Chulalongkorn Medical Journal

Volume 45
Issue 1 *January 2001*

Article 8

1-1-2001

Vaccine development and the application in EBV-associated diseases

N. Pimtanothai

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal

Part of the Medicine and Health Sciences Commons

Recommended Citation
Pimtanothai, N. (2001) "Vaccine development and the application in EBV-associated diseases," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 45: Iss. 1, Article 8.
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal/vol45/iss1/8

This Review Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

Chula Med J Vol. 45 No. 1 January 2001

การพัฒนาวัคซีนเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัส Epstein-Barr

ณัฏฐิยา พิมทะโนทัย*

Pimtanothai N. Vaccine development and the application in EBV-associated diseases. Chula Med J 2001 Jan;45(1): 57 - 69

The Epstein Barr virus is a member of the group of human herpes viruses, which can be found worldwide. Besides its role as an etiological agent of infectious mononucleosis, EBV is associated with a number of human malignancies such as endemic Burkitt's lymphoma, Nasopharyngeal carcinoma, Hodgkin's lymphoma, and Post transplantation lymphoproliferative disease. The virus is also unique due to its ability to remain latent for life in B lymphocytes in healthy populations. This phenomenon is believed to be due to a complex balance between viral latency mechanisms and host immunity. Due to the various clinical aspects importance of EBV, antigen expression and immune responses in each EBV-associated disease have been extensively studied, aimed at the development of a vaccine against EBV infection. One strategy is to develop a vaccine against the envelope protein to induce neutralizing antibodies and prevent viral infection. However, the very early encounter with EBV infection experienced by children living in endemic areas is still a challenge to this approach. Another strategy has tried to enhance cell-mediated immunity against various latent EBV antigens present in infected cells. This latter approach might be helpful in decreasing viral load and therefore preventing the development of infectious mononucleosis. It may also be applied as an immunotherapy in EBV-associated cancer patients.

Key words: *Cytotoxic T lymphocytes, Epstein-Barr virus, gp350, Latency.*

Reprint request : Pimtanothai N. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. September 25, 2000.

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. บทนำ

EBV เป็นเชื้อไวรัสในกลุ่ม Human Herpes ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั่วโลก การติดเชื้อ EBV เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของโรคหลายรูปแบบทั้งในคนปกติและผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องโดยมีทั้ง การติดเชื้อแบบทำลาย (lytic infection) และ การติดเชื้อแบบแอบแฝง (latent infection) ซึ่งจะมีการแสดงออกของ "EBV โปรตีน" หรือ อาจเรียกได้ว่าเป็น "EBV แอนติเจน" ที่แตกต่างกัน [1-3] (ดูรายละเอียดในตารางที่ 1.) ในบทนี้จะกล่าวถึงการติดเชื้อ EBV ลักษณะต่าง ๆ โดยเน้นถึงการศึกษาทางภูมิคุ้มกันวิทยาและการนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันหรือควบคุมโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ EBV ที่สำคัญ

2. โรคต่าง ๆที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ EBV

2.1 การติดเชื้อ EBV ครั้งแรก (primary infection)

โดยทั่วไปการติดเชื้อ EBV ครั้งแรกจะเกิดขึ้นตั้งแต่ในวัยเด็กโดยจะติดต่อผ่านทางระบบหายใจ โดยมักจะเป็นการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ แต่การติดเชื้อครั้งแรกเมื่ออายุสูงขึ้น (15 - 25 ปี) จะทำให้เกิดโรค infectious mononucleosis หรือ Kissing disease ได้ ซึ่งมีอาการหวัดร่วมกับต่อมน้ำเหลืองโต การติดเชื้อ EBV ครั้งแรกนี้เชื่อว่าเริ่มจากการเข้าสู่ squamous epithelial cells ของช่องคอ (oropharynx) โดยจะมีการติดเชื้อแบบทำลาย นั่นคือไวรัสจะสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเซลล์เหล่านี้แล้วเชื้อจะถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์เพื่อก่อการติดเชื้อต่อเซลล์ข้างเคียงต่อไปได้ [4] ในระยะนี้จะมีการแสดงออกของ EBV แอนติเจนจำนวนมากดังแสดงในตารางที่ 1. นอกจากนี้ EBV บางส่วนยังสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในบีลิมโฟไซท์ได้โดยผ่าน complement receptor (CR2 หรือ CD21) โดยจะเริ่มจากบีลิมโฟไซท์ที่ผ่านเข้ามาในบริเวณช่องคอและต่อมาลิมโฟไซท์ที่ติดเชื้อ EBV ก็จะกระจายเข้าสู่กระแสโลหิต ในปัจจุบันสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค infectious mononucleosis เฉพาะในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อครั้งแรกเมื่ออายุสูงขึ้นนั้นยังไม่เป็นที่ทราบอย่างแน่ชัด แต่เชื่อว่าอาจมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณของไวรัสในร่างกาย (viral load) ที่มีจำนวนมากกว่าปกติ จนทำให้ภาวะการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเสียสมดุลย์ไป โดยจะเห็นได้ว่าอาการของโรค infectious mononucleosis เกิดเนื่องจากมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันมากผิดปกติ ลิมโฟไซท์ที่พบเป็นจำนวนมากในกระแสเลือดก็คือทีลิมโฟไซท์ที่จำเพาะต่อ EBV แอนติเจนที่เพิ่มจำนวนมากขึ้นเพื่อใช้ควบคุมการติดเชื้อไวรัสนั่นเอง

2.2 การติดเชื้อแบบแอบแฝงในบีลิมโฟไซท์

สำหรับการติดเชื้อในบีลิมโฟไซท์มีลักษณะสำคัญที่ต่างจากการติดเชื้อทั่ว ๆ ไป นั่นคือเชื้อไวรัสจะสามารถอยู่แบบซ่อนเร้น หรือที่เรียกว่าการติดเชื้อแบบแอบแฝงในบีลิมโฟไซท์ได้ตลอดชีวิต ในระยะนี้ไวรัสจะมีการแสดงออกของ EBV แอนติเจนที่เราเรียกว่าเป็นแอนติเจนแบบแอบแฝงโดยไม่มีการสร้างไวรัสตัวใหม่เช่นในภาวะการติดเชื้อแบบทำลาย อย่างไรก็ตามพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงจากการติดเชื้อแบบแอบแฝงไปเป็นการติดเชื้อแบบทำลาย ได้ในปริมาณน้อย ๆ อยู่ได้ตลอดเวลา สิ่งที่เป็นตัวกระตุ้นหรือกลไกที่ไวรัสควบคุมการเปลี่ยนแปลงนี้ยังไม่เป็นที่ทราบอย่างแน่ชัด คุณสมบัติที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของการติดเชื้อแบบแอบแฝงของ EBV คือความสามารถที่ทำให้บีลิมโฟไซท์เจริญเติบโตผิดปกติและไม่ตายได้ นักวิทยาศาสตร์ได้ใช้ประโยชน์จากคุณสมบัตินี้โดยการแยกบีลิมโฟไซท์ที่ติดเชื้อ EBV เหล่านั้นมาเลี้ยงในหลอดทดลอง (in vitro system) เป็น B-lymphoblastoid cell lines (B-LCL) [5-6] โดย B-LCL นี้จะมีการแสดงออกของ EBV แอนติเจนแบบแอบแฝงรูปแบบที่เรียกว่า latency III ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยสรุปจะเห็นได้ว่าประชากรจำนวนมากจะมีการติดเชื้อ EBV แบบแอบแฝงอยู่ในร่างกายโดยอาจจะไม่มีอาการแสดงใด ๆ นำมาก่อน หรืออาจจะเคยเป็นโรค infectious mononucleosis มาก่อนก็ได้ การติดเชื้อชนิดนี้จะสามารถถูกควบคุมได้ด้วยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทั้งการควบคุมไม่ให้มีการแบ่งตัวของไวรัส และควบคุมการเจริญเติบโตที่ผิดปกติของบีลิมโฟไซท์ที่ติดเชื้อ EBV ให้อยู่ในภาวะสมดุลย์และไม่ก่อให้เกิดโรค [7-10] โดยเราจะเรียกประชากรที่มีการติดเชื้อ EBV แบบแอบแฝงแต่ไม่มีอาการผิดปกติกลุ่มนี้ว่า "healthy carrier"

2.3 การติดเชื้อ EBV แบบแอบแฝงในโรคมะเร็งบางชนิด

จะเห็นได้ว่า EBV มีความสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงบีลิมโฟไซท์ได้ นอกจากนี้ EBV ยังถูกรายงานว่าเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเกิดมะเร็งอีกหลายชนิดโดยเราสามารถพบการติดเชื้อแบบแอบแฝงของ EBV ได้ในเซลล์มะเร็งได้ด้วยได้แก่ใน Burkitt's lymphoma (BL), Nasopharyngeal carcinoma (NPC) และ Hodgkin's disease (HD) รวมถึงการเกิดโรคซึ่งมีชื่อเรียกเฉพาะว่า Post transplantation lymphoproliferative disease (PTLD) ที่พบในในผู้ป่วยติดเชื้อ HIV และ กลุ่มผู้ป่วย post transplantation [11] การศึกษามากมายพยายามศึกษาถึงกลไกที่การติดเชื้อ EBV เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง เช่นพบว่า LMP1 เป็น viral oncogene โดยทำหน้าที่คล้ายกับ receptor ของ tumor necrosis factor และมีผลทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติได้ [12] อย่างไรก็ตามในการเกิดมะเร็งแต่ละชนิดนั้น การติดเชื้อ EBV ไม่ใช่ปัจจัยที่เป็นสาเหตุเพียงอย่างเดียว ปัจจัยสำคัญอย่างอื่นที่มีผล ได้แก่ สารก่อมะเร็งต่าง ๆ และการกลายพันธุ์ของยีนในผู้ป่วยเป็นต้น

2.3.1 Burkitt's lymphoma (BL)

ในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Burkitt's lymphoma โดยเฉพาะชนิด endemic ที่พบมากในเด็กชาวแอฟริกา ซึ่งมักเกิดบริเวณขากรรไกร จะสามารถตรวจพบยีนของ EBV ได้ในเซลล์มะเร็งหรือตรวจพบแอนติบอดีต่อ EBV แอนติเจนปริมาณสูงผิดปกติในกระแสโลหิตได้ [13] บทบาทของ EBV ต่อการเกิดมะเร็งชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบอย่างแน่ชัด เนื่องจากการแสดงออกของ EBV แอนติเจนในมะเร็งชนิดนี้มีรูปแบบที่จำกัดมากนั่นคือมีเพียงแค่ EBNA1 ที่เรียกว่าเป็นแบบ latency I โดยไม่มีการแสดงออกของ LMP ซึ่งเชื่อกันว่าเป็น oncogene ที่สำคัญเลย ในปัจจุบันมีสมมติฐานว่า EBNA1 อาจมีส่วนทำให้การควบคุมยีน Myc เสียไปจนทำให้มีโอกาสเกิดการเปลี่ยนตำแหน่งของโครโมโซม (Chromosomal translocation) มาต่อกับยีนของ Immunoglobulin ได้มากกว่าปกติได้ [14]

2.3.2 Nasopharyngeal carcinoma (NPC)

มะเร็งโพรงหลังจมูกเป็นมะเร็งของเนื้อเยื่อชนิด squamous epithelium บริเวณโพรงหลังจมูก การเกิดมะเร็งชนิดนี้มีลักษณะที่น่าสนใจเนื่องจากมีอัตราการเกิดโรคที่ต่างกันมากในแต่ละท้องที่ โดย NPC จะพบได้ในอุบัติการณ์ที่สูงมากและเป็นปัญหาสำคัญในแถบเอเชียตอนใต้ เช่น ประเทศจีน และ ฮ่องกงรวมทั้งในประเทศไทย เราทราบว่า EBV เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในขบวนการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกโดยพบว่าเชื้อ EBV ที่พบในมะเร็งโพรงหลังจมูกทุกตัวมีต้นแบบมาจากตัวเดียวกันและพบ EBV ได้ในทุกเซลล์ทำให้มีสมมุติฐานว่ามีการติดเชื้อ EBV ใน มะเร็งโพรงหลังจมูกตั้งแต่ระยะเริ่มต้นของการเกิดมะเร็ง [15] สำหรับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกนั้นเชื่อกันว่า EBV เข้าสู่ epithelial cell บริเวณโพรงหลังจมูกโดยขบวนการ endocytosis จากเชื้อ EBV ที่ออกมาจากบีลิมโฟไซท์ ผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูกทุกคนจะมีแอนติบอดีต่อ EBV แอนติเจนโดยเฉพาะ anti-VCA antibody ระดับสูงกว่ากลุ่มประชากรควบคุมถึง 8 -10 เท่า ซึ่งเราสามารถนำมาใช้ประโยชน์ ในการช่วยวินิจฉัยรวมทั้งการเฝ้าระวังการ recurrent ของมะเร็งได้ [16] ต่อมาจากการศึกษาทางอณูพบว่ามียีน EBV ในเซลล์มะเร็ง และมีการแสดงออกของ EBV โปรตีนมากกว่าในมะเร็งชนิด Burkitt's lymphoma แต่ก็ยังมีรูปแบบค่อนข้างจำกัดเมื่อเทียบกับการติดเชื้อแอบแฝงในบีลิมโฟไซท์ปกติ เราเรียกว่าเป็นรูปแบบ "latency II" (ตารางที่ 1) ซึ่งประกอบด้วยการแสดงออกของ EBNA1, LMP1, LMP2A, LMP2B และ BARF0 [17-18] นอกจากการติดเชื้อ EBV แล้วการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่ามะเร็งโพรงหลังจมูกอาจเกี่ยวข้องกับสารก่อมะเร็งในอาหารบางชนิด หรือจากควันบุหรี่ การศึกษาทางอณูพันธุศาสตร์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคนเชื้อสายจีนยืนยันว่าปัจจัยทางพันธุกรรมมีความสำคัญต่อการเกิดมะเร็งชนิดนี้มาก

2.3.3 Hodgkin's disease (HD)

มะเร็งของต่อมน้ำเหลืองอีกประเภทหนึ่งที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV คือโรค Hodgkin's disease โดยจะสามารถตรวจพบยีนของ EBV หรือแอนติบอดีต่อ EBV เช่นเดียวกับโรคอื่นๆ [19] มีการแสดงออกของ EBV

โปรตีนเช่นเดียวกับโรคมะเร็งโพรงหลังจมูกนั่นคือแบบ latency II [20]

2.3.4 Post transplantation lymphoproliferative disease (PTLD)

เป็นมะเร็งที่พบได้ในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยมักพบในผู้ป่วยที่ได้รับการเปลี่ยน ถ่ายอวัยวะหรือไขกระดูก ซึ่งจะต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกัน หรืออาจพบได้ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HIV มีรายงานครั้งแรกในปี 1980 โดย Crawford et al. [21] พบว่าพยาธิสภาพที่พบมีตั้งแต่เป็นแบบ hyperplasia จนถึงเป็น malignant lymphoma โดยพบว่าเซลล์มะเร็ง lymphoma มีลักษณะการแสดงออกของ EBV แอนติเจน คล้ายกับใน B-LCL เรียกว่าแบบ latency III (ตารางที่ 1) [22] เชื่อว่า PTLD นี้เกิดขึ้นเนื่องจากการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้นอย่างผิดปกติของบีลิมโฟไซท์ที่มีการติดเชื้อ EBV อยู่ เมื่อขาดการควบคุมจากการทำงานของภาวะภูมิคุ้มกันปกติในร่างกายของผู้ป่วย

3. ภาวะภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ EBV ในโรคต่าง ๆ

การศึกษากระบวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อ EBV เป็นหัวข้อสำคัญที่เป็นที่สนใจของ นักวิทยาศาสตร์มาเป็นเวลานาน โดยสรุปในปัจจุบันเราทราบว่าทั้งภูมิคุ้มกันทางด้านแอนติบอดี (humoral immune responses) และ ภูมิคุ้มกันทางเซลล์ (cellular immune responses) มีบทบาทสำคัญ ทางด้านภูมิคุ้มกันทางด้านแอนติบอดีที่สำคัญคือจากการสร้าง neutralizing antibody ต่อส่วนเปลือกนอกของไวรัส (virus envelop) ที่เรียกว่า gp350 โดยจะมีความสำคัญในการติดเชื้อแบบทำลายจากการกำจัดไวรัสที่เป็นอิสระอยู่ในกระแสโลหิตเพื่อป้องกันไวรัสไม่ให้เข้าสู่เซลล์ [23] โดยจะพบว่าเมื่อมีแอนติบอดีเกิดขึ้นจะไม่สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสในกระแสโลหิตของผู้ป่วยได้อีกอย่างไรก็ตามเราพบว่าระดับของ neutralizing antibody จากการติดเชื้อตามธรรมชาตินั้นมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะป้องกันการติดเชื้อครั้งแรกได้ แต่จากความรู้นี้นักวิทยาศาสตร์ก็กำลังพยายามที่จะผลิตวัคซีนเพื่อเพิ่มการสร้าง neutralizing antibody นี้และป้องกันการติดเชื้อ EBV [3, 24] แอนติบอดีชนิดอื่นที่พบได้บ่อย ได้แก่ anti-VCA และ anti-EA antibody โดยจะพบคงอยู่ในซีรัมของผู้ที่เคยได้รับเชื้อ EBV แต่ไม่พบว่ามีคุณสมบัติที่จะทำลายเชื้อ EBV ได้ นักวิทยาศาสตร์ใช้ประโยชน์จากแอนติบอดีเหล่านี้ในการตรวจสอบการติดเชื้อ EBV แทน เมื่อไวรัสเข้าไปหลบอยู่ในเซลล์แล้วภูมิคุ้มกันที่สำคัญมากต่อการติดเชื้อไวรัสอีกชนิดหนึ่งคือภูมิคุ้มกันแบบเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากการทำงานของ cytotoxic T lymphocytes (CTL) หรือ CD8+ T cell ซึ่งจะทำลายเซลล์เป้าหมายในกรณีนี้คือเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส [3] ขบวนการในการนำเสนอแอนติเจนให้กับ CTL เป็นขบวนการที่ค่อนข้างซับซ้อน โดยเริ่มจากจะต้องมีการย่อยสลาย EBV แอนติเจนภายในเซลล์ที่มีการติดเชื้อให้กลายเป็นเปปไทด์ สายสั้น ๆ อาจเรียกว่าเป็นขบวนการย่อยสลาย EBV แอนติเจน (antigen processing) จากนั้นชิ้นส่วนของไวรัสที่ย่อยแล้วจะต้องถูกนำเสนอ (antigen presentation) โดยโมเลกุลของระบบภูมิคุ้มกันชนิดหนึ่งซึ่งมีชื่อเรียกว่า MHC โมเลกุล หรือ HLA โมเลกุล ซึ่งมีอยู่บนผิวเซลล์นั้น โดยที่เปปไทด์นั้นจะต้องจำเพาะกับร่องบน HLA โมเลกุลพอดี จากนั้น CTLจะใช้ T cell receptor จับกับเปปไทด์จากไวรัสที่อยู่ในร่องของ HLA โมเลกุล เราเรียกเปปไทด์ซึ่งคือตำแหน่งย่อย ๆ บนแอนติเจนที่สามารถทำปฏิกิริยากับ CTL ที่จำเพาะนี้ว่าเป็น "T cell epitope" นอกจาก CTL แล้ว T helper cell หรือ CD4+ T cell ก็เป็นภูมิคุ้มกันแบบเซลล์อีกชนิดหนึ่งซึ่งมีบทบาทสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสารไซโตไคน์ที่หลั่งออกมาจากเซลล์ชนิดนี้ได้แก่ Interleukin 2 ซึ่งจะช่วยทั้งขบวนการสร้างแอนติบอดีและการทำงานของ CTL[9]

การศึกษาภาวะภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ EBV ในกลุ่ม Healthy carrier พบว่าเราสามารถตรวจพบ CTL ที่จำเพาะต่อ EBV ได้จำนวนมากในกระแสโลหิตของกลุ่ม healthy carrier โดยพบว่าแอนติเจนแบบแอบแฝงเกือบทุกชนิดที่แสดงออกใน B-LCL สามารถเป็นแอนติเจนเป้าหมายของ CTL ที่จำเพาะต่อ EBV ได้ สนับสนุนสมมุติฐานที่ว่า CTL ที่จำเพาะต่อ EBV นี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยควบคุมการติดเชื้อ EBV ใน กลุ่ม healthy carrier ไว้ได้ [3, 9-10, 25-26] ความ

สำคัญของระบบภูมิคุ้มกันต่อการควบคุมการติดเชื้อ EBV เห็นได้อย่างชัดเจนมากขึ้นจากการเกิดโรค post transplantation lymphoproliferative disease ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องซึ่งสามารถรักษาได้โดยการให้ทีลิมโฟไซท์เข้าไปในร่างกายของผู้ป่วย (adoptive therapy) [11]

สำหรับภาวะภูมิคุ้มกันต่อ EBV แอนติเจนในผู้ป่วยมะเร็งอื่น ๆ นั้น ตามทฤษฎีแล้วเนื่องจากโปรตีนของ EBV ที่แสดงออกบนเซลล์มะเร็งเป็นสิ่งแปลกปลอมต่อร่างกายของมนุษย์ โปรตีนเหล่านี้จึงน่าจะเป็นแอนติเจนของเซลล์มะเร็งที่ดีและสามารถเป็นเป้าหมายต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่นเดียวกับการติดเชื้อ EBV ใน infectious mononucleosis หรือใน healthy carrier การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันต่อ EBV แอนติเจนในผู้ป่วยมะเร็งพบว่าเราสามารถตรวจพบ CTL ที่จำเพาะต่อ EBV ได้จำนวนหนึ่งทั้งจากในกระแสโลหิตและจากทีลิมโฟไซท์ที่อยู่ในบริเวณของก้อนมะเร็ง (Tumor infiltrating lymphocyte)[27-28] อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในผู้ป่วยมะเร็งไม่เพียงพอที่จะควบคุมเซลล์มะเร็งไว้ได้ ปัจจุบันเราทราบว่าเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดมีกลไกหลายประการที่ทำให้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันมีประสิทธิภาพลดลงโดยจะมีความแตกต่างกันในมะเร็งแต่ละชนิด

4. กลไกการหลบหลีกจากภูมิคุ้มกันของเซลล์มะเร็ง

4.1 การลดปริมาณ และชนิดของแอนติเจนแอบแฝงของ EBV ในเซลล์มะเร็ง

ทำให้ระบบภูมิคุ้มกัน ของร่างกายไม่สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ การแสดงออกของแอนติเจนแอบแฝงของ EBV ในมะเร็งชนิดต่าง ๆ มีความแตกต่างกัน ดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 1 จะเห็นว่าเซลล์มะเร็งในโรค Burkitt's lymphoma, Hodgkin's lymphoma และมะเร็งโพรงหลังจมูกมีการแสดงออกของ EBV แอนติเจนจำนวนน้อยกว่าปกติมาก [3, 9]

ตารางที่ 1. ลักษณะการแสดงออกของ EBV แอนติเจน ในภาวะต่าง ๆ

ลักษณะการแสดงออกของ EBV แอนติเจน	พบได้ใน	ชนิดของ EBV แอนติเจน
Lytic infection	Primary infection, Sometimes during the latent infection	EA (e.g., BZLF1, BRLF1, BALF2, BHRF1, BMRF1, BSMLF1), viral envelop and nucleocapsid proteins (gp350, gp110), EBNA1, LMP1-2
Latency I	Burkitt's lymphoma	EBNA1
Latency II	NPC, Hodgkin's disease	EBNA1, LMP1-2, RK-BARF0
Latency III	Healthy carrier, B-LCL, Polyclonal lymphomas in PTLD, AIDS	EBNA1-6, LMP1-2, RK-BARF0

B-LCL = B-lymphoblastoid cell lines; PTLD = Post transplant lymphoproliferative diseases;
VCA = viral capsid antigen; EA = early antigen; EBNA = EB virus nuclear antigen; LMP = latent membrane protein;
RK-BARF0 = product of EBV-encoded BamHI A transcripts

4.2 การขาดความสามารถในการนำเสนอ CTL epitopes ของ EBV แอนติเจนหรือการย่อยสลายแอนติเจนในเซลล์มะเร็ง

ตัวอย่างที่สำคัญ คือการขาดการแสดงออกของ HLA โมเลกุลบนเซลล์มะเร็งในโรค Burkitt's lymphoma ทำให้ขาดโมเลกุลที่จะนำเสนอ EBV แอนติเจนต่อทีลิมโฟไซท์ ในขณะที่มะเร็งที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ EBV ชนิดอื่นมีการแสดงออกของ HLA โมเลกุลอยู่ในเกณฑ์ปกติ และสามารถเป็นเซลล์เป้าหมายต่อทีลิมโฟไซท์ได้ดีกว่าเซลล์มะเร็งในโรค Burkitt's lymphoma [29-30] นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์ยังค้นพบว่ามีส่วนเหมือน ๆ กัน (internal repeat region) ใน EBNA1 ที่สามารถยับยั้งขบวนการย่อยสลายแอนติเจนได้ ทำให้ EBNA1 เป็นส่วนประกอบของวัคซีนที่ไม่ดี [31]

4.3 การขาดความสามารถที่จะเป็นแอนติเจนที่ดีของ EBV แอนติเจนบางชนิดในเซลล์มะเร็ง

เป็นข้อสังเกตเนื่องมาจากการศึกษาความหลากหลายของยีน (genotype) ของ EBV แอนติเจนต่าง ๆ พบว่า LMP ที่แสดงออกบนเซลล์มะเร็งมีความแตกต่างจาก LMP ใน healthy carrier [32-38] เช่นการพบสายพันธุ์ของ EBV ที่มีส่วน insertion หรือ deletion หรือ point mutation ในส่วนของ T cell epitope ที่อยู่บน LMP1 แอนติเจน ทำให้ทีลิมโฟไซท์ไม่สามารถรับรู้และทำลาย EBV ที่อยู่ในเซลล์มะเร็งไม่ได้ เชื่อกันว่าความแตกต่างของ EBV แอนติเจนเหล่านี้เป็นกลไกหนึ่งของเซลล์มะเร็งที่เกี่ยวข้องกับการหลบหลีกจากภูมิคุ้มกันปกติของร่างกาย ข้อมูลอีกประการหนึ่งที่อาจนำมาสนับสนุน คือการพบว่า LMP1 จาก EBV สายพันธุ์หนึ่งในเซลล์มะเร็งโพรงหลังจมูกมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลองได้น้อยกว่า LMP1จาก EBV สายพันธุ์ B95.8 ซึ่งได้มาจาก healthy carrier [39] แต่กลไกที่ใช้อธิบายปรากฏการณ์นี้ยังไม่เป็นที่ทราบอย่างแน่ชัดและยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติม ใน EBV สายพันธุ์อื่น ๆ ด้วย

4.4 ภาวะภูมิต้านทานถูกกด (immunosuppression) ในผู้ป่วยมะเร็ง

จากการศึกษาหนึ่งเมื่อปี 1983 โดยใช้ B-LCL เป็นเซลล์เป้าหมาย [27] สังเกตุพบว่า CTL ที่จำเพาะต่อ EBV ในกระแสโลหิตของผู้ป่วยมะเร็งจำนวนหนึ่งมีจำนวนลดลงเมื่อเทียบ กับ CTL ใน กลุ่ม healthy carrier บ่งชี้ว่ามีภาวะภูมิต้านทานถูกกดในผู้ป่วยมะเร็งอยู่ส่วนหนึ่ง ในปัจจุบันยังไม่มีผู้ใดสามารถอธิบายกลไกหรือค้นพบปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะภูมิต้านทานถูกกดนี้ได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามภาวะนี้ไม่ได้มีอยู่ในผู้ป่วยมะเร็งทุกคน

5. การพัฒนาวัคซีนต่อเชื้อ EBV ในปัจจุบัน

นักวิทยาศาสตร์พยายามที่จะพัฒนาวัคซีนต่อ EBV โดยมีจุดประสงค์สำคัญใหญ่ ๆ สองประการ [3] นั่นคือ 1) เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอาการของโรค Infectious mononucleosis และ 2) เพื่อป้องกันหรือควบคุมการเกิดโรคมะเร็งต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ EBV ถึงแม้ว่าวิธีที่ดีที่สุดก็คือการป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อ EBV เลยตั้งแต่แรกเกิด (sterile immunity) แต่ในแหล่งที่เป็น endemic area ของเชื้อ EBV การติดเชื้อครั้งแรกสามารถเกิดขึ้นได้รวดเร็วมากตั้งแต่เกิด ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะชักนำให้เกิด sterile immunity ขึ้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องค้นหากลยุทธ์ที่จะก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันในทารกแรกเกิดเพื่อป้องกันการติดเชื้อให้ทัน อย่างไรก็ตามนักวิทยาศาสตร์เชื่อกันว่าการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันที่เหมาะสมต่อเชื้อ EBV ให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นโดยไม่จำเป็นต้องเกิด sterile immunity ก็อาจจะพอเพียงที่จะสามารถควบคุมปริมาณของไวรัสไว้ได้และไม่ทำให้เกิดอาการของโรค Infectious mononucleosis สำหรับในกรณีที่สองการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโดยเฉพาะ CTL ที่จำเพาะต่อ EBV แอนติเจน ให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งที่มีการติดเชื้อ EBV อาจนำมาใช้เป็นการรักษาในเชิงภูมิคุ้มกันบำบัดต่อโรคมะเร็ง (tumor immunotherapy) โดยก่อให้เกิดทำลายเซลล์มะเร็งได้อีกทางหนึ่ง ในปัจจุบัน EBV แอนติเจนที่ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของวัคซีนที่สำคัญมีสองกลุ่มใหญ่ ๆ นั่นคือ

5.1 gp350

ซึ่งเป็นโปรตีนส่วนประกอบตัวหนึ่งของส่วนเปลือก

ล้อมรอบตัวไวรัส เนื่องจากเป็นส่วนสำคัญที่จะกระตุ้นให้เกิด Neutralizing antibody เพื่อป้องกันไวรัสไม่ให้เข้าสู่เซลล์ นักวิทยาศาสตร์ใช้เทคโนโลยีทางอณูชีวภาพเพื่อสังเคราะห์ gp350 หรือที่มักเรียกกันว่าเป็น recombinant gp350 จากการทดลองเบื้องต้นในสัตว์ทดลองพบว่าสามารถตรวจพบระดับแอนติบอดีต่อ gp350 ได้ในระดับสูงหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วย recombinant gp350 และทำให้สัตว์ทดลองดังกล่าวมีภูมิต้านทานต่อการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่เกิดจากเชื้อ EBV ได้อย่างมีนัยสำคัญ [40-41] ต่อมาการทดลอง clinical trial ในกลุ่มเด็กที่ไม่เคยได้รับเชื้อ EBV มาก่อนจำนวน 9 คนโดยมีกลุ่มควบคุมจำนวน 10 คน [42] พบว่าสามารถตรวจพบระดับแอนติบอดีต่อ gp350 ได้ในเด็กที่ได้รับวัคซีนทุกคนและการติดตามผลหลังจากได้รับวัคซีนไปแล้ว 16 เดือนพบว่าสามารถตรวจพบ Anti-VCA แอนติบอดีซึ่งเป็นดัชนีชี้ว่ามีการติดเชื้อ EBV ในเด็กที่ไม่ได้รับวัคซีนทุกราย ในขณะที่มีการติดเชื้อ EBV ในเด็กจำนวนเพียง 3 จาก 9 คนในกลุ่มที่ได้รับวัคซีน ผลจากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อ EBV โดยใช้ gp350 เป็นวัคซีน นอกจากนี้การศึกษาเพิ่มเติมในสัตว์ทดลองพบว่าภูมิคุ้มกันทางเซลล์ต่อ gp350 ก็มีความสำคัญต่อการป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อ EBV ด้วย [24, 40-41] ดังนั้นการพัฒนาวัคซีนเพื่อให้เกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางเซลล์นอกเหนือจากการกระตุ้นทางแอนติบอดีจึงเป็นอีกประเด็นหนึ่งที่สำคัญที่ต้องการการศึกษาเพิ่มเติมในปัจจุบัน

5.2 กลุ่มแอนติเจนที่แอบแฝงต่าง ๆ ของ EBV

โดยเฉพาะแอนติเจนที่แสดงออกในเซลล์มะเร็งโดยมุ่งเน้นที่จะกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางเซลล์ให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นจนเพียงพอที่จะกำจัดเซลล์มะเร็งได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากแอนติเจนเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็น oncogene ที่สามารถชักนำให้เกิดโรคมะเร็งได้จึงไม่สมควรที่จะนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของวัคซีน การนำแอนติเจนเหล่านี้มาประยุกต์ใช้เป็นวัคซีนในปัจจุบันทำได้โดยใช้แค่ส่วนย่อยของโปรตีนหรือเปปไทด์ที่สามารถจับกับ HLA โมเลกุลและถูกรับรู้ด้วยทีลิมโฟไซท์ได้ หรือที่นิยมเรียกกันว่าส่วน T cell epitope เพราะส่วนย่อยๆ เหล่านี้ไม่มีคุณสมบัติเป็น oncogene อีกต่อไป ในปัจจุบันมียุทธวิธีหลายประการที่นำมาใช้เพื่อค้นหาส่วนที่เป็น T cell epitope จาก EBV แอนติเจนต่าง ๆ ซึ่งอาจนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของวัคซีนได้ [24, 43] ข้อจำกัดหนึ่งของวัคซีนชนิดนี้มาจากความรู้พื้นฐานที่ว่าเปปไทด์จะต้องถูกนำเสนอบน HLA โมเลกุลที่มีความจำเพาะบางชนิดเท่านั้น และ HLA โมเลกุลก็มีความหลากหลายมากในประชากร ดังนั้นหลักการที่สำคัญของการพัฒนาวัคซีนที่เป็นเปปไทด์ที่จะเป็นประโยชน์ต่อประชากรคือการรวบรวมให้มีเปปไทด์ที่สามารถจับกับ HLA ที่มีทุกชนิดในประชากรซึ่งดูเหมือนจะเป็นวิธีที่เป็นไปได้ยาก อย่างไรก็ตามการศึกษารูปแบบการจับของเปปไทด์กับ HLA โมเลกุลชนิดต่าง ๆ พบว่าสามารถจัดรูปแบบการจับระหว่างเปปไทด์กับ HLA โมเลกุลเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้เพียงไม่กี่กลุ่ม โดยในแต่ละกลุ่มประกอบไปด้วย HLA หลายชนิดที่มีรูปแบบการจับกับเปปไทด์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่นักวิทยาศาสตร์จะสามารถรวบรวมเปปไทด์จากแต่ละกลุ่มเพื่อใช้ในการผลิตวัคซีนต่อไป ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างของ T cell epitope จาก EBV แอนติเจนที่ทราบในปัจจุบันพร้อมรายละเอียดของความจำเพาะต่อ HLA โมเลกุลของเปปไทด์แต่ละชนิด [9,43-54] ซึ่งขณะนี้ยังอยู่ในช่วงดำเนินการเพื่อทดลองใน Clinical trial ต่อไป

อย่างไรก็ตามนักวิทยาศาสตร์ก็ยังคงต้องค้นหากลยุทธที่จะพัฒนาวัคซีนเหล่านี้ให้สามารถใช้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพในผู้ป่วยได้จริง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพื่อเอาชนะกลไกการหลบหลีกจากภาวะภูมิคุ้มกันของเซลล์มะเร็งให้ได้ ตัวอย่างเช่นถ้าเซลล์มะเร็งไม่มีการแสดงออกของ HLA โมเลกุล ทีลิมโฟไซท์ที่ถูกกระตุ้นหลังจากได้รับวัคซีนก็จะไม่สามารถทำลายเซลล์นั้นได้เนื่องจากไม่สามารถรับรู้ EBV แอนติเจนบนเซลล์นั้นได้ ประเด็นนี้เป็นปัญหาสำคัญในโรค Burkitt's lymphoma ที่อาจจะต้องอาศัยวิธีที่จะกระตุ้นการทำงานของเซลล์ทางภูมิคุ้มกันอื่น ๆ เช่น NK เซลล์มาทำลายเซลล์มะเร็งแทน เนื่องจาก NK เซลล์จะสามารถทำลายเซลล์ที่ไม่มี HLA โมเลกุลได้ดี หรืออาจพัฒนาวิธีที่

จะสามารถเพิ่มการแสดงออกของ HLA โมเลกุลภายในเซลล์เหล่านี้ให้ได้ เช่นการใช้ไซโตไคน์ต่าง ๆ เป็นต้น

6. สรุป

โดยสรุปความรู้และเทคโนโลยีในปัจจุบันทำให้การพัฒนาวัคซีนต่อเชื้อ EBV มีความก้าวหน้าไปมาก อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเรายังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมอีกก่อนที่จะสามารถนำวัคซีนเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ได้จริง ความเข้าใจมากขึ้นเกี่ยวกับภาวะภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อ EBV โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยมะเร็งมีความสำคัญมาก เพื่อนำความรู้เหล่านี้มาประยุกต์ใช้ในการรักษา และป้องกันโรคต่อไป

ตารางที่ 2. ตัวอย่าง T cell epitope ของ EBV แอนติเจนที่ทราบในปัจจุบัน [9,43-54]

EBV แอนติเจน	ลำดับกรดอะมิโนในแต่ละ epitope	ความจำเพาะต่อ HLA โมเลกุล	EBV แอนติเจน	ลำดับกรดอะมิโนในแต่ละ epitope	ความจำเพาะต่อ HLA โมเลกุล
LMP1	YLLEMLWRL	HLA A2		VPAPAGPIV	HLA B7
	YLQQNWWTL	HLA A2		SVRDRLARL	HLA A2
	LLVDLLWLL	HLA A2		RLRAEAQVK	HLA A3
	TLLVDLLWL	HLA A2	EBNA4	HRCQAIRKK	HLA B27
LMP2	PYLFWLAAI	HLA A23		TYSAGIVQI	HLA A24
	IEDPPFNSL	HLA B60		RRARSLSAERY	HLA B27
	RRRWRRLTV	HLA B27		AVFDRKSDAK	HLA A11
	LLWTLVVLL	HLA A2		IVTDFSVIK	HLA A11
	SSCSSCPLSKI	HLA A11		AVLLHEESM	HLA B35
	TYGPVFMCL	HLA A24		VEITPYKPTW	HLA B44
	CLGGLLTMV	HLA A2		GQGGSPTAM	HLA B62
	VMSNTLLSAW	HLA A25	EBNA6	EGGVGWRHW	HLA B44
	LTAGFLIFL	HLA A2		QNGALAINTF	HLA B62
EBNA2	TVFYNIPPMPL	HLA DR11		LRGKWQRRYR	HLA B27
	DTPLIPLTIF	HLA B51/A2		RRIYDLIEL	HLA B27
EBNA3	QAKWRLQTL	HLA B8		HHIWQNLL	HLA B39
	AYSSWMYSY	HLA A30		EENLLDFVRF	HLA B44
	RYSIFFDY	HLA A24		LLDFVRFMGV	HLA A2
	FLRGRAYGL	HLA B8		KEHVIQNAF	HLA B44
	RPPIFIRRL	HLA B7		FRKAQIQGL	HLA B27
	LEKARGSTY	HLA B62		QPRAPIRPI	HLA B7
	YPLHEQHGM	HLA B35		LDFVRFMGV	HLA B37
	VFSDGRVAC	HLA A29	RK-BARF0	LLWAARPRL	HLA A2

อ้างอิง

1. Murray RJ, Young LS, Calender A, Gregory CD, Rowe M, Lenoir GM, Rickinson AB. Different patterns of Epstein-Barr virus gene expression and of cytotoxic T-cell recognition in B-cell lines infected with transforming (B95.8) or nontransforming (P3HR1) virus strains. J Virol 1988 Mar; 62 (3): 894 - 901
2. Young LS, Dawson CW, Clark D, Rupani H, Busson P, Tursz T, Johnson A, Rickinson AB. Epstein-Barr virus gene expression in nasopharyngeal carcinoma. J Gen Virol 1988 May; 69 (Pt5): 1051 - 65
3. Khanna R, Moss DJ, Burrows SR. Vaccine strategies against Epstein-Barr virus-associated diseases: lessons from studies on cytotoxic T-cell-mediated immune regulation. Immunol Rev 1999 Aug; 170: 49 - 64
4. Li QX, Young LS, Niedobitek G, Dawson CW, Birkenbach M, Wang F, Rickinson AB. Epstein-Barr virus infection and replication in a human epithelial cell system. Nature 1992 Mar 26; 356 (6367): 347 - 50
5. Yao QY, Czarnecka H, Rickinson AB. Spontaneous outgrowth of Epstein-Barr virus-positive B-cell lines from circulating human B cells of different buoyant densities. Int J Cancer 1991 Mar 10; 48 (2): 253 - 7
6. Rickinson AB, Kieff E. Epstein-Barr Virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, eds. Virology. 3rd ed. Philadelphia-New York: Lippincott-Raven publishers, 1996: 2397 - 446
7. Moss DJ, Rickinson AB, Pope JH. Long-term T-cell-mediated immunity to Epstein-Barr virus in man. I. Complete regression of virus-induced transformation in cultures of seropositive donor leukocytes. Int J Cancer 1978 Dec; 22 (6): 662 - 8
8. Moss DJ, Wallace LE, Rickinson AB, Epstein MA. Cytotoxic T cell recognition of Epstein-Barr virus-infected B cells. I. Specificity and HLA restriction of effector cells reactivated in vitro. Eur J Immunol 1981 Sep;11 (9): 686 - 93
9. Khanna R, Burrows SR, Moss DJ. Immune regulation in Epstein-Barr virus-associated diseases. Microbiol Rev 1995 Sep; 59 (3): 387 - 405
10. Rickinson AB, Moss DJ. Human cytotoxic T lymphocyte responses to Epstein-Barr virus infection. Annu Rev Immunol 1997;15:405 - 31
11. Khanna R, Bell S, Sherritt M, Galbraith A, Burrows SR, Rafter L, Clarke B, Slaughter R, Falk MC, Douglass J, Williams T, Elliott SL, Moss DJ. Activation and adoptive transfer of Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T cells in solid organ transplant patients with posttransplant lymphoproliferative disease. Proc Natl Acad Sci USA 1999 Aug 31; 96(18): 10391 - 6
12. Eliopoulos AG, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: LMP1 masquerades as an active receptor. Curr Biol 1998 Mar 12;8 (6): R196-R198
13. Magrath I The pathogenesis of Burkitt's lymphoma. Adv Cancer Res 1990; 55:133 - 270
14. Lenoir GM, Bornkamni GW. Burkitt's lymphoma, a human cancer model for the study of the multi-step development of cancer. Proposal for a new scenario. Adv Virol Oncol 1987; 6: 173 - 206
15. Pathmanathan R, Prasad U, Sadler R, Flynn K, Raab-Traub N. Clonal proliferations of cells infected with Epstein-Barr virus in preinvasive

lesions related to nasopharyngeal carcinoma. N Engl J Med 1995 Sep 14; 333(11): 693 - 8

16. Lam K, Crawford. Epstein-Barr virus and associated diseases. In: Cook GC, ed. Manson's Tropical Disease. London: WB Saunders, 1996: 686-99
17. Brooks L, Yao QY, Rickinson AB, Young LS. Epstein-Barr virus latent gene transcription in nasopharyngeal carcinoma cells: coexpression of EBNA1, LMP1, and LMP2 transcripts. J Virol 1992 May; 66 (5): 2689 - 97
18. Fries KL, Sculley TB, Webster-Cyriaque J, Rajadurai P, Sadler RH, Raab-Traub N. Identification of a novel protein encoded by the BamHI A region of the Epstein-Barr virus. J Virol 1997 Apr; 71 (4): 2765 - 71
19. Pallesen G, Hamilton-Dutoit SJ, Rowe M, Young LS Expression of Epstein – Barr virus latent gene products in tumor cells of Hodgkin's disease Lancet 1991 Feb; 337(8737): 320 - 2
20. Herbst H, Dallenbach F, Hummel M, Niedobitek G, Pilleri S, Nuller-Lantzsch N, Stein H. EBV latent membrane protein expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells. Proc. Natl Acad Sci USA 1991 Jun 1;88(11): 4766 - 70
21. Crawford DH, Thomas JA, Janossy G, Sweny O, Fernando UN, Moorhead JF, Thompson JH. Epstein-Barr virus nuclear antigen positive lymphoma after cyclosporin A treatment in patents with renal allograft. Lancet 1980 Jun 21; I(8182):1355 - 6
22. Thomas JA, Hotchin N, Allday MJ, Amlot P, Rose M, Yacoub M, Crawford DH. Immunohistology of Epstein - Barr virus associated antigens in B cell disorders from immunocompromised individuals. Transplantation 1990 May; 49(5): 944 - 53
23. Thorley-Lawson DA, Geilinger K. Monoclonal antibodies against the major glycoprotein (gp350-gp220) of EBV neutralize infectivity. Proc Natl Acad Sci USA 1980 Sep; 77(9): 5307 - 11
24. Khanna R, Sherritt M, Burrows SR. EBV structural antigens, gp350 and gp85, as targets for ex vivo virus- specific CTL during acute infectious mononucleosis: potential use of gp350/gp85 CTL epitopes for vaccine design. J Immunol 1999 Mar 1; 162(5): 3063 - 9
25. Rickinson AB, Moss DJ, Wallace LE, Rowe M, Misko IS, Epstein MA, Pope JH. Long-term T-cell-mediated immunity to Epstein-Barr virus. Cancer Res 1981 Nov; 41(11 Pt1): 4216 - 21
26. Rickinson AB, Moss DJ, Allen DJ, Wallace LE, Rowe M, Epstein MA. Reactivation of Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T cells by in vitro stimulation with the autologous lymphoblastoid cell line. Int J Cancer 1981 May 15; 27(5): 593 - 601
27. Moss DJ, Chan SH, Burrows SR, Chew TS, Kane RG, Staples JA, Kunaratnam N. Epstein-Barr virus specific T-cell response in nasopharyngeal carcinoma patients. Int J Cancer 1983 Sep 15; 32(3): 301 - 5
28. Lee SP, Chan ATC, Cheung ST. CTL control of EBV in NPC : EBV-specific CTL responses in the blood and tumors of NPC patients and the antigen-processing function of the tumor cells. J Immunol 2000 Apr; 165: 573 - 82
29. de Campos-Lima PO, Gavioli R, Zhang QJ, Wallace LE, Dolcetti R, Rowe M, Rickinson AB, Masucci MG. HLA-A11 epitope loss isolates

of Epstein-Barr virus from a highly A11+ population. Science 1993 Apr 2; 260(5104): 98-100

30. Habeshaw G, Yao QY, Bell AI, Morton D, Rickinson AB. Epstein-barr virus nuclear antigen 1 sequences in endemic and sporadic Burkitt's lymphoma reflect virus strains prevalent in different geographic areas. J Virol 1999 Feb; 73(2): 965 - 75
31. Levitskaya J, Coram M, Levitsky V, Imreh S, Steigerwald-Mullen PM, Klein G, Kurilla MG, Masucci MG. Inhibition of antigen processing by the internal repeat region of the Epstein-Barr virus nuclear antigen -1. Nature 1995 Jun 22; 375(6533): 685 - 8
32. Khanna R, Slade RW, Poulsen L, Moss DJ, Burrows SR, Nicholls J, Burrows JM. Evolutionary dynamics of genetic variation in Epstein-Barr virus isolates of diverse geographical origins: evidence for immune pressure- independent genetic drift.J Virol 1997 Nov; 71(11): 8340 - 6
33. Hu LF, Zabarovsky ER, Chen F, Cao SL,Ernberg I, Klein G, Winberg G. Isolation and sequencing of the Epstein-Barr virus BNLF-1 gene (LMP1) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. J Gen Virol 1991 Oct; 72(Pt10): 2399 - 409
34. Abdel-Hamid M, Chen JJ, Constantine N, Massoud M, Raab-Traub N. EBV strain variation: geographical distribution and relation to disease state. Virology 1992 Sep; 190(1): 168-75
35. Chang YS, Su IJ, Chung PJ, Shu CH, Ng CK, Wu SJ, Liu ST. Detection of an Epstein-Barr-virus variant in T-cell-lymphoma tissues identical to the distinct strain observed in nasopharyngeal carcinoma in the Taiwanese population. Int J Cancer 1995 Sep 15; 62(6): 673 - 7
36. Khanim F, Yao QY, Niedobitek G, Sihota S, Rickinson AB, Young LS. Analysis of Epstein-Barr virus gene polymorphisms in normal donors and in virus-associated tumors from different geographic locations. Blood 1996 Nov 1; 88(9): 3491 - 501
37. Sung NS, Edwards RH, Seillier-Moiseiwitsch F, Perkins AG, Zeng Y, Raab-Traub N. Epstein-Barr virus strain variation in nasopharyngeal carcinoma from the endemic and non-endemic regions of China. Int J Cancer 1998 Apr 13;76 (2): 207 - 15
38. Chiang AK, Wong KY, Liang AC, Srivastava G. Comparative analysis of Epstein-Barr virus gene polymorphisms in nasal T/NK-cell lymphomas and normal nasal tissues: implications on virus strain selection in malignancy. Int J Cancer 1999 Jan; 80(3): 356 - 64
39. Trivedi P, Hu LF, Chen F, Christensson B, Masucci MG, Klein G, Winberg G. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded membrane protein LMP1 from a nasopharyngeal carcinoma is non-immunogenic in a murine model system, in contrast to a B cell-derived homologue. Eur J Cancer 1994; 30A(1): 84 - 8
40. Morgan AJ, Finerty S, Lovgren F, Scullion T, Morein B Prevention of EBV-induced lymphoma in cottontop tamarins by vaccination with the EB virus envelop glycoprotein gp340 incorporated into immunostimulating complexes. J Gen Virol 1988 Aug; 69 (Pt8): 2093 - 6
41. Morgan AJ, Mackett M, Finerty S, Arrand JR,

Scullion FT, Epstein MA Recombinant vaccinia virus expressing EBV glycoprotein gp340 protects cottontop tamarins against EBV-induced malignant lymphomas J Med Virol 1988 Jun; 25 (2): 189 - 95

42. Gu SY, et al. First EBV vaccine trial in humans using recombinant vaccinia virus expressing the major membrane antigen. Dev Biol Stand 1995; 84: 171 - 7

43. Khanna R, Burrows SR, Kurilla MG, Jacob CA, Misko IS, Sculley TB, Kieff E, Moss DJ. Localization of Epstein-Barr virus cytotoxic T cell epitopes using recombinant vaccinia: implications for vaccine development. J Exp Med 1992 Jul 1; 176(1): 169 - 76

44. Brooks JM, Murray RJ, Thomas WA, Kurilla MG, Rickinson AB. Different HLA-B27 subtypes present the same immunodominant Epstein-Barr virus peptide. J Exp Med 1993 Sep 1; 178(3): 879 - 87

45. Burrows SR, Gardner J, Khanna R, Steward T, Moss DJ, Rodda S, Suhrbier A. Five new cytotoxic T cell epitopes identified within Epstein-Barr virus nuclear antigen 3. J Gen Virol 1994 Sep; 75 (Pt9): 2489 - 93

46. Khanna R, Burrows SR, Nicholls J, Poulsen LM. Identification of cytotoxic T cell epitopes within Epstein-Barr virus (EBV) oncogene latent membrane protein 1 (LMP1): evidence for HLA A2 supertype-restricted immune recognition of EBV-infected cells by LMP1- specific cytotoxic T lymphocytes. Eur J Immunol 1998 Feb; 28(2): 451 - 8

47. Lee SP, Thomas WA, Murray RJ, Khanim F, Kaur S, Young LS, Rowe M, Kurilla M, Rickinson AB. HLA A2. 1-restricted cytotoxic T cells recognizing a range of Epstein- Barr virus isolates through a defined epitope in latent membrane protein LMP2. J Virol 1993 Dec; 67(12): 7428 - 35

48. Lee SP, Tierney RJ, Thomas WA, Brooks JM, Rickinson AB. Conserved CTL epitopes within EBV latent membrane protein 2: a potential target for CTL-based tumor therapy. J Immunol 1997 Apr 1; 158 (7): 3325 - 34

49. Hill A, Worth A, Elliott T, Rowland-Jones S, Brooks J, Rickinson A, McMichael A. Characterization of two Epstein-Barr virus epitopes restricted by HLA- B7. Eur J Immunol 1995 Jan; 25 (1): 18 - 24

50. Kienzle N, Sculley TB, Poulsen L, Buck M, Cross S, Raab-Traub N, Khanna R. Identification of a cytotoxic T-lymphocytes response to the novel BARF0 protein of Epstein-Barr virus: a critical role for antigen expression. J Virol 1998 Aug; 72(8): 6614 - 20

51. Murray RJ, Kurilla MG, Brooks JM, Thomas WA, Rowe M, Kieff E, Rickinson AB. Identification of target antigens for the human cytotoxic T cell response to Epstein-Barr virus (EBV): implications for the immune control of EBV-positive malignancies. J Exp Med 1992 Jul 1; 176(1): 157 - 68

52. Burrows SR, Misko IS, Sculley TB, Schnidt C, Moss DJ. An Epstein-Barr virus specific cytotoxic T cell epitope present on A- and B-type transformants. J Virol 1990 Aug; 64(8): 3974 - 6

53. Murray RJ, Kurilla MG, Brooks JM, Thomas WA, Rowe M, Kieff E. Identification of target

antigens for the human cytotoxic T cell response to Epstein-Barr virus: Implications for the immune control of EBV-positive malignancies. J Exp Med 1992 Jul 1;176 (1): 157-68

54. Khanna R, Burrows SR, Neisig A, Neefjes J, Moss DJ, Silins SL. Hierarchy of Eptein-Barr virus specific cytotoxic T-cell responses in individuals carrying different subtypes of an HLA allele: implinations for epitope-based antiviral vaccines. J Virol 1997 Oct; 71(10): 7429-35

กิจกรรมการศึกษาต่อเนื่องสำหรับแพทย์

ท่านสามารถได้รับการรับรองกิจกรรมการศึกษาต่อเนื่องสำหรับแพทย์ประเภทที่ 3 (ศึกษาด้วยตนเอง) ได้ จากการอ่านบทความเรื่อง "**การพัฒนาวัคซีนเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัส** Epstein - Barr" โดยตอบคำถามข้างล่างนี้ พร้อมกับส่งคำตอบที่ท่านคิดว่าถูกต้องโดยใช้แบบฟอร์มคำตอบท้ายคำถามแล้วใส่ซองพร้อมซองเปล่าติดแสตมป์จ่าหน้าซองถึงตัวท่าน ส่งถึง

ศ. นพ. สุทธิพร จิตต์มิตรภาพ
บรรณาธิการจุฬาลงกรณ์เวชสาร
และประธานคณะกรรมการการศึกษาต่อเนื่อง
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หน่วยจุฬาลงกรณ์เวชสาร
ตึกอบรมวิชาการ ชั้นล่าง
เขตปทุมวัน กทม. 10330

ท่านจะได้รับเฉลยคำตอบพร้อมหนังสือรับรองกิจกรรมการศึกษาต่อเนื่อง

คำถาม - คำตอบ

1. ข้อใดต่อไปนี้<u>ไม่ใช่</u>โรคที่มีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ EBV
   ก. NPC ข. PTLD ค. BL ง. HD จ. HIV
2. ข้อความใดต่อไปนี้<u>ถูกต้อง</u>
   ก. EBV สามารถแบ่งตัวและถูกปล่อยออกมาจากบีลิมโฟไซท์ได้ตลอดเวลา
   ข. EBV ที่ติดเชื้อแบบแอบแฝงใน epithelial cell บริเวณโพรงจมูกจะมีการแสดงออกของ EBV แอนติเจนทุกชนิดที่เรียกว่า รูปแบบ latency III
   ค. EBV แอนติเจนที่แสดงออกในโรค PTLD มีลักษณะคล้ายคลึงกับใน B-LCL
   ง. ในเซลล์มะเร็งชนิด Burkitt's lymphoma มีการแสดงออกของ EBV แอนติเจนเพียงแค่ชนิดเดียวนั่นคือ EBNA3
   จ. การติดเชื้อครั้งแรกของเชื้อ EBV ส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่บริเวณโพรงหลังจมูก

✂.....

คำตอบ สำหรับบทความเรื่อง "**การพัฒนาวัคซีนเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัส** Epstein - Barr" จุฬาลงกรณ์เวชสาร ปีที่ 45 ฉบับที่ 1 เดือน มกราคม พ.ศ. 2544

1. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
2. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
3. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
4. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
5. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)

3. ข้อใดต่อไปนี้<u>ผิด</u>เกี่ยวกับภาวะภูมิคุ้มกันในโรคติดเชื้อ EBV

ก. ระดับแอนติบอดีต่อส่วน gp350 ในการติดเชื้อตามธรรมชาติมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะป้องกันการติดเชื้อครั้งแรกได้

ข. Anti – VCA และ Anti – EA แอนติบอดีเป็น Neutralizing antibody ที่สำคัญ

ค. สามารถตรวจพบ Cytotoxic T lymphocyte หรือ CTL ต่อ EBV แอนติเจน ชนิดแอบแฝงได้จำนวนมากในกลุ่ม healthy carrier

ง. สามารถตรวจพบ CTL ต่อ EBV แอนติเจนชนิดแอบแฝงได้จำนวนหนึ่งในผู้ป่วยมะเร็ง ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ EBV ทั้งในกระแสโลหิตและในบริเวณก้อนมะเร็ง

จ. CD4 + หรือ Helper T cell มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการติดเชื้อ EBV โดยจะช่วยทั้งขบวนการสร้างแอนติบอดีและการทำงานของ CTL

4. ข้อใดเป็นอุปสรรคของการพัฒนาวัคซีนต่อ EBV

ก. การขาดการแสดงออกของ HLA โมเลกุลในเซลล์มะเร็ง Burkitt's lymphoma

ข. การลดจำนวนแอนติเจนของ EBV ในเซลล์มะเร็งโพรงหลังจมูก

ค. การขาดความสามารถที่จะถูกย่อยสลายของ EBNA1 แอนติเจน

ง. การเกิดการติดเชื้อครั้งแรกอย่างรวดเร็วในเด็กที่อาศัยอยู่ใน endemic area

จ. ถูกทุกข้อ

5. ข้อใดต่อไปนี้เป็นแอนติเจนที่อาจนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของวัคซีนต่อ EBV ได้ดี <u>ยกเว้น</u>

ก. gp350

ข. EBNA1

ค. LMP1

ง. LMP2

จ. EBNA3

ท่านที่ประสงค์จะได้รับเครดิตการศึกษาต่อเนื่อง (CME credit) กรุณาส่งคำตอบ

ศาสตราจารย์นายแพทย์สุทธิพร จิตต์มิตรภาพ
ประธานคณะกรรมการการศึกษาต่อเนื่อง
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หน่วยจุฬาลงกรณ์เวชสาร
ตึกอบรมวิชาการ ชั้นล่าง
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เขตปทุมวัน กทม. 10330