

# ย่อวารสาร

## Attenuation of Toll-Like Receptor Expression and Function in Latent Tuberculosis by Coexistent Filarial Infection with Restoration Following Antifilarial Chemotherapy

Babu S, Bhat SQ, Kumar NP, Anuradha R, Kumaran P, Gopi PG, Kolappan C, Kumaraswami V, Nutman TB. Attenuation of toll-like receptor expression and function in latent tuberculosis by coexistent filarial infection with restoration following antifilarial chemotherapy. PLoS Negl Trop Dis 2009 Jul 28;3(7):e489

### เรื่องย่อ

โรคเท้าช้าง (lymphatic filariasis) เกิดจากพยาธิตัวกลมในกลุ่มฟิลาเรีย ได้แก่ *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* และ *B. timori* ในปัจจุบัน มีผู้ติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างถึงกว่า 120 ล้านคนทั่วโลก พยาธิโรคเท้าช้างสามารถอาศัยอยู่ในร่างกายคนได้นานโดยไม่ถูกร่างกายกำจัด และไม่ก่อให้เกิดอาการแสดงทางคลินิกของโรคเท้าช้าง (asymptomatic หรือ subclinical) เนื่องจากพยาธิโรคเท้าช้างมีกลไกการกดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อหลบหลีกภูมิคุ้มกัน ทั้งภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด (innate immune response) และภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (adaptive immune response) การติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างระยะเรื้อรังสัมพันธ์กับการลดการแสดงออกของ Toll-Like Receptor (TLR) ซึ่งเป็นตัวรับบนผิว antigen-presenting cells (APCs) และ T cells ภายหลัง TLR จับแอนติเจนจะเกิดการส่งสัญญาณเพื่อสร้างไซโตไคน์ต่าง ๆ เพื่อตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ในขณะที่การกดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันนี้ค่อนข้างจำเพาะต่อตัวพยาธิโรคเท้าช้าง อย่างไรก็ตาม มีรายงานพบผลข้างเคียงต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีน

โรคภูมิแพ้ และโรคภูมิแพ้ตัวเอง (autoimmune diseases) เมื่อเร็ว ๆ นี้ทางคณะผู้วิจัยได้รายงานว่าการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างร่วมกับและแบคทีเรียชนิด *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรควัณโรคมีผลทำให้การตอบสนองของทีเซลล์ผู้ช่วยชนิดที่ 1 (Th1) ได้แก่ interleukin-12 (IL-12)/interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) และ Th17 (IL-23/IL-17) ต่อแอนติเจนที่จำเพาะของ Mtb ลดลง และสัมพันธ์กับการเพิ่มการแสดงออกของ Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA4) และ programmed death 1 (PD-1) ซึ่งมีผลยับยั้งการตอบสนองของทีเซลล์ มีผู้ติดเชื้อ Mtb ประมาณ 2 พันล้านคนทั่วโลก ซึ่งประมาณ 90% จะเป็นการติดเชื้อซ่อนเร้น (latent infection) มีรายงานว่า TLR2 และ TLR9 มีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันต่อ Mtb การต้านเชื้อวัณโรคอาศัยการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของ Th1 (IL-12, IFN- $\gamma$ , Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ ) และบางส่วนเป็นบทบาทของ Th17 (IL-17 และ IL-23) Mtb และ mycobacteria อื่น ๆ มี TLR ligand เป็นองค์ประกอบซึ่งมีศักยภาพในการกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของเซลล์ทางภูมิคุ้มกันให้สร้าง proinflammatory cytokines เช่น TNF- $\alpha$  และ IL-12 ในหลอดทดลอง ตัวอย่างที่สนับสนุนถึงบทบาทของ TLR ในโฮสต์ต่อการต้าน Mtb ได้แก่ การพบว่าหนูที่ไม่มี MyD88 (MyD88<sup>-/-</sup>) ซึ่งเป็น major adaptor molecule ที่จำเป็นสำหรับการส่งสัญญาณสำหรับสมาชิกส่วนใหญ่ของ TLR/IL-1R family members มีการเหนี่ยวนำให้เกิดความไวรับต่อการติดเชื้อ Mtb ที่แพร่กระจายผ่านทางอากาศเพิ่มขึ้น

เนื่องจากพบการติดเชื้อพยาธิฟิลาเรียร่วมกับวัณโรคได้ในหลายบริเวณของโลก และมีรายงานว่าติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างมีความสัมพันธ์กับการลดการแสดงออกของ TLR 2, TLR 4 และ TLR 9 จึงสันนิษฐานว่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อวัณโรคอาจถูกกดโดยการลดการแสดงออกและการทำหน้าที่ของ TLR ซึ่งเกิดจากการ

ติดพยาธิโรคเท้าช้างระยะเรื้อรังร่วมด้วย ดังนั้นการศึกษา  
นี้จึงวัดระดับการแสดงออกของ TLR ในผู้ที่ติดเชื้อพยาธิโรค  
ร่วมกับโรคเท้าช้าง (PPD<sup>+</sup> Fil<sup>+</sup>) และผู้ที่ติดเชื้อพยาธิโรค  
เพียงอย่างเดียว (PPD<sup>+</sup> Fil<sup>-</sup>) โดยกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิด  
Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC) ด้วย  
Mycobacterial PPD หรือแอนติเจนของเชื้อพยาธิโรคที่  
ผ่านกรอง (Mtb CFP) หรือวัคซีนป้องกันโรคบาดทะยัก  
(tetanus toxoid; TT) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในหลอดทดลอง  
จากนั้นจึงวัดการแสดงออกของ TLR1, 2, 4, และ 9  
โดยใช้เทคนิค Real-time quantitative RT-PCR ซึ่งมี  
endogenous 18s ribosomal RNA เป็นตัวควบคุม พบว่า  
การแสดงออกของ TLR2 และ TLR9 ทั้งระดับพื้นฐาน  
และหลังจากกระตุ้นด้วย Mycobacterial PPD และ Mtb  
CFP ในกลุ่ม PPD<sup>+</sup> Fil<sup>+</sup> ต่ำกว่าในกลุ่ม PPD<sup>+</sup> Fil<sup>-</sup> อย่างมีนัย  
สำคัญ ในขณะที่การแสดงออกของ TLR หลังจาก  
กระตุ้นด้วยวัคซีนป้องกันโรคบาดทะยักซึ่งใช้เป็นตัว  
ควบคุมไม่มีความแตกต่างกันในระหว่างผู้ป่วยสองกลุ่มนี้  
แสดงว่าการติดเชื้อพยาธิโรคร่วมกับพยาธิโรคเท้าช้างสัมพันธ์  
กับการลดการแสดงออกของ TLR 2 และ 9 ทั้งในพื้นฐาน  
และหลังจากกระตุ้นด้วย Mtb

ในการศึกษาผลกระทบบของการติดเชื้อพยาธิโรค  
เท้าช้างต่อการทำงานของ TLR โดยดูจากระดับ proinflam-  
matory cytokine ซึ่งกระตุ้นผ่าน TLR ในผู้ที่ติดเชื้อพยาธิโรค  
ผู้วิจัยจึงได้นำเม็ดเลือดขาวชนิด PBMCs จากผู้ที่ติด  
เชื้อพยาธิโรคซึ่งมีและไม่มีพยาธิโรคเท้าช้างร่วมด้วย  
มากระตุ้นด้วย Pam3CysSerLys4 (Pam3Cys; TLR2  
ligand) หรือ CpG ODN M362 (ODN; TLR9 ligand)  
หรือ lipopolysaccharide (LPS; TLR4 ligand) เป็นเวลา  
24 ชั่วโมงแล้ววัดระดับของไซโตไคน์ IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-  
12p70, IL-6, และ IL-1 โดยวิธีอีไลซา (Enzyme-Linked  
Immunosorbent Assay; ELISA) พบว่าไซโตไคน์ IL-1 $\beta$ ,  
TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, และ IFN- $\gamma$  ที่กระตุ้นด้วย Pam3Cys  
และ ODN ในกลุ่มผู้ที่มีการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างร่วมกับ  
เชื้อพยาธิโรค มีระดับต่ำกว่าผู้ที่ติดเชื้อพยาธิโรคเพียงอย่างเดียว  
อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ไม่พบมีความแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญของระดับไซโตไคน์ทุกตัวข้างต้นในกลุ่มที่  
กระตุ้นด้วย LPS ซึ่งเป็น ligand ของ TLR4 แสดงว่า  
การติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างสัมพันธ์กับการลดลงของ  
proinflammatory cytokine ซึ่งจำเพาะต่อการกระตุ้นด้วย  
Pam3Cys และ ODN ซึ่งเป็น ligand ของ TLR2 และ  
TLR9 ในผู้ที่ติดเชื้อพยาธิโรค

การทดลองสุดท้าย ผู้วิจัยต้องการศึกษาผลของ  
การรักษาโรคเท้าช้างต่อการทำงานของ TLR จึงได้ทำ  
การเก็บเม็ดเลือดขาวชนิด PBMCs จากผู้ที่ติดเชื้อพยาธิโรค  
ร่วมกับโรคเท้าช้างทั้งก่อนการรักษาโรคเท้าช้างและหลัง  
รักษาโรคเท้าช้างนาน 1 ปี การรักษาโรคเท้าช้างนั้นได้ให้  
ยาไดเอทิลคาร์บาไมซีน หรือดีอีซีซี (diethylcarbamazine;  
DEC) ขนาด 300 mg กับผู้ป่วยเป็นเวลา 7 วัน ร่วมกับ  
ยาอัลเบนดาโซล (albendazole) ขนาด 400 mg ครั้งเดียว  
จากนั้นนำเม็ดเลือดขาวชนิด PBMCs ดังกล่าวมากระตุ้น  
ด้วย Pam3Cys หรือ ODN หรือ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง  
แล้วจึงวัดระดับของไซโตไคน์ IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12p70,  
IL-6 และ IL-1 $\beta$  และเปรียบเทียบระดับ proinflammatory  
cytokine ก่อนและหลังการรักษาโรคเท้าช้าง พบว่าการ  
กระตุ้นด้วย Pam3Cys และ ODN เพิ่มการสร้างไซโตไคน์  
IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  และ IL-12 อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้  
ยังพบว่าการกระตุ้นด้วย Pam3Cys ยังเพิ่มการสร้าง  
ไซโตไคน์ IL-1 $\beta$  อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเพิ่มระดับ  
ไซโตไคน์ IL-6 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การ  
กระตุ้นด้วย ODN เพิ่มการสร้างไซโตไคน์ IL-6 อย่างมีนัย  
สำคัญทางสถิติ และเพิ่มระดับไซโตไคน์ IL-1 $\beta$  อย่างไม่มี  
นัยสำคัญทางสถิติ การรักษาโรคเท้าช้างมีผลต่อการสร้าง  
ไซโตไคน์ข้างต้นหลังจากกระตุ้นด้วย LPS น้อยมาก  
ยกเว้น IL-1 $\beta$  ซึ่งมีระดับสูงขึ้นหลังจากรักษาโรคเท้าช้าง

นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างการลด  
ระดับแอนติเจนของพยาธิโรคเท้าช้างในกระแสเลือด  
(circulating filarial antigen) ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกประสิทธิ  
ภาพในการรักษาโรคเท้าช้าง และการเพิ่มขึ้นของระดับ  
ไซโตไคน์ TNF- $\alpha$  และ IFN- $\gamma$  ที่ตอบสนองต่อการกระตุ้น  
ด้วย Pam3Cys และ ODN ภายหลังการรักษาโรคเท้าช้าง

แสดงว่าการรักษาโรคเท้าช้างสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ proinflammatory cytokine ซึ่งจำเพาะต่อการกระตุ้นด้วย TLR2 ligand และ TLR9 ligand ในผู้ติดเชื้อวัณโรค

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ผ่านทาง TLR และยังมีส่งผลกระทบต่อการศึกษาวัณโรค ซึ่งใช้ TLR ในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเช่นกัน ผู้ที่ติดเชื้อทั้งสองชนิดนี้ร่วมกันมีการแสดงออกของ TLR2 และ TLR 9 ทั้งในระดับพื้นฐานและระดับที่กระตุ้นด้วย แอนติเจน Mtb ลดลง และมีการสร้าง proinflammatory cytokine ที่มีบทบาทในการควบคุมและกำจัดเชื้อวัณโรค มีความผิดปกติ ซึ่งอาจจะส่งผลให้เชื้อวัณโรคที่หลบซ่อนอยู่ในร่างกายพัฒนาไปเป็นวัณโรคระยะแพร่เชื้อได้ นอกจากนี้ การศึกษานี้ทำให้ตระหนักถึงการให้วัคซีนในพื้นที่ระบาดของโรคเท้าช้าง เนื่องจากวัคซีนบางตัวใช้ TLR agonist เช่น ซีพีจี โอลิโกดีออกซีทิวคลีโอไทด์ (CpG Oligodeoxynucleotide; CpG-ODN) เป็นตัวเสริมในกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเพื่อประสิทธิภาพของวัคซีน ซึ่งวัคซีนดังกล่าวอาจจะมีประสิทธิภาพไม่ดีนักหากใช้ในพื้นที่ที่มีการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างร่วมด้วย

## วิจารณ์

การศึกษานี้สรุปได้ว่าผู้ติดเชื้อวัณโรคและมีการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างร่วมด้วยมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัณโรคบกพร่อง ดังนั้นการรักษาโรคเท้าช้างนอกจากจะมีประโยชน์ต่อการควบคุมและกำจัดโรคเท้าช้างแล้ว

ยังเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการต้านวัณโรค โดยเฉพาะบริเวณชายแดนไทย-พม่าในอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก และในจังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งมีแรงงานพม่าอาศัยกันอยู่อย่างหนาแน่นในบริเวณที่อยู่อาศัยที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะของโรคเท้าช้าง ซึ่งแรงงานเหล่านี้ อาจมีทั้งพยาธิโรคเท้าช้างและวัณโรคแอบแฝงอยู่ และถึงแม้ว่าทั้งโรคเท้าช้างและวัณโรคเป็นโรคที่ต้องตรวจกรองแรงงานต่างด้าวก่อนที่จะเข้ามาทำงานในประเทศไทย แต่มีแรงงานจำนวนมากที่เข้ามาทำงานในประเทศไทยโดยผิดกฎหมาย ดังนั้นควรให้ยารักษาโรคเท้าช้างอย่างทั่วถึง และควรตระหนักถึงการแพร่กระจายของวัณโรคในผู้ป่วยโรคเท้าช้าง และผู้ติดเชื้ออื่น ๆ เช่น พยาธิใบไม้ในเลือดที่เป็นสาเหตุของโรค Schistosomiasis ซึ่งมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันผ่านทาง TLR เช่นกัน

อลิสสา จันทร์ปี

สุรางค์ นุชประยูร

Lymphatic Filariasis Research Unit, Department of Parasitology, and Chulalongkorn Medical Research Center, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

Reprint request: Nuchprayoon S. Lymphatic Filariasis Research Unit, Department of Parasitology, and Chulalongkorn Medical Research Center, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. E-mail: fmedstt@gmail.com