bugs 2: 230–233.

Mullighan CG (2012) The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2012: 389–396.

Nascimento IP, Leite LC (2012) Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. Braz J Med Biol Res 45: 1102–1111.

Nestorovich EM, Bezrukov SM (2014) Designing inhibitors of anthrax toxin. Expert Opin Drug Discov 9: 299–318.

Niidome T, Huang L (2002) Gene therapy progress and prospects: nonviral vectors. Gene Ther 9: 1647–1652.

O'Connor DM, Boulis NM (2015) Gene therapy for neurodegenerative diseases. Trends Mol Med 21: 504–512.

Peng Z (2005) Current status of gendicine in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. Hum Gene Ther 16: 1016–1027.

Plotkin S (2014) History of vaccination. Proc Natl Acad Sci U S A 111: 12283–12287.

Resnik DB, Langer, PJ (2001) Human germline gene therapy reconsidered. Hum Gene Ther 12: 1449–1458.

Romano G, Pacilio C, Giordano A (1999) Gene transfer technology in therapy: current applications and future goals. Stem Cells 17: 191–202.

Senerovic L, Stankovic N, Spizzo P, Basso A, Gardossi L, Vasiljevic B, Ljubijankic G, Tisminetzky S, Degrassi G (2006) High-level production and covalent immobilization of *Providencia rettgeri* penicillin G acylase (PAC) from recombinant *Pichia pastoris* for the development of a novel and stable biocatalyst of industrial applicability. Biotechnol Bioeng 93: 344–354.

Sibbald B (2001) Death but one unintended consequence of gene-therapy trial. Can Med Assoc J 164: 1612.

Soria-Guerra RE, Nieto-Gomez R, Govea-Alonso DO, Rosales-Mendoza S (2015) An overview of bioinformatics tools for epitope prediction: implications on vaccine development. J Biomed Inform 53: 405–414.

Tan WS, Carlson DF, Walton MW, Fahrenkrug SC, Hackett PB (2012) Precision editing of large animal genomes. Adv Genet 80: 37–97.

Tebas P, Stein D, Tang WW, Frank I, Wang SQ, Lee G, Spratt SK, Surosky RT, Giedlin MA, Nichol G*, et al.* (2014) Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. N Engl J Med 370: 901–910.

Thomas CE, Ehrhardt A, Kay MA (2003) Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. Nat Rev Genet 4: 346–358.

Toledo F, Wahl GM (2006) Regulating the p53 pathway: *in vitro* hypotheses, *in vivo* veritas. Nat Rev Cancer 6: 909–923.

Valenzuela P, Medina A, Rutter WJ, Ammerer G, Hall BD (1982) Synthesis and assembly of hepatitis B virus surface antigen particles in yeast. Nature 298: 347–350.

Volpers C, Kochanek S (2004) Adenoviral vectors for gene transfer and therapy. J Gene Med 6 Suppl 1: S164–171.

Walther W, Stein U (2000) Viral vectors for gene transfer: a review of their use in the treatment of human diseases. Drugs 60: 249–271.

Wirth T, Samaranayake H, Pikkarainen J, Maatta AM, Yla-Herttuala S (2009) Clinical trials for glioblastoma multiforme using adenoviral vectors. Curr Opin Mol Ther 11: 485–492.

Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Acsadi G, Jani A, Felgner PL (1990) Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo*. Science 247: 1465–1468.

Yla-Herttuala S (2012) Endgame: glybera finally recommended for approval as the first gene therapy drug in the European union. Mol Ther 20: 1831–1832.

Gene Therapy Clinical Trials Worldwide, http:// www.

abedia.com/wiley/index.html (February 2015).

US Food Drug Administration, http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm335891.htm (February 2015).