

จดหมายเหตุของเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีชนิดจำเพาะในกระแสเลือดหลังจากได้รับวัคซีน

## ป้องกันโรคอุจจาระร่วงอย่างแรงชนิดกิน

นางสาวศรีนวล สมรูป

วท. ม. (ชีวเวชศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ศ. ดร. วันเพ็ญ ชัยคำภา, รศ. ดร. ประมวญ เทพชัยศรี,

ดร. ผ่องศรี ทองทวี, ผศ. ดร. อุไร ชัยศรี

### บทคัดย่อ

ได้ศึกษาจดหมายเหตุของเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีจำเพาะในกระแสเลือดของหนูแรทสายพันธุ์ วิสตาร์ อายุ 8 สัปดาห์ ซึ่งถูกกระตุ้นโดยวัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงอย่างแรง (อหิวาห์) ชนิดกิน ซึ่งประกอบด้วยแอนติเจนสามชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio cholerae* คือ ลิโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide [LPS]) ที่ซีพีเอทีผลิตโดยวิธีทางพันธุวิศวกรรม (recombinant toxin-coregulated pili A [TcpA]) และสารพิษคอเลอร่าที่ถูกทำให้พิษลดลงด้วยความร้อน (heat-treated-cholera toxin [H-CT]) โดยแอนติเจนทั้งสามชนิดอยู่ภายในลิโปโซม (liposome) และผสมวัคซีนในลิโปโซมกับสารช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (adjuvant) คือ ซีพีจีดีเอ็นเอของแบคทีเรียที่ไม่ถูกเติมหมู่เมทิล (unmethylated bacterial CpG DNA [ODN#1826]) การศึกษาจดหมายเหตุดังกล่าวใช้วิธีเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนสปอต (enzyme linked-immunospot [ELISPOT]) และนอกจากนี้ยังตรวจระดับแอนติบอดีต่อแอนติเจนทั้งสามชนิดและแอนติบอดีที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียแตก (bacteriocidal/vibriocidal assay) ในน้ำเหลือง (serum antibody assays) ของหนูแรทที่ได้รับวัคซีน โดยหนูแรทได้รับการป้อนวัคซีนครั้งแรก (primed) และถูกกระตุ้นซ้ำอีกครั้ง (boosted) ในระยะเวลาห่างจากครั้งแรก 14 วัน หนูกลุ่มควบคุมได้รับสาร โซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 5% ซึ่งใช้เป็นน้ำยาละลายวัคซีนแทนวัคซีน ในวันที่ 2, 3, 4, 5, 6, 13 และ 21 หลังจากได้รับการกระตุ้นซ้ำด้วยวัคซีน (โดสที่สอง) ได้ตรวจสอบและนับจำนวนเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีจำเพาะต่อแอนติเจนทั้งสามชนิดในกระแสเลือดโดยวิธีเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนสปอต และตรวจวัดระดับของแอนติบอดีชนิดจำเพาะในน้ำเหลืองโดยวิธีอีไลซาและวิธีไวรัสไลซาล

จำนวนเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีจำเพาะต่อแอนติเจนทั้งสามชนิดในกระแสเลือดถูกตรวจพบภายใน 2 วันหลังจากหนูได้รับการกระตุ้นซ้ำด้วยวัคซีน โดยเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีจำเพาะต่อลิโปโพลี

แซคคาไรด์และทีซีพีเอบพบจำนวนสูงสุดในวันที่ 3 หลังจากให้วัคซีน โคสที่สอง ขณะที่เซลล์จำเพาะต่อ สารพิษคอลลอยรา มีจำนวนในเลือดสูงที่สุดในวันที่ 4 หลังจากได้รับวัคซีน โคสที่สอง หลังจากนั้น จำนวนเซลล์เฉพาะต่อแอนติเจนทั้งสามชนิดได้ลดลงอย่างเห็นได้ชัดและไม่สามารถตรวจพบได้อีกเลย ในวันที่ 13 หลังจากได้รับวัคซีน โคสที่สองและต่อจากนั้น (ช่วงเวลาระหว่างวันที่ 6 ถึง 13 ไม่ได้ทำ การศึกษา) ส่วนจำนวนเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีจำเพาะต่อแอนติเจนในลำไส้เล็กบริเวณ ลามินา โพรเพรีย (lamina propria) นั้นเป็นสัดส่วนผกผันกับจำนวนเซลล์ในกระแสเลือด โดยพบเซลล์ จำนวนหนึ่งสร้างแอนติบอดีชนิดจำเพาะต่อแอนติเจนทั้งสามชนิดในวันที่ 3 หลังจากได้รับการ กระตุ้นด้วยวัคซีน โคสที่สอง หลังจากนั้นจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และสูงสุดในวันที่ 14

วัคซีนชนิดกินที่อยู่ภายในลิโพอโซมและผสมซีพีจีดีเอ็นเอที่ไม่มีหมู่เมทิลสามารถกระตุ้นให้หนู แรทคอบสนองด้วยระบบภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดเพียง 52.4%, 14% และ 19% ต่อสารพิษคอลลอยรา ต่อลิโปโพลีแซคคาไรด์ และต่อทีซีพีเอบ ตามลำดับ และมีไวรัสโอโซดาลแอนติบอดีในน้ำเหลืองเพียง 57.1% ของหนูแรทที่ได้รับวัคซีน ในขณะที่หนูแรททุกตัวที่ได้รับวัคซีนมีการตอบสนองของระบบ ภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนในเนื้อเยื่อที่ลำไส้ โดยมีเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนทั้งสามชนิดเป็น จำนวนมาก

ข้อมูลทางจุลพยาธิศาสตร์ของเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีชนิดจำเพาะนี้สามารถใช้เป็นดัชนีของการ ตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลองที่เคยได้รับเชื้อไวรัส โอ คอลลอยราแล้ว (primed- animals) ซึ่งเป็นสภาวะจำลองให้เหมือนธรรมชาติของประชากรในพื้นที่ระบาดของ โรคอหิวาห์ โดย การศึกษานี้เป็นการให้ข้อมูลเกี่ยวกับระยะเวลาที่ระบบภูมิคุ้มกันจะตอบสนองและพร้อมที่จะป้องกัน ร่างกายหลังจากได้รับวัคซีนชนิดนี้