N-linked Glycosylation of HIV-1: กลไกที่ HIV-1 ใช้ในการหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกัน
N-linked Glycosylation of HIV-1: Immune Evasion Mechanisms of HIV-1

ศิริลักษณ์ ธีระภูธร
ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
Sirilak Teeraputon
Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University

บทคัดย่อ

กลัยโคโปรตีนส่วนเปลือก (gp120) ของไวรัสเอชไอวีไทป์1 ทำหน้าที่ในการจับกับ CD4 receptor ที่ผิวเซลล์เพื่อเข้าสู่โฮสต์เซลล์ เป็นโปรตีนส่วนที่ทำให้ไวรัสนี้มีความหลากหลายและกลายพันธุ์สูง เนื่องจากโปรตีนที่ผ่านขบวนการ glycosylation และส่งผลให้ไวรัสนี้สามารถหลบหลีกจากการจดจำโดยระบบการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ จึงทำให้ไวรัสนี้ยังคงอยู่และมีความรุนแรง ประเด็นที่น่าสนใจในขณะนี้คือ การจับกันระหว่างกลัยโคโปรตีนส่วนเปลือก (gp120) กับโมเลกุล CD4 ที่เป็นขั้นตอนแรกของการที่ทำให้เซลล์เกิดการติดเชื้อไวรัส และนอกจากนี้ กลไก *N*-linked glycosylation ยังเป็นกลไกหลักในการเข้าสู่เซลล์ โดยผ่านขบวนการ proteolytic และ trafficking ของโปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติทางชีววิทยาของไวรัส (Virus biology) ที่เป็นอุปสรรคในการพัฒนาวัคซีน เป็นที่ทราบกันดีว่าไวรัส HIV-1 นี้ก่อให้เกิดปัญหาสาธารณสุขระดับโลก และการเข้าใจถึงบทบาทหน้าที่ของกลไกของ Cellular processes เช่น ขบวนการ glycosylation ของการติดเชื้อไวรัส จะเป็นขั้นตอนหนึ่งที่จะนำไปสู่ความสำเร็จในการรักษาการติดเชื้อไวรัสนี้ได้

คำสำคัญ : เอชไววีไทป์-1 กลัยโคโปรตีนส่วนเปลือก *N*-linked glycosylation

Abstract

The glycoprotein gp120 on the viral envelope of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is responsible for virus binding to cell surface CD4 receptor which highly mutagenic and variable. It is one of the most heavily glycosylated proteins in nature which help it evade recognition by the host immune response and allows the virus to survive and persist in the body. This has frustrated attempts to develop a vaccine. Binding of gp120 to the CD4 molecule is an initial step in viral infection of cell. *N*-linked glycosylation for crucial functions such as entry into host cells, proteolytic processing and protein trafficking has become an area of intense interest. The HIV-1 is still of concern to global public health and an understanding of the role of cellular processes such as glycosylation in the biology of viral infection is one step towards developing successful treatment strategies.

Keywords : Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1), Viral envelope glycoproteins, *N*-linked glycosylation, Socially Transmitted Disease

บทนำ

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัส HIV-1 ประกอบไปด้วยระบบภูมิคุ้มกันที่ผ่านสารน้ำ (Humoral Immunity; HMI) และภูมิคุ้มกันผ่านเซลล์ (Cellular Mediated Immunity; CMI) ซึ่งปัจจุบันเรายังไม่ทราบชัดว่าภูมิคุ้มกันตัวใดที่มีความสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อไวรัส HIV-1 เนื่องจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัส HIV-1 นั้นมีความซับซ้อนและมีปัจจัยหลายประการ ได้แก่ การที่เชื้อไวรัส HIV-1 ติดเชื้อในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันและฆ่าเซลล์เหล่านั้น และสามารถขัดขวางการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน เช่น พบว่ามีความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันทั้งที่ผ่านสารน้ำ (HMI) และผ่านเซลล์ (CMI) และนอกจากนี้การที่เชื้อไวรัส HIV-1 มีการเปลี่ยนแปลงแอนติเจนได้ตลอดเวลา ในการที่จะหลบเลี่ยงการทำลายจากระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้ระบบภูมคุ้มกันของร่างกายต้องสร้างภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนของไวรัสที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดเวลา (1)

กลไก *N*-linked glycosylation ของไวรัสเป็นกลไกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากมีความสัมพันธ์กันกับคุณสมบัติทางชีววิทยาของไวรัส (Virus biology) จากการที่ไวรัสได้พัฒนาให้ตัวเองสามารถอยู่รอดและหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ เช่น ไวรัส HIV และ Influenza ซึ่งไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้กำลังเป็นปัญหาคุกคามกับภาวะสุขภาพของมนุษย์ โดยจะพบว่าการแสดงออกของ Oligosaccharide ที่จำเพาะของไวรัส ส่งผลทำให้ไวรัสเหล่านี้สามารถหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ได้ นอกจากนี้ยังมีไวรัสชนิดอื่นๆ เช่น ไวรัส Henda, SARS-CoV, Influenza, Hepatitis และ West Nile ที่มีกลไก *N*-linked glycosylation ของไวรัสนี้เข้าไปเป็นปัจจัยที่สำคัญในขั้นตอนของการเข้าสู่เซลล์ของโฮสต์ หรือในขั้นตอน proteolytic processing และ protein trafficking ดังจะเห็นว่าการเกิด glycosylation ของไวรัสจำพวกนี้สามารถส่งเสริมให้ไวรัสมีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น และสามารถที่จะอำพรางตัวจากระบบภูมิคุ้มกันต่างๆอันจะส่งผลให้ไวรัสนั้นเป็น pathogen ที่สำคัญ (2)

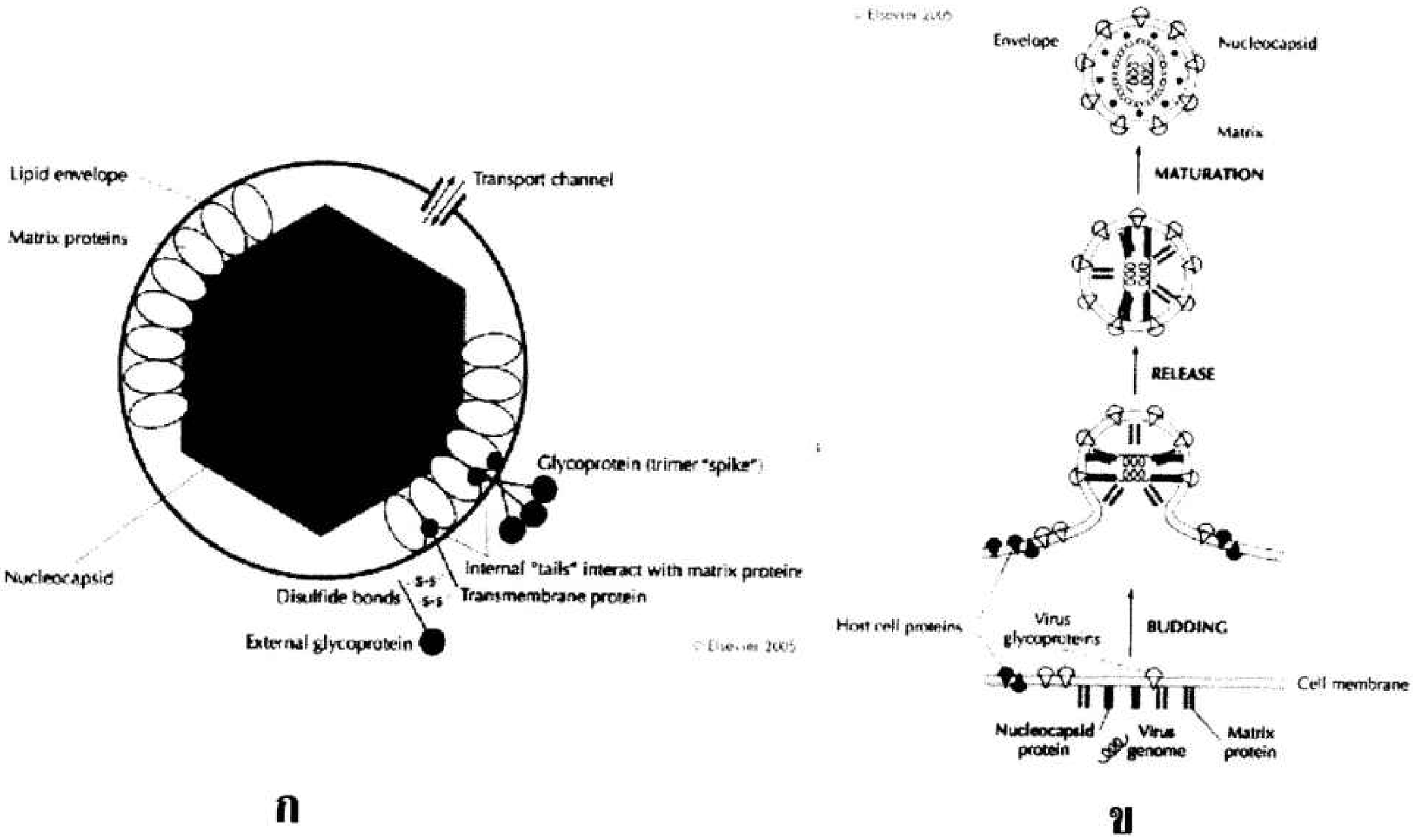
กลัยโคโปรตีนส่วนเปลือกของไวรัส (Viral Envelope Glycoproteins)

เปลือกหุ้มแคปซิดของไวรัสที่เรียกว่า envelope นั้นประกอบด้วยไขมัน 2 ชั้น (Lipid bilayer) มาจากเยื่อหุ้มของโฮสต์เซลล์ (Host cell membrane) และมี glycoprotein ของไวรัสแทรกอยู่ (ดังรูปที่ 1) ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้อนุภาคไวรัสถูกทำลาย และใช้เป็นส่วนที่จำเพาะต่อ receptor บนผิวของโฮสต์เซลล์ ไวรัสจึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงส่วนของเปลือกหุ้มนี้โดยการสังเคราะห์โปรตีนหลายๆ ชนิด สรุปได้ดังนี้

1. Matrix Proteins: โปรตีนภายในอนุภาคไวรัสที่เชื่อมต่อกับโปรตีนที่เปลือกหุ้มไวรัส มีผลกระทบในขั้นตอนของการประกอบเป็นอนุภาคที่สมบูรณ์ของไวรัสต่อไป (Internal nucleocapsid assembly) เช่น โปรตีน M1 ในไวรัสก่อโรคไข้หวัดใหญ่ (Influenza) ที่แสดงให้เห็นว่าเป็นส่วนที่จะไปรวมกับ viral Ribonucleoprotein (vRNP) ต่างๆ รวมทั้งควบคุมการสังเคราะห์และถอดรหัสโปรตีนของ vRNP ตลอดจนกระทั่งรวมตัวกันเพื่อประกอบเป็นอนุภาคใหม่ และแตกออกมาเป็นอนุภาคที่สมบูรณ์ได้ (3, 4)

2. Glycoproteins: โปรตีนที่เป็นแกนเสียบอยู่ในเปลือกนอก ซึ่งประกอบด้วยโพลีเป็ปไทด์ที่จับกับสาย Oligosaccahride (Glycans) ด้วยพันธะโควาเลนท์ แบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามหน้าที่การทำงาน คือ

2.1 External Glycoproteins: โปรตีนเป็นชั้นเดียวที่มักจะยื่นออกมานอกเปลือกหุ้ม (Spikes) สามารถมองเห็นโดยผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน และเนื่องจากโปรตีนเหล่านี้มีการเกิด glycosylation ซึ่งอาจมีมากถึง 75% ของน้ำหนัก (Glycosylation สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ *N*-linked ที่มีการเติมหมู่น้ำตาลที่บริเวณ amide nitrogen ของกรดอะมิโนชนิด Asparagine หรือ O-linked ที่มีการเติมหมู่น้ำตาลที่บริเวณ hydroxyl oxygen ของกรดอะมิโนชนิด Lysine Proline Serine หรือ



รูปที่ 1 ก) แสดงโครงสร้าง ส่วนประกอบของ envelope virus

ข) อนุภาคของ envelope virus ที่ budding ออกจาก Host cell membrane

(ที่มา: http:// biology.swau.edu/faculty/nclasses/classes/B&V_Viral_Particles.htm)

Threonine) จึงมักเป็นโปรตีนที่เป็นแอนติเจนหลักของไวรัสชนิดนี้และเป็นส่วนที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอกที่ทำหน้าที่สำคัญ เช่น hemagglutinin ของไวรัส Influenza ที่ทำหน้าที่ไปจับกับ receptor membrane fusion และการเกิด hemagglutination และ gp120 ของไวรัส HIV-1 ที่ทำหน้าที่ในการจับกับ CD4 receptor ของโฮสต์เซลล์ในการติดเชื้อ (3, 4)

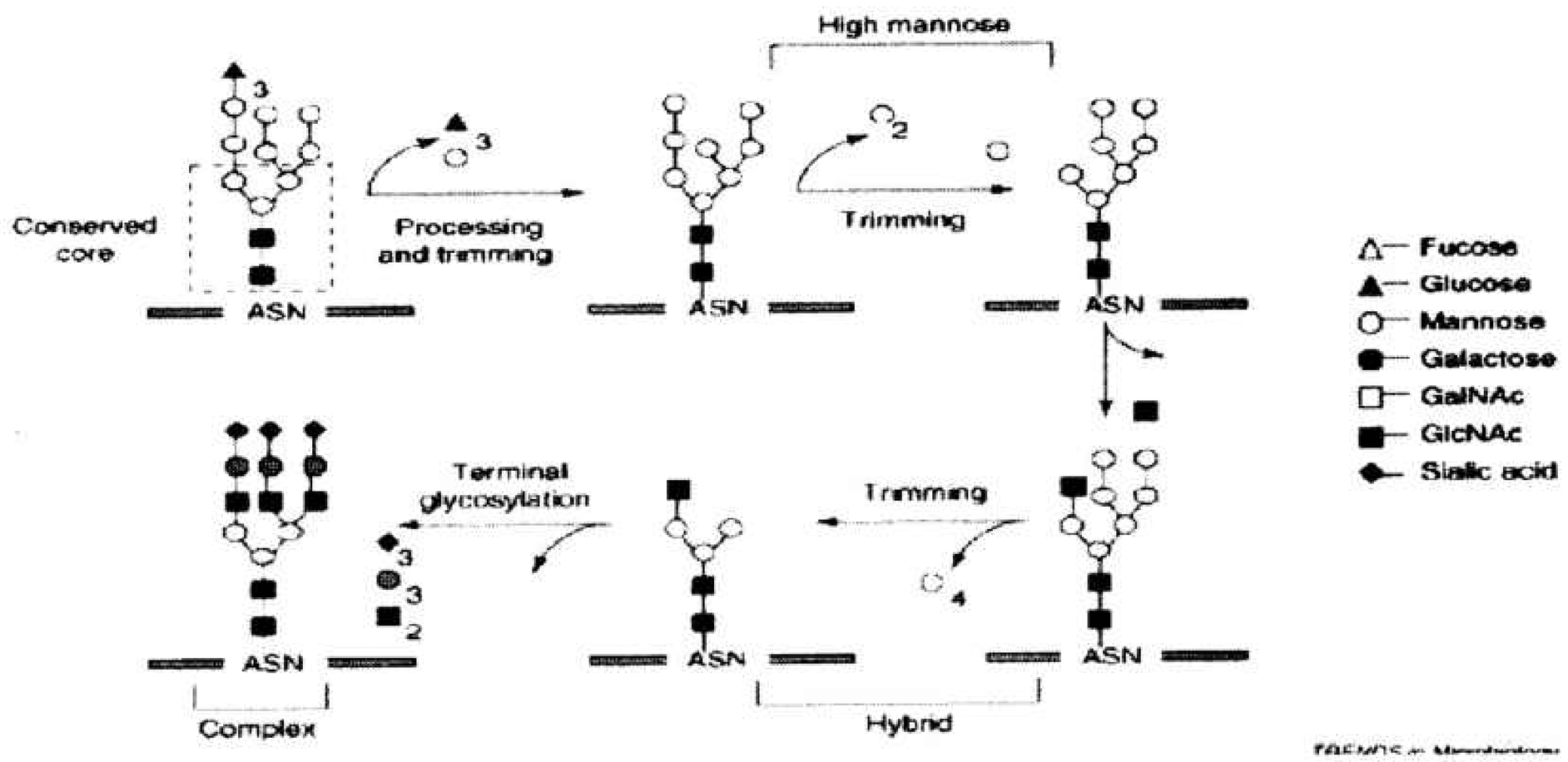
2.2 Transport Channels: โปรตีนนี้ประกอบไปด้วยแกนที่เสียบอยู่ที่เปลือกนอกที่มีคุณสมบัติเป็น Hydrophobic หลายชนิด ทำหน้าที่คงรูปร่างเพื่อเป็นช่องทางให้มีการแลกเปลี่ยนอิออนต่างๆ ผ่านทาง membrane ถือได้ว่าเป็นโปรตีนที่สำคัญในการควบคุมสภาวะแวดล้อมภายในเซลล์ ควบคุมการผ่านเข้าออกของสารชีวเคมีที่จะเป็นการทำให้อนุภาคไวรัสสมบูรณ์และรวมไปถึงความสามารถในการติดเชื้อของไวรัส เช่น โปรตีน M2 ในไวรัส Influenza (3, 4)

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไวรัสโดยอาศัยกลไก Glycosylation

Glycans เป็นโมเลกุลที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์และมีผลทำให้โครงสร้างของไวรัสมีความหลากหลาย โดยเฉพาะการเกิด Post-translation modification ที่ทำให้โปรตีนมีหน้าที่ที่หลากหลาย โดยหนึ่งในรูปแบบทั่วๆ ไปของ Protein modification คือ*N*-linked glycosylation ที่มีแกนกลางโมเลกุลเป็นน้ำตาล mannose และเชื่อมต่อกับ amide nitrogen ของกรดอะมิโนชนิด Asparagine ดังนี้ ASn-X-Ser\Thr (X หมายถึงกรดอะมิโนชนิดใดก็ได้ ยกเว้น proline) ซึ่งการเชื่อมต่อกันนี้จะเกิดในช่วงแรกของการสังเคราะห์โปรตีน จากนั้นจะเป็นขบวนการตัดแต่งรูปร่างของ oligosaccharide ในระหว่างที่ผ่านเข้าไปใน Endoplasmic Reticulum (ER) และ Golgi apparatus (ดังรูปที่ 2) ทำให้ได้ glycoprotein ที่มีความแปรผันในโครงสร้างของ oligosaccharides

โดยไวรัสได้ใช้กลไกของโฮสต์เซลล์ในการ modify proteins เพื่อไปปรากฏบนผิวเซลล์ ดังจะเห็นได้ว่า viral glycoproteins มีบทบาทที่สำคัญหลายประการ เช่น การคงสภาพของไวรัส การเป็น antigenicity และการเข้าสู่โฮสต์เซลล์ (2, 5)

ไวรัสได้ใช้ขบวนการสังเคราะห์ของโฮสต์เซลล์ (Cellular biosynthetic pathway) ในการสร้างโครงสร้างและสารพันธุกรรมของไวรัส และมีไวรัสหลายชนิดใช้ช่องทางนี้ในการพัฒนาและปรับปรุงโปรตีนของตัวไวรัสเอง หลักฐานสำคัญที่สนับสนุนข้อที่ว่าไวรัสได้ใช้วิถีของกลไก glycosylation รวมถึงการเกาะติดของ *N*-linked oligosaccharide ซึ่งผลของการเปลี่ยนแปลง (modification) นี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างน้อย 2 ประการ คือ 1) *N*-linked glycosylation ของโปรตีนเปลือกนอกของไวรัสสามารถเพิ่มคุณสมบัติเฉพาะของการ folding และลำดับของการ trafficking ของโปรตีน โดยการใช้ cellular chaperones และปัจจัยในการ folding ของโฮสต์ แม้ว่าเซลล์จะไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ระหว่างโปรตีนของไวรัสกับของโฮสต์เซลล์ แต่ที่แตกต่างอย่างเห็นได้ชัด คือ การเพิ่มขึ้นของระดับของ glycosylation ในกลัยโคโปรตีนของไวรัสหลายๆ ชนิด โดยจะพบว่ามีการเพิ่มและหรือมีการตัดออก มีความหลากหลาย และเป็นกลัยโคโปรตีนที่มีความซับซ้อน นอกจากนี้จำนวนและตำแหน่งของการเกิด glycosylation อาจส่งผลกระทบต่อการอยู่รอดและความสามารถในการทำให้ติดเชื้อของไวรัส หากมีการเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยก็สามารถเปลี่ยนการ folding และรูปร่างของไวรัสได้ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อโปรตีนทั้งโมเลกุล และประการที่ 2) คือ การเปลี่ยนแปลงใน glycosylation ที่มีบทบาทในการอำพรางตัวของไวรัสจากระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ไวรัส HIV-1 ที่สามารถหลบหลีกจากการถูกจับโดย Neutralizing Antibody (NtAb) ด้วยการที่ไวรัสมีการเปลี่ยนแปลงใน glycosylation ทำให้ไปบดบังในส่วนของ receptor binding site ส่งผลทำให้ NtAb ที่สร้างขึ้นไม่สามารถจับไวรัสได้ นอกจากนี้ยังมีผลกระทบต่อความสามารถในการเพิ่มจำนวนและการติดเชื้อของไวรัส ทั้งนี้ยังมีไวรัสอีกหลายชนิดได้ใช้หนทางของ glycosylation อันส่งผลทำให้ไวรัสมีบทบาทที่สำคัญในการก่อโรคและสามารถหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันได้ เช่น ไวรัส Influenza, HIV, Hepatitis และ West Nile เป็นต้น (2)

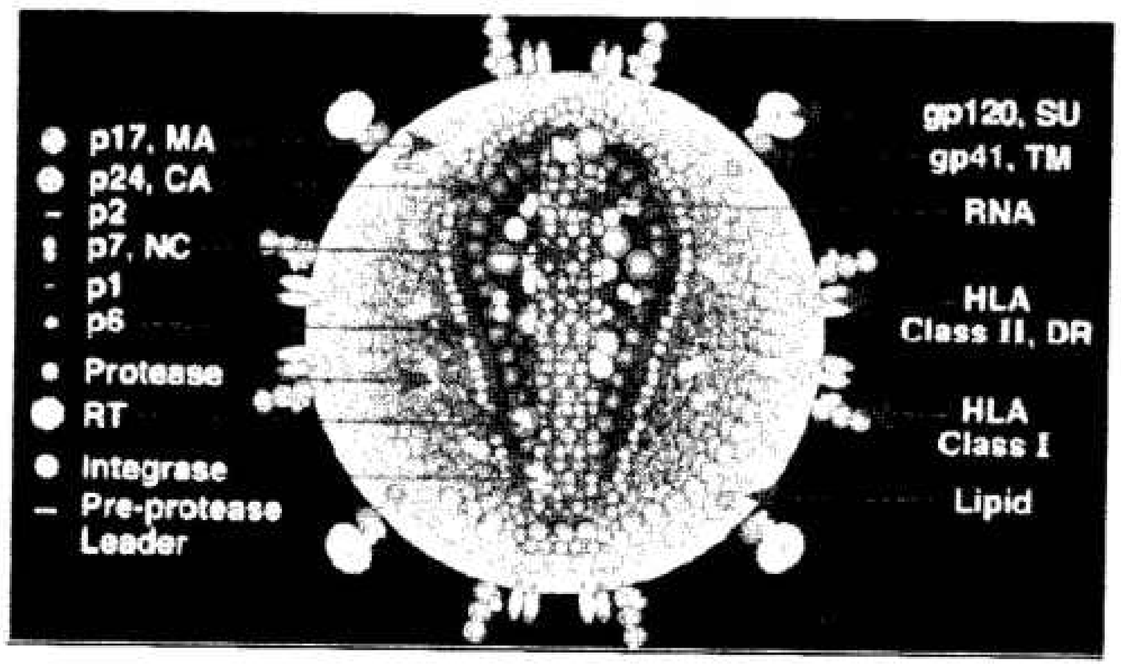


รูปที่ 2 กลไกในการสร้าง *N*-linked glycosylation
(ที่มา: Vigerust and Shepherd 2001)

โครงสร้างของไวรัส HIV-1

Human Immunodeficiency Virus -1 (HIV-1) เป็นไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคเอดส์ (AIDS) จัดอยู่ใน

Family *Retroviridae* Genus *Lentivirus* เป็น RNA virus ชนิดที่มีเปลือกหุ้ม (Envelope virus) รูปร่างกลมมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 100-120 นาโนเมตร ภายในอนุภาคมีแกน (Core) รูปทรงกระบอก ชั้นในสุดประกอบด้วย RNA genome ที่เป็น single stranded RNA สายบวกที่เหมือนกัน 2 ชิ้น (Diploid) มีโปรตีนปนอยู่กับ RNA (Nucleoprotein, p7/p9) มีเอ็นไซม์ Reverse Transtriptase (RT) Protease และ Integrase ถูกห่อหุ้มด้วยชั้นของโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นแคปซิด (Core protein; p24) ถัดมาเป็น matrix protein (p17) ส่วนชั้นนอกเป็นเปลือกหุ้ม (Envelope; gp120) เรียกว่า surface glycoprotein และมีปุ่มยื่นโดยรอบ และมีแกนฝังอยู่ที่ผิวด้านในเรียกว่า transmembrane protein (gp41) (6)

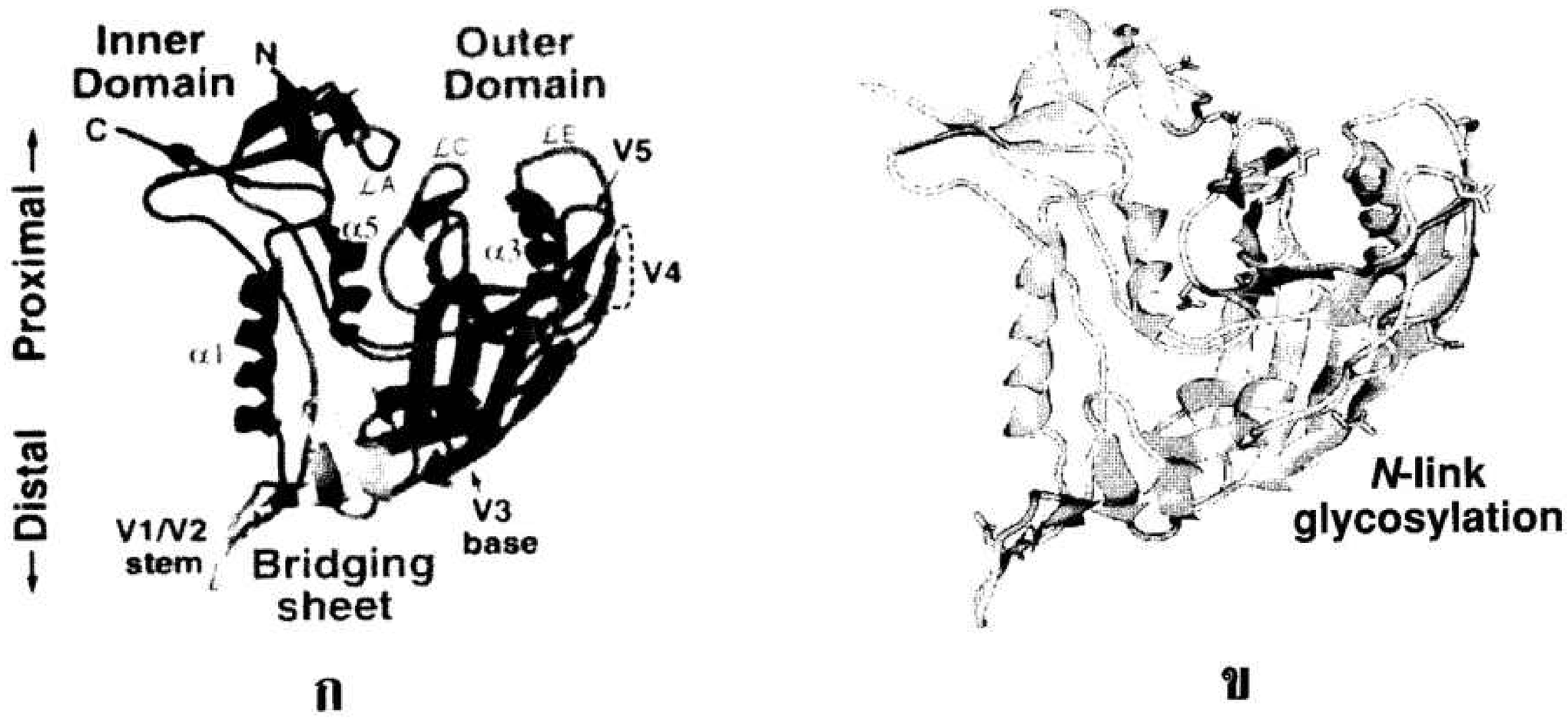


รูปที่ 3 โครงสร้างของเชื้อ HIV-1
(ที่มา: http://rcm-medicine.upr.clu.edu/virology/Biology of HIV Replication.pdf)

กลไก Glycosylation ของโปรตีนเปลือกนอกของไวรัส HIV-1

โปรตีนส่วนเปลือกนอกของไวรัส HIV-1 มีคุณสมบัติเป็น lipid bilayer ประกอบด้วย กลัยโคโปรตีนที่ผิว (Surface envelope; gp120) และกลัยโคโปรตีนในส่วนแกนเสียบอยู่ในเปลือกนอก (Transmembrane envelope glycoprotein; gp41) ซึ่ง กลัยโคโปรตีนของไวรัส HIV-1 นี้เริ่มต้นสังเคราะห์ที่ ER ของโฮสต์เซลล์ เป็นโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 870 อะมิโนแอซิด จากนั้นจะถูกปรับแต่งไปเป็นโปรตีนตัวเริ่มต้น คือ gp160 โดยการเติมหมู่น้ำตาล Asparagine linked mannose sugar หลังจากนั้นจะถูกตัดย่อยโดยเอ็นไซม์ Protease ที่ Golgi apparatus ได้เป็นกลัยโคโปรตีนที่สมบูรณ์ (Mature gp120 and gp41 envelope proteins) โปรตีนนี้เป็นส่วนสำคัญที่ไวรัสใช้ในการจับและเข้าสู่โฮสต์เซลล์ โดยไวรัสจะใช้กลัยโคโปรตีนในส่วนที่ยื่น (Spike gp 120)ไปจับกับ receptor ที่ผิวของโฮสต์เซลล์ (CD4 T-lymphocyte) แล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง conformation ของโมเลกุล gp120 ทำให้สามารถจับกับ chemokine receptors (CCR3, CCR5, CXCR4 และอื่นๆ) เพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในการที่จะกระตุ้นกลัยโคโปรตีนในส่วนที่ฝังอยู่ที่เปลือกหุ้มไวรัส (gp41) ให้เกิดการหลอมเข้ากันของเปลือกนอกของไวรัสกับเยื่อบุผิวของโฮสต์เซลล์ ในขั้นตอนการเข้าสู่เซลล์ (7, 8)

โมเลกุลของกลัยโคโปรตีนในส่วนเปลือกนอกของไวรัส HIV-1 (gp120) ประกอบด้วยส่วนที่คงที่ 5 ส่วน (constant region: C1-C5) คั่นสลับไปด้วยส่วนที่มีความผันแปรอีก 5 ส่วน (Variable region: V1-V5) และมี conserved disulfide bridge ทำให้มี folding และ conformation ที่ถูกต้อง (ดังรูปที่ 4 ก) โดยที่ส่วนของ V3 loop มีอิทธิพลมากต่อคุณสมบัติทางชีววิทยาของ HIV-1 เช่น Growth kinetic Cytopathic Cell-tropsim หรือการเลือกใช้ coreceptor (5, 8) นอกจากนี้ surface envelope glycoprotein gp120 ยังมีส่วนที่เป็น glycosylated protein มากถึง 40-50% ของน้ำหนักโมเลกุล และเป็น *N*-linked sugar โดยที่จำนวนและตำแหน่งของ glycosylation site นี้ มีความ แตกต่างกันไป เนื่องมาจากลำดับของกรดอะมิโนของโปรตีนเปลือกนอกของไวรัสในกลุ่มของ Retroviruses นี้ มีความหลากหลายต่างกันค่อนข้างมาก (9)



รูปที่ 4 ก) The core structure of gp120 of HIV-1

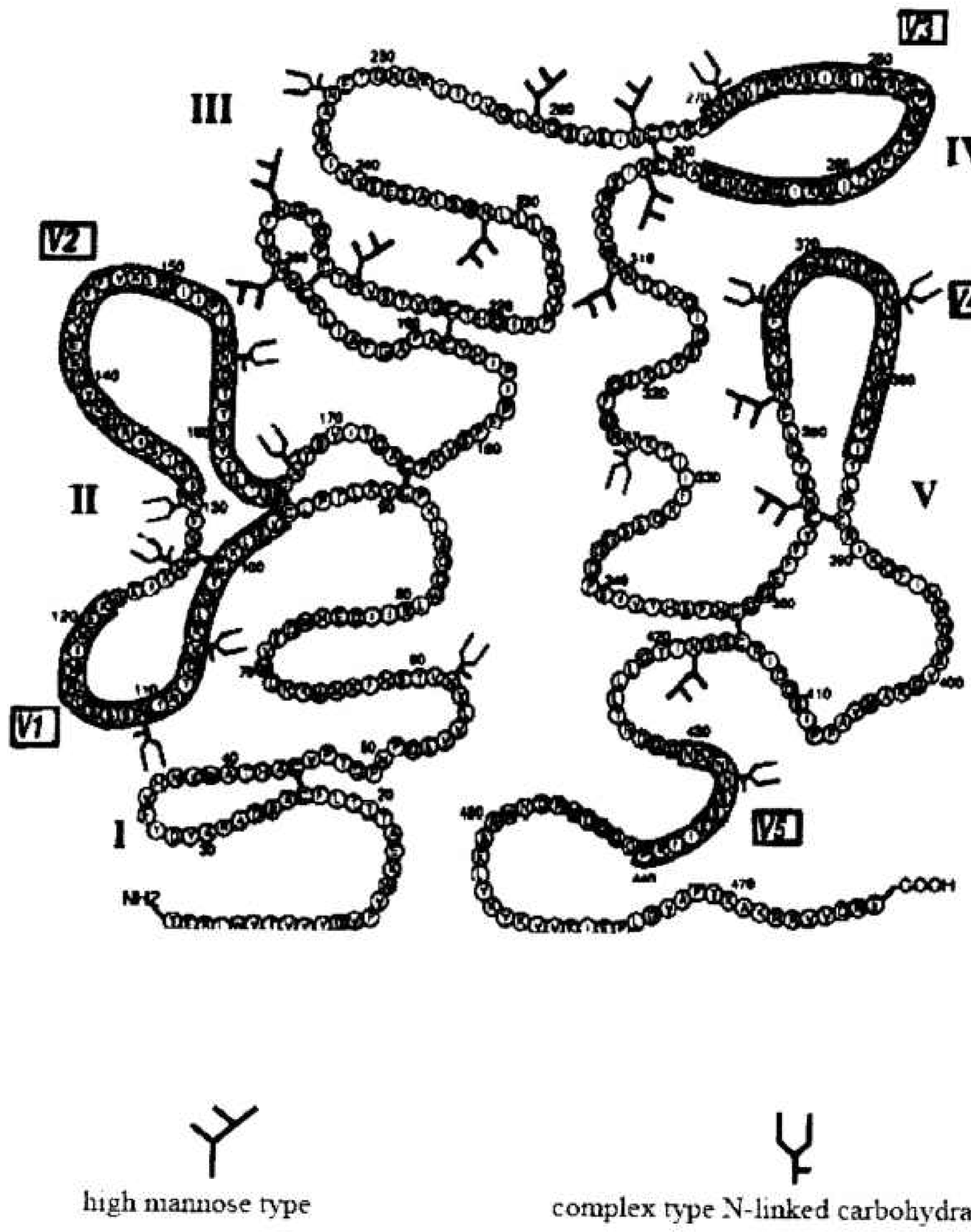
ข) Gp120 core ; asparagines residuse modified by *N*-linked glycosylation shown in blue

(ที่มา: http://www.hiv.org.or/sodroski.html)

กลไก Glycosylation เป็นหนทางสำคัญที่ไวรัส HIV-1 ใช้ในการหลบหลีกต่อการสนองตอบต่อภูมิคุ้มกันชนิดที่เรียกว่า NtAb โดยจะพบว่าที่กลัยโคโปรตีนในส่วนเปลือกนอกของไวรัสมีการเกิด glycosylation ได้มากถึง 50% ของน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรท และจำนวนของตำแหน่งที่มีการเกิด glycosylation นั้นพบว่ามี O-linked glycosylation จำนวน 8 ตำแหน่งขึ้นไป และ *N*-linked glycosylation จำนวน 24 ตำแหน่ง (8) ซึ่งจำนวนและตำแหน่งของ *N*-linked glycan นี้มีความสำคัญต่อ correct folding ของกลัยโคโปรตีน และ processing ของ gp120 ในระหว่างที่มีการสร้างเปลือกหุ้มไวรัส HIV-1 นี้ จากการทดลองโดยการนำเอาคาร์โบไฮเดรทนี้ออกจาก mature oligomeric แล้วส่งผลทำให้ไวรัสไม่สามารถจับกับ soluble CD4 ได้ (8) นอกจากนี้เมื่อเอา *N*-linked glycan ภายในบริเวณที่เป็น CD4 binding site หรือในตำแหน่งที่ใกล้กันนี้ออก จะส่งผลทำให้ไวรัสมีการเพิ่มจำนวนที่เร็วขึ้น และ *N*-linked glycan นี้ยังอาจส่งผลถึงการปรากฏเป็นโครงสร้างของไวรัสทีมีผลกระทบต่อการเข้าถึงของแอนติบอดี (Antibody) ที่จำเพาะต่อส่วนที่เป็นบริเวณที่ conserved receptor binding site ในขณะที่เป็นการสูญเสียความสามารถในการจับกับ receptor ดังนั้น carbohydrate นี้อาจจะชี้ให้เห็นว่ากลไกนี้มีบทบาทสำคัญในการบดบัง neutralizing epitopes ของไวรัส และส่งผลทำให้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันชนิดที่ผ่านสารน้ำ (Humoral Immune Response) ไม่ได้ผลดี (9, 10)

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิด Neutralizing antibodies ต่อการติดเชื้อไวรัส HIV-1

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัส HIV-1 นั้นมีความซับซ้อนเนื่องจากมีปัจจัยหลายประการ ได้แก่ การที่เชื้อ HIV-1 ทำให้เกิดการติดเชื้อในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน และสามารถฆ่าเซลล์เหล่านั้น นอกจากนี้ยังขัดขวางการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยพบว่าผู้ติดเชื้อ HIV-1 จะมีความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันทั้งที่ผ่านสารน้ำและผ่านเซลล์ตลอดจนการนำเสนอแอนติเจน (Antigen presentation) นอกจากการที่แอนติเจนของไวรัสเองก็มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ทำให้การตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัส HIV-1



รูปที่ 5 โครงสร้างจำลองของ monomeric gp120 ที่ประกอบไปด้วย variable region (V1-V5) และ constant region (C1-C5) ของไวรัส HIV-1 subtype B
(ที่มา: Leonard et al. 1990)

มีลักษณะเป็นพลวัตที่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของไวรัสด้วย และแอนติบอดีชนิดที่สามารถลบล้างฤทธิ์ NtAb ของไวรัส เป็นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดผ่านสารน้ำต่อการติดเชื้อไวรัส HIV-1 ที่เชื่อว่าไปขัดขวางการที่ไวรัสจับกับเซลล์เป้าหมาย โดยจะเกิดขึ้นค่อนข้างช้า และไม่แน่นอน (1) แอนติบอดีที่เรียกว่า NtAb มักพบว่าเป็นแอนติบอดีต่อส่วน V3 loop ที่อยู่บนส่วนโปรตีนเปลือกนอกของไวรัสซึ่งเป็นส่วนที่มีความแตกต่างกันมากในไวรัสต่างสายพันธุ์กันนอกจากนี้ยังมีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ conformational epitope ส่วนที่เป็น binding domain โดยมี mature envelope glycoprotein ของไวรัส HIV-1 เป็นเป้าหมาย หลักของการตอบสนองชนิดนี้ ซึ่งโปรตีนของไวรัสในส่วนเปลือกนอกนี้เชื่อว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับ antibody neutralization และสามารถพบได้ในผู้ติดเชื้อ HIV-1 (11)

กลไก *N*-linked glycan กับการหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันของไวรัส HIV-1

แอนติบอดีชนิดที่เรียกว่า NtAb ถือเป็นหนึ่งในการตอบสนองต่อการติดเชื้อที่สำคัญ แต่สำหรับในการติดเชื้อไวรัส HIV-1 นั้น บทบาทนี้ยังไม่แน่ชัด และกลไกของ *N*-linked glycosylation บนโปรตีนในส่วนเปลือกนอก gp120 ของไวรัส HIV-1 ที่เชื่อว่ามีบทบาทในการอำพรางตัวของไวรัสจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันชนิดนี้

โดยจะทำหน้าที่เป็นโล่กำบังส่วนที่เป็น Neutralizing epitope ของตัวไวรัส ที่ผ่านมาไวรัสได้ใช้กลไกที่เรียกว่า Glycan shield ในการหลบหลีกจาก NtAb โดยที่ไวรัสมีการบดบังในส่วนที่เป็น neutralizing antibody binding แต่ยังคงไว้สำหรับ receptor binding ในการจับกับโฮสต์เซลล์ จากการศึกษาของ Wei Xiping และคณะ พบว่า หลังจากที่ได้มีการลองเปลี่ยนตำแหน่งของ *N*-linked glycosylation โดยการทำ site-directed mutagenesis มีผลทำให้ HIV-1 สายพันธุ์ WEAU ดื้อต่อ NtAb (12) และจากการศึกษาใน Primary isolate พบว่ามีบาง epitope เท่านั้นที่ antibody พอจะเข้าถึงได้ และในขณะที่ NtAb ที่สร้างขึ้นมักจะเป็นการตอบสนองต่อบริเวณที่คงที่ (Conserve region) แต่ NtAb ชนิดนี้กลับไม่สามารถเข้าถึงได้ ในขณะที่บริเวณที่ปรากฏออกมานั้นเป็นส่วนที่มีการเปลี่ยนแปลง (Variable region) มากกว่า (12, 13) จากการศึกษาของ Kwong และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่าไวรัส HIV-1 สามารถที่อำพรางตัวได้จาก antibody-mediated neutralization โดยการบดบังในส่วนของ receptor binding sites โดยอาศัยกลไก Glycosylation ของกลัยโคโปรตีนในส่วนเปลือกนอก (Envelope glycoprotein) นี้ (14, 15)

นอกจากนี้การมี glycosylation หลายตำแหน่งแสดงยังให้เห็นว่ามีผลกระทบต่อความไวของ antibody-mediated neutralization ซึ่งรวมถึงตำแหน่งบน V1, V2, C2 ส่วนฐานของ V3, V5 และ C5 ซึ่งในตำแหน่งเหล่านี้พบว่าตำแหน่งที่อยู่รอบฐานของ V3 loop มีส่วนเกี่ยวข้องกับความไวของ neutralization ในไวรัส HIV-1 subtype B มากที่สุด นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษาในไวรัส HIV-1 สายพันธุ์ CRF01_A/E ที่มีการระบาดในประเทศไทยนั้น พบว่าตำแหน่งของ *N*-linked glycosylation ในบริเวณรอยต่อระหว่าง V2-C2 และบริเวณตรงกลางของ C2 นั้น ส่งผลกระทบทำให้เชื้อไวรัสนี้ดื้อต่อ NtAb เมื่อทำการทดสอบ Neutralization โดยใช้ซีรั่มของผู้ติดเชื้อ (16)

สรุป

การติดเชื้อไวรัส HIV-1 และโรคเอดส์เป็นปัญหาสำคัญที่ยังไม่มีวิธีควบคุมแก้ไขที่ได้ผล อันเนื่องมาจากการที่ไวรัสมีกลไกที่สามารถหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกัน และยังสามารถเพิ่มจำนวนในร่างกายของผู้ติดเชื้อได้ดี ในขณะที่มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ การพัฒนาเพื่อหาแนวทางในการป้องกัน รักษา รวมทั้งการพัฒนาวัคซีนที่ได้ผล จำเป็นต้องมีความเข้าใจในกลไกที่ไวรัสใช้ในการป้องกันตนเองจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งเป้าหมายของการพัฒนาวัคซีนให้มีประสิทธิภาพ ที่จะให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันที่เรียกว่าแอนติบอดี (Antibody) ที่สามารถลบล้างฤทธิ์ไวรัสได้นั้น จะต้องมีความเข้าใจในความสัมพันธ์ของคุณสมบัติทางชีววิทยาของไวรัส และกลไกที่สำคัญทั้งของเชื้อก่อโรคและผู้ติดเชื้อ ซึ่ง *N*-linked glycosylation นับเป็นกลไกหนึ่งที่ไวรัสได้มีการพัฒนาให้ตัวเองสามารถอยู่รอดโดยการอำพรางตัวจากระบบภูมิคุ้มกันและส่งผลทำให้การตอบสนองที่ผ่านทางสารน้ำ (Humoral Immune Response) ไม่ได้ผลดี

บรรณานุกรม

1. ประเสริฐ เอื้อวรากุล. การตอบสนองทางอิมมูนต่อเชื้อ HIV-1. พิไลพันธ์ พุธวัฒนะ (บรรณาธิการ), เอชไอวี และจุลชีพฉวยโอกาส. กรุงเทพฯ: อักษรสมัย; 2541: 61-9.
2. Vigerust DJ, Shepherd VL. Virus glycosylation: role in virulence and immuneinteractions. Trends in Microbiol 2007; 15: 211-18.
3. Cann AJ. Principle of Molecular Virology (3rd edition) . Academic Press; 2001.
4. Alan JC. Virus Particle. Principles of Molecular Virology 4th edition. 2007 Retrieved October 11, 2007 from http://biology.swau.edu/faculty/nclasses/classes/ B&V_ Viral_ Particles.htm;
5. Wyatt R. and Sodroski J. The HIV-1 envelope

glycoproteins : fusogens, antigens, and immunogens. Science 1999; 15(8): 689-98.

6. Levy JA. HIV and the Pathogenesis of AIDS. Washington, D.C. ASM Press; 1998.
7. Dubay JW, Dubay SR, Shin HJ, Hunter E. Analysis of the cleavage site of the human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein: requirement of precursor cleavage for glycoprotein incorporation. Journal of Virology 1995; 69: 4675-82.
8. Leonard CK, Spellman MW, Riddle L, Harris RJ, Thomas JN, Gregory TJ. Assignment of intrachain disulfide bonds and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant human immunodeficiency virus envelope glycoprotein (gp120) expressed in Chinese hamster ovary cells. Journal of Bio chemistry 1990; 265(18): 10373-82.
9. Li WH, Tanimura M, Sharp PM. Rates and dates of divergence between AIDS virus nucleotide sequences. Mol Biol Evol 1988; 5(4): 313-30.
10. Reitter JN, Means RE, Desrosiers RC. A role for carbohydrates in immune evasion in AIDS. Nat Med 1998; 4(6): 679-84.
11. Myers G, Berzofsky JA, Korber B, Smith R, Pavlakis GN. A complication and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. HIV Sequence database. Los Alamos, N.M: Theretical Biology and Biophysics Group, Los Alanos, National Laboratory; 1992.
12. Wei X, Decker JM, Wang S, Hui H, Kappes JC, Wu X, et al. Antibody neutralization and escape by HIV-1. Nature 2003; 422: 307-32.
13. Beretta A, Dalgleish A. B-cell epitopes. AIDS 1994; 8 (Suppl): 133-45.
14. Kwong PD, Doyle ML, Casper DJ, Cicala C, Leavitt SA, Majeed S, et al. HIV-1 evades antibody-mediated neutralization through conformational masking of receptor-binding sites. Nature 2001; 420: 678-82.
15. Reitz MS, Jr Wilson C, Naugle C, Gallo RC, Robert-Guroff M. Generation of a neutralization resistant variant of HIV-1 is due to selection for a point mutation in the envelope gene. Cell 1998; 54(1): 57-63.
16. Teeraputon S, Louisirirojchanakul S, and Auewarakul P. N-linked glycosylation in C2 region of HIV-1 subtype E envelope reduces he sensitivity to neutralizing antibodies. Virol Immunol 2005; 18(2): 343-533.