

บทปริทัศน์

กลไกการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการนำส่งวัคซีนผ่านเยื่อเมือกจมูก

อมลณี ฐิติ์ ตันศิริคงค

บทคัดย่อ

การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันผ่านเยื่อเมือกจมูกเป็นทางเลือกหนึ่งของการให้วัคซีนแบบไม่ต้องฉีดเข้าสู่ร่างกาย เพื่อเพิ่มความสนใจในการรับวัคซีนและเพื่อหลีกเลี่ยงฤทธิ์ไม่พึงประสงค์จากการให้วัคซีนโดยการฉีด นอกจากนี้ การให้วัคซีนทางเยื่อเมือกจมูกสามารถก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันได้ทั้งบริเวณเยื่อเมือกและทั่วร่างกาย นับเป็นข้อดีของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันผ่านเยื่อเมือกจมูก อย่างไรก็ตามระบบภูมิคุ้มกันเยื่อเมือกบริเวณจมูกเป็นระบบที่มีความซับซ้อน ดังนั้น การพัฒนาวัคซีนเพื่อให้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางเยื่อเมือกจมูกได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงเป็นหัวข้อที่น่าสนใจในการศึกษาเพื่อใช้เป็นทางเลือกของการให้วัคซีนที่นอกเหนือจากการฉีดต่อไป บทความนี้ได้กล่าวถึงระบบภูมิคุ้มกันเยื่อเมือก การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันผ่านเยื่อเมือกและเส้นทางการนำส่งวัคซีนผ่านเยื่อเมือกจมูก รวมทั้งได้มีการเชื่อมโยงอุปสรรคทางสรีรวิทยาบริเวณเยื่อเมือกที่มีผลต่อประสิทธิภาพการดูดซึมของวัคซีนเข้ากับระบบการนำส่งวัคซีนด้วยเทคโนโลยีทางเภสัชกรรมที่เหมาะสมเพื่อเอาชนะอุปสรรคดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีเภสัชกรรมการนำส่งวัคซีนด้วยอนุภาคขนาดไมโคร/นาโน และสารช่วยยึดเกาะเยื่อเมือกอีกด้วย

คำสำคัญ: ระบบภูมิคุ้มกันเยื่อเมือกจมูก, การนำส่งวัคซีนผ่านเยื่อเมือกจมูก, อนุภาคไมโคร/นาโน, เส้นทางการนำส่งวัคซีนผ่านเยื่อเมือกจมูก

วันที่รับบทความ: ๑๑ มกราคม ๒๕๕๖

วันที่อนุญาตให้ตีพิมพ์: ๑๑ กันยายน ๒๕๕๖

๑. บทนำ

พื้นผิวของเยื่อเมือก เช่น เยื่อเมือกในระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และระบบสืบพันธุ์ เป็นบริเวณเปิดของร่างกายที่จุลชีพต่างๆ สามารถเข้าสู่ร่างกายได้โดยง่าย ดังนั้นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันอย่างเหมาะสมโดยการให้วัคซีนผ่านทางเยื่อเมือก เพื่อทำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่เยื่อเมือกเอง (mucosal immune response) จึงเป็นการป้องกันพื้นผิวเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพจากการรุกรานของจุลชีพ และเป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีนชนิดไม่ต้องฉีด (non-invasive vaccine) เช่น วัคซีนชนิดกิน และวัคซีนหยอดจมูก^{๑-๓}

นอกจากนี้ การให้วัคซีนผ่านทางเยื่อเมือกยังสามารถก่อภูมิคุ้มกันทั่วร่างกาย (systemic immune response) จึงทำให้วัคซีนชนิดไม่ต้องฉีดใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการก่อภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ อีกทั้งการให้วัคซีนผ่านเยื่อเมือก ยังเพิ่มความสนใจในการรับวัคซีนโดยเฉพาะในเด็ก รวมทั้งเป็นการหลีกเลี่ยงฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ ที่เกิดจากการให้วัคซีนชนิดฉีดอีกด้วย

๒. ระบบภูมิคุ้มกันเยื่อเมือก

๒.๑ กลไกการกระตุ้นภูมิคุ้มกันผ่านเยื่อเมือก

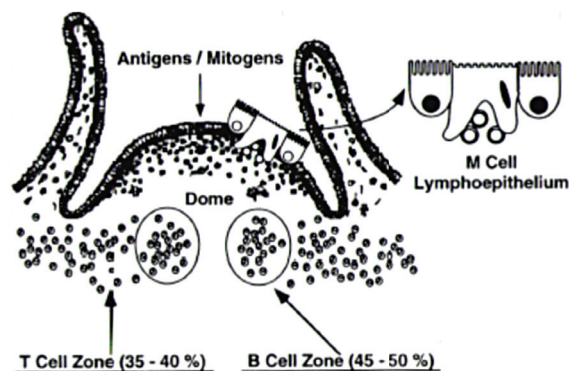
แอนติบอดี (antibody) เป็นโปรตีนที่สร้างและหลั่งจาก plasma cell เพื่อเกาะกับแอนติเจน (antigen) ที่อาจทำอันตรายต่อร่างกาย^{๔, ๕}

การได้รับแอนติเจนผ่านทางเยื่อเมือกสามารถกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันผลิตแอนติบอดีทั้งชนิดที่พบที่ผิวของเยื่อเมือกเอง (IgA) และชนิดที่พบในกระแสโลหิต (IgG)

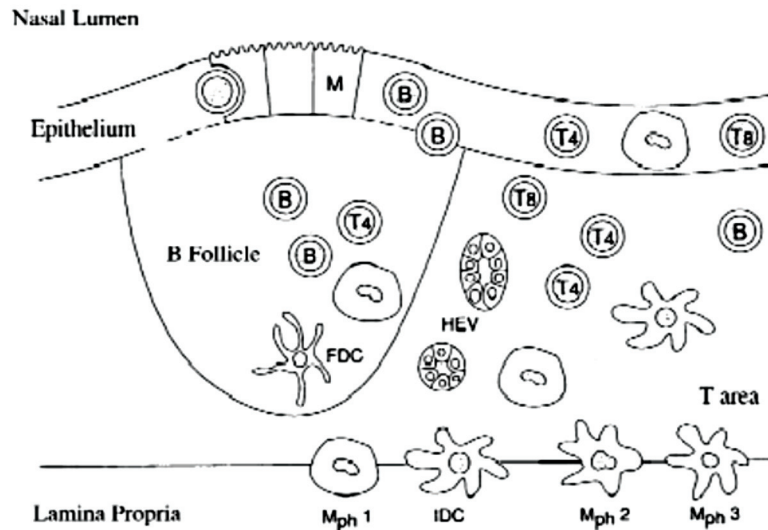
เนื่องจากบริเวณเยื่อเมือกมีเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลือง เรียกว่า mucosal associated lymphoid tissue (MALT) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิด adaptive immunity

แอนติบอดีที่ผิวของเยื่อเมือกและในระบบไหลเวียนโลหิต เกิดมาจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันผ่านเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลือง โดยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะเกิดจากการสัมผัสของวัคซีนหรือแอนติเจน กับเซลล์จำเพาะบริเวณ MALT ได้แก่ microfold cells หรือ M cells และ เซลล์น้ำเหลือง (lymphoid cells) หรือที่ถูกเรียกว่า mucosal associated lymphoid cells ซึ่งรวมตัวกันอยู่เป็นกลุ่ม เรียกว่า follicles^{๖, ๗}

เซลล์น้ำเหลืองสามารถถูกพบได้บริเวณเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลืองต่างๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณเยื่อเมือกในระบบทางเดินหายใจ ส่วนบนหรือบริเวณจมูก (nasal associated lymphoid tissues, NALT) และเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณเยื่อเมือกในระบบทางเดินอาหารหรือบริเวณลำไส้ (gastrointestinal associated lymphoid tissues, GALT)^{๖, ๗} โดยเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณลำไส้ หรือ GALT ซึ่งแทรกอยู่ระหว่าง villi ของลำไส้จะประกอบไปด้วย Peyer's patch หรือกลุ่มของเซลล์น้ำเหลืองที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นรูปโดม ดังแสดงไว้ในรูปที่ ๑ นอกจากนี้ มีเนื้อเยื่อน้ำเหลืองอื่นๆ ของทางเดินอาหาร ได้แก่ ลำไส้ตั้งและต่อมน้ำเหลืองเดี่ยว (solitary lymph node) ส่วนเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณจมูก หรือ NALT ประกอบด้วย กลุ่มของเซลล์น้ำเหลืองดังแสดงไว้ในรูปที่ ๒ รวมตัวกันเป็นกลุ่มของเนื้อเยื่อของเซลล์น้ำเหลือง หรือ follicles นอกจากนี้ มีเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณทางเดินหายใจอื่นๆ ได้แก่ palatine tonsils, adenoids และ lingual tonsils



รูปที่ ๑ แสดงเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณลำไส้หรือ GALT เรียงตัวในลักษณะเป็นโดมแทรกอยู่ระหว่าง villi ของลำไส้ ภายในมีเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ T cell, B cell, antigen presenting cell โดยที่วัคซีนหรือแอนติเจนจะถูกนำเข้าสู่ M cell โดยกระบวนการ endocytosis หรือ phagocytosis และมีการส่งผ่านแอนติเจนเข้าสู่ antigen presenting cell และเซลล์น้ำเหลืองเพื่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อไป^๘



รูปที่ ๒ แสดงเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณจมูกหรือ NALT โดยวัคซีนจะถูกนำเข้าสู่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองผ่าน M cell (B = B cell, T4 = CD4 positive T cell, T8 = CD8 positive T cell, Mph = macrophage ชนิดต่างๆ, IDC = interdigitating dendritic cell, FDC = follicular dendritic cell, HEV = high endothelial venule, M = microfold epithelial cell)^๔

บริเวณส่วนบนของพื้นผิวของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองซึ่งติดต่อกับบริเวณเปิดของร่างกาย จะมีเซลล์ที่มีลักษณะพิเศษเรียกว่า M cell (M cell เป็น specialized epithelial cell) ดังแสดงในรูปที่ ๓^๔ โดย M cell เหล่านี้มีหน้าที่นำส่งวัคซีนหรือแอนติเจน จากพื้นผิวของเยื่อเมือกเข้าไปสู่เซลล์น้ำเหลืองซึ่งอยู่ภายใต้พื้นผิวเยื่อเมือกต่างๆ ^{๒, ๔-๑๑}

กลุ่มของเซลล์น้ำเหลือง หรือ follicles ประกอบด้วยเซลล์น้ำเหลือง หรือเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (immunocomponent cells) รวมตัวกันเป็นกลุ่มอยู่เป็นจำนวนมากดังแสดงในรูปที่ ๓^๔ เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเหล่านี้ ได้แก่ เซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cells, APC) ตัวอย่างเช่น dendritic cells, macrophage และเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันอื่นๆ เช่น T cells และ B cells เป็นต้น^{๔, ๑๐, ๑๒}

เมื่อแอนติเจนถูกนำส่งโดยผ่าน M cells เข้าสู่ subepithelial region แอนติเจนจะถูกจับกินอย่างรวดเร็วโดย APC อันได้แก่ dendritic cells, sampling B cells, lymphocyte หรือ macrophage โดย APC ที่ตอบสนองส่วนใหญ่ ได้แก่ dendritic cells หลังจากนั้นแอนติเจนจะผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงแอนติเจน (antigen processing) ภายใน APC เพื่อนำเสนอส่วนของแอนติเจนผ่าน MHC class II ที่อยู่บนผิวของ APC เสนอสู่ T helper cells ซึ่งต่อมา APC จะหลั่ง cytokine เพื่อกระตุ้น T helper cells ให้เปลี่ยนแปลงเป็น activated T cells โดย activated T cells นี้ที่ผิวเซลล์จะแสดง

homing receptor ที่จำเพาะและสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ โดยการกระตุ้นจาก cytokine ซึ่งสามารถหลั่งจากตัว activated T cells เอง^{๑๓, ๑๐, ๑๒}

กลไกต่อไปคือ การที่ activated T cells ช่วยให้ B cells พัฒนาไปเป็น immunoglobulin committed B cells โดย B cells ที่อยู่ใน follicle จะจับกับ activated T cells โดย activated T cells จะหลั่ง cytokine ไปกระตุ้น B cells ให้เกิด isotype class switching เพื่อผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะและแสดง homing receptor ที่ผิวของ B cells โดยจะได้เป็น B cells ที่มีลักษณะจำเพาะ เรียกว่า immunoglobulin committed B cells (Ig cells) ซึ่ง Ig cells เหล่านี้ต่อมาจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ที่สามารถสร้างแอนติบอดี หรือเรียกว่า secretory immunoglobulin plasma cells ที่บริเวณเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลือง (lymphoid tissue) ต่างๆ ของร่างกายได้ เมื่อได้รับการกระตุ้นอีกครั้ง โดย T cells นอกจากนี้ Ig cells และ activated T cells บริเวณเนื้อเยื่อน้ำเหลืองสามารถเดินทางออกจาก follicles โดยผ่านระบบน้ำเหลืองและ mesenteric lymph node เข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตไปสู่บริเวณเนื้อเยื่อน้ำเหลืองอื่นๆ ของร่างกายและเยื่อเมือกน้ำเหลืองต่างๆ เพื่อสร้างภูมิคุ้มกันต่อไปได้อีกด้วย

Immunoglobulin isotype class switching ที่เกิดขึ้นเพื่อการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะ เป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับ B cells โดยกระบวนการเริ่มต้นจากการ mutation ของ

gene (somatic mutation) ซึ่งเป็น gene สำหรับ transcribe DNA ของแอนติบอดี^๒ เกิดโดยการถูกเหนี่ยวนำด้วย Enzyme activation-induced cytidine deaminase (AID) ที่นิวเคลียส^{๑๓, ๑๔} เกิดเมื่อ B cells ถูกกระตุ้นด้วย activated T cells หากกระบวนการนี้ทำให้เกิด B cells ที่มี affinity ดีขึ้นแล้ว B cells เหล่านี้ต่อมาจะจับกับ activated T cells บริเวณเนื้อเยื่อน้ำเหลืองอีกครั้ง และถูกกระตุ้นตามมาด้วย cytokine ที่หลั่งจาก T cells เช่น IL-5, IL-6 และ mediator ต่างๆ ที่ช่วยให้เกิด immunoglobulin class switching เพื่อการสร้างแอนติบอดีชนิด IgA เช่น mediator TGF- β ^{๑๕, ๑๖} การเกิด immunoglobulin class switching เพื่อการสร้างแอนติบอดีชนิด IgG สามารถเกิดได้ที่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองต่างๆ ของร่างกายเช่นเดียวกัน โดยกลไกการเกิด IgG class switching นี้ สามารถถูกเหนี่ยวนำด้วย chemokines ที่หลั่งจาก T cells โดยไม่จำเป็นต้องมี mediator อื่นๆ ช่วยดังเช่นการเกิด class switching ของ IgA เช่น mediator TGF- β เป็นต้น ดังนั้น secretory immunoglobulin plasma cells จึงสามารถหลั่งแอนติบอดีได้หลายชนิดตามกลไกดังกล่าวข้างต้น^{๑๖, ๒, ๖, ๑๐, ๑๒}

การกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เยื่อเมือกหนึ่ง (mucosal inductive site) จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกัน ที่เยื่อเมือกอื่นๆ (mucosal effector site) ของร่างกายได้ โดยกระบวนการที่เกิดขึ้น เรียกว่า “Common mucosal immune system” โดยการเดินทางของ Ig cells และ activated T cell จะถูกกำหนดโดย adhesion molecule หรือ homing receptor ที่แสดงที่ผิวของ Ig cells และ activated T cell เอง^{๑๗} โดย Ig cells และ activated T cell จากบริเวณเยื่อเมือกจะแสดง adhesion molecule $\alpha 4\beta 7$ และ chemokine receptor CCR9/10 ซึ่งสามารถจับกับ endothelial ligand ของผนังหลอดเลือดและจับกับ chemokine ที่หลั่งโดยเนื้อเยื่อหรือเยื่อเมือกหนึ่งๆ ของร่างกาย เช่น การจับกับ ligand ผนังหลอดเลือด MAdCAM-1 และ VCAM-1 ของ Ig cells เป็นต้น^{๑๘} ดังนั้นกลไกนี้ เหนี่ยวนำการเดินทางของ Ig cells จากเยื่อเมือกน้ำเหลืองหนึ่งไปสู่อีกเยื่อเมือกหนึ่งเพื่อก่อให้เกิดกลไกการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ ในขณะที่การกระตุ้นภูมิคุ้มกันเยื่อเมือก สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันร่างกายได้ โดย Ig cells ที่แสดง adhesion molecule $\alpha 4\beta 1$ และ chemokine receptor CXCR3/CCR4 จะเดินทางไปสู่บริเวณต่างๆ นอกเหนือจากเยื่อเมือกและไปสู่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองอื่นๆ ของร่างกายเพื่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อไป^{๑๙}

ดังนั้น ระบบภูมิคุ้มกันเยื่อเมือกมีข้อแตกต่างหลายประการจากระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย เนื่องจากเมื่อ

กระตุ้นภูมิคุ้มกันผ่านระบบเยื่อเมือกจะทำให้เกิดภูมิคุ้มกันเยื่อเมือก และภูมิคุ้มกันของร่างกาย ในขณะที่การกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการให้วัคซีนเข้าสู่ร่างกายด้วยการฉีดจะทำให้เกิดภูมิคุ้มกันของร่างกายเท่านั้น^{๒๐, ๑๗}

๒.๒ M cells บริเวณจมูกและ Nasal epithelial cells

M cells จะมีคุณสมบัติแตกต่างไปจากเซลล์เยื่อบุโพรงจมูก (nasal epithelial cells) ในหลายๆ ด้าน โดย M cells จะมีการจัดเรียงตัวของ brush border ที่หลวมและ villi บริเวณด้านบนของเซลล์มีปริมาณน้อย^{๒๑, ๑๘, ๑๙} ดังแสดงในรูปที่ ๓ นอกจากนี้ brush border enzyme เช่น alkaline phosphatase และ mucus มีปริมาณน้อยกว่าเซลล์เยื่อบุโพรงจมูกโดยทั่วไป^{๑๘, ๒๐} ยิ่งไปกว่านั้น รูปแบบการกระจายตัวของ $\alpha 5\beta 1$ integrin ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ช่วยในการยึดเกาะของเซลล์ยังแตกต่างกันระหว่าง M cells และเซลล์เยื่อบุโพรงจมูก โดยพบ $\alpha 5\beta 1$ integrin ที่ผิวด้านบนของ M cells (apical surface) เพื่อช่วยในการจับแอนติเจนหรืออนุภาคด้วยปัจจัยเหล่านี้ ทำให้ M cells มีความสามารถในการจับกินแอนติเจนหรืออนุภาคต่างๆ ได้ดีกว่าเซลล์เยื่อบุโพรงจมูก

เยื่อบุโพรงจมูกประกอบด้วยเซลล์และ epithelium หลายชนิดแตกต่างกันไปตามบริเวณต่างๆ โดยบริเวณ vestibular surface ปกคลุมด้วย stratified squamous epithelium ที่มีขนาดเส้นๆ วักรองอนุภาคขนาดใหญ่ที่มาับอากาศขณะหายใจ ในขณะที่ respiratory region จะถูกปกคลุมด้วย pseudostratified columnar epithelium และบริเวณ olfactory region จะประกอบด้วย columnar cells เรียงตัวกันเป็นแผ่นเล็กๆ แทรกด้วย smell receptor^{๒๑}

Pseudostratified columnar epithelium คือ เซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการดูดซึมยาของจมูกและเยื่อเมือก^{๒๒, ๒๓} ผิวด้านบนของเซลล์ ประกอบด้วย cilia กรณีเป็นเซลล์เยื่อบุโพรงจมูก และ villi กรณีเป็นเซลล์ระบบทางเดินอาหาร และพบโปรตีน villin ที่ผิวด้านบนของเซลล์ ส่วนผิวด้านข้างของเซลล์ (basolateral site) พบโมเลกุลยึดเกาะเซลล์ $\alpha 5\beta 1$ integrin^{๑๘, ๒๓} นอกจากนี้ ส่วนบนของ epithelium ถูกปกคลุมด้วยชั้น mucus ของ glycoproteins ที่ประกอบด้วย enzyme ชนิดต่างๆ^{๒๔}

ดังนั้น การนำส่งวัคซีนผ่านเยื่อเมือกจมูกที่มีประสิทธิภาพจะเป็นการนำส่งวัคซีนผ่านทาง M cells เนื่องจากมี physiological barriers ได้แก่ mucus, enzyme และ villi ที่น้อยกว่า นอกจากนี้ โมเลกุลยึดเกาะ $\alpha 5\beta 1$ integrin ยังพบบริเวณส่วนบนของ M cells ดังนั้นการนำส่งวัคซีนผ่านทาง

เกี่ยวข้องกับการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive agent) ในวัสดุป้องกันที่มีลักษณะเป็นชั้นของทรงกลม (micro/nanosphere) เพื่อปกป้องสารออกฤทธิ์จากการถูกย่อยสลายบริเวณเยื่อเมือก โดยอนุภาคทรงกลมนี้อาจมีขนาดตั้งแต่ < 1 ไมครอน (μm) ไปจนถึง ๓ มิลลิเมตร (mm)^{๓๐}

นอกจากนี้ หลายกลุ่มยังศึกษาผลของการเคลือบอนุภาคด้วยวัสดุเคลือบผิวที่ช่วยในการยึดเกาะเยื่อเมือก โดยศึกษาผลของประจุที่พื้นผิวของอนุภาค และคุณสมบัติความชอบหรือไม่ชอบน้ำของวัสดุเคลือบพื้นผิว โดยใช้วัสดุเคลือบผิวชนิดต่างๆ เช่น stearylamine และ polyethylenimine^{๓๑}, alum^{๓๒}, PEG^{๓๓}, carbopol และ pluronic^{๓๔} ในการศึกษาส่วนใหญ่พบว่า อนุภาคที่มีวัสดุเคลือบผิวที่มีคุณสมบัติช่วยในการยึดเกาะเยื่อเมือก เช่น วัสดุเคลือบผิวที่มีประจุบวก นั้นนอกจากจะช่วยในการยึดเกาะกับเซลล์แล้วยังสามารถช่วยปกป้องวัคซีนจากการถูกย่อยสลายบริเวณเยื่อเมือกโดยกักเก็บวัคซีนไว้ภายในอนุภาคอีกด้วย

ปัจจุบันวัคซีนสำหรับให้ทางเยื่อเมือกสามารถเป็นตัวเลือกทดแทนวัคซีนแบบเก่า เช่น วัคซีนชนิดฉีดได้ โดยการใช้อนุภาคที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการช่วยนำส่งวัคซีน โดยอนุภาคที่ใช้ขนส่งสามารถถูกเตรียมได้จากวัสดุหลายประเภท โดยทั่วไป ได้แก่ พอลิเมอร์ (polymer) และ ไขมัน (lipid)

๓.๑ อนุภาคผลิตจาก polymer ที่สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย

อนุภาคขนาดไมโครและนาโนที่ทำจาก polymer ที่สามารถถูกย่อยสลายได้ในร่างกาย นอกจากจะมีประสิทธิภาพสูงในการกักเก็บวัคซีนและสามารถปกป้องวัคซีนจากการถูกย่อยสลายบริเวณเยื่อเมือกแล้ว ข้อได้เปรียบของ polymer เหล่านี้คือ สามารถถูกย่อยสลายทางชีวภาพได้เองในร่างกาย

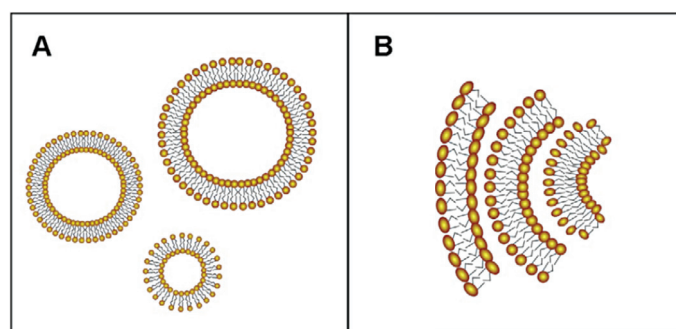
๓.๒ อนุภาคผลิตจากไขมัน

นอกจากนี้ อัตราการย่อยสลายของ polymer ยังสามารถถูกปรับแต่งเพื่อให้ปลดปล่อยแอนติเจนหรือวัคซีนในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเพื่อเพิ่มระยะเวลาการออกฤทธิ์ของวัคซีน ซึ่งจะช่วยลดความถี่ของการให้วัคซีนเพื่อสร้างภูมิคุ้มกันในระยะยาวได้อีกด้วย^{๓๕-๓๘}

Polymer ที่สามารถถูกย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradable polymer) หลายชนิดได้ถูกนำมาศึกษาเพื่อการเตรียมเป็นอนุภาคสำหรับนำส่งวัคซีน ซึ่ง poly (D, L-lactide-co-glycolide) หรือ PLGA เป็น biodegradable polymer ที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยวัคซีนภายในอนุภาค PLGA ได้โดยอาศัยองค์ประกอบและน้ำหนักโมเลกุลของ polymer ที่เป็นส่วนของประกอบของ PLGA ซึ่งมีอัตราการสลายตัวที่แตกต่างกัน^{๓๖, ๓๘, ๓๙} ปัจจุบัน PLGA ใช้เป็นโพลิเมอร์ที่สามารถสลายได้เองในร่างกายโดยจะสลายเป็น กรดแลคติกและกรดไกลโคลิก โดยการเกิด hydrolysis ของพันธะ ester^{๔๐, ๔๑, ๔๒} ดังนั้นจึงนิยมนำมาเตรียมเป็นอนุภาคนำส่งวัคซีน เนื่องจากสามารถถูกย่อยสลายได้ภายในร่างกายและอัตราการย่อยสลายสามารถถูกควบคุมได้

Jaganathan และ Vyas^{๔๐} แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของ PLGA ที่ถูกเตรียมเป็นอนุภาค microspheres ซึ่งกักเก็บวัคซีนไวรัสตับอักเสบบี ในการช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางเยื่อเมือก พบว่า อนุภาคที่กักเก็บวัคซีนสามารถเหนี่ยวนำให้ร่างกายผลิต secretory IgA และ IgG ได้ในระดับที่สูง

การศึกษาในสัตว์ทดลองชนิดต่างๆ พบว่า อนุภาค PLGA สามารถเป็นอนุภาคที่ใช้ในการนำส่งวัคซีนผ่านเยื่อเมือกได้อย่างมีประสิทธิภาพ สัตว์ทดลองที่ได้รับวัคซีนที่ถูกกักเก็บในอนุภาค PLGA สามารถสร้างภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันตนเองจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่มีชีวิตได้อีกด้วย^{๔๒, ๔๓}



รูปที่ ๔ โครงสร้างของ liposome ขนาดต่างๆ ทำจาก lipid bilayer (A) และ ลักษณะการเรียงตัวเป็นชั้นๆ ของผนัง liposome (B) โดย liposome สามารถเกิดเป็นแบบชั้นเดียว (unilamellar liposome) หรือหลายชั้น (multilamellar liposome) ได้ขึ้นอยู่กับวิธีการเตรียม^{๔๔}

อนุภาคไขมันสามารถใช้เป็นระบบนำส่งวัคซีนทางเยื่อเมือกได้เช่นเดียวกัน โดยสามารถเตรียมเป็นอนุภาคเพื่อกักเก็บวัคซีนและป้องกันวัคซีนจากการถูกทำลายโดย physiological barriers บริเวณเยื่อเมือก และสามารถเป็นระบบนำส่งวัคซีนได้อีกด้วย โดยอนุภาคมีการศึกษากันอย่างแพร่หลายคือ อนุภาคของไขมันที่ถูกเตรียมในลักษณะอนุภาคทรงกลมที่เรียกว่า liposome^{๔๔} liposome เป็นอนุภาคทรงกลมที่ทำมาจาก lipid bilayer มีลักษณะซ้อนกันเป็นชั้นๆ ของไขมัน ดังแสดงในรูปที่ ๔^{๔๕} โดย liposome สามารถใช้เป็นระบบนำส่งได้ทั้งสารที่ละลายได้ดีในน้ำ โดยจะอยู่ในโมเลกุลของไขมันส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic phase) เช่น ส่วนของ phospholipid head และสารที่ไม่ละลายน้ำ โดยจะอยู่ในโมเลกุลของไขมันส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic phase) เช่น ส่วนของ hydrocarbon tail เป็นต้น

Liposome ใช้เป็นระบบนำส่งวัคซีนที่ประสบความสำเร็จ โดยทั่วไปจะให้ร่วมกับ adjuvant เพื่อช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ตัวอย่างเช่น IL-12 ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันใน serum เมื่อให้ร่วมกับ liposome ที่บรรจุ recombinant glycoprotein ของ bovine herpes virus type-1^{๔๖} นอกจากนี้ ยังมี adjuvant อื่นที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น monophosphoryl lipid A หรือ cholera toxin B^{๔๗} ที่สามารถให้ร่วมกับ liposome หรือให้ร่วมกับอนุภาคที่เตรียมจาก polymer ได้ เป็นต้น

๓.๓ อนุภาคปรับแต่งพื้นผิวด้วยสารช่วยเกาะติดเยื่อเมือก (Mucoadhesive substance)

Mucoadhesion คือ การที่พื้นผิวสองพื้นผิว ซึ่งหนึ่งในนั้นคือ พื้นผิวเยื่อเมือก มาเกาะติดซึ่งกันและกัน วัสดุที่ใช้เป็นสารช่วยเกาะติดโดยมากจะเป็น hydrophilic macromolecules ที่มีกลุ่ม functional groups ที่สามารถเกิด hydrogen bond ได้อยู่เป็นจำนวนมาก^{๔๘} กลไกการเกิด mucoadhesion แบ่งเป็น ๒ ระยะ ได้แก่ ระยะสัมผัสของพื้นผิวหรือระยะดูดซับ และระยะการเกาะติดรวมตัว (เกิดการกระทำระหว่างกันของพื้นผิวทั้งสองทำให้เกิดการเกาะติดระหว่างพื้นผิว)^{๔๙} ความสำคัญของแต่ละระยะจะแตกต่างกันตามรูปแบบที่แตกต่างกันของระบบนำส่ง ตัวอย่างเช่น การดูดซับเป็นระยะสำคัญถ้ารูปแบบของระบบนำส่งไม่สามารถให้โดยตรงไปที่เยื่อเมือกเป้าหมาย และต้องการถูกดูดซับที่พื้นผิวของเยื่อเมือกเป้าหมาย ในขณะที่การเกาะติดรวมตัวเป็นระยะสำคัญหากรูปแบบของระบบนำส่งต้องเอาชนะแรงดึงเครียดต่างๆ เช่น mucociliary clearance เพื่อการปลดปล่อยวัคซีนที่ถูกกักเก็บภายใน ปัจจุบันสาร mucoadhesive ที่มีคุณสมบัติช่วยเกาะติด

เยื่อเมือกที่ดีได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มศักยภาพของการให้วัคซีนทางเยื่อเมือกและเพื่อเพิ่มการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเยื่อเมือกให้มีประสิทธิภาพ^{๕๐} โดยสารช่วยเกาะติดเยื่อเมือกสำหรับนำส่งวัคซีนที่น่าสนใจ ได้แก่ chitosan^{๕๑} และ alum^{๕๒}

Chitosan เป็น polymer แบบชอบน้ำ (hydrophilic polymer) ที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางในสัตว์ทดลองหลายชนิดว่า สามารถใช้เป็นสารช่วยกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของวัคซีน^{๕๐, ๕๓} คุณสมบัติ mucoadhesive ของ chitosan ได้รับการประเมินโดยการศึกษาการกระทำระหว่างกันในสารละลายของ mucin และ chitosan ที่เตรียมในรูปแบบ microparticles ที่กักเก็บวัคซีนไว้ภายใน โดยพบว่า chitosan สามารถยึดเกาะกับ mucin ด้วย salt-bridge force ระหว่างประจุบวกของ chitosan และประจุลบของ glycoprotein ใน mucin^{๕๔}

ดังนั้น คุณสมบัติ mucoadhesive ของ chitosan ได้ถูกศึกษาและค้นพบแล้วว่าสามารถเพิ่มเวลาการเกาะติดของ chitosan microparticles ที่กักเก็บวัคซีนไว้ภายในกับเยื่อเมือกได้^{๕๕, ๕๖} ซึ่งจะส่งผลทำให้การตอบสนองของภูมิคุ้มกันเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ จากการศึกษาของ Lubbeek และคณะ^{๕๗} พบว่า chitosan จะช่วยเพิ่มทั้งการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในระบบร่างกายและภูมิคุ้มกันที่บริเวณเยื่อเมือกต่อ diphtheria toxoid หลังการให้วัคซีนทางปากและทางจมูกในหนูทดลอง

สารช่วยเกาะติดเยื่อเมือกและช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันยังมีอีกหลายชนิด ที่น่าสนใจอีกหนึ่งชนิดคือ aluminium adjuvant (alum) โดย aluminium ในรูปแบบของ aluminium hydroxide ยังคงใช้เป็น adjuvant สำหรับวัคซีนอย่างต่อเนื่องและเป็น adjuvant ที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในมนุษย์ ตาม US perspective^{๕๘} ข้อดีของ aluminium adjuvant คือ ทำให้เกิดการตอบสนองของภูมิคุ้มกันอย่างรวดเร็วและได้ระดับแอนติบอดีที่สูง คงอยู่ยาวนานหลังการรับวัคซีนครั้งแรก aluminium มีลักษณะเป็นผลึกที่มีพื้นที่ผิวใหญ่และแสดงประจุบวกที่ pH ของร่างกาย^{๕๙-๖๑} ดังนั้น aluminium hydroxide จึงสามารถเกาะติดกับ glycoprotein ใน mucus และสามารถเกาะติดกับ phosphate group ที่มีประจุลบบนผิวเซลล์ด้วย electrostatic interaction ได้ alum จึงช่วยให้วัคซีนเกาะกับพื้นผิวเยื่อเมือกได้ดี Katare และ Panda^{๖๒} พบว่า ภูมิคุ้มกันของหนูที่ถูกฉีดด้วยอนุภาคที่กักเก็บวัคซีนบาดทะยักที่ให้ร่วมกับ aluminium adjuvant สามารถเพิ่มการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในหนูทดลองได้ นอกจากนี้ การศึกษาของ HogenEsch^{๖๓} รายงานว่า aluminium adjuvant ยังสามารถเพิ่มการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันได้โดยการเพิ่มกระตุ้นโดยตรงไปที่ dendritic cell อีกด้วย

๔. เส้นทางนำส่งอนุภาคกับบรรจุภัณฑ์ชีวเคมีเยื่อเมือก

เมื่ออนุภาคขนาดไมโคร/นาโนที่กักเก็บวัคซีน ถูกให้เข้าสู่ร่างกายผ่านทางเยื่อเมือก อนุภาคที่มีขนาด ≤ 100 ไมครอน จะถูกจับกินได้ดีโดย M cells และส่งต่อไปสู่ follicle ซึ่งเป็นบริเวณที่มี immunocomponent cells อยู่เป็นจำนวนมาก เพื่อการปลดปล่อยและประสิทธิผลของวัคซีนและแอนติเจนต่อไป^{๙๐} ในทางตรงกันข้าม อนุภาคที่มีขนาดเล็ก ระดับขนาดนาโน จะถูกจับกินได้ดีโดยเซลล์เยื่อเมือกปกติ^{๙๑} ดังนั้น อนุภาคขนาดใหญ่จะถูกจับกินได้ดีโดย M cells มากกว่าอนุภาคขนาดเล็ก แต่อย่างไรก็ตาม อนุภาคขนาดเล็กก็สามารถถูกจับกินได้ดีโดย M cells เช่นเดียวกัน แต่ไม่ตีพาทอนุภาคขนาดใหญ่

นอกจากขนาดของอนุภาคแล้ว คุณสมบัติพื้นผิวของอนุภาคก็นับได้ว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการทำหน้าที่เป็นตัวช่วยของระบบนำส่งวัคซีน อนุภาคที่มีประจุบวกจะสามารถถูกดูดซึมและส่งผ่านไปสู่เนื้อเยื่อเยื่อเมือกได้ดีกว่าอนุภาคที่มีประจุลบหรืออนุภาคที่เป็นกลาง ซึ่งสามารถอธิบายได้จาก electrostatic interaction ที่เกิดขึ้นระหว่างอนุภาคที่มีพื้นผิวเป็นประจุบวกกับประจุลบที่ผิวเซลล์และที่ mucus^{๔๔}

กลไกของการขนส่งอนุภาคที่ต่างชนิดกันเข้าสู่เยื่อเมือกยังคงเป็นหัวข้อที่หาทฤษฎีสรุปที่ชัดเจนไม่ได้ เนื่องจากการขนส่งอนุภาคที่ต่างชนิดกันจะใช้กระบวนการขนส่งที่แตกต่างกัน^{๔๕} อย่างไรก็ตาม เส้นทางนำส่งอนุภาคผ่านเยื่อเมือกสามารถถูกแบ่งเป็นหัวข้อใหญ่ๆ ได้ ๒ เส้นทางได้แก่

๔.๑ Paracellular route

เนื่องจากช่องว่างระหว่างเซลล์ (paracellular space) ที่ถูกปิดผนึกโดย tight junctions มีสัดส่วนน้อยกว่าร้อยละหนึ่งของพื้นที่ผิวเยื่อเมือกทั้งหมด และขนาดช่องเปิดของ tight junctions ก็มีขนาดเล็กเพียงลิบองส์ตรอม ($\text{\AA}$) ดังนั้นการนำส่งอนุภาคและ macromolecule ผ่านเยื่อเมือกด้วยเส้นทาง paracellular จึงมีโอกาสเป็นไปได้น้อย จากการศึกษการเพิ่มประสิทธิภาพของการดูดซึมผ่านทาง paracellular โดย Karlsson et al^{๙๒} ทั้ง in vitro และ in vivo model พบว่าการรบกวนการจัดเรียงโครงสร้างของ tight junction มีผลทำให้ขนาดความกว้างของช่องเปิดของ tight junction เพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งผลทำให้การนำส่งและการดูดซึมวัคซีนหรือแอนติเจนผ่านทาง paracellular มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hochman และ Artursson^{๙๓} ดังนั้น การนำส่งผ่านเส้นทาง paracellular จะเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของ tight junction

ปริมาณการซึมผ่านของวัคซีนและอนุภาคทาง paracellular สามารถเพิ่มขึ้นได้โดยใช้ polymer เป็นตัวช่วยในการนำส่ง เช่น chitosan ซึ่งเป็น polymer ที่มีประจุบวก โดยกลไกจะเกี่ยวข้องกับประจุและการดูดซับน้ำของ chitosan โดยประจุบวกที่พื้นผิวของ chitosan จะยึดเกาะกับประจุลบที่พื้นผิวของเซลล์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดโครงสร้างของ tight junction ทำให้การซึมผ่านทาง paracellular เปลี่ยนแปลงไป^{๔๖, ๔๗} ดังนั้น ถึงแม้ว่าการนำส่งวัคซีนทาง paracellular จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่ดีเนื่องจากมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับพื้นที่ผิวเยื่อเมือกทั้งหมด แต่ด้วยตัวช่วยนำส่งที่สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง tight junction เช่น chitosan การนำส่งวัคซีนจะมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เป็นผลทำให้การตอบสนองของภูมิคุ้มกันดีมากยิ่งขึ้นได้

๔.๒ Transcellular route via endocytosis

กลไกการเกิด endocytosis เริ่มต้นจากการดูดซับทางกายภาพแบบไม่จำเพาะของอนุภาคนอกเซลล์กับพื้นผิวของเซลล์ด้วยพันธะหรือแรงต่างๆ เช่น electrostatic force และตามด้วยการโค้งงอของ plasma membrane ของเซลล์เพื่อห่อหุ้มอนุภาควัคซีน ทำให้เกิด intracellular vesicle ห่อหุ้มอนุภาคไว้ภายใน ซึ่งต่อมาอนุภาควัคซีนจะผ่านกระบวนการประมวลผลภายในเซลล์ต่อไป โดยผลลัพธ์สุดท้ายจะอยู่ที่ subcellular compartment จากนั้น plasma membrane จะกลับคืนสู่สภาพเดิม^{๒๓ - ๒๕} กระบวนการนี้ส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ฐานของ microvilli^{๔๘, ๔๙} ของเซลล์ลำไส้ อย่างไรก็ตาม กระบวนการ endocytosis โดยทั่วไปจะเริ่มจากการดูดซับที่ผิวเซลล์จัดเป็นกระบวนการแบบ energy-dependent ซึ่งต่อมาอนุภาคที่ถูกกลืนกินอาจจะผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงแอนติเจนภายในเซลล์ หรือนำส่งผ่านเซลล์โดยไม่ผ่านกระบวนการประมวลผลเลยก็ได้ การขนส่งอนุภาคผ่านทาง endocytosis ขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคเป็นปัจจัยสำคัญ เนื่องจากอนุภาคขนาดต่างๆ กันจะถูกจับกินโดยเซลล์ต่างชนิดกันได้ในประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน^{๔๙, ๕๐}

กระบวนการ endocytosis อีกแบบหนึ่งได้แก่การ endocytosis ผ่าน receptor (receptor mediated endocytosis, RME) เป็นกลไกการนำส่งแบบ active transport ที่การนำส่งต้องผ่าน receptor เฉพาะที่ apical membrane ของเซลล์ ซึ่งแตกต่างจาก endocytosis ทั่วไปซึ่งจะเริ่มจากการดูดซับที่ผิวเซลล์ของอนุภาค ไม่จำเป็นต้องมี interaction กับ receptor เฉพาะที่ผิวเซลล์^{๕๑, ๕๒, ๕๓}

อย่างไรก็ตาม การนำส่งทาง transcellular via endocytosis โดยรวมนี้ มีศักยภาพในการนำส่งอนุภาคที่กักเก็บวัคซีน และวัคซีน ผ่านเยื่อเมือกได้ดีกว่า paracellular เนื่องจากมีโอกาสดำเนินการได้มากกว่า paracellular path^๔

๕. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับบทบาทของอนุภาค เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางเยื่อเมือก

ระบบการนำส่งวัคซีนโดยการใช้อนุภาค เป็นไปเพื่อการกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันทางเยื่อเมือกที่ให้อนุภาคที่มีระดับสูงและคงอยู่ยาวนาน มีการศึกษาหลายการศึกษาที่ทำการวิจัยเพื่อประเมินประสิทธิภาพของระบบนำส่งโดยที่ปัจจัยสำคัญหลายๆ ด้านมีความแตกต่างกันในแต่ละงานวิจัย เช่น ขนาดของวัคซีน ความถี่ของการให้วัคซีน ตัวทำละลายวัคซีน ขนาดของอนุภาคนำส่ง ชนิดของสัตว์ทดลอง และวิธีการวิเคราะห์ อย่างไรก็ตาม พบว่า ขนาดอนุภาคและคุณสมบัติของอนุภาคเป็นปัจจัยที่สำคัญในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนให้มีประสิทธิภาพมากกว่าปัจจัยอื่นๆ เนื่องจากขนาดและคุณสมบัติของอนุภาคมีผลต่อการเกาะติดและการดูดซับของอนุภาคบนพื้นผิวของเยื่อเมือก รวมไปถึงมีผลต่อประสิทธิภาพการถูกจับกินโดยเซลล์ชนิดต่างๆ ของเยื่อเมือก^{๓, ๑๑, ๒๔ - ๓๐}

รูปแบบการกระจายตัวของอนุภาคภายในร่างกาย ขึ้นกับอิทธิพลของขนาดอนุภาค โดยอนุภาคขนาดเล็กจนถึงอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ ๑๐ ไมครอน (μm) จะถูกจับกินได้ดีโดย M cells ในขณะที่จะไม่ถูกจับกินเลยเมื่ออนุภาคมีขนาดใหญ่กว่า ๒๑ ไมครอน^{๓๐} อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของการนำส่งโดยอนุภาคขนาดเล็กยังสามารถมีขนาดอยู่ในระดับนาโนได้อีกด้วย โดยอนุภาคขนาดเล็กระดับนาโน (nano-size) นอกจากจะถูกจับกินโดย M cells แล้ว ยังสามารถถูกจับกินได้ดีโดยเซลล์เยื่อเมือกอื่นๆ ไป จากการศึกษาคูของ Vila et al.^{๓๑} ศึกษาการดูดซึมของอนุภาคผ่านเซลล์จุ่มของวัคซีนป้องกันโรคบาดทะยัก (Tetanus toxoid vaccine) โดยใช้อนุภาคขนาด nanometer (nm) ซึ่งมีขนาดประมาณ ๒๐๐ นาโนเมตร (nm) พบว่า ชีวประสิทธิภาพ (bioavailability) ทางจุ่มของวัคซีนป้องกันโรคบาดทะยักมีค่าสูง ดังนั้นทั้งอนุภาคขนาดไมโครและขนาดนาโนมีความสามารถในการนำส่งวัคซีน และแอนติเจนไปสู่เยื่อเมือกได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกันแต่ผ่านกลไกที่แตกต่างกัน

ประจุที่พื้นผิวของอนุภาคก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับที่เยื่อเมือกเช่นเดียวกัน อนุภาคที่เป็นระบบนำส่งที่ดีควรมีคุณสมบัติหลายประการ เช่น สามารถเกาะติด

พื้นผิวเยื่อเมือกได้ดี จากการศึกษาคูของ Thomas, Gupta และ Ahsan^{๓๒} ทำการเตรียมอนุภาคของ PLGA ที่กักเก็บวัคซีนไวรัสตับอักเสบบี (HBsAg) ให้เป็นอนุภาคที่มีประจุบวกโดยใช้ stearylamine และ polyethylenimine เคลือบที่ผิวของอนุภาค พบว่า การตอบสนองของภูมิคุ้มกันเพิ่มมากขึ้น โดยกระตุ้นภูมิคุ้มกันผ่านระบบทางเดินหายใจของหนูทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Borges et al.^{๓๓} ที่สรุปว่าการนำส่ง HBsAg ภายในอนุภาค chitosan ที่เคลือบด้วย alginate เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันของหนูทดลองผ่านทางเยื่อเมือก ก่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของเยื่อเมือกซึ่งไม่สามารถเกิดขึ้นจากการถูกกระตุ้นโดยการให้ HBsAg เพียงอย่างเดียวโดยปราศจากระบบนำส่ง

๖. บทสรุป

การให้วัคซีนทางเยื่อเมือกจุ่มสามารถกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันได้ทั้งภูมิคุ้มกันทั่วร่างกายและภูมิคุ้มกันที่ระบบเยื่อเมือกเอง โดยก่อให้เกิดแอนติบอดีชนิด IgG ในกระแสโลหิต และ IgA ใน mucus ดังนั้น การนำส่งวัคซีนทางเยื่อเมือกจุ่มจึงได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อเป็นทางเลือกทดแทนการให้วัคซีนชนิดฉีดได้ อย่างไรก็ตาม เนื่องด้วยอุปสรรคทางสรีรวิทยาบริเวณเยื่อเมือกที่มีมาก การให้วัคซีนทางเยื่อเมือกจุ่มจึงต้องใช้ระบบช่วยนำส่งที่สามารถเตรียมด้วยเทคโนโลยีนาโนเพื่อเอาชนะอุปสรรคทางสรีรวิทยาเหล่านี้ ระบบนำส่งที่ศึกษากันอย่างแพร่หลายและให้ผลดี ได้แก่ อนุภาคขนาดไมโคร/นาโนสำหรับใช้นำส่งวัคซีนที่มีการดัดแปลงคุณสมบัติพื้นผิวด้วยวัสดุเคลือบเพื่อเปลี่ยนแปลงประจุพื้นผิวให้ยึดเกาะเยื่อเมือกได้ดีขึ้น อนุภาคส่วนมากผลิตจาก polymer และไขมัน อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการศึกษาวิจัยของกลุ่มนักวิจัยต่างๆ จะพบว่า การให้วัคซีนผ่านทางเยื่อเมือกจุ่มให้ผลในการกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันได้ดี ถึงกระนั้นวัคซีนที่ให้ทางเยื่อเมือกจุ่มยังคงต้องมีการพัฒนาต่อเนื่องอีกมากทั้งการศึกษาเพิ่มเติมในเซลล์ (in vitro study) และในสัตว์ทดลองรวมทั้งมนุษย์ (in vivo study)

เอกสารอ้างอิง

๑. Otczyk DC, Cripps AW. Mucosal immunization: A realistic alternative. Hum Vaccines 2010;6:978-1006.
๒. Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR. Mucosal immunology. 2nd ed. New York: Academic press; 1999.

๓. Pavot V, Rochereau N, Genin C, Verrier B, Paul S. New insights in mucosal vaccine development. *Vaccine* 2012;30:142-54.
๔. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt's essential immunology. 12th ed. West Sussex: Wiley-blackwell; 2011.
๕. Parham P. The immune system. 2nd ed. New York: Garland Science; 2005.
๖. Acheson DWK, Luccioli S. Mucosal immune responses. *Best Pract Res Cl Ga* 2004;18:387-404.
๗. Yamamoto M, Pascual DW, Kiyono H. M Cell-targeted mucosal vaccine strategies. In: Kozlowski PA, editor. *Mucosal vaccines: Modern concepts, strategies, and challenges*. Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag Berlin; 2012.
๘. Davis SS. Nasal vaccines. *Adv Drug Deliver Rev* 2001;51:21-42.
๙. Jung T, Kamm W, Breitenbach A, Kaiserling E, Xiao JX, Kissel T. Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: Is there a role for polymers to affect mucosal uptake? *Eur J Pharma Biopharm* 2000;50:147-60.
๑๐. McGhee JR, Mestecky J, Dertzbaugh MT, Eldridge JH, Hirasawa M, Kiyono H. The mucosal immune system: From fundamental concepts to vaccine development. *Vaccine* 1992;10:75-88.
๑๑. Meeusen EN. Exploiting mucosal surfaces for the development of mucosal vaccines. *Vaccine* 2011;29:8506-11.
๑๒. Medina E, Guzmán CA. Modulation of immune responses following antigen administration by mucosal route. *FEMS Immunol Med Mic* 2000;27:305-11.
๑๓. Cerutti A. The regulation of IgA class switching. *Nat Rev Immunol* 2008;8:421-34.
๑๔. McBride KM, Gazumyan A, Woo EM, Schwickert TA, Chait BT, Nussenzweig MC. Regulation of class switch recombination and somatic mutation by AID phosphorylation. *J Exp Med* 2008;205:2585-94.
๑๕. Simecka JW. Mucosal immunity of the gastrointestinal tract and oral tolerance. *Adv Drug Deliver Rev* 1998;34:235-59.
๑๖. Rott LS, Briskin MJ, Butcher EC. Expression of $\alpha 4\beta 7$ and E-selectin ligand by circulating memory B cells: Implications for targeted trafficking to mucosal and systemic sites. *J Leukocyte Biol* 2000;68:807-14.
๑๗. Ramakrishna C, Desai A, Shankar SK, Chandramuki A, Ravi V. Oral immunisation of mice with live Japanese encephalitis virus induces a protective immune response. *Vaccine* 1999;17:3102-8.
๑๘. Tyrer P, Ruth FA, Kyd J, Harvey M, Sizer P, Cripps A. Validation and quantitation of an in vitro M-cell model. *Biochem Bioph Res Co* 2002;299:377-83.
๑๙. Kerneis S, Bogdanova A, Colucci-Guyon E, Kraehenbuhl JP, Pringault E. Cytosolic distribution of villin in M cells from mouse Peyer's patches correlates with the absence of a brush border. *Gastroenterology* 1996;110:515-21.
๒๐. Brown D, Cremaschi D, James PS, Rossetti C, Smith MW. Brush-border membrane alkaline phosphatase activity in mouse Peyer's patch follicle-associated enterocytes. *J Physiol* 1990;427:81-8.
๒๑. Clark MA, Hirst BH, Jepson MA. M-cell surface $\beta 1$ integrin expression and invasin-mediated targeting of *Yersinia pseudotuberculosis* to mouse Peyer's patch M cells. *Infect Immun* 1998;66:1237-43.
๒๒. Merkus FWHM, Verhoef JC. Nasal drug delivery: Trends and perspectives. Swarbrick BJC, editor. New York: Marcel Dekker; 1997.
๒๓. Brayden DJ, Baird AW. Microparticle vaccine approaches to stimulate mucosal immunisation. *Microbes Infect* 2001;3:867-76.
๒๔. Mackay M, Williamson I, Hastewell J. (A) Cell biology of epithelia. *Adv Drug Deliver Rev* 1991;7:313-38.
๒๕. Correia-Pinto JF, Csaba N, Alonso MJ. Vaccine delivery carriers: Insights and future perspectives. *Int J Pharm* 2013;440:27-38.

๒๖. Kammona O, Kiparissides C. Recent advances in nanocarrier-based mucosal delivery of biomolecules. *J Control Release* 2012;16:781-94.
๒๗. Karlsson J, Wikman A, Artursson P. The mucus layer as a barrier to drug absorption in monolayers of human intestinal epithelial HT29-H goblet cells. *Int J Pharm* 1993;99:209-18.
๒๘. Chen H. Recent advances in mucosal vaccine development. *J Control Release* 2000;67:117-28.
๒๙. O'Hagan DT, MacKichan ML, Singh M. Recent developments in adjuvants for vaccines against infectious diseases. *Biomol Eng* 2001;18:69-85.
๓๐. Whateley TL. Microencapsulation of drugs. Switzerland: Horwood Academic; 1992.
๓๑. Thomas C, Gupta V, Ahsan F. Influence of surface charge of PLGA particles of recombinant hepatitis B surface antigen in enhancing systemic and mucosal immune responses. *Int J Pharm* 2009;379:41-50.
๓๒. Kanchan V, Katare YK, Panda AK. Role of alum in improving the immunogenicity of biodegradable polymer particle entrapped antigens. *Eur J Pharm Sci* 2009; 38:18-28.
๓๓. Wang Z, Liu W, Xu H, Yang X. Preparation and in vitro studies of stealth PEGylated PLGA nanoparticles as carriers for arsenic trioxide. *Chinese J Chem Eng* 2007;15:795-801.
๓๔. Zou W, Liu C, Chen Z, Zhang N. Studies on bioadhesive PLGA nanoparticles: A promising gene delivery system for efficient gene therapy to lung cancer. *Int J Pharm* 2009;370:187-95.
๓๕. Csaba N, Sánchez A, Alonso MJ. PLGA: Poloxamer and PLGA: Poloxamine blend nanostructures as carriers for nasal gene delivery. *J Control Release* 2006;113:164-72.
๓๖. Budhian A, Siegel SJ, Winey KI. Controlling the in vitro release profiles for a system of haloperidol-loaded PLGA nanoparticles. *Int J Pharm* 2008;346:151-9.
๓๗. Nugent J, Po AL, Scott EM. Design and delivery of non-parenteral vaccines. *J Clin Pharm Ther* 1998;23:257-85.
๓๘. Manca ML, Loy G, Zaru M, Fadda AM, Antimisiaris SG. Release of rifampicin from chitosan, PLGA and chitosan-coated PLGA microparticles. *Colloid Surface B* 2008;67:166-70.
๓๙. Wei G, Pettway GJ, McCauley LK, Ma PX. The release profiles and bioactivity of parathyroid hormone from poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres. *Biomaterials* 2004;25:345-52.
๔๐. Jaganathan KS, Vyas SP. Strong systemic and mucosal immune responses to surface-modified PLGA microspheres containing recombinant hepatitis B antigen administered intranasally. *Vaccine* 2006;24:4201-11.
๔๑. Gasparini G, Kosvintsev SR, Stillwell MT, Holdich RG. Preparation and characterization of PLGA particles for subcutaneous controlled drug release by membrane emulsification. *Colloid Surface B* 2008;61:199-207.
๔๒. Esparza I, Kissel T. Parameters affecting the immunogenicity of microencapsulated tetanus toxoid. *Vaccine* 1992;10:714-20.
๔๓. Raghuvanshi RS, Katare YK, Lalwani K, Ali MM, Singh O, Panda AK. Improved immune response from biodegradable polymer particles entrapping tetanus toxoid by use of different immunization protocol and adjuvants. *Int J Pharm* 2002;245:109-21.
๔๔. Watson DS, Endsley AN, Huang L. Design considerations for liposomal vaccines: Influence of formulation parameters on antibody and cell-mediated immune responses to liposome associated antigens. *Vaccine* 2012;30:2256-72.
๔๕. Baca-Estrada ME, Foldvari M, Snider M. Induction of mucosal immune responses by administration of liposome-antigen formulations and interleukin-12. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:455-62.
๔๖. Maier M, Seabrook TJ, Lemere CA. Modulation of the humoral and cellular immune response in A β immunotherapy by the adjuvants monophosphoryl lipid A (MPL), cholera toxin B subunit (CTB) and E. coli enterotoxin LT (R192G). *Vaccine* 2005;23:5149-59.
๔๗. Smart JD. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv Drug Deliver Rev* 2005;57:1556-68.
๔๘. Bravo-Osuna I, Vauthier C, Farabollini A, Palmieri GF, Ponchel G. Mucoadhesion mechanism of chitosan and thiolated chitosan-poly (isobutyl cyanoacrylate) core-shell nanoparticles. *Biomaterials* 2007;28:2233-43.

๔๙. Skea DL, Barber BH. Adhesion-mediated enhancement of the adjuvant activity of alum. *Vaccine* 1993;11:1018-26.
๕๐. Van der Lubben IM, Kersten G, Fretz MM, Beuvery C, Coos Verhoef J, Junginger HE. Chitosan microparticles for mucosal vaccination against diphtheria: oral and nasal efficacy studies in mice. *Vaccine* 2003;21:1400-8.
๕๑. Rauw F, Gardin Y, Palya V, Anbari S, Gonze M, Lemaire S, et al. The positive adjuvant effect of chitosan on antigen-specific cell-mediated immunity after chickens vaccination with live Newcastle disease vaccine. *Vet Immunol Immunopathol* 2010;134:249-58.
๕๒. He P, Davis SS, Illum L. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. *Int J Pharm* 1998;166:75-88.
๕๓. Perioli L, Ambrogi V, Venezia L, Pagano C, Ricci M, Rossi C. Chitosan and a modified chitosan as agents to improve performances of mucoadhesive vaginal gels. *Colloid Surface* 2008;66:141-5.
๕๔. Baylor NW, Egan W, Richman P. Aluminum salts in vaccines—US perspective. *Vaccine* 2002;20:S18-S23.
๕๕. Matheis W, Zott A, Schwanig M. The role of the adsorption process for production and control combined adsorbed vaccines. *Vaccine* 2001;20:67-73.
๕๖. Gupta RK. Aluminum compounds as vaccine adjuvants. *Adv Drug Deliver Rev* 1998;32:155-72.
๕๗. Katare YK, Panda AK. Immunogenicity and lower dose requirement of polymer entrapped tetanus toxoid co-administered with alum. *Vaccine* 2006;24:3599-608.
๕๘. HogenEsch H. Mechanisms of stimulation of the immune response by aluminum adjuvants. *Vaccine* 2002;20:S34-S9.
๕๙. Rieux Ad, Ragnarsson EGE, Gullberg E, Prat V, Schneider YJ, Artursson P. Transport of nanoparticles across an in vitro model of the human intestinal follicle associated epithelium. *Eur J Pharm Sci* 2005;25:455-65.
๖๐. Karlsson J, Ungell A-L, Gråsjö J, Artursson P. Paracellular drug transport across intestinal epithelia: influence of charge and induced water flux. *Eur J Pharm Sci* 1999;9:47-56.
๖๑. Hochman J, Artursson P. Mechanisms of absorption enhancement and tight junction regulation. *J Control Release* 1994;29:253-67.
๖๒. Issa MM, Koping-Hoggard M, Artursson P. Chitosan and the mucosal delivery of biotechnology drugs. *Drug Discov Today Technologies* 2005;2:1-6.
๖๓. Burgdorf S, Kurts C. Endocytosis mechanisms and the cell biology of antigen presentation. *Curr Opin Immunol* 2008;20:89-95.
๖๔. Deitcher D. Exocytosis, endocytosis, and development. *Semin Cell Dev Biol* 2002;13:71-6.
๖๕. Borges O, Cordeiro-da-Silva A, Romeijn SG, Amidi M, de Sousa A, Borchard G, et al. Uptake studies in rat Peyer's patches, cytotoxicity and release studies of alginate coated chitosan nanoparticles for mucosal vaccination. *J Control Release* 2006;114:348-58.
๖๖. Gullberg E, Leonard M, Karlsson J, Hopkins AM, Brayden D, Baird AW, et al. Expression of specific markers and particle transport in a new human intestinal M-cell model. *Biochem Bioph Res Co* 2000;279:808-13.
๖๗. Sahay G, Alakhova DY, Kabanov AV. Endocytosis of nanomedicines. *J Control Release* 2010;145:182-95.
๖๘. Pison U, Welte T, Giersig M, Groneberg DA. Nanomedicine for respiratory diseases. *Eur J Pharmacol* 2006;533:341-50.
๖๙. Vajdy M, O'Hagan DT. Microparticles for intranasal immunization. *Adv Drug Deliver Rev* 2001;51:127-41.
๗๐. Tabata Y, Inoue Y, Ikada Y. Size effect on systemic and mucosal immune responses induced by oral administration of biodegradable microspheres. *Vaccine* 1996;14:1677-85.
๗๑. Vila A, Sánchez A, Évora C, Soriano I, McCallion O, Alonso MJ. PLA-PEG particles as nasal protein carriers: the influence of the particle size. *Int J Pharma* 2005;292:43-52.
๗๒. Borges O, Cordeiro-da-Silva A, Tavares J, Santarém N, de Sousa A, Borchard G, et al. Immune response by nasal delivery of hepatitis B surface antigen and codelivery of a CpG ODN in alginate coated chitosan nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm* 2008;69:405-16.

Abstract

Mechanism of immunological stimulation and delivery of vaccine via intranasal route

Amolnat Tunsirikongkon

Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Thammasat University, Khlongnueng, Khlongluang, Pathumthani, 12121

Intranasal immunization is an alternative route of vaccine administration considered as a non-invasive route, stimulated by intranasal vaccine. Intranasal vaccine is prepared for the purpose of reducing the side effect of invasive vaccine and gaining more of the patient compliance. Stimulation via nasal route can elicit both mucosal and systemic immune responses so that this route is relatively attractive to vaccine administration. However, the mechanism of immunological stimulation at nasal site is quite complicated. Therefore, the development of nasal vaccine to achieve its greatest efficiency is considered as the tempting study topic. In this article, the mechanism of nasal immune response and the transportation of vaccine via nasal route are intensively reviewed. The relationship between the physiological barriers at nasal site that influence the adsorption efficiency of vaccine and the vaccine delivery system prepared by mean of pharmaceutical technology to overcome these physiological barriers is considerably reviewed as well. Finally, the review of research findings in relation to the pharmaceutical technology of micro/nanoparticles and mucoadhesive substances as vaccine delivery vehicles are also assessed.

Key words: Nasal immune system, Delivery of intranasal vaccine, Micro/nanoparticles, Transportation of intranasal vaccine