บทความพิเศษ

การผลิตและการประยุกต์ใช้โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์

วัฒนะ พันธุ์ม่วง*
นราทร ธรรมบุตร*

Panmoung W, Narathorn D. The production and application of monoclonal antibodies. Chula Med J 1986 Dec; 30(12) : 1179 - 1191

Hybridoma technology is a recent advance in immunological technique used to produce monoclonal antibodies. The antibody producing mouse spleen cells are made to fuse with mouse myeloma cells. The resultant hybrid cell line can secrete the specific monoclonal antibody which is characteristic of the immune spleen cells but at the same time is immortal because of its myeloma cell nature. These highly specific monoclonal antibodies have a wide range of usefulness in reasearch work especially in the field of medical science.

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปัจจุบัน แอนติบอดีย์ (antibodies) ที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคทางอิมมูนวิทยา (Immunodiagnostic) เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคต่าง ๆ ก็ดี หรือใช้ในคลีนิก เช่น แอนติท็อกซิน แอนติซีรั่ม ก็ดี เป็นแอนติบอดีย์ที่ได้จากการ immunized สัตว์ทดลองด้วย แอนติเจนที่ต้องการแล้วเจาะเลือดเก็บซีรั่มที่มีแอนติบอดีย์ต่อแอนติเจนนั่นไปใช้ แอนติซีรั่มที่ได้ข้อจำกัดหลายประการ คือ

ก. มีแอนติบอดีย์ชนิดอื่น ๆ ปะปนอยู่ในแอนติซีรั่มนั้นตามธรรมชาติเองอยู่แล้ว ซึ่งอาจรบกวนปฏิกริยาในการทดสอบที่ต้องการได้

ข. ไตเตอร์ของแอนติบอดีย์ไม่สูงมากนัก

ค. ซีรั่มที่ได้มีปริมาณจำกัดตามขนาดของสัตว์ที่ใช้

ง. การสร้างแอนติซีรั่มขึ้นใช้ใหม่ให้เหมือนกันทุกครั้งยากมาก เนื่องจากมีตัวแปรในการ immunization มาก จากข้อจำกัดต่าง ๆ เหล่านี้ นักวิทยาศาสตร์พยายามหาวิธีการใหม่ ๆ เพื่อผลิตแอนติบอดีย์ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนสูงและสร้างได้ปริมาณมาก

โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ (monoclonal antibodies) จึงเป็นวิธีการใหม่ที่มีประโยชน์ในการแก้ปัญหาต่าง ๆ ในทางอิมมูนวิทยาและกิจกรรมอื่น ๆ

เทคนิคการทำเซลล์ไฮบริดโนมา (Hybridoma technology)

1. หลักการผลิต hybrid cell line

ตามทฤษฎีการสร้างแอนติบอดีย์ของเบอร์เน็ท* นั้น กล่าวถึงเซลล์ต้นตระกูล (clone cell) 1 เซลล์จะสร้างแอนติบอดีย์จำเพาะต่อ 1 epitope** ของแอนติเจนที่สร้างแอนติบอดีย์ได้มารวมกับเซลล์ myeloma ที่เป็นมะเร็งของ พลาสมาเซลล์ เซลล์ myeloma ไม่สามารถสร้าง immunoglobulin ของตัวเองได้ แต่อาจสร้างได้เพียง heavy chain ของอิมมิวโนกลอบุลินเท่านั้น นอกจากนั้น เซลล์นี้ยังขาดเอ็นซัยม์ hypoxamthine phosphoribosyl-transferase (HPRT) ซึ่งเป็นเอ็นซัยม์ที่ก่อเกิดในการผลิตกรดนิวคลีอิค ฉะนั้นถ้าเลี้ยงเซลล์ myeloma นี้ในอาหารพิเศษ (HAT-medium)*** myeloma cells จะไม่เจริญเติบโต เพราะสาร aminopterin จะ "ยับยั้ง" การสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค (DNA) และขณะเดียวกันเซลล์นี้ขาดเอ็นซัยม์ HPRT จึงไม่สามารถใช้ hypoxanthine ในการผลิตกรดนิวคลีอิค Hybrid cell line ที่ได้จากการรวม (fused) ของเซลล์ somatic และเซลล์ myeloma นี้อาจเกิดจากเหตุ 2 ประการคือ เกิดจากการรวมตัวกันเองเฉย ๆ (spontaneous fusion) หรือโดนกระตุ้นด้วย inactivated Sendai virus ก็ได้[2] Kohler และคณะรายงานการพบวิธีที่เซลล์รวมตัวกันด้วย สาร polyethylene glycol และ HAT medium ทำให้สามารถแยกได้สายพันธุ์ไฮบริด เซลล์ วิธีนี้นิยมใช้กันในปัจจุบันมาก[3]

2. วิธีการผลิตสายพันธุ์ ไฮบริด เซลล์

ก. เซลล์ somatic ได้จากม้ามของหนูที่ immunized ด้วยแอนติเจนที่ต้องการก่อน

ข. ต่อมานำมารวมกับเซลล์ plasmacytoma ที่ไม่มีเอ็นซัยม์ HPRT

ค. ละลายส่วนผสมนั้นใน polyethylene glycol ร้อยละ 30-50

ง. นำไปเพาะเลี้ยงใน HAT medium เซลล์ somatic และเซลล์ myeloma ที่ไม่รวมตัวกัน (non fused จะตายไปภายใน 3-7 วัน ที่

---

* Burnet's clonal selective theory.

** epitope คือ antigenic determinant.

*** medium ที่ประกอบด้วย hypoxamthine, aminopterin และ thymidine นับว่าเป็น selective medium.[1]

เป็นเช่นนี้เพราะขาดเอ็นซัยม์ตามที่กล่าวมาแล้ว

Hybrid cell line ที่ได้จากการรวมตัวกันเท่านั้น จะสามารถเจริญเติบโตอยู่ได้เพราะอาศัยคุณสมบัติของเซลล์ทั้ง 2 ชนิดรวมกัน คือ

– จากเซลล์ somatic

ใช้เอ็นซัยม์ HPRT กับสามารถเลือกใช้ ยีน (immunoglobulin gene) ของเซลล์นี้สร้างแอนติบอดีย์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนนั้นปล่อยออกมาใน supernatant

– จากเซลล์มะเร็ง plasmacytoma

ความเป็นเซลล์มะเร็งทำให้เซลล์ไฮบริดโดมาเจริบโต เพิ่มจำนวนขึ้นได้อย่างรวดเร็วไม่มีวันสิ้นสุด (รูปที่ 1)

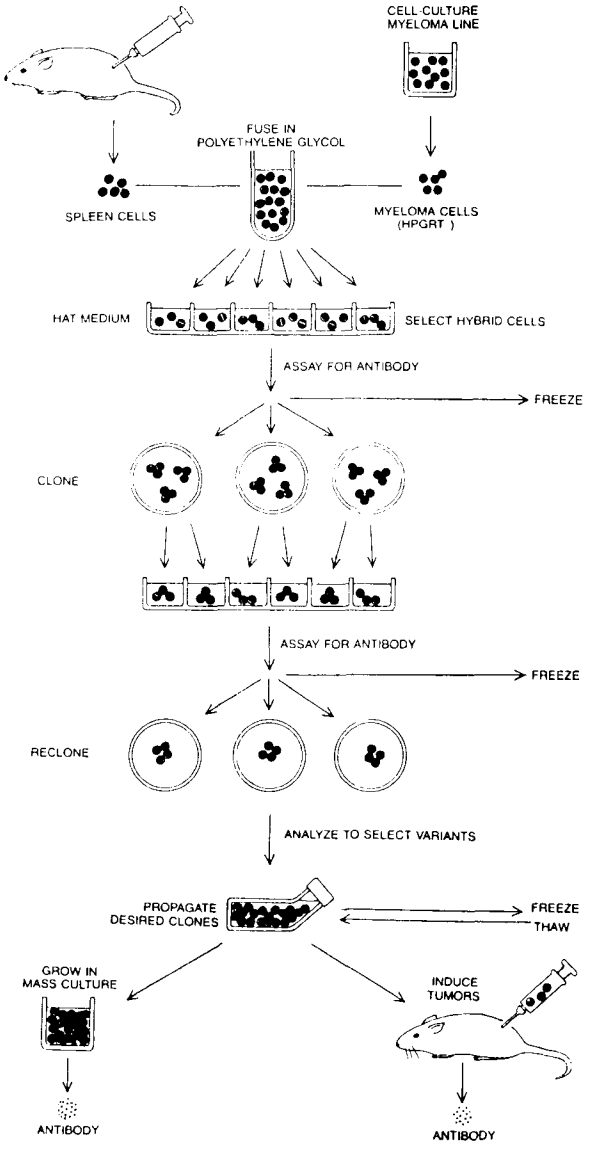

Figure 1 Schematic process of monoclonal antibody production

จ. ต่อมาทดสอบหาเซลล์ hybridoma clone ที่สร้างโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ที่จำเพาะ* ต่อแอนติเจนที่ต้องการใน culture supernatant นั้น

ฉ. ต่อมาถ่ายเซลล์ (subclone) เพื่อให้ได้เซลล์ตระกูลที่บริสุทธิ์มีกำเนิดมาจากโคลนเดียว

ช. เพิ่มจำนวนสายพันธ์ hybridoma บริสุทธิ์นี้ให้มากขึ้นเพื่อให้ได้ โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ปริมาณมากขึ้น

ซ. เมื่อต้องการแอนติบอดีย์ความเข้มข้นสูงเพิ่มขึ้น สามารถทำได้โดยการฉีดเซลล์ hybridoma ที่บริสุทธิ์นี้เข้าช่องท้องหนู เพื่อให้เซลล์แบ่งตัวในช่อง และชักพาให้เกิดน้ำในช่องท้องหนูซึ่งน้ำในช่องท้องที่เจาะได้นี้จะมี โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ปริมาณมากกว่าที่ได้จาก culture-supernatant 100-1,000 เท่า

โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ และ โพลีโคลนัล แอนติบอดีย์ (Monoclonal antibody and polyclonal antibody)

แอนติซีรั่มที่ได้จากการกระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดีย์ (antibody) นี้เป็นโพลีโคลนัล แอนติบอดีย์ (antibodies) ที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่ใช้กระตุ้น (รูปที่ 2) ถ้าใช้แอนติเจนที่มี 4 epitopes สัตว์ทดลองจะสร้างแอนติซีรั่มที่มีแอนติบอดีย์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนทั้ง 4 epitopes นั้น และต่อแอนติเจนชนิดอื่น ๆ ที่มีอยู่ในซีรั่มตามธรรมชาติ ฉะนั้น ถ้าต้องการ assay เอาแอนติซีรั่ม "a-epitopes-antibody" ที่บริสุทธิ์ย่อมทำไม่ได้ เพราะเป็น polyclonal antibodies ที่มีแอนติบอดีย์อื่น ๆ รวมอยู่และจะรบกวนการแยก - a-epitopes-antibody หรือถ้าจะนำแอนติซีรั่มแบบนี้ (โพลีโคลนัล) ไปทดสอบวินิจฉัยทางอิมมูนวิทยา "ความไว" ของการทดสอบจะได้ "ไตเตอร์" ต่ำ หรือเกิด "false positive" ขึ้นได้

ถ้าแอนติบอดีย์ที่ได้ เป็นโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ที่มาจากไฮบริด โคลน ที่บริสุทธิ์ และเป็นแอนติบอดีย์ที่เป็นอิมมิวโนกลอบูลิน ที่มีความจำเพาะต่อ epitope เดียวของแอนติเจนที่ใช้กระตุ้น และไม่มีแอนติบอดีย์ชนิดอื่นปะปนเข้ามารบกวนปฏิกริยา "แอนติเจน-แอนติบอดีย์" ฉะนั้น ความจำเพาะของโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ จึงสูงมาก (รูปที่ 3)[4]

* Specific monoclonal antibody

Figure 2

Figure 3

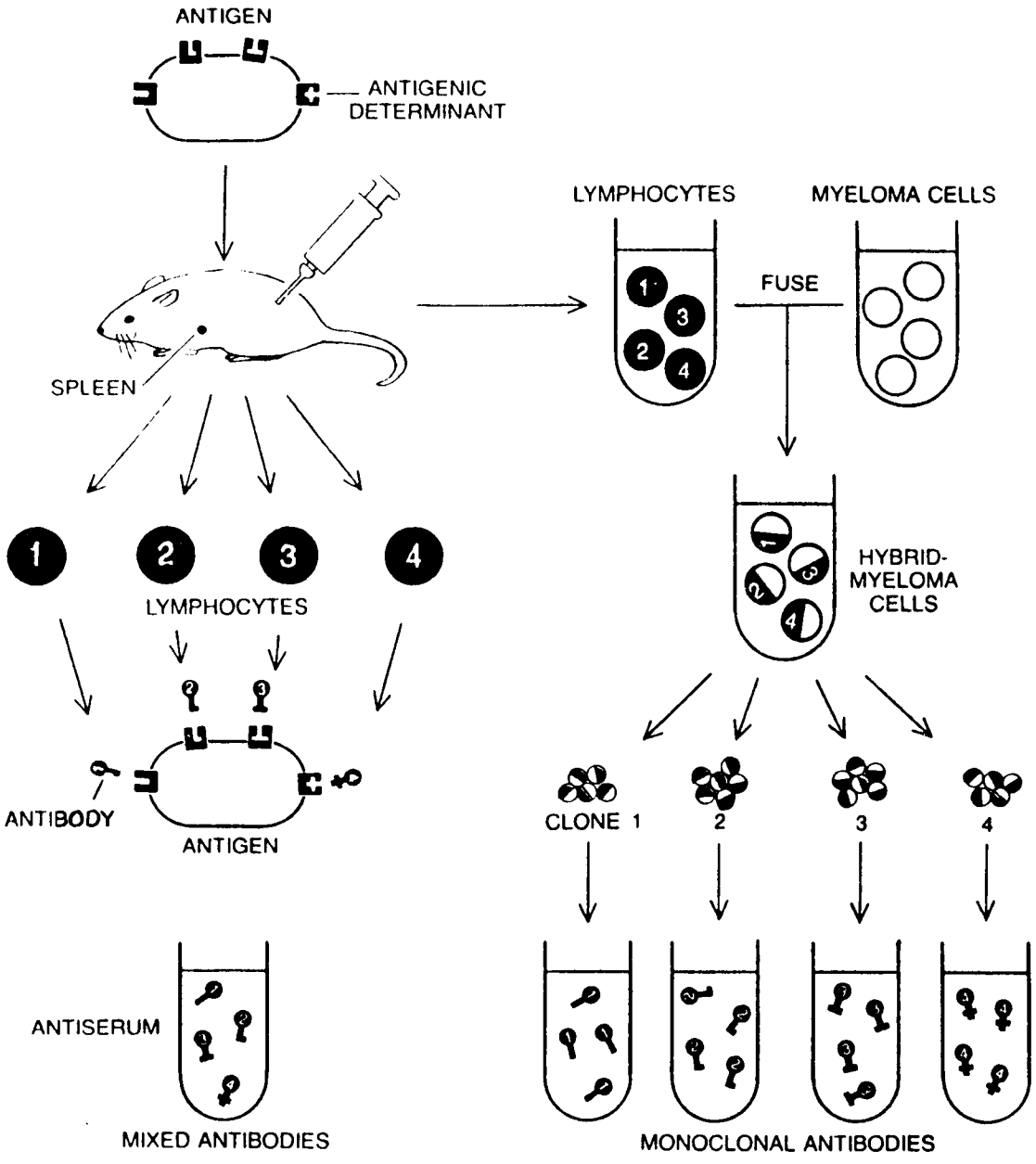

Figure 2,3 Comparison between mixed-antibodies (antiserum) and monoclonal antibodies (hybrid-myeloma cells).

ประโยชน์ของ โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์

การที่โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์มีความจำเพาะสูงต่อแอนติเจนทำให้มีการประยุกต์ นำโมโนโคลนัลมาใช้กันอย่างกว้างขวางในทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ เช่น ในด้านการช่วยวินิจฉัยโรคการผลิตวัคซีนชนิดใหม่ การวิจัยประยุกต์ตลอดจน clinical application ต่าง ๆ ภายหลัง ค.ศ. 1976 เป็นต้นมา โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ มีผู้นำมาใช้งานมาก ทำให้วิทยาการของอิมมูนวิทยาเจริญก้าวหน้าและยังมีผู้ประยุกต์นำ โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์นี้ไปใช้ในทางอื่น ทำให้วิทยาการแขนงนั้น ๆ ก้าวหน้าไปด้วย ดังต่อไปนี้;

1. ประโยชน์ในธนาคารเลือด

การใช้โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ต่อหมู่เลือดนั้น Voak และคณะ เตรียมสายพันธุ์ไฮบริด เซลล์ MHI/6D4 เพื่อสังเคราะห์โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ต่อเลือดคนหมู่ เอ และนำมาใช้เป็นรีเอเย็นต์ในการหาหมู่เลือดแทนวิธีการเดิม* ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน[5] นอกจากนั้น มีรายงานการเตรียมโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ต่อเลือดคนหมู่ บี ขึ้นมาใช้ประโยชน์ทำนองเดียวกัน[6,7] โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ของเลือดหมู่ เอ และ บี นี้สามารถทำปฏิกริยา hemagglutination ในการตรวจหมู่เลือด ABO typing ในห้องปฏิบัติการของธนาคารเลือดได้รวดเร็วและแม่นยำสูงมาก ทั้งทาง typing ประจำวันและงานฉุกเฉิน นอกจากนั้น ยังใช้ได้กับแบบ manual และกับเครื่องอัตโนมัติด้วย แม้ว่าเลือดจะเป็น weak antigen เป็นเลือดหมู่ A_1B หรือเลือดจากสายสะดือ (cord blood red cell) ก็ใช้ได้เป็นอย่างดี มีผู้รายงานเปรียบเทียบวิธีเดิมจากหมู่เลือดคน 1,421 ตัวอย่าง และ cord blood 169 ตัวอย่าง ปรากฏว่า โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์มีประสิทธิภาพของแอนติบอดีย์สูง และไม่เกิด false positive เลย[2]

ในปัจจุบัน ธนาคารเลือดในประเทศอังกฤษใช้โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ บรรจุในงานหาหมู่เลือดเป็นงานประจำแล้ว เพราะนอกจากจะมีความแม่นยำแล้ว ยังประหยัดเลือดที่จะเตรียมแอนติซีรั่ม เอ. และ บี. ได้ปีละ 1200 ลิตร

2. ประโยชน์ในการสกัดสารบริสุทธิ์

สารที่มีปริมาณน้อย ๆ ในชีววัตถุ เช่น interferon หรือ clotting factor VIII หรือฮอร์โมนส์ต่าง ๆ ถ้าต้องการสกัดให้เป็นสารบริสุทธิ์ต้องผ่านกรรมวิธีทางเคมีมากมายหลายขั้นตอน หรือต้องใช้เทคโนโลยีชั้นสูง สารอาจเสียคุณสมบัติได้ง่าย ทำให้สารนั้นมีราคาต้นทุนการผลิตสูง ไม่คุ้มค่าที่จะนำมาใช้ในการปฏิบัติ ถ้าใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดีย์ ผนวกกับเทคนิค "Affinity Column-Chromatography" โดยเคลือบโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ต่อแอนติเจนที่ต้องการนั้นบน solid phase ของ column chromatography (รูปที่ 4) เมื่อผ่านส่วนผสมของสารที่ต้องการลงไปในคอล์ลั่มสารที่ต้องการนั้นจะจับติดกับโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์บน solid phase ไว้ สิ่งต่าง ๆ ในส่วนผสมที่ไม่ต้องการจะหลุดไปตาม mobile phase หลังจากนั้นแยกสารนั้นออกจาก solid phase โดยใช้ พี.-เอช.ของ buffer หรือ ionic strength แยกให้หลุดออกมาตาม mobile phase ก็จะได้สารบริสุทธิ์ตามต้องการ เช่นการสกัดอินเตอร์เฟอร์รอนของมนุษย์จากไฟโบรบลาส-คัลเชอร์เพื่อนำอินเตอร์เฟอร์รอนบริสุทธิ์มาใช้รักษาโรคติดเชื้อไวรัสและมะเร็ง[8] การสกัด human factor V และ human factor VIII เพื่อนำมาใช้เป็น anti-hemophilic activity และพลาสม่าที่แยก clotting factors

* coventional antiserum.

เหล่านั้นออกไปแล้วสามารถใช้เป็นมาตรฐานเพื่อดูพลาสม่าอื่น ๆ ที่ผิดปกติ[9,10] การสกัดแอนติเจนที่สำคัญจากจุลินทรีย์ก่อโรค (infectious agents) ที่มีผลกระตุ้นให้โฮสท์มี protective antibody ต่อโรคติดเชื้อต่าง ๆ นั้นทำได้โดยนำแอนติเจนเหล่านั้นมาใช้เป็นวัคซีน เช่น การสกัด surface antigen ของไวรัส Hepatitis B มาใช้เป็นวัคซีน หรือสกัด malarial antigen จาก malarial culture เพื่อนำแอนติเจนนั้นมาใช้เป็นวัคซีนป้องกันโรคไข้จับสั่น[11-14]

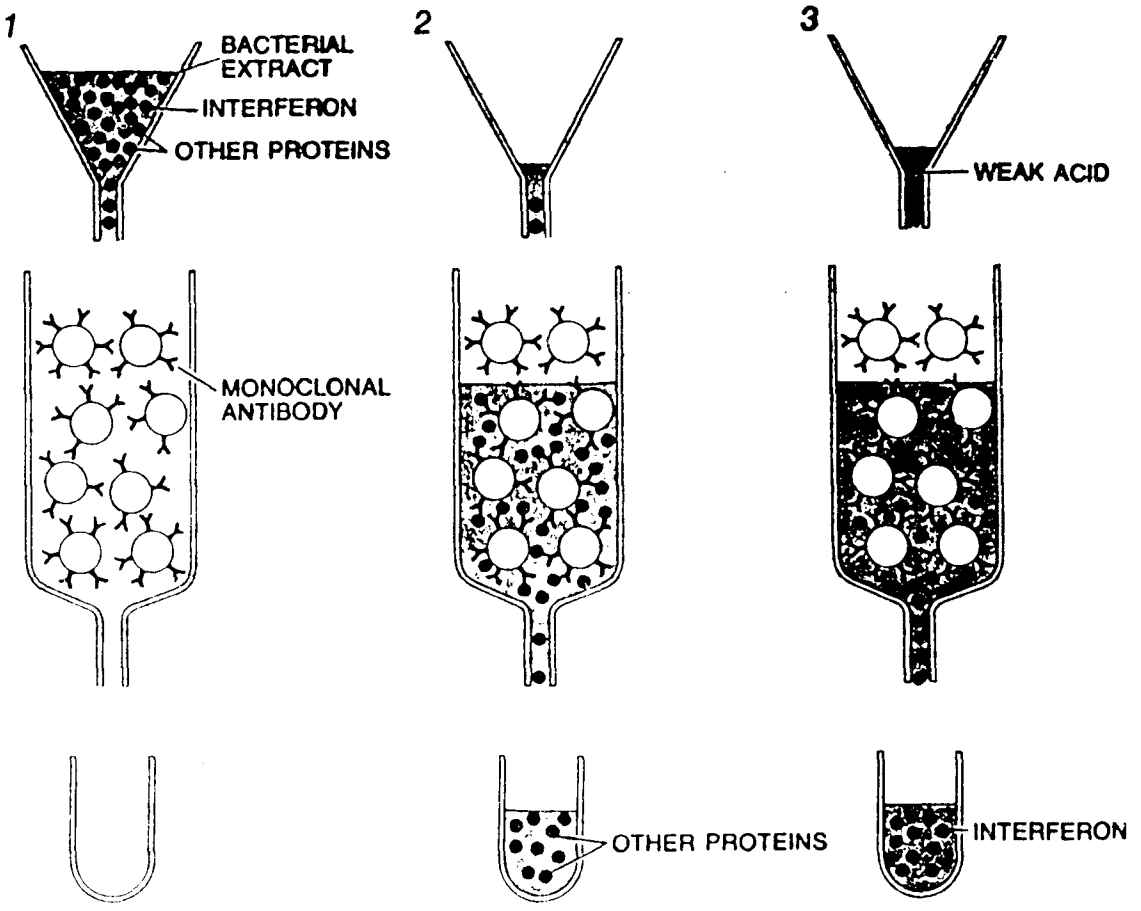

Figure 4 Isolation of interferon from the bacterial - extract and other proteins by affinity column chromatography.

3. การสืบค้นหาสารที่ต้องการใน antigenic mixture

สารบางชนิดมีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันกับสารที่ไม่ต้องการ เช่น neurofilament** หรือของไฟโบรบลาส สารเหล่านี้มีขนาดใกล้เคียงกับ microtubules การเตรียมโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ต่อ neurofilament ก็เพื่อเป็น "marker" ใช้ศึกษาโครงสร้างและการทำงานของ intermediate filament ภายในเซลล์แยกออกจากฟิลาเม็นต์อื่น ๆ ได้ ส่วนการหาสาร neurotransmitter-P นั้น สามารถใช้ โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ต่อสาร P ใช้ร่วมในการทดสอบ RIA*** สามารถตรวจหาสาร P จากเนื้อเยื่อที่มีปริมาณต่ำ ๆ (ขนาด 10-20 f โมล แอนติเจน)**** ได้ดี และสามารถหาตำแหน่งของสารได้โดยใช้ อิมมิวโน ฟลูโอเรสเซ็นต์-เท็คนิค หรือใช้วิธีย้อม immunoperoxidase เป็นเนื้อเยื่อนั้น[15,16]

4. การวิเคราะห์โครงสร้างของแอนติเจน และการผลิตวัคซีนแนวใหม่

สารบางชนิดมีโครงการสร้างคล้ายกันแต่มีหน้าที่การทำงานแตกต่างกัน เช่น ฮอร์โมน HCG LH และ FSH***** ซึ่งมีส่วนโครงสร้าง chain subunit คล้ายกันแต่แตกต่างกันที่ β chain ถ้าใช้โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ต่อ β chain subunit ของฮอร์โมนที่ต้องการตรวจหา ร่วมกับการทดสอบทางอิมมิวโนโลยีอื่นที่มีความไวสูง เช่น RIA[t] หรือ ELISA จะช่วยเพิ่มความจำเพาะของการทดสอบให้สูงขึ้น ทำให้การตรวจหาฮอร์โมนที่มีปริมาณน้อยและโครงสร้างคล้ายกับตัวอื่นนั้นได้ผลแม่นยำขึ้น[17]

ความจำเพาะของโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ต่อบริเวณที่เป็น antigenic determinant ของแอนติเจนนี้สามารถนำมาวิเคราะห์หาโครงสร้างของ amino acid sequence ของ polypeptide chain ที่ประกอบขึ้นเป็นแอนติเจน โดยใช้เทคนิคทางชีว-เคมีเข้าร่วมศึกษา วิเคราะห์หาโครงสร้างของชีวโมเลกุลที่ต้องการซึ่งอาจเป็น โครงสร้างง่าย ๆ หรือโครงสร้างที่สลับซับซ้อนการวิเคราะห์โครงสร้างของ antigenic epitope ที่ต้องการเป็นความรู้พื้นฐานของการนำ epitope นั้น มาใช้ผลิตวัคซีนชนิดใหม่ที่ยังไม่มีใช้ หรือปรับปรุงพัฒนาการผลิตวัคซีนที่มีใช้ในปัจจุบันให้ดียิ่งขึ้น เช่น วัคซีนป้องกันโรคตับอักเสบชนิด pre S state หรือส่วน surface antigen[18] การผลิตวัคซีน HTLV III วัคซีน บี.ซี.จี.ระยะ second generation หรือ third generation เป็นต้น การผลิตวัคซีนด้วยวิธีการของวิศวกรรม-พันธุ์ศาสตร์ (genetic engineering) หรือด้วยวิธีการสังเคราะห์ polypeptide chain ของส่วน epitope ของแอนติเจน กิจกรรมที่กล่าวมาต้องอาศัยความรู้พื้นฐานของโครงสร้างโมเลกุลของแอนติเจนทั้งสิ้น[19,20] แอนตี้เซรุ่มต่อท็อกซินที่ใช้ในคลีนิก เช่น แอนตี้ดิฟธีเรียท็อกซิน, anti-snake venin เป็นต้น ไม่สามารถเตรียมจาก human globulin ได้ เนื่องจากความมีพิษของท็อกซินที่ใช้ immunized host

ฉะนั้น แอนติเซรุ่มที่ใช้จึงต้องเตรียมจากสัตว์เท่านั้น และท็อกซินที่ใช้เป็น "Immunogen" มี

---

* Standard abnormal control plasma.

** Intermediate filament.

*** Radio immuno assay test.

**** 1 f mol = 10^{-3} n mol.

***** HCG = Human corigonadotropin. LH = Lutropin.
FSH = Follicle stimulating hormone.
[t]RIA = Radio immunoassay.
ELISA = Enzyme linked immunosorbent assay.

ปริมาณน้อย แต่ toxicity สูง ความจำเพาะของแอนติบอดีย์ต่อท็อกซินในแอนติเซรุ่มที่เตรียมจากสัตว์จึงต่ำลง ทำให้ในทางปฏิบัติต้องใช้ antiserum ในปริมาณมากเพื่อไป neutralized ท็อกซินในร่างกายให้หมด ดังนั้นอาจทำให้เกิด serum sickness ในผู้ป่วยได้ ถ้าสามารถเตรียมโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ต่อ specific antigenic epitope ของท็อกซินชนิดต่าง ๆ แล้ว, โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์นี้จะสามารถ neutralized ท็อกซินในร่างกายได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีความจำเพาะสูง และอาจใช้ในปริมาณน้อยก็พอเพียงกับการ neutralized ท็อกซินได้ ดังนั้น อาจจะใช้โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์จะเป็นประโยชน์ทางการแพทย์อย่างกว้างขวางในอนาคต

5. โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ กับมะเร็งบำบัดแนวใหม่

โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ต่อ tumor specific antigen ของมะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น carcino embrionic antigen,[21-23] Leiomyosarcoma,[24] breast carcinoma,[25] fetoprotein[26-27] ถูกนำมาใช้ในการทดสอบทางอิมมูนวิทยาต่าง ๆ เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคได้รวดเร็วและแม่นยำขึ้น

โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ที่มีความจำเพาะ (marker) ต่อมะเร็งนี้สามารถใช้ทำลายเซลล์มะเร็งทั้งในหลอดทดลองและในร่างกายได้ด้วยขบวนการต่าง ๆ เช่น

complement mediated cytolysis, phagocytosis หรือ ADCC* ดังมีรายงานการวิจัยและรายงานผู้ป่วยถึงการใช้โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์เป็น serotherapy ของมะเร็งชนิดต่าง ๆ ตัวอย่าง เช่น ใช้โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ L 17 F 12 รักษาผู้ป่วย T-cell lymphoma ผู้ป่วย response ดีในระยะแรกของการรักษา[28] Ritz และคณะ ใช้ monoclonal antibody J 5 รักษาผู้ป่วย ALL**[29] Levy และคณะ[30-31] ใช้ Anti-idiotypic monoclonal antibody รักษาผู้ป่วย B-cell lymphoma ผู้ป่วย 1 รายหาย (complete tumor regression) ใน 2 ปี มี partial regression 3 ราย และไม่หาย 5 ราย อิมมิวโนกลอบูลิน ที่ได้จากหนูที่ใช้ในสีร์โรบำบัด ส่วนใหญ่ไม่มีผลข้างเคียง บางรายแม้จะให้เป็นปริมาณมาก ๆ ก็ไม่มีผลทำให้เกิด serum sickness เหมือนกับซีรั่มจากม้า นอกจากนี้อาจใช้ติดฉลาก โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์กับ chemotherapeutic agents เพราะโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ช่วยให้ยานั้นเข้าไปออกฤทธิ์ที่เซลล์มะเร็งได้ตรงเป้าหมายขึ้น นอกจากนั้น อาจใช้ควบกับท็อกซินจากพืช (Ricin A), lipid vesicle ที่บรรจุ ด้วยยาหรือท็อกซิน หรือควบกับสารกัมมันตภาพรังสี การควบสิ่งต่าง ๆ กับโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ ก็เพื่อในการกำจัด tumor target โดยตรงเท่านั้น บางรายงานใช้ สีร์โรบำบัดภายหลังจากตัดก้อนมะเร็งออกไปแล้ว เพื่อกำจัดเซลล์มะเร็งที่อาจหลงเหลืออยู่ภายหลังผ่าตัด[32,33]

โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ที่ได้จากมนุษย์มีผู้นำมาใช้เป็นสีร์โรบำบัดในคนมากขึ้นเพื่อหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากสิ่งแปลกปลอม (foreign protein) ฉะนั้น โมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ จาก human cell line จึงมีการค้นคว้ากันมากขึ้น เช่น ผลิตโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ต่อไวรัสก่อโรคหัด[34] ต่อเซลล์เต้านม[25] อย่างไรก็ดี human hybridoma cell line ที่ได้มักไม่ทน (stable) มากนัก ฉะนั้น จึงต้องการเวลาในการศึกษาให้ลึกซึ้งต่อไปอีกมาก

---

* Antibody dependent cell mediated cytotoxicity.
** Acute lymphoblastic leukemia.

T-cell hybridoma

T-lymphocyte ก็สามารถ fused กับ T-cell tumorเกิดเป็น T-hybridoma clone ได้เช่นเดียวกัน T-hybridoma นี้สามารถสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลที่เกี่ยวข้องในขบวนการ cell mediated immune response เช่น lymphokines ชนิดต่าง ๆ Interferon, supressor factor, helper factor เป็นต้น โดย Clone cell นั้นจะผลิต mediator ออกมาเพียงชนิดเดียวและปล่อยออกมาใน culture supernatant และสร้างอย่างไม่รู้จักจบสิ้น Pure mediator ที่ได้นี้สามารถนำมาศึกษากลไกของกระบวนการ immune response ต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ใช้ศึกษา immunopathologic mechanism ของโรคต่าง ๆ ที่มี immunological derangment และสารบางชนิด เช่น r-Interferon นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อไวรัสและมะเร็งได้ Lymphokines ชนิดต่าง ๆ เช่น macrophages activating factor หรือ transfer factor นำมาใช้รักษาโรคทาง immunological unresponsivenness[35]

วิจารณ์

ที่ได้เรียบเรียงมาแสดงให้เห็นประโยชน์ของโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ในหลาย ๆ ทางเป็นต้นว่าใช้เป็นรีเอเย็นต์มาตรฐานในการตรวจหมู่เลือดแม่นยำสะดวก ประหยัดและมีความจำเพาะสูงกว่าเดิม นอกจากนั้น ยังใช้เป็น "model" ในเชิงอุตสาหกรรมทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำลงกว่าเดิม ยิ่งไปกว่านั้น แอนติบอดีย์นี้ยังมีประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวัคซีนแบบใหม่ป้องกันโรคติดเชื้อที่อันตรายได้อย่างมีประสิทธิภาพ ฉะนั้น คาดหมายได้ว่าในอนาคตมนุษย์สามารถป้องกันโรคติดเชื้อที่เกิดขึ้นใหม่ ๆ เช่น โรคหัดเยอรมัน ตับอักเสบและโรคพิษสุนัขบ้า หรือแม้กระทั่งโรคเอดส์ให้หมดไปได้เป็นอย่างดี อนึ่ง การบำบัดโรคมะเร็งในปัจจุบันใช้ chemotherapy รังสีบำบัดและศัลยกรรมบำบัดนั้น ในอนาคตเชื่อว่าโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์ จะเข้ามามีบทบาทสำคัญในการควบคุม ป้องกัน และสีร์โรบำบัดโรคมะเร็งอีกหลายโรค ฉะนั้น จึงมีการคิดค้นนำโมโนโคลนัลแอนติบอดีย์ไปประยุกต์ทั้งในทางแพทย์ วิทยาศาสตร์ทั่วไปและในทางอุตสาหกรรม

อย่างไรก็ดีข้อเสียของ monoclonal antibodies ก็มีอยู่กล่าวคือ

การผลิต hybrid cell line ที่สร้างแอนติบอดีย์ต่อแอนติเจนที่ต้องการนั้น มีขั้นตอนที่ยุ่งยากตั้งแต่การเตรียมแอนติเจนบริสุทธิ์หรือบริสุทธิ์บางส่วนเพื่อฉีดกระตุ้นหนู การตรวจหาแอนติบอดีย์ที่ต้องการแต่มีปริมาณน้อย ต้องใช้วิธีการตรวจที่มีความไวสูงเข้าช่วย เช่น ELISA หรือ RIA test การเลือกหา clone เซลบริสุทธิ์ที่สร้างแอนติบอดีย์ชนิดเดียวและเป็น clone เสถียร แบ่งตัวได้ไม่รู้จักจบสิ้น ซึ่งต้องตรวจหาให้ทันกับการเจริญเติบโตของ clone เซลล์ในหลอดทดลอง ดังนั้นการผลิต hybrid cell lines ขึ้นมานั้นจะต้องใช้กำลังเงิน, แรงงาน และกำลังใจของผู้ทำงานอย่างสูง และยังต้องใช้ความร่วมมือระหว่างหน่วยงานต่าง ๆ ที่มีเครื่องมือทันสมัยอยู่แล้วไม่ต้องจัดหาซื้อใหม่ อย่างไรก็ดีการทำ Hybridoma cell นี้ มีโอกาสที่จะเป็นไปได้สูงกว่าการทำวิศวกรรมพันธุศาสตร์ในขั้นตอนของการตัดต่อยีนส์ซึ่งต้องใช้เครื่องมือและเทคโนโลยีขั้นสูงในการทำ

สำหรับประเทศไทยนั้น แม้ว่าใช้ แอนติซีรั่มจากพลาสม่าของคนหรือสัตว์ที่ถูก immunized ด้วยแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงเป็นน้ำยาทดสอบมาตรฐานภายใต้การควบคุมขององค์การอนามัยโลกก็ตาม ในไม่ช้าคงจะนำโมโนโคลนัล แอนติบอดีย์มาใช้ในธนาคารเลือด ในการป้องกันโรคระบาด โรคติดเชื้อต่าง ๆ เช่น โรคพิษสุนัขบ้า โรคงูพิษกัด ซึ่งทำให้อัตราตายลดลง และบรรดาลให้ประชากรโลกมีสุขภาพดีถ้วนหน้าในปี พ.ศ. 2543

อ้างอิง

1. Littlefield JW. Selection of hybrids from mating of fibroblasts in vitro and their presumed recombinants, Science 1964 Aug 21; 145(3634) : 709-710
2. Milstein C, Clark MR, Galfre G, Cuello AC, Monoclonal antibodies from Hybrid myelomas. IN : Fougereau M, Dausset J, eds. Fourth International Congress of Immunology : Progress in Immunology IV. Academic Press, 1980. 17-33
3. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975 Aug 7; 256(5517) : 495-497
4. Sevier ED, David GS, Martinis J, Desmound WJ, Bartholomew RM, Wang R. Monoclonal antibodies in clinical immunology. Clin Chem 1981 Nov; 27(11) : 1797-1806
5. Voak D, Sack S, Alderson T, Takei F, Lennox E, Jarvis J, Milstein C, Darnborough J. Monoclonal anti-A from a hybrid -myeloma : evaluation as a blood grouping reagent. Vox Sang 1980 Sep; 39(3) : 134-140
6. Sacks SH, Lennox ES. Monoclonal anti-B as a new blood-typing reagent. Vox Sang 1981 Feb; 40(2) : 99-104
7. Barrie EK, Fraser RH, Munro AC, Williumson AR, HaMilton EA, Mitchell R. Monoclonal anti-B produced by the immunization of mice with soluble salivary glycoproteins. J Immunogeneties 1983 Feb; 10(1) : 41-44
8. Secher DS, Burke DC. A monoclonal antibody for large-scale purification of human leukoeyte interferon. Nature 1980 Jun 12; 285(5765) : 446-450
9. Foster WB, Tucher M, Katzman JA, Miller RS, Nesheim ME, Mann KG. Monoclonal antibodies to human coagulation factor V and factor Va. Blood 1983 Jun; 61(6) : 1060-1067
10. Sola B, Avner P, Sultan Y, Jeanneau C, Maisonneuve P. Monoclonal antibodies against human factor VIII molecular neutralize antihemophilic factor and ristocein cofactor activities. Proc Natl Acad Sci USA 1982 Jan; 79(1) : 183-187
11. Kim KJ, Taylor DW, Evans CB, Asofsky R. Radioimmunoassay for detecting antibodies against murine malarial parasite antigens : monoclonal antibodies recoguizing Plasmodium yoelii antigens. J Immunol 1980 Dec; 125(6) : 2565-2569
12. Perrin LH, Ramires E, Lambert PH, Misscher PA. Inhibition of P. falciparum growth in human erythrocytes by monoclonal antibodies. Nature 1981 Jan 22; 289(5795) : 301-303
13. Yoshida N, Nussenzgwig RS, Potocujak P, Nussenzweig V, Aikawa M. Hybridoma produces protective antibodies directed against the sporozoite stage of malaria parasite. Science 1980 Jan 4; 207(4426) : 71-73
14. Rener J, Carter R, Rosenberg Y, Miller LH. Anti-gamete monoclonal antibodies synergistically block transmission of malaria by preventing fertilization in the mosquito. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1980 Nov; 77(11) : 6767-6799
15. Lane EB. Monoclonal antibodies provide specific intramolecular markers for the study of epithelial tenofilament organization. J Cell Biol 1982 Mar; 92(3) : 665-673

16. Cuello AC, Galfre G, Milstein C. Detection of substance P in the central-nervous system by a monoclonal antibody. Proc Natl Acod Sci U.S.A. 1979 Jul; 76(1) : 3532-3536
17. Stahli C, Takacs B, Kocyba C. Distinction of epitopes by monoclonal antibodies. Methods in Enzymol 1983; 92 : 242
18. Cuello AC, Galfre G, Milstein C. Development of a monoclonal antibody against a neuroreactive peptide : immunocytochemical applications. Adv Biochem Psychopharmacol 1980; 21 : 349-63
19. Pollock RR, Teillaud JL. Scharff MD. Monoclonal antibodies : a powerful tool for selecting and analysing mutations in the antigens and antibodies. Annu Rev Microbiol 1984; 38 : 389-417
20. Shinnick TM, Sutcliffe JG, Green N, Lerner RA. Synthetic peptide immunogens as vaccines. Annu Rev Microbiol 1983; 37 : 425-426
21. Accolla RS, Carrel S, Mach J. Monoclonal antibodies specific for carcinoembrionic antigen and produced by two hybrid cell lines. Proc Natl Acad Sci USA 1980 Jan; 77(1) : 563-566
22. Herlyn DM, Steplewski Z, Herlyn MF, Koprowski H. Inhibition of growth of colorectal carcinoma in nude mice by monoclonal antibody. Cancer Res 1980 Mar; 40(3)) : 717-721
23. Steplewski Z. Monoclonal antibodies to human tumor antigens. Transplant Proc 1980 Sep; 12(3) : 384-387
24. Deng C, Terasaki P, El-Awar N, Billing R, Cicciarelli J, Lagasse L. Cytotoxic monoclonal antibody to a human leiomyosarcoma. Lancet 1981 Feb 21; 1(8217) : 403-405
25. Schlom J, Wunderlich D, Teramoto YA. Generation of human monoclonal antibodies reactive with human mammary carcinoma cells. Proc Natl Acad Sci USA 1980; 77(11) : 6841-6845
26. Uotila M, Engvall E, Ruoslabti E. Monoclonal antibodies to human alphafetoprotein. Mol Immunol 1980 Jun; 17(6) : 741-748
27. Tsung YK, Milunsky A, Alpert E. Derivation and characterization of a monoclonal hybridoma antibody specific for human alpha-fetoprotein. J Immunal Methods 1980; 39 : 363-368
28. Miller RA, Maloney DG, McKillop J, Levy R. In Vivo effects of murine hybidoma monoclonal antibody in a patient with T-cell leukemia. Blood 1981 Jul; 58(1) : 78-86
29. Ritz J, Pesando JM, Sallan SE, Clavell LA, McConarty JN, Rosenthal P, Schlosman SF. Serotherapy of acute lymphoblastic leukemia with monoclonal antibody. Blood 1981 Jul; 58(1) : 141-152
30. Miller RA, Maloney DG, Warnke R, Levy R. Treatment of B-cell lymphoma with monoclonal anti-idiotypic antibody. N Engl J Med 1982 Mar 4; 306(9) : 517-522
31. Yamamura Y. A Brief Overview of recent progress in tumor immunotherapy. In : Y. Yamanura, T Tada, eds. Progress in Immunology V : Fifth International Congress of Immunology, London : Academic Press, 1983. 1229
32. Raso V, Griffin T. Specific cytotoxicty of a human immunoglobulin directed Fab-Ricin A chain conjugate. J Immunol 1980 Dec; 125(6) : 2610-2616
33. Leserman LD, Barbet J, Kourilsky F. Targeting to cells of fluorescent liposomes covalently coupled with monoclonal antibody or protein A. Nature 1980 Dec 11; 288(5791) : 602-604

34. Croce CM, Linnenback A, Hall W, Steplewski Z, Koprowski H. Production of human hybridomas secreting antibodies to measles virus. Nature 1980 Dec 4; 288(5790) : 488-489

35. Bochmer HV, Haas W, Kohler G, Melchers F, Zenthen J. T-hybridoma. In Bochmer HV, Kohler G eds; Microbiology and Immunology New York : Springer-Verlag, 1982; 199 : 1-260

36. Wood JN, Anderton BH. Monoclonal antibodies to mammalian neurofilaments. Bioscei Rep 1981 Mar; (3) : 263-268

37. Deinhardt F, Zachoval R, Frosner H, Frosner G. Passive Active Immunization Against Hepatitis B. In : Krugman S, Sherlock S, eds. Proceedings of the European symposium on Hepatitis B. New Jersey : Merch Sharp & Dohme, 1981. 140

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 9 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2529