บทฟื้นฟูวิชาการ

# วัคซีนสำหรับโรคมาลาเรีย

รัชนา ศานติยานนท์*

**Santiyanont R. Malaria vaccine. Chula Med J 1984 Jun; 28 (6) : 657–674**

*Malaria is still a major disease causing much problems in tropical countries all over the world. The failure of present control programmes involving chemical agents has led to the development of malaria vaccine. The vaccine can be of three types : sporozoite vaccine which will inhibit malaria infection of the vertebrate host from the mosquito vector; vaccine against asexual blood stages which will inhibit invasion of merozoite into red blood cells and thus prevent clinical manifestations of the disease; and gamete vaccine which will inactivate male gamete thereby rendering fertilization impossible and preventing infection of mosquito, thus blocking transmission of the disease. Malaria antigens for each type of vaccine have been characterized and identified. The use of genetic engineering and chemical synthesis have made possible production of large amount of the desired antigens. Monoclonal antibody techniques have also served as a useful tool for identification of these protective antigens. However many problems in production and utilization of the vaccines still exist. It is necessary to find a compatible adjuvant for human use, and tests for both efficacy and toxicity of malaria vaccines have yet to be performed. It is obvious that a malaria vaccine alone cannot eliminate the infection but its integration into the current control programme will result in a more efficacious measure to eradicate this disease*

* ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มาลาเรียยังคงเป็นโรคที่ก่อให้เกิดปัญหาสาธารณสุขในหลายประเทศทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศต่าง ๆ ที่อยู่ในภูมิภาคเขตร้อน ได้มีประมาณการว่าในปีหนึ่ง ๆ จะมีผู้ป่วยมาลาเรีย 200 ล้านคน และมีอัตราการตายสูงถึง 2 ล้านคน เฉพาะในประเทศไทยภายในปี 2525 มีผู้ป่วยมาลาเรียที่รายงานโดยกองมาลาเรีย กระทรวงสาธารณสุข 420,799 คน และมีจำนวนผู้เสียชีวิต 3,779 ราย[1] ซึ่งอัตราการป่วยและตายที่แท้จริงย่อมสูงกว่านี้มาก การตายและการเจ็บป่วยจากมาลาเรียนี้ได้ก่อให้เกิดปัญหาและเป็นอุปสรรคอย่างใหญ่หลวงต่อการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมของภูมิภาคต่าง ๆ ในเขตร้อนทั่วโลก[2] ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการควบคุมและป้องกันโรคที่ได้ผล

ในปัจจุบัน การควบคุมและป้องกันมาลาเรียไม่ได้ผลดี เนื่องมาจากปัญหาต่าง ๆ หลายประการ ตั้งแต่การที่ยุงซึ่งเป็นพาหะนำโรคได้พัฒนาความต้านทานต่อยาฆ่าแมลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งดีดีที ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงอุปนิสัยของยุงมากัดคนนอกบ้าน แล้วไปเกาะพักนอกบ้าน ทำให้การพ่นดีดีทีชนิดออกฤทธิ์ตกค้างที่พ่นไว้ตามเพดานฝาผนังด้านในของบ้านไม่ได้ผล[1] นอกจากนี้ ตัวเชื้อมาลาเรียเองยังมีความต้านทานต่อยาที่ใช้รักษา ทั้งยาที่ใช้กันมาแต่ดั้งเดิมอย่างควินิน หรือคลอโรควิน หรือ ยาที่ให้ผลดีอื่น ๆ เช่น ซัลฟาด็อกซิน–ไพริเมธามิน (แฟนซิดาร์) หรือแม้แต่ยาที่เพิ่งสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ ยังไม่มีการนำมาใช้แพร่หลายอย่างเมโฟลควิน ปัญหาการเคลื่อนย้ายถิ่นฐานของประชากรก็เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดการแพร่ระบาดของมาลาเรีย โดยเฉพาะมาลาเรียชนิดดื้อยาเพิ่มมากขึ้น ทำให้การควบคุมป้องกันโรคไม่ได้ผล ดังนั้นจึงได้มีการคิดหาหนทางอื่นเข้ามาร่วมในการควบคุมโรคนี้

ขณะนี้ เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปแล้วว่าการผลิตวัคซีนสำหรับมาลาเรีย เป็นหนทางหนึ่งในการรณรงค์ปราบปรามมาลาเรียให้ได้ผล ห้องปฏิบัติการในสถาบันวิจัยและมหาวิทยาลัยต่าง ๆ หลายร้อยแห่งทั่วโลกกำลังขะมักเขม้นทำการค้นคว้าวิจัยทางด้านภูมิคุ้มกันในมาลาเรีย โดยใช้สัตว์ทดลองหลากชนิด ตั้งแต่หนู mice หนู rat ลิงหางกระรอก ลิงหน้านกฮูก ลิงวอก ลิงกัง ไปจนถึงมนุษย์ เนื่องจากเล็งเห็นความสำคัญและความจำเป็นดังกล่าว ในปีพ.ศ. 2518 องค์การอนามัยโลก ได้ตกลงว่าจะเน้นการให้ความสนับสนุนกิจกรรมงานวิจัยเกี่ยวกับโรคในเขตร้อนที่สำคัญหกโรค ซึ่งก็มีมาลาเรียรวมอยู่ด้วย[3]

เชื้อมาลาเรียมากกว่า 100 สปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์มีกระดูกสันหลัง เช่น หนู (ทั้ง mice และ rat) นก เป็ด ไก่ งู ลิง และ

คน เป็นต้น เฉพาะในคนมีถึงสี่สปีชีส์ ได้แก่ *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* และ *Plasmodium ovale* ซึ่งทั้งหมดนี้ *Plasmodium falciparum* เป็นชนิดที่ร้ายแรงที่สุดสามารถก่อให้เกิดอาการมาลาเรียขึ้นสมอง และทำให้เสียชีวิตได้ เนื่องจากเป็นเชื้อมาลาเรียที่ทำให้เกิดปัญหาสำคัญ ประกอบกับได้มีการค้นคว้าพัฒนาความรู้ต่าง ๆ เกี่ยวกับเชื้อมาลาเรียชนิดนี้อย่างกว้างขวาง ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium falciparum* เท่านั้น

## วงชีพของเชื้อมาลาเรีย (Life cycle of Plasmodium falciparum)

เมื่อยุงก้นปล่อง *(Anopheles)* ตัวเมียที่มีเชื้อมาลาเรียกัดคน เพื่อนำเลือดไปใช้ในขบวนการเติบโตของไข่ที่ผสมแล้ว ระหว่างที่ปล่อยน้ำลายออกมาเพื่อเจือจางเลือด และมิให้เลือดแข็งตัว เชื้อมาลาเรียระยะ *sporozoite* จะถูกปล่อยเข้ากระแสโลหิตของคนแล้วจะถูกขจัดออกจากกระแสโลหิตภายใน 30 นาทีโดยขบวนการ phagocytosis ของ Küpffer cells และเข้าไปสู่ parenchymal cell ของตับ ที่นี่เชื้อมาลาเรียจะมีการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศเรียกว่า schizogony ดังนั้น ในระหว่างนี้ประมาณ 5–7 วันจะยังไม่พบเชื้อมาลาเรียในกระแสโลหิต และผู้ป่วยจะยังไม่มีอาการของโรค

เมื่อเซลล์ของตับเจริญเต็มที่ก็จะแตกและปล่อยเชื้อมาลาเรียระยะ *merozoite* ออกมา ซึ่งจะผ่านเข้าสู่เฉพาะเม็ดโลหิตแดงเท่านั้น ในขณะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงก็จะเกิดการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศขึ้นอีก โดย merozoite ที่ผ่านเข้าไปจะเจริญเป็นระยะวงแหวน (ring) ต่อมามีการสร้างไซโตพลาสมเพิ่มขึ้นเป็นระยะ trophozoite และเมื่อมีการแบ่งนิวเคลียสก็จะเรียกว่า schizont แต่ละ nucleus ก็จะเจริญเป็น merozoite อยู่ภายใน schizont นี้ เมื่อ schizont เจริญเต็มที่จะมี 12–24 merozoites ต่อเซลล์ เม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อมาลาเรียก็จะแตกออก ปล่อย merozoite ออกมา ซึ่ง merozoite นี้ ก็จะผ่านเข้าสู่เม็ดโลหิตแดงเม็ดใหม่ เริ่มต้นวงจรของการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศภายในเม็ดโลหิตแดงอีกครั้งหนึ่ง ระยะเวลาของแต่ละวงจรเริ่มจาก merozoite ผ่านเข้าสู่เม็ดโลหิตแดง จนเม็ดโลหิตแดงแตกปล่อย merozoite ออกมา กินเวลา 48 ชั่วโมง ในขณะที่เม็ดเลือดแดงแตกและปล่อย merozoite รวมทั้งสารอื่น ๆ ซึ่งเป็นสิ่งแปลกปลอมต่อร่างกายออกมานี้เองที่ก่อให้เกิดอาการและอาการปรากฏของโรคมาลาเรีย

ระหว่างการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศในเม็ดโลหิตแดง จะมี merozoite บางตัวพัฒนาไปเป็น gametocyte ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งจะทำให้

ยุงก้นปล่องติดเชื้อได้ เมื่อยุงมากัดกินเลือดของผู้ป่วยมาลาเรีย เชื้อมาลาเรียระยะ gametocyte ภายในกระเพาะของยุงก็จะเจริญเป็น gamete และมีการสืบพันธุ์แบบมีเพศ หลังจากนั้นจะมีการพัฒนาต่อไปอีกหลายระยะ ภายในเวลาประมาณสองอาทิตย์ ก็จะปรากฏ sporozoite อยู่ภายในต่อมน้ำลายของยุง เมื่อยุงมากัดคน ก็จะทำให้ติดเชื้อมาลาเรีย วนเวียนเช่นนี้เรื่อยไป (รูปที่ 1)

## ภูมิคุ้มกันในโรคมาลาเรีย

เมื่อคนได้รับเชื้อมาลาเรียบ่อย ๆ ร่างกายจะค่อย ๆ สร้างภูมิคุ้มกันขึ้นต่อต้านเชื้อนั้น แต่ภูมิคุ้มกันนี้เพียงแต่ควบคุมอาการของโรคเท่านั้น ไม่สามารถกำจัดโรคได้อย่างสิ้นเชิง ภูมิคุ้มกันนี้เรียกว่า "premunition"[4]

หลักฐานเกี่ยวกับการเกิดภูมิคุ้มกันต่อมาลาเรีย ได้จากการสังเกตในสมัยต้น ที่ชาวยุโรปซึ่งไปตั้งถิ่นฐานอยู่ในดินแดนที่มีมาลาเรียระบาดชุกชุม จะเป็นมาลาเรียชนิดเฉียบพลัน และมีอาการรุนแรงในช่วงปีแรก แต่ในปีต่อ ๆ มา ความรุนแรงของโรคที่เป็นอีกจะลดน้อยลงเรื่อย ๆ ในเขตระบาดของมาลาเรีย เด็กอ่อนในช่วงสามเดือนแรก จะมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อมาลาเรีย โดยได้รับผ่านทางรกขณะอยู่ในครรภ์ และได้รับบ้างทางน้ำนมจากมารดา จึงได้รับความคุ้มครองไม่เป็นโรคนี้ แต่หลังจากนี้ ภูมิคุ้มกัน (IgG) ที่ได้รับมาค่อย ๆ ลดระดับลง เด็กจะติดเชื้อมาลาเรียได้โดยง่าย อีกทั้งเนื่องจากในวัยเด็ก ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายยังทำงานไม่เต็มที่ เด็กที่ขาดภูมิคุ้มกันนี้จึงป่วยอย่างรุนแรง อาจถึงแก่เสียชีวิต ช่วงอายุสี่เดือนถึงห้าปีแรกของชีวิตจึงเป็นช่วงอันตรายอย่างยิ่งสำหรับเด็กที่อาศัยอยู่ในเขตระบาดของมาลาเรีย แต่เมื่อเด็กเติบโตขึ้น มีการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น อาการหรือความรุนแรงของโรคจะน้อยลง และเมื่อเป็นผู้ใหญ่ก็มักจะไม่ค่อยพบการติดเชื้อมาลาเรียแบบเฉียบพลัน แต่จะพบเชื้อมาลาเรียจำนวนน้อยในกระแสโลหิตอยู่เสมอ โดยที่อาจแสดงหรือไม่แสดงอาการของโรคออกมา[5,6]

ในทางตรงกันข้าม มาลาเรียที่เกิดขึ้นในสัตว์หลายประเภทสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันชนิดกำจัดหมด (sterilizing immunity) เช่น เมื่อหนู (rat) ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. berghei* หรือหนู (mice) ที่ติดเชื้อมาลาเรีย *P. yoelii* หรือ *P. chabaudi* เมื่อหายแล้วจะเกิดภูมิคุ้มกัน ถ้าให้เชื้อมาลาเรียเข้าไปใหม่ จะมีการกำจัดเชื้อมาลาเรียนั้นออกหมดจากกระแสโลหิต และมีภูมิคุ้มกันตลอดชีพต่อเชื้อมาลาเรียนั้น[7,8]

## วัคซีนสำหรับมาลาเรีย

ถ้าพิจารณาจากวงชีพของเชื้อมาลาเรีย (รูปที่ 1) จะเห็นได้ว่าเชื้อมาลาเรียมีการเจริญ

และพัฒนาการขั้นต่าง ๆ หลายระยะ เช่น การผสมพันธุ์และสร้าง sporozoite (fertilization and sporogony) ในยุงก้นปล่องที่เป็นพาหะนำโรค มีการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศทั้งภายนอกและภายในเม็ดโลหิตแดง (exoerythrocytic and erythrocytic schizogony) ตลอดจนการเจริญของเชื้อมาลาเรียแบบมีเพศ (gametocytogony) แต่ละขั้นตอนก็จะมีเชื้อมาลาเรียซึ่งทำให้คนหรือยุงติดเชื้อได้

หากจะมีการผลิตวัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียระยะต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าวัคซีนต่อ sporozoite สามารถป้องกันคนจากการติดเชื้อเมื่อถูกยุงกัด แต่วัคซีนนี้จะต้องให้ผลในการคุ้มกันที่สมบูรณ์ เพราะหากมี sporozoite เพียงตัวเดียว หลุดรอดจากระบบภูมิคุ้มกันนี้ไปได้ ก็จะสามารถเข้าไปเจริญเติบโตในเซลล์ตับ ซึ่งถึงแม้อาจจะทำให้เกิดโรคช้ากว่าปกติ แต่ผลสุดท้ายจะแสดงอาการของโรคเหมือนกับผู้ที่มิได้รับวัคซีน

วัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียระยะ merozoite จะขัดขวางมิให้ merozoite ผ่านเข้าไปในเม็ดโลหิตแดง และเนื่องจากเชื้อมาลาเรียจำเป็นต้องอาศัยอยู่ภายในเซลล์เท่านั้น เมื่อผ่านเข้าเซลล์ไม่ได้ก็ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ผู้ที่ได้รับวัคซีนชนิดนี้จะไม่มีอาการของโรค

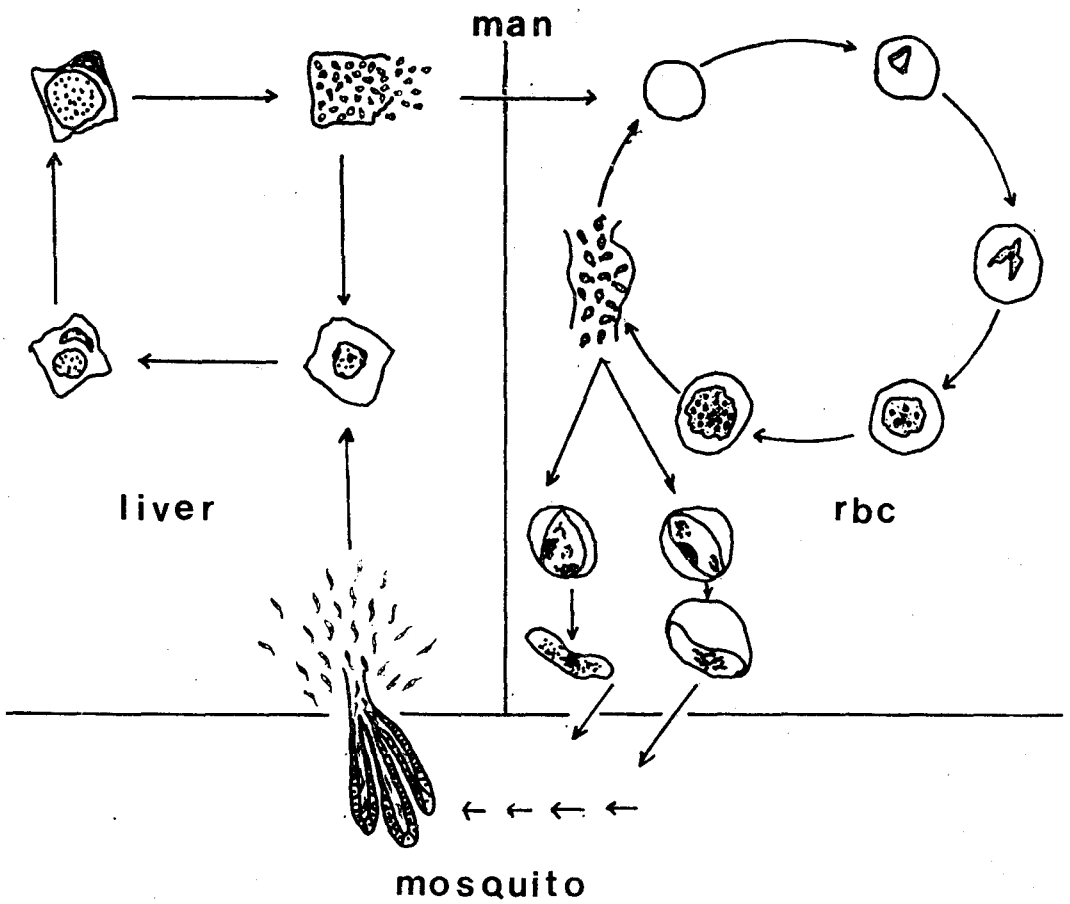


**Figure 1.** Life cycle of *P. falciparum*

แอนติเจนบนเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดโลหิตแดงติดเชื้อมาลาเรียเป็นจุดสนใจในการผลิตวัคซีนเช่นกัน เนื่องจากแอนติเจนนี้ปรากฏอยู่ที่ด้านนอกของเซลล์ซึ่งสะดวกต่อการที่แอนติบอดีจะไปทำปฏิกิริยาด้วย วัคซีนต่อแอนติเจนนี้จะเหนี่ยวนำให้เกิดแอนติบอดี ซึ่งจะก่อให้เกิดการเลือกทำลายเฉพาะเม็ดโลหิตแดงติดเชื้อเมื่อเม็ดโลหิตแดงแตก เชื้อมาลาเรียหลุดออกมาอยู่ภายนอกเซลล์ ไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ จึงเป็นการกำจัดเชื้อมาลาเรียอีกวิธีหนึ่ง

สำหรับวัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียแบบมีเพศระยะ gamete นั้น จะไม่สามารถป้องกันคนจากการติดเชื้อมาลาเรียเมื่อถูงยุงกัด แต่เมื่อยุงกัดกินเลือดของคนที่ได้รับวัคซีนต่อ gamete แล้ว เชื้อมาลาเรียระยะ gamete ในตัวยุงจะไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ทำให้ไม่มีการเจริญต่อไปเป็น sporozoite ที่ทำให้คนติดเชื้อ จึงเป็นการป้องกันการถ่ายทอดเชื้อมาลาเรียจากยุงไปยังคนอื่น ๆ ดังนั้นวัคซีนชนิดนี้จึงเป็นการป้องกันโรคให้แก่ประชากรในชุมชนโดยส่วนรวม นับว่ามีความสำคัญทางสาธารณสุข

## แอดจูแวนท์ (Adjuvant)

การศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาวัคซีนต่อมาลาเรียได้แสดงว่าวัคซีนเกือบทุกชนิดที่จะให้ผลป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียได้ ต้องประกอบด้วยแอนติเจนและแอดจูแวนท์ โดยมีข้อยกเว้นคือวัคซีนต่อ sporozoite ซึ่งไม่จำเป็นต้องมีแอดจูแวนท์อยู่ด้วย

แอดจูแวนท์ที่ทดลองใช้ในสัตว์ทดลองทั้งหนูและลิงมีหลายชนิด ที่ใช้กันมากที่สุดได้แก่ Freund's complete adjuvant (FCA) ซึ่งให้ผลในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีในลิง แต่ไม่ให้ผลในพวกหนู มาลาเรียแอนติเจนแบบต่าง ๆ ทั้งเม็ดโลหิตแดงติดเชื้อที่ทำลายฤทธิ์ด้วยฟอร์มาลิน[9] เชื้อมาลาเรียอิสระ[10] schizont ที่แช่แข็งแล้วทำให้ละลาย[11,12] merozoite[12] หรือน้ำสกัดจากตัวเชื้อมาลาเรีย[13] เมื่อให้พร้อมกับ FCA หรือ FCA ตามด้วย Freund's incomplete adjuvant (FIA) สามารถคุ้มครองลิงวอกจากเชื้อมาลาเรีย *P. knowlesi* ชนิดที่ทำให้เสียชีวิตได้ โดยมีอัตราการรอดตาย 60–100 % ทำนองเดียวกันเมื่อให้วัคซีนประกอบด้วย merozoite หรือ merozoite พร้อม schizont ร่วมกับ FCA ก็สามารถป้องกันลิงหน้านกฮูก (Aotus) จากมาลาเรียชนิด *P. falciparum* ได้[14,15] แต่การคุ้มครองนี้ไม่พบในลิงหน้านกฮูกที่ให้วัคซีนที่ทำจากเม็ดโลหิตแดงติดเชื้อที่ทำลายฤทธิ์ด้วยฟอร์มาลินกับ FCA[16] หรือ merozoite ซึ่งให้พร้อมกับ FCA ตามด้วย FIA[17] การตอบสนองต่อวัคซีนในลิงสองประเภทที่ให้ผลต่างกันนี้ ก่อให้เกิดความสนใจว่า รูปแบบการตอบสนองของคนต่อวัคซีนจะเป็น

อย่างไร แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ไม่สามารถจะใช้แอดจูแวนท์ชนิดนี้ในคน เพราะจะก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรงได้

นอกจาก FCA แล้ว มีการทดลองใช้ saponin เป็นแอดจูแวนท์สำเร็จในหนูและลิง โดยที่เมื่อให้ saponin ร่วมกับ *P. berghei* ที่ไม่มีชีวิต สามารถคุ้มครองหนู (rat) ได้อย่างดี[18,19] และ saponin ร่วมกับ merozoite ของ *P. knowlesi* สามารถป้องกันลิงกังจากโรคได้[20]

*Bordetella pertussis* เป็นแอดจูแวนท์ชนิดหนึ่งในจำนวนน้อยชนิดที่สามารถนำมาใช้ในมนุษย์ได้ แต่เนื่องจากมีเฉพาะวัคซีนของ *P. berghei* หรือ *P. yoelii* ที่ให้ร่วมกับ *B. pertussis* แล้วป้องกัน mice และ rat แต่วัคซีนของ merozoite ของ *P. knowlesi* ที่ให้ร่วมกับแอดจูแวนท์นี้ มิได้มีผลในการคุ้มครองลิงวอกหรือลิงกังจากมาลาเรีย[20] จึงเป็นปัญหาว่าสมควรจะพิจารณาศึกษาทดลองใช้แอดจูแวนน์ชนิดนี้ต่อไปในคนหรือไม่ เพราะแม้กระทั่งบัดนี้ ยังไม่มีการทราบแน่ชัดว่า การตอบสนองต่อวัคซีนสำหรับมาลาเรียในคนจะเป็นอย่างไร เหมือนของหนูหรือลิงหรือแตกต่างไป

ในปัจจุบัน ได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางเกี่ยวกับแอดจูแวนท์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งคาดว่าอาจนำมาใช้ในมนุษย์ได้ คือ muramyl dipeptide (MDP) เพราะจากการทดลองในสัตว์ทดลอง MDP มิได้ก่อให้เกิดผลข้างเคียงรุนแรงเหมือนกับ FCA การให้วัคซีนของ *P. falciparum* ที่เตรียมจากเชื้อมาลาเรียในเม็ดโลหิตแดงพร้อมกับ MDP สามารถก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันในลิงหน้านกฮูก โดยทำให้มีจำนวนเชื้อมาลาเรียในกระแสโลหิตลดน้อยลง[17,23,24] นอกจาก MDP แล้วยังมีการศึกษาเกี่ยวกับแอดจูแวนท์ชนิดสังเคราะห์อื่น ๆ เพื่อการนำมาใช้ในมนุษย์ต่อไปอีกด้วย[25,26]

## วัคซีนต่อ sporozoite

วัคซีนต่อ sporozoite จะออกฤทธิ์ยับยั้งตั้งแต่ระยะเริ่มต้นวงชีพของเชื้อมาลาเรียในคน ทำให้ sporozoite เข้าไปเจริญในเซลล์ของตับไม่ได้ วัคซีนชนิดนี้มีข้อดี คือ ไม่ต้องใช้แอดจูแวนท์ แต่ข้อเสียก็คือ ก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันจำเพาะต่อระยะ sporozoite เท่านั้น ไม่สามารถคุ้มกันเชื้อมาลาเรียระยะอื่นด้วย การให้วัคซีนต้องให้หลายครั้ง และมีข้อจำกัดในด้านแหล่งของแอนติเจน แต่ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยการสังเคราะห์แอนติเจนนั้นขึ้นมาเอง[27] หรือใช้เทคนิคทางวิศวกรรมพันธุศาสตร์[28]

ในระยะต้นของการทดลองเกี่ยวกับวัคซีนชนิดนี้ sporozoite ต้องถูกทำให้หมดฤทธิ์ก่อนโดยรังสีอัลทราไวโอเล็ต ฟอร์มาลิน หรือ

ทำให้เซลล์แตกเสียก่อน[29] การทดลองส่วนใหญ่ทำในหนู (mice) พบว่าเมื่อให้ *P. berghei* ที่ผ่านรังสีแกมม่าเข้าไปในตัวหนู สามารถป้องกันหนูจากมาลาเรียซึ่งปกติทำให้เสียชีวิตนี้ได้[30] เมื่อคนถูกยุงซึ่งนำไปผ่านรังสีแล้วกัดจะเกิดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อมาลาเรีย[31,32] ภูมิคุ้มกันนี้อยู่ได้ประมาณ 3 เดือน สำหรับ *P. falciparum* และ 3–6 เดือนสำหรับ *P. vivax* แต่การทดลองในเด็กที่อยู่ในเขตระบาดมาลาเรียในอาฟริกา โดยการให้ sporozoite เข้าไปไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียตามธรรมชาติ[33]

แอนติเจนที่สำคัญในการเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันอยู่บนผิวของ sporozoite จากการศึกษาทั้งใน หนู ลิง และคน พบว่าแอนติเจนนี้มีความจำเพาะต่อทั้งสปีชีส์ และระยะของเชื้อมาลาเรีย[34,37] ใน *P. berghei* มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 41,000[34] หรือ 44,000[35] หรือเรียกว่า Pb 44 การทดลองให้โมโนโคลนัล แอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยาเฉพาะกับ Pb 44 สามารถป้องกันหนู (mice) ให้รอดตายจากมาลาเรียได้ แม้แต่ส่วน Fab ของแอนติบอดีนี้ก็มีผลในการป้องกันเช่นกัน[39]

เมื่อเร็ว ๆ นี้ ได้มีการ clone ยีนของแอนติเจนของผิวนอกของ sporozoite จาก *P. knowlesi* โดยใช้เทคนิคครีคอมบิแนนท์ ดีเอ็นเอ[28] เริ่มจากเตรียม mRNA จากยุงติดเชื้อ *P. knowlesi* ใช้สร้าง cDNA จำนวนมาก แล้วจาก cDNA เหล่านี้ก็แยก clone ซึ่งสามารถนำไปสร้างแอนติเจนที่อยู่บนผิวนอกของ sporozoite ได้ และประมาณปลายปี 2526 ได้มีการสังเคราะห์ทางเคมีของเปปไทด์ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 12 ตัว โดยอาศัยความรู้ที่ได้ว่า cDNA ที่รับผิดชอบต่อ immunogenic region ของผิวนอกของ sporozoite ใน *P. knowlesi* ประกอบด้วยคู่เบส 36 หน่วย ซึ่งปรากฏซ้ำ ๆ กัน โปรตีนที่สังเคราะห์จากการอ่านรหัสจากคู่เบสที่ปรากฏซ้ำ ๆ กันนี้มีคุณสมบัติเหมือนโปรตีนที่ได้จากผิวนอกของ sporozoite เมื่อทดสอบด้วยโมโนโคลนัล แอนติบอดีต่อแอนติเจนที่ผิวนอกของ sporozoite

## วัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียแบบไม่มีเพศ

ภายหลังจากที่มีการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรียแบบต่อเนื่องในจานเพาะเชื้อได้เป็นผลสำเร็จ โดย Trager และ Jensen ในปี 2519[40] การศึกษาเกี่ยวกับแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียแบบไม่มีเพศ ซึ่งเป็นระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงก็เป็นไปอย่างรุดหน้า โดยใช้เชื้อมาลาเรียจากการเพาะเลี้ยงนี้เป็นแหล่งของแอนติเจน เทคนิคที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นการติดฉลากแอนติเจนด้วยสารกัมมันตรังสีประกอบกับการวิเคราะห์แอนติเจนโดยเทคนิค SDS–poly-

acrylamide gel electrophoresis[41] ซึ่งเป็นเทคนิคที่ง่ายและมีประสิทธิภาพสูงในการแสดงแอนติเจนพร้อมกับสามารถบอกถึงแหล่งที่มาของแอนติเจนเหล่านั้น

ระหว่างการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียภายในเม็ดโลหิตแดงจากระยะวงแหวนไปเป็น trophozoite จนถึง schizont ได้มีการสร้างโปรตีนต่าง ๆ หลายชนิด บางชนิดก็มีการสร้างในทุกระยะตลอดวงชีพของการเจริญเติบโต ในขณะที่บางระยะก็มีการสร้างอย่างจำเพาะในระยะตัวแก่ (schizont) เท่านั้น[42-45] โปรตีนเหล่านี้บางชนิดก็มีบทบาทเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยสามารถเป็นแอนติเจนทำปฏิกิริยาจำเพาะกับแอนติบอดี้ในซีรั่มจากผู้ป่วยในเขตระบาดของมาลาเรีย[44-48] หรือกับโมโนโคลนัลแอนติบอดี้ซึ่งสามารถยับยั้งการผ่านเข้าเม็ดโลหิตแดงและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย[47,48]

ในที่นี้ จะได้กล่าวถึงเฉพาะผลงานที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาพัฒนาวัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียของคน *(P. falciparum)* ซึ่งได้มีผู้ศึกษาอย่างกว้างขวางโดยใช้เชื้อมาลาเรียที่ระบาดอยู่ในเขตภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก

เมื่อทำการติดฉลากเชื้อมาลาเรีย (SGE-1 จากซีนีกัล) ด้วย $^{35}S$– เมธิโอนินและนำเชื้อมาลาเรียมาทำปฏิกิริยาจำเพาะกับซีรั่มที่ได้จากคนในเขตระบาดมาลาเรีย พบว่ามีแอนติเจนขนาดน้ำหนักโมเลกุล 200, 162, 115 และ 76 Kd ในระยะ schizont เท่านั้น[44,47] แต่เมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับซีรั่มของคนที่เพิ่งหายจากการติดเชื้อครั้งแรก พบมีแอนติเจนสี่ชนิดและชนิดหนึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 82 Kd[44] ความสำคัญของแอนติเจนขนาด 82 Kd นี้อาจเกี่ยวข้องกับผลงานของ Kilejian ซึ่งใช้เชื้อมาลาเรีย FCR–3 และ FMG จากแกมเบีย ซึ่งแสดงว่าโปรตีนที่มีขนาดใกล้เคียงกันนี้ (80 Kd) มีความเกี่ยวข้องกับ "knob" ซึ่งปรากฏอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดโลหิตแดงติดเชื้อในระยะหลังของการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ[49] พบว่าโปรตีนนี้เป็นไกลโคโปรตีน เพราะสามารถถูกติดฉลากได้ด้วย $^{3}H$– โปรลีน และ $^{3}H$– กลูโคซามีน มีฮิสติดีนเป็นส่วนประกอบในอัตราสูง[50] และเกิดจากการสังเคราะห์โดยตัวเชื้อมาลาเรียเอง[42,51] การศึกษาทาง immunoelectron microscopy บ่งว่ามีการทำปฏิกิริยาข้ามกันระหว่างโปรตีนจาก knob ของ *P. falciparum* และโปรตีนอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีฮิสติดีนเป็นส่วนประกอบประมาณ 70% (HRP) ที่แยกได้จากเม็ดโลหิตแดงติดเชื้อ *P. lophurae* และที่น่าสนใจ คือ HRP สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันในลูกเป็ด[50]

เมื่อใช้เชื้อมาลาเรียจากปาปัว นิวกินี ทำปฏิกิริยากับซีรั่มจากคนที่อยู่ในเขตระบาดมาลาเรียในแห่งเดียวกัน ซึ่งสามารถยับยั้งการผ่านเข้าเม็ดเลือดแดงของ merozoite ในหลอดทดลองได้ พบว่ามีแอนติเจนหลายชนิด ที่เด่นชัดคือ ขนาดน้ำหนักโมเลกุล 96 Kd[52] ในขณะเดียวกัน ก็มีรายงานว่า แอนติเจนขนาด 195 Kd ที่พบในระยะ schizont สามารถทำปฏิกิริยาได้กับซีรั่มที่มีภูมิคุ้มกันและโมโนโคลนัลแอนติบอดีจำเพาะ และพบว่า แอนติเจนนี้ทำปฏิกิริยากับเชื้อมาลาเรียอิสระระยะ merozoite ได้[48] และเมื่อใช้เชื้อมาลาเรียจากไทย (K–1) ทำปฏิกิริยากับซีรั่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งดังกล่าวที่ได้จากเขตระบาดต่าง ๆ ในไทย พบว่ามีแอนติเจนหลายชนิดเช่นกัน แต่ที่สำคัญคือแอนติเจนขนาด 85 Kd ที่พบตลอดระยะการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียในเม็ดโลหิตแดง และขนาด 200 Kd ที่พบเฉพาะในระยะ schizont[45] แอนติเจนเหล่านี้ได้ถูกเสนอให้ใช้ในการทดลองวัคซีนสำหรับมาลาเรีย

เมื่อเร็ว ๆ นี้ ได้มีการ clone ดีเอ็นเอจาก *P.falciparum* ระยะที่อยู่ในเม็ดโลหิตแดง โดยใช้เชื้อมาลาเรียจากปาปัว นิวกินี (FCQ 27/PNG หรือ FC 27) หลาย clones แสดงแอนติเจนซึ่งพิสูจน์ได้จากการทำปฏิกิริยากับซีรั่มของคนที่อาศัยในเขตระบาดมาลาเรีย[53] และพบ clone หนึ่งสามารถสร้าง S–antigen (soluble antigen) ซึ่งพบในซีรั่มของคนติดเชื้อมาลาเรีย และถูกปล่อยออกมาในน้ำเลี้ยงเชื้อเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลอง[54] แอนติเจนนี้ประกอบด้วยกรดอะมิโนช่วง 11 ตัว ปรากฏซ้ำ ๆ กันอยู่ในสายของโปรตีนและมีน้ำหนักโมเลกุล 220 Kd[55] อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานว่า แอนติเจนนี้เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน

ปัจจุบัน ยังไม่มีรายงานใดปรากฏเกี่ยวกับการทดลองวัคซีน โดยใช้แอนติเจนบริสุทธิ์ชนิดต่าง ๆ ที่ได้ถูกเสนอไว้ แต่เป็นที่เชื่อแน่ว่า การทดสอบเหล่านี้กำลังอยู่ในระหว่างการทดลองอย่างขะมักเขม้น และคงจะปรากฏผลออกมาภายในเร็ว ๆ นี้

## วัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียแบบมีเพศ

การขัดขวางการถ่ายทอดเชื้อมาลาเรียโดยยุงที่เป็นพาหะสามารถทำได้ด้วยการทำให้คนมีภูมิคุ้มกันต่อ gamete ซึ่งจะยับยั้งมิให้ยุงติดเชื้อหลังจากที่กัดกินเลือดคนที่ได้รับวัคซีนนี้เข้าไป gametocyte ที่อยู่ภายในเม็ดโลหิตแดงจะไม่ถูกรบกวนโดยภูมิคุ้มกันนี้ ภูมิคุ้มกันจะเกิดจากแอนติบอดีที่ยุงกินเข้าไประหว่างกัดกินเลือดคน แอนติบอดีจะทำปฏิกิริยากับ gamete ดังนั้น การติดเชื้อมาลาเรียในยุงก็ไม่เกิดขึ้น และการถ่ายทอดโรคจะยุติ

การทดลองให้วัคซีนยับยั้งการถ่ายทอดเชื้อมาลาเรียโดยยุง ประสบผลสำเร็จในสัตว์ทดลองหลายชนิด ทั้ง หนู[56,57] ลูกไก่[58] และ ลิง[59] สำหรับ *P. gallinaceum* และลูกไก่นั้นไม่ต้องใช้แอดจูแวนท์ แต่วัคซีนของ *P. knowlesi* ซึ่งเป็นเชื้อมาลาเรียของลิงต้องมีแอดจูแวนท์อยู่ด้วย และ FCA ให้ผลดีที่สุด[58] ภูมิคุ้มกันนี้ในหนู (*P. yoelii*/mice) อยู่ได้นานกว่าหกเดือน[57]

เมื่อใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดีซึ่งทำปฏิกิริยาจำเพาะกับแอนติเจนบนผิวของ gamete ทั้งสองเพศ (*P. gallinaceum*) พบว่าก่อให้เกิดการจับกลุ่มของ gamete เพศผู้ทำให้ไม่มีการผสมพันธุ์เกิดขึ้น[60] กลไกการออกฤทธิ์ของภูมิคุ้มกันแบบนี้ก็พบใน *P. yoelii* เช่นกัน[61]

เมื่อเลี้ยงยุงด้วย *P. falciparum* พร้อมไปกับโมโนโคลนัลแอนติบอดีหรือซีรั่มจากกระต่ายที่มีแอนติบอดีต่อ gamete จะทำให้ยุงไม่ติดเชื้อมาลาเรีย และการถ่ายทอดโรคไปยังคนสิ้นสุดลง[62] แอนติเจนที่เกี่ยวข้องมีน้ำหนักโมเลกุล 255,59 และ 53 Kd ตามลำดับ[63]

## ปัญหาเกี่ยวกับวัคซีนสำหรับมาลาเรีย

ในการผลิตวัคซีนสำหรับมาลาเรีย ชนิดของแอนติเจนที่ใช้ไม่สู้จะเป็นปัญหาเพราะขณะนี้ได้ค้นพบแอนติเจนหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน สามารถนำมาเลือกใช้ทดสอบในร่างกายได้ แต่สิ่งหนึ่งซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งคือแอนติเจนเหล่านี้จะมีผลเหนี่ยวนำการสร้างภูมิคุ้มกัน ต่อเมื่อให้ร่วมไปกับแอดจูแวนท์ ปัจจุบัน การพัฒนาเกี่ยวกับแอดจูแวนท์ยังอยู่ในระหว่างดำเนินการค้นคว้า ยังไม่สามารถยืนยันได้แน่นอนว่า จะมีแอดจูแวนท์ใดในวัคซีนสำหรับมาลาเรีย ที่จะให้แก่มนุษย์ได้โดยไม่ก่อให้เกิดผลที่ไม่พึงประสงค์ อย่างไรก็ตาม การศึกษาใหม่ ๆ ที่กระทำโดยไม่หยุดยั้งในการที่จะค้นหาแอดจูแวนท์ที่เหมาะสม ได้ก่อให้เกิดความหวังขึ้นพอสมควร

นอกจากนี้ หากสามารถพัฒนาวัคซีนได้เป็นผลสำเร็จแล้ว จะต้องพิจารณาว่าจะให้วัคซีนแก่ประชากรในอายุเท่าใด เพราะเด็กอ่อนอายุสามเดือนถึงห้าปีจัดเป็นผู้ที่ได้รับอันตรายจากมาลาเรียสูงสุด และเด็กอ่อนจะมีภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อการให้วัคซีนดีเพียงไร ถึงแม้การทดลองในหนู (mice) อายุ 2–14 วัน จะประสบผลสำเร็จในการคุ้มกันมิให้หนูตายจากโรค[64] แต่ระบบภูมิคุ้มกันของหนูและคนซึ่งแตกต่างกันอย่างมากมายนี้ ก็อาจและน่าจะไม่คล้ายคลึงกัน ระยะเวลาที่ให้วัคซีนก็เป็นเรื่องควรคำนึงถึง เนื่องจากผลการทดลองมิได้บ่งว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการให้วัคซีนนี้จะคงอยู่ตลอดชีวิต และอีกประการหนึ่ง การให้

วัคซีนแก่คนที่อยู่ในเขตระบาดของมาลาเรียที่ติดเชื้อมาลาเรียอยู่เป็นประจำ และมีแอนติบอดี้ต่อมาลาเรียอยู่แล้ว จะมีการตอบสนองต่อวัคซีนอย่างไร อาจไม่เหมือนกับในคนที่ไม่เคยได้รับเชื้อมาก่อน เพราะคงมีกลไกในการกดหรือต่อต้านภูมิคุ้มกันมาจากตัวเชื้อมาลาเรียในคนที่กำลังติดเชื้ออยู่[65] ประการสุดท้าย เป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าการทดลองในสัตว์ทดลองแสดงผลของวัคซีนต่อการบรรเทาหรือควบคุมอาการของโรคแต่มิได้มีผลในการกำจัดโรคทีเดียว[66] ดังนั้น วัคซีนอาจให้ผลในเขตที่มีการระบาดของมาลาเรียต่ำ หรือแก่คนที่มิได้อยู่ในเขตระบาดของโรค แต่การให้วัคซีนร่วมไปกับการป้องกันด้านอื่น จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการควบคุมโรคในเขตระบาดของมาลาเรียได้

ก่อนที่จะสามารถนำวัคซีนมาใช้ในคนได้ ย่อมจะต้องมีการทดลองให้วัคซีนนี้ในสัตว์ทดลองก่อนที่จะถึงการลองใช้ในกลุ่มประชากรที่จำกัด[67,68] ซึ่งการทดสอบนี้ต้องรวมถึงการตรวจทั้งทางด้านประสิทธิผลและความปลอดภัย จะต้องมีการปรับมาตรฐานทั้งขนาดของแอนติเจนที่ใช้ วิธีการเตรียม การเก็บ รวมไปถึงการติดตามดูระยะเวลาก่อนที่จะพบเชื้อในกระแสโลหิต จำนวนเชื้อที่ตรวจพบ อาการ และอัตราการตายในสัตว์ที่รอดชีวิต การติดตามผลนี้ควรจะไม่น้อยกว่าสองเดือน เพื่อที่จะสามารถตรวจการไข้กลับซ้ำ (recrudescence) ได้

## สรุป

ปัญหาเกี่ยวกับมาลาเรียได้เพิ่มความรุนแรงขึ้นมากกว่าในสมัยก่อน เนื่องจากการที่ทั้งยุงซึ่งเป็นพาหะนำโรคเกิดความต้านทานต่อยาฆ่าแมลงที่ใช้ และตัวเชื้อมาลาเรียเองก็เกิดความต้านทานต่อยาที่ใช้รักษาเพิ่มขึ้นเกือบทุกชนิด ดังนั้น การผลิตวัคซีนจึงเป็นหนทางหนึ่งในการควบคุมโรคนี้

วัคซีนสำหรับมาลาเรียอาจมีได้สามชนิด คือ วัคซีนต่อ sporozoite ซึ่งจะระงับการติดเชื้อมาลาเรียจากยุง วัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียแบบไม่มีเพศ ซึ่งจะป้องกันการเกิดอาการของโรค และวัคซีนต่อ gamete จะหยุดยั้งการถ่ายทอดโรคนี้จากยุงมายังคน ความก้าวหน้าในการผลิตวัคซีนแบบต่าง ๆ มีมาก ถึงขั้นที่สามารถแยกชนิดแอนติเจนที่ก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันต่าง ๆ ออกมา อีกทั้งเทคนิคใหม่ ๆ เช่น วิศวกรรมพันธุศาสตร์ (เทคนิครีคอมบิแนนท์ ดีเอ็นเอ) การสังเคราะห์โปรตีนด้วยกรรมวิธีทางเคมี และการสร้างโมโนโคลนัลแอนติบอดี้ ทำให้การสังเคราะห์แอนติเจน และการทดสอบแอนติเจนเหล่านั้นสำหรับการทำวัคซีนเป็นไปโดยสะดวกขึ้น

อย่างไรก็ตาม ยังคงมีปัญหาต่าง ๆ หลายด้าน เช่น การเลือกใช้แอดจูแวนท์ที่เหมาะสมสำหรับมนุษย์ และปัญหาในการปฏิบัติงานต่าง ๆ ตลอดจนการคำนึงถึงผลที่จะเกิดขึ้นเมื่อมีการใช้วัคซีนนี้ในมนุษย์

วัคซีนสำหรับมาลาเรียแต่เพียงอย่างเดียวมิใช่คำมั่นสัญญาว่าจะสามารถควบคุมหรือกำจัดมาลาเรียออกไปจากโลกนี้ แต่เป็นที่แน่ชัดว่า การควบคุมโดยการประสานงานกันทุกด้านทั้งด้านการควบคุมกำจัดยุงที่เป็นพาหะนำโรค การพัฒนาการรักษาด้วยยา ตลอดจนการใช้วัคซีน ซึ่งอาจเป็นชนิดเดียวหรือหลายชนิดจะช่วยทำให้การควบคุมการระบาดอย่างรุนแรงของมาลาเรียในเขตระบาดมาลาเรีย ซึ่งคงอยู่มานานหลายร้อยปีแล้ว อยู่ในสถานการณ์ที่ดีขึ้น

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ประพนธ์ วิไลรัตน์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้กรุณาอ่านต้นฉบับและให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ยิ่ง และขอขอบคุณ คุณกรรณิการ์ แก้วดี สำหรับงานพิมพ์ต้นฉบับ

## อ้างอิง

1. สุรินทร พินิจพงศ์. สถานการณ์ไข้มาลาเรียในประเทศไทย เอกสารประกอบการบรรยายการประชุมโครงการที่ได้รับการสนับสนุนจาก TDR พ.ศ. 2527, 3-4
2. WHO Technical Report Series. Malaria Control in Countries where Time-Limited Eradication is Impracticable at Present. 1974, 537
3. Science at Work. Critical Reviews in Tropical Medicine published by UNDP/ World Bank-WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Geneva, Switzerland; August 1983, p. 1.
4. Sergent E. In: Garnham PCC, Pierce AE & Roitt IM, ed. Immunity to protozoa. Oxford : Blackwell Scientific, 1963. 39-47
5. Wilson DB, Garnham PCC, Swellingrebrel N. Malaria in East Africa. Trop Dis Bull 1950: 47 : 677-685.
6. McGregor IA. Malaria status in Africa. W Afr Med J 1960; 9 : 260-265
7. Cox HW. Measurements of the acquired resistance of rats and mice to Plasmodium berghei infections. J Parasitol 1964 Feb: 50(1) : 23-29.
8. Playfair JHL, De Souza JB, Cottrell BP. Reactivity and crossreactivity of mouse helper T cells to malaria parasites. Immunology 1977 May; 32(5): 681-687

9. Fround J, Thomas J, Sommer HE, Walter AW. Immunization of monkeys against malaria by means of killed parasites with adjuvants. Am J Trop Med Hyg 1948 Jan; 28(1) : 1-22
10. Targett GAT & Fulton JD. Immunization of rhesus monkey against Plasmodium knowlesi malaria. Exp Parasitol 1965 Oct; 17 : 180-193
11. Brown KN, Brown IN & Hills, LA. Immunity to malaria. I. Protection against Plasmodium knowlesi shown by monkeys sensitized with drug-suppressed infections or by dead parasites in Freund's adjuvant. Exp Parasitol 1970 Oct; 28 : 304-317.
12. Mitchell GH, Butcher GA, Cohen S. Merozoite vaccination against Plasmodium knowlesi malaria. Immunology 1975 Aug; 29 (2) : 397-407.
13. Schenkel RH, Simpson GL & Silverman PH. Vaccination of rhesus monkeys (Macaca mulatta) against Plasmodium knowlesi by the use of a nonviable antigen. Bull WHO 1973; 48 : 597-604.
14. Mitchell GH, Butcher GA, Richards WH. Cohen S. Merozoite vaccination of douroucouli monkeys against falciparum malaria. Lancet 1977 Jun 25; 1 (8026) : 1335-1338.
15. Siddiqui WA. An effective immunization of experimental monkeys against a human malaria parasite, Plasmodium falciparum. Science 1977 Jul 22; 197 (4310) : 388-389
16. Voller A, Richards WHG. An attempt to vaccinate owl monkeys (Aotus trivirgatus) against falciparum malaria. Lancet 1968 Nov 30; 2(7579) : 1172-1174
17. Reese RT, Trager W, Jensen JB, Miller DA, Tantravahi P. Immunization against malaria with antigen from Plasmodium falciparum cultivated in vitro Proc Natl Acad Sci USA 1978 Nov; 75(11) : 5665-5668
18. Desowitz RS. Plasmodium berghei : Immunogenic enhancement of antigen by adjuvant addition. Exp Parasitol 1975 Aug; 38(1) : 6-13
19. Saul KW, Krier JP. Plasmodium berghei : Immunization of rats with antigens from a population of free parasites rich in merozoites. Tropenmed Parasit 1977 Sep; 28(3) : 302-318
20. Mitchell G, Richards WHG, Voller A, Dietrich FM & Dukor P. Nor-MDP, saponin, corynebacteria and pertussis organisms as immunological adjuvants in experimental malaria vaccination of macaques. Bull WHO 1979; 57 Suppl 1 : 189-197
21. Cottrell BJ, Playfair JH, Desouza BJ. Cell mediated immunity in mice vaccinated against malaria. Clin Exp Immunol 1978 Nov; 34(2) : 147-158
22. Lelchuk R. Development and suppression of a population of late-adhering macrophages in mouse malaria. Parasite Immunol 1979; 1(1) : 61-78.

23. Siddiqui WA, Taylor DW, Kan SC, Kramer K, Richmond-Crum SM, Kotani S, Shiba T, Kasumoto S. Vaccination of experimental monkeys against Plasmodium falciparum : a possible safe adjuvant. Science 1978 Sep 29; 210(4362) : 1237-1242.

24. Siddiqui WA, Taylor DW, Kan SC, Kramer K, Richmond-Crum SM, Kotani S, Shiba T, Kasumoto S. Immunization of experimental monkeys against Plasmodium falciparum : use of synthetic adjuvants. Bull WHO 1979; 57 Suppl 1 : 199-203.

25. Chedid L, Audebert F, Lefrancier P, Choag J, Lederer E. Modulation of the immune response by a synthetic adjuvant and analogs. Proc Natl Acad Sci USA 1976; 73 : 2472-2475

26. Lederer E. Immunostimulation. Recent progress in the study of natural and synthetic immunomodulation derived from the bacterial cell wall. In : Fougereau M, Dausset J eds. Progress in Immunology IV (Fourth International Congress of Immunology 80), N. Y : Academic Press, 1980. 1194-1211

27. Godson GN, Ellis J, Svec P, Schlesinger DH, Nussenzweig V. Identification and chemical synthesis of a tandemly repeated immunogenic region of Plasmodium knowlesi circumsporozoite protein. Nature 1983 Sep 1; 305 (5925) : 29-33

28. Ellis J, Ozaki LS, Gwadz RW, Cochrane AH, Nussenzweig V, Nussenzweig RS, Godson GN. Cloning and expression in E. coli of the malarial sporozoite surface antigen gene from Plasmodium knowlesi Nature 1983 ; 302 : 536-538

29. Nusenzweig RS, Vanderberg JP, Most H, Orton C. Specificity of protective immunity produced by X-irradiated Plasmodium berghei sporozoites. Nature 1969 May 3; 222(5192) : 488-489.

30. Nussenzweig RS, Vanderberg JP, Sanabria T, Most H. Plasmodium berghei : accelerated clearance of sporozoites from blood as part of immune mechanism in mice. Exp Parasit 1972; 31 : 88-93

31. Rieckman KH, Carson PE, Beaudoin RL, Cassels JS, Sell KW. Sporozoite induced immunity in man against an ethiopian strain of Plasmodium falciparum Trans R Soc Trop Med Hyg 1974; 68(3) : 258-259

32. Bray RS. Vaccination against Plasmodium falciparum : a negative result (letter). Trans R Soc Trop Med Hyg 1976: 70(3) : 258-262

33. Clyde DF, Mccarthy VC, Miller RM, Woodward WE. Immunization of man against falciparum and vivax malaria by use of attenuated sporozoites. Am J Trop Med Hyg 1975 May; 24(3) : 397-401

34. Nardin EH, Nussenzweig RS. Stage-specific antigens on the surface membrane of sporozoites of malaria parasites. Nature 1978 Jul 6; 274(5666) : 55-57
35. Yoshida N, Nussenzweig RS, Potocnjak P, Nussenzweig V, Aikawa MO. Hybridoma produces protective antibodies directed against the sporozoite stage of malaria parasite. Science 1980 Jan 4; 207(4426) : 71-73.
36. Cochrane AH, Santoro F, Nussenzweig V, Gwadz RW, Nussenzweig RS, Monoclonal antibodies identify the protective antigens of sporozoites of Plasmodium knowlesi Proc Natl Acad Sci USA 1982 Sep; 79(18) : 5651-5655
37. Nardin EH, Nussenzweig RS, Collins WE, Harinasut KT, Tapchaisi P, Chomcharn Y. Circumsporozoite proteins of human malaria parasites Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax J Exp Med 1982 Jul; 156 (1) : 20-30
38. Gwadz RW, Cochrane AH, Nussenzweig V, Nussenzweig RS. Preliminary studies on vaccination of rhesus monkeys with irradiated sporozoites of Plasmodium knowlesi and characterization of surface antigens of these parasites. Bull WHO 1979; 57 Suppl 1 : 165-173
39. Potocnjak P, Yoshida N, Nussenzweig RS, Nussenzweig V. Mono-valent fragments (Fab) of monoclonal antibodies to a sporozoite surface antigen (Pb 44) protect mice against malaria infection. J Exp Med 1980 Jun; 151(6) : 1504-1513
40. Trager W, Jensen JB, Human malaria parasites in continuous culture. Science 1976 Aug 20; 193(4254) : 673-675
41. Laemmli UK, Favre M. Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. J Mol Biol 1973 Nov 15; 80 : 575-599
42. Kilejian A. Stage-specific proteins and glyooproteins of Plasmodium falciparum: Identification of antigens unique to schizonts. and merozoites. Proc Natl Acad Sci USA 1980 Jun; 77(6) : 3695-3699
43. Brown GV, Coppel RL, Vrbova H, Grumont RJ, Anders RF. Plamodium falciparum : comparative analysis of erythrocyte stage-dependent protein antigens. Exp Parasit 1982; 53 : 279-284
44. Perrin LH, Dayal R, Rieder H. Characterization of antigens from erythrocytic stages of Plasmodium falciparum reacting with human immune sera. Trans R Soc Trop Med Hyg 1981; 75(1) : 163-165
45. Santiyanont R, Wilairat P. Identification and localization of antigens of the malaria parasite, Plasmodium falciparum by immune precipitation. Biochem Int 1983; 7 : 671-676
46. Brown GV, Anders RF, Stace JD, Alpers MP, Mitchell GF. Immunoprecipitation of biosynthetically-labelled proteins from different Papua New Guinea Plasmodium falciparum isolates by sera from individuals in the endemic area. Parasite Immunol 1981 ; 3(4) : 283-298.

47. Perrin LH, Dayal R. Immunity to asexual erythrocytic stages of Plamodium falciparum : role of defined antigens in the humoral response. Immunol Rev 1982; 61 : 245-268

48. Holder AA, Freeman RR. Biosynthesis and processing of a Plasmodium falciparum schizont antigen recognized by immune serum and a monoclonal antibody. J Exp Med 1982 Nov; 156(5) : 1528-1538

49. Kilejian A. Characterization of a protein correlated with the production of knob-like protrusions on membranes of erythrocytes infected with Plasmodium falciparum. Proc. Natl Acad Sci USA 1979 Sep; 76(9) : 4650-4653

50. Kilejian A. Homology between histidine-rich protein from Plasmodium lophurae and a protein associated with the knob-like protrusions on membranes of erythrocytes infected with Plasmodium falciparum J Exp Med 1980 Jun; 151(6) : 1534-1538

51. Kilejian A. Alterations of human erythrocyte membranes. In : Slutzky GM. ed The Biochemistry of Parasites, Oxford : Pergamon Press, 1981. 68-73

52. Brown GV., Anders RF, Mitchem GF, Heywood PE. Target antigens of purified human immunoglobulin which inhibit growth of Plasmodium falciparum in vitro. Nature 1982 Jun; 297(5867) : 591-593

53. Kemp DJ, Coppel RL, Cowman AF, Saint RB, Brown GV. Expression of Plasmodium falciprum blood stage antigens in Escherichia coli Detection with immune antibodies from immune human. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80 : 3787-3791

54. Wilson RJM, Bartholomew RK. The Release of antigens by Plasmodium falciparum Parasitology 1975 Oct; 71(2) : 183-192

55. Coppel RL, Cowman AF, Lingelbach KR, Brown GV, Saint RB, Kemp DJ, Anders RF. Isolate specific S-antigen of Plasmodium falciparum contains a repeated sequence of eleven amino acids. Nature 1983 Dec 22-29: 306(5945) : 751-756

56. Mendis KN, Targett GAT. Immunization against gametes and asexual erythrocytic stages of a rodent malaria parasite. Nature 1979 Feb ; 277(5695) : 389-391

57. Mendis KN; Target GAT. Immunization to produce a transmission-blocking immunity in Plasmodium yoelii malaria infections. Trans R Soc Trop Med Hyg 1981; 75(1) : 158-159

58. Gwadz RW, Carter R, Green I. Gamete vaccines and transmission-blocking immunity in malaria. Bull WHO 1979: 57 Suppl 1 : 175-180

59. Gwadz RW, Green I. Malaria immunization in rhesus monkeys : a vaccine effective against both the sexual and asexual stages of Plasmodium knowlesi J Exp Med 1978 Nov; 148(5) 1311-1323

60. 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 USA 1980 Nov; 77(11) : 6797-6799

61. Targett GAT, Rogers N, Harte PC. Mechanisms of transmission blocking immunity in mice. Abstract from 2nd International Conference on Malaria and Babesiosis, 19-22 September 1983. Annecy, France, 161

62. Ponnudurai T., Feldmann AM, Vermeulen AN, Beckers PJ, Meuwissen JHE TH. The transmission of cultured Plasmodium falciparum to Anopheles stephensi and its blockade by anti-gamete antibodies. Abstract from 2nd International Conference on Malaria and Babesiosis, 19-22 September 1983. Annecy, France, 84

63. Carter CA, Rener J, Kaushal DC, Graves PM, Miller LH, Grotendorst CA, Williams JL, Burkot TR. Antigenic targets of transmission blocking immunity in malaria. Abstract from 2nd International Conference on Malaria and Babesiosis, 19-22 September 1983. Annecy, France, 130.

64. Orjih AU, Cochrane AH, Nussenzweig RS. Active immunization and passive transfer of resistance against sporozoite-induced malaria in infant mice. Nature 1981 May 28; 291(5813) : 331-332

65. Playfair JHL. Immunity to malaria. Br Med Bull 1982 May; 38 (2) : 153-159

66. Cohen S. Progress in malaria vaccine development. Br Med Bull 1982 May; 38(2) : 161-165

67. Desowitz RS, Miller LH. A perspective on malaria vaccine. Bull WHO 1980; 58 : 897-908

68. Wernsdorfer WH. Progress for the development of malaria vaccines. Bull WHO 1981; 59 : 335-341

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 1 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2527