อนุภาคก่อโรคขนาดเล็ก: ไวรูซอยด์ ไวรอยด์ และพรีออน

Subviral Agents: Virusoids, Viroids and Prions

ปาริชาติ พุ่มขจร และพงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุลโสภณ*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จ. อุบลราชธานี 34190

*Email: rattanachaikunsopon@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

ในบทความนี้ได้กล่าวถึงข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับอนุภาคก่อโรคขนาดเล็ก เพื่อให้เห็นถึงบทบาทสำคัญในแง่การก่อโรค ไวรูซอยด์หรือแซทเทลไลท์เป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว มีลักษณะเป็นวงกลม การเพิ่มจำนวนและการสร้างแคปซิดมาห่อหุ้มต้องอาศัยไวรัสตัวช่วยโดยติดเชื้อร่วมกันกับไวรัสตัวช่วยในพืช ไวรูซอยด์ทำให้เกิดโรคในพืชหลายชนิดโดยส่งผลให้อาการของโรคพืชมีความรุนแรงกว่าการติดเชื้อไวรัสตัวช่วยเพียงลำพัง ไวรอยด์แตกต่างจากแซทเทลไลท์อย่างสิ้นเชิง กล่าวคือ ไวรอยด์มีเพียงอาร์เอ็นเอเท่านั้น แต่สามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อเข้าสู่เซลล์พืชโดยไม่ต้องอาศัยไวรัสตัวช่วย ไวรอยด์ก่อให้เกิดโรคในพืช นอกจากนี้ก็ยังมีสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติรวมของทั้งแซทเทลไลท์และไวรอยด์ คือเฮปาไตติส ดี ไวรัส ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตก่อโรคในคน สุดท้ายอนุภาคอีกชนิดหนึ่งที่กล่าวถึงในที่นี้คือพรีออน แม้ว่าการเกิดขึ้นของพรีออนจะยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ แต่ก็เชื่อว่าพรีออนเป็นโปรตีนที่ก่อโรคติดต่อได้ โรคที่เกิดจากพรีออนมักทำให้เกิดกลุ่มอาการที่แสดงให้เห็นถึงการทำงานที่ผิดปกติของระบบประสาทซึ่งพบได้ทั้งในคนและสัตว์

คำสำคัญ : ไวรูซอยด์ ไวรอยด์ พรีออน

Abstract

In this review basic information of subviral agents is briefly presented to show their significance as important pathogens. Virusoids or satellites are circular single-stranded RNAs that depend on the co-infection of host cells with helper viruses for their replication and encapsidation. Virusoids are known for many plant viruses and are known to influence the virulence of helper viruses. Totally different are agents called viroids. Viroids consist of small, naked RNA molecules that are capable of directing their own replication in host cells. Many are important plant pathogens. There is also an agent that combines the attributes of both satellites and viroids, such as hepatitis delta virus (HDV), which is an important human pathogen. Finally, prion diseases, caused by infectious agents whose identity is controversial but which may consist only of protein, are discussed. Prion diseases represent a group of conditions that affect the nervous system in humans and animals.

Keywords: Virusoids; Viroids; Prions

บทนำ

อนุภาคก่อโรคขนาดเล็ก (subviral agents) หมายถึง สิ่งมีชีวิต (หรือไม่มีชีวิต) ที่มีขนาดเล็กกว่าไวรัสทั่วไปและสามารถก่อโรคได้ แม้ว่าจะมีลักษณะบางอย่างคล้ายกับไวรัสแต่ก็มีบางอย่างแตกต่างไปจากไวรัส จึงถูกจัดไว้อีกกลุ่มหนึ่งแยกออกมาจากไวรัส บางครั้งอาจเรียก subviral agents ว่า unconventional virus หรือ atypical virus และเนื่องจาก subviral agents มีความสามารถในการก่อโรค จึงจัดเป็น infectious particle ในที่นี้จะขอกล่าวถึง

subviral agents 3 ชนิด คือ ไวรูซอยด์ (virusoid) ไวรอยด์ (viroid) และพรีออน (prion) ในแง่คุณลักษณะทั่วไป การทำให้เกิดโรค และโรคที่เกิดจาก infectious particle เหล่านี้

ความเหมือนและความต่างระหว่างไวรัสกับ subviral agents

ไวรัสเป็นสิ่งมีชีวิตที่จำเป็นต้องอาศัยโฮสต์เซลล์ (host cell) ในการเพิ่มจำนวน จึงจัดเป็น obligate intracellular parasite โครงสร้างพื้นฐานของไวรัสประกอบด้วยสารพันธุกรรม (genome) ซึ่งอาจเป็น DNA หรือ RNA และอาจเป็นสายเดี่ยว (single stranded, ss) หรือสายคู่ (double stranded, ds) ก็ได้ รูปร่างของสารพันธุกรรมอาจมีลักษณะเป็นวงกลม (circular) หรือเป็นเส้นตรง (linear) สารพันธุกรรมมีโปรตีนห่อหุ้มเรียกว่าแคปซิด (capsid) เพื่อทำหน้าที่ปกป้องสารพันธุกรรม สำหรับไวรัสที่ไม่มีเอนเวลลอป (non-envelpoed virus) เพียงแค่นี้ก็ถือว่าเป็นอนุภาคไวรัสที่สมบูรณ์ (virion หรือ particle) แล้ว ยกเว้นพวกที่มีเอนเวลลอป (enveloped virus) ก็จะมีชั้นไขมันห่อหุ้มแคปซิดไว้อีกชั้นหนึ่ง ไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อเข้าไปอาศัยอยู่ภายโฮสต์เซลล์ที่เหมาะสม และมักมีความจำเพาะต่อชนิดของโฮสต์ จึงสามารถจำแนกไวรัสออกเป็นกลุ่มตามชนิดของโฮสต์ เช่น animal virus, plant virus และ bacterial virus (หรือ bacteriophage) เป็นต้น [1]

subviral agents เป็นสิ่งมีชีวิตที่ถูกจัดแยกออกมาจากไวรัส แม้ว่าจะเป็น infectious particleและดำรงชีวิตแบบ obligate intracellular parasite เช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากมีองค์ประกอบพื้นฐานแตกต่างจากไวรัสโดยทั่วไป อีกทั้ง subviral agents แต่ละชนิดก็มีรายละเอียดของคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป [2], [3] ดังนี้ (1) ไวรูซอยด์มีสารพันธุกรรมเป็น RNA ไม่สร้างโปรตีนใดๆ แต่มีแคปซิดหุ้มสารพันธุกรรม ซึ่งแคปซิดได้มาจากไวรัสอีกชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ในเซลล์พืช เรียกไวรัสนั้นว่า helper virus กล่าวคือไวรูซอยด์ไม่สามารถดำรงชีวิตโดยลำพังภายในโฮสต์เซลล์ ต้องอาศัย helper virus จึงจะสามารถเพิ่มจำนวนได้ หรือจัดเป็นปรสิตของปรสิต (2) ไวรอยด์มีสารพันธุกรรมเป็น RNA ไม่สร้างโปรตีนใดๆ และไม่มีแคปซิดหุ้มสารพันธุกรรม สามารถเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์พืชและก่อให้เกิดโรคในพืช และ (3) พรีออนไม่มีสารพันธุกรรมใดๆ เป็นเพียงโปรตีนเท่านั้น แต่สามารถก่อให้เกิดโรคติดต่อได้ พรีออนมักทำให้เกิดโรคในสัตว์และคน

ไวรัสและ subviral agents มีขนาดเล็ก สามารถกรองผ่านแผ่นกรอง (filter membrane) ซึ่งมีขนาด pore size ในช่วง 0.22-0.45 ไมโครเมตร แต่โดยทั่วไป subviral agents มักมีขนาดเล็กกว่าไวรัส (ทั้งขนาดของ virion และขนาดของสารพันธุกรรม) subviral agents มีความทนทานต่อการถูกทำให้สูญเสีย infectivity ได้แตกต่างกัน แต่มักจะทนได้ดีกว่าไวรัส เช่น ไวรอยด์ทนต่อรังสีอัตราไวโอเลตได้ดีกว่าไวรัส ในขณะที่พรีออนทนต่อรังสีอัตราไวโอเลตได้ดีกว่าไวรอยด์และไวรัส พรีออนทนต่อ DNase และ RNase ได้ดีกว่าไวรอยด์และไวรัสเนื่องจากไม่มีสารพันธุกรรม แต่ไม่ทนต่อสารที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพ เช่น phenol และ urea เป็นต้น [2]

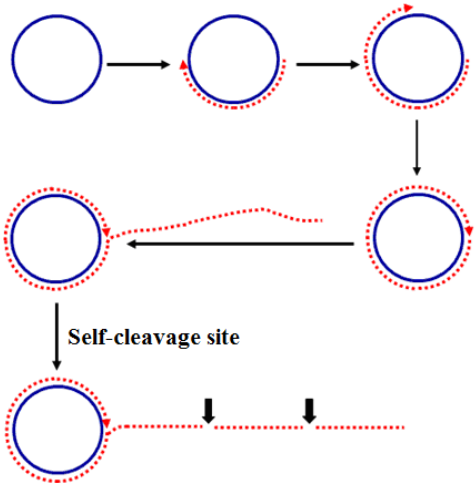
ไวรูซอยด์

ไวรูซอยด์หรือแซทเทลไลท์ (satellite) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยว ลักษณะเป็นวงกลม สารพันธุกรรมมีขนาดประมาณ 350-400 นิว คลีโอไทด์ (nucleotide) ซึ่งไม่ได้ควบคุมการสร้างโปรตีนใดๆ นอกจากสารพันธุกรรมแล้ว ไวรูซอยด์ยังมีโครงสร้างที่เป็นโปรตีนห่อหุ้มเรียกว่าแคปซิด ซึ่งโปรตีนดังกล่าวนี้ไวรูซอยด์ได้มาจาก plant virus หมายความว่าไวรูซอยด์จะเพิ่มจำนวนในเซลล์พืชได้ เซลล์พืชนั้นจะต้องติดเชื้อ plant virus อยู่ก่อน ดังนั้นจึงเรียก plant virus ที่ช่วยให้ไวรูซอยด์สามารถเพิ่มจำนวนภายในเซลล์พืชได้ว่า helper virus และนี่คือเหตุผลหลักที่ทำให้ไวรูซอยด์ต่างจากไวรัสและไวรอยด์ ตัวอย่างของไวรูซอยด์และ helper virus ได้แก่ Barley yellow dwarf virus satellite RNA ซึ่งมี *Luteovirus* เป็น helper virus [4], Tobacco ringspot virus satellite RNA ซึ่งมี *Nepovirus* เป็น helper virus [5] และ Subterranean clover mottle virus satellite RNA ซึ่งมี *Sobemovirus* เป็น helper virus [6] เป็นต้น

ไวรูซอยด์เพิ่มจำนวนในไซโตพลาสมของเซลล์พืช วิธีการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรูซอยด์เป็นแบบ rolling circle replication (รูปที่ 1) โดยอาศัยเอนไซม์ RNA-dependent RNA polymerase จาก helper virus [7] หรือจากเซลล์พืชที่มันเข้าไปอาศัย [8] สารพันธุกรรมของไวรูซอยด์มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ robozyme (เรียกว่ามี ribozyme activity) ซึ่งสามารถตัดสาย RNA (self-cleavage) และเชื่อมต่อ RNA (ligation) ได้ คุณสมบัติดังกล่าวนี้จำเป็นต่อการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรูซอยด์ภายในโฮสต์เซลล์ [9] ไวรูซอยด์ทำให้เกิดโรคในพืชเท่านั้น ซึ่งโดยปกติ helper virus มักเป็นไวรัสก่อโรคในพืชอยู่แล้ว แต่หากมีการติดเชื้อไวรูซอยด์ร่วมด้วยก็จะส่งผลให้อาการของโรคมีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น ปัจจุบันพบว่ามีไวรูซอยด์อยู่ประมาณ 10 ชนิด

อาการที่พบในพืชที่ติดเชื้อไวรูซอยด์ร่วมกับ helper virus ได้แก่ มีใบซีดเหลือง ส่งผลให้การสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชนั้นลดลง (ใน Barley yellow dwarf virus satellite RNA ซึ่งมี *Luteovirus* เป็น helper virus) ใบมีลักษณะหงิกงอ ผิดรูป (ใน Tobacco ringspot virus satellite RNA ซึ่งมี *Nepovirus* เป็น helper virus) และลำต้นแคระแกรนเติบโตช้า มีการเจริญของรากน้อยกว่าปกติ (ใน Subterranean clover mottle virus satellite RNA ซึ่งมี *Sobemovirus* เป็น helper virus) เป็นต้น เหล่านี้ล้วนส่งผลต่อผลผลิต และก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับเกษตรกรผู้เพาะปลูก

การแพร่กระจายของไวรูซอยด์ระหว่างต้นพืชอาจเกิดจากการปลิวของละอองเกสร การเพาะเมล็ดพันธุ์ที่ได้มาจากต้นที่เป็นโรค หรือติดมากับเครื่องมือที่ใช้ในการทำเกษตรกรรม (เช่น มีด กรรไกร จอบ เสียบ) ตลอดจนแมลงต่างๆ ที่พบในแปลงเกษตร (เช่น เพลี้ย ตั๊กแตน และหนอน เป็นต้น)



รูปที่ 1 Rolling circle replication

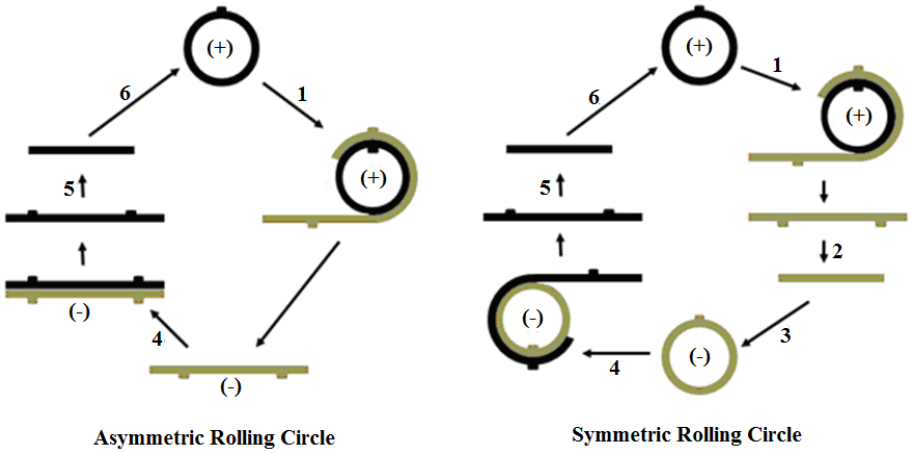
ไวรอยด์

ไวรอยด์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถทำให้เกิดโรคติดต่อได้ ไวรอยด์มีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยว ลักษณะเป็นวงกลม ไม่มีโปรตีนแคปซิดห่อหุ้ม (ด้วยเหตุนี้ไวรอยด์จึงแตกต่างจาก ssRNA, circular ไวรัส) อีกทั้งสารพันธุกรรมของไวรอยด์ไม่ได้กำหนดการสร้างโปรตีนใดๆ เลย แต่ไวรอยด์สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างอิสระเมื่อเข้าสู่เซลล์พืชโดยไม่ต้องอาศัย helper virus (ดังนั้นไวรอยด์จึงต่างจากไวรูซอยด์ แม้ว่าจะมีสารพันธุกรรมเป็น ssRNA, circular เช่นเดียวกัน) ขนาดของสารพันธุกรรมจะอยู่ในช่วง 250-400 นิวคลีโอไทด์ สารพันธุกรรมมักมีลำดับเบสที่สามารถจับกันเองได้ จึงทำให้โครงสร้างของไวรอยด์แทนที่จะดูเป็นวงกลม กลับดูมีลักษณะคล้ายแท่ง (rod like) เรียกการจับกันเองของเบสในสารพันธุกรรมนี้ว่า intramolecular base pairing (รูปที่ 2) ทั้งนี้บริเวณที่ไม่มีการจับกันของเบสเรียกว่า loop ไวรอยด์ทำให้เกิดโรคในพืชเท่านั้น ยังไม่มีรายงานว่าไวรอยด์ทำให้เกิดโรคในคน แต่สิ่งมีชีวิตที่จัดว่าคล้ายไวรอยด์และสามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ คือ Hepatitis D virus (HDV) ซึ่งบางครั้งเรียกว่า defective virus (รายละเอียดเกี่ยวกับ Hepatitis D virus จะกล่าวถึงในหัวข้อถัดไป)

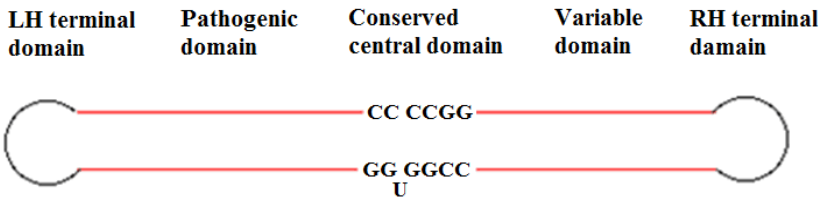
เนื่องจากสารพันธุกรรมของไวรอยด์ไม่ได้กำหนดการสร้างโปรตีนใด ไวรอยด์จึงต้องอาศัยโปรตีนหรือเอนไซม์ที่มีอยู่ภายในโฮสต์เซลล์สำหรับการเพิ่มจำนวน เอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของไวรอยด์ที่ได้มาจากโฮสต์เซลล์ ได้แก่ DNA-dependent RNA polymerases, RNase และ RNA ligases วิธีการเพิ่มจำนวนของไวรอยด์เป็นแบบ rolling circle (รูปที่ 3) [10] โดยใช้ RNA ของไวรอยด์เป็นแม่แบบ (template) สารพันธุกรรมของไวรอยด์บางชนิดมี ribozyme activity ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขั้นตอนการเพิ่มจำนวน [10]

ไวรอยด์แบ่งออกเป็น 2 family ตามตำแหน่งในการเพิ่มจำนวนภายในเซลล์พืช คือ family *Pospiviroidae* ซึ่งเพิ่มจำนวนในนิวเคลียส (มักใช้วิธี asymmetric rolling circle) และ family *Avsunviroidae* ซึ่งเพิ่มจำนวนในคลอโรพลาสต์ (มักใช้วิธี symmetric rolling circle) ปัจจุบันพบว่า มีไวรอยด์ที่ก่อโรคในพืชประมาณ 30 ชนิด เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ในสารพันธุกรรมของไวรอยด์ใน family *Pospiviroidae* (โดยมี prototype คือ Potato spindle tuber viroid, PSTVd) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ในสารพันธุกรรมของไวรอยด์แบ่งออกเป็น 5 ส่วน (domain) คือ LH terminal domain, pathogenic domain, conserved central domain, variable domain และ RH terminal domain (รูปที่ 4) [11, 12] ทั้งนี้ family *Avsunviroidae* (โดยมี prototype คือ Avocado sunblotch viroid, ASBVd) ไม่มี conserved central domain แต่มี ribozyme activity [12] สรุปเกี่ยวกับความแตกต่างของไวรอยด์ทั้ง 2 family แสดงไว้ในตารางที่ 1

รูปที่ 2 สารพันธุกรรมของ Potato spindle tuber viroid (PSTVd) มีลักษณะคล้ายแท่งเนื่องจากเกิดการจับกันเองของ complementary bases



รูปที่ 3 Rolling circle replication ของไวรอยด์ แบบ asymmetric rolling circle และ แบบ symmetric rolling circle



รูปที่ 4 domain ในสารพันธุกรรมของไวรอยด์ (PSTVd)

ตารางที่ 1 สรุปความแตกต่างระหว่าง family *Pospiviroidae* และ family *Avsunviroidae*

Different Characteristics	Family *Pospiviroidae*	Family *Avsunviroidae*
Ribozyme activity	no ribozyme activity	possess ribozyme activity
Replication pathway	asymmetric rolling circle	symmetric rolling circle
Location of replication	nucleus	chloroplast
Conserved central domain	present	absent
Enzymes for replication	RNA polymerase, RNase and RNA ligase	RNA polymerase, RNase and RNA ligase

Pathogenic domain ในสารพันธุกรรมของไวรอยด์เป็นบริเวณที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรค การที่ไวรอยด์สามารถเข้าไปอาศัยในเซลล์พืชแล้วทำให้พืชเป็นโรค ทั้งๆ ที่ตัวเองมิได้สร้างโปรตีนใดๆ เลยนั้นเชื่อว่าเกิดจากกระบวนการ RNA silencing [13] และอาจเป็นไปได้ว่าสารพันธุกรรมของไวรอยด์ซึ่งเป็น RNA นั้นอาจมีลำดับเบสที่ complementary กับ mRNA ของโฮสต์ ดังนั้นหากสารพันธุกรรมของไวรอยด์ไปจับกับ mRNA ของโฮสต์ได้ ก็จะไปขัดขวางกระบวนการ translation ของโปรตีนชนิดนั้นๆ และส่งผลให้พืชเป็นโรค ไวรอยด์สามารถก่อโรคในพืชได้หลากหลายชนิด ทั้งไม้ผลและไม้ดอก ได้แก่ Potato spindle tuber viroid, Coconut cadang-cadang viroid, Tomato planta macho viroid, Cucumber pale fruit viroid, Apple scar skin viroid, Chry santhemum stunt viroid และ Avocado sunblot ch viroid เป็นต้น [3] อย่างไรก็ตามไวรอยด์สามารถเพิ่มจำนวนในเซลล์พืชโดยไม่แสดงอาการของโรคให้เห็นก็ได้

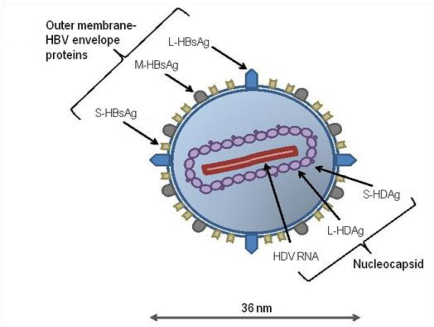
การติดต่อหรือแพร่กระจายของไวรอยด์จะคล้ายกับไวรูซอยด์ ซึ่งอาจเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ เกิดจากการปนเปื้อนของไวรอยด์ในอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่ใช้ในการเกษตร การแพร่กระจายไปกับละอองเกสรหรือเมล็ดพันธุ์ อาศัยแมลงเป็นพาหะพาไป และเกิดจาการสัมผัสกันเองระหว่างต้นพืชหรือใบพืชเป็นต้น

Hepatitis D virus

Hepatitis D virus (HDV) เป็นไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคตับอักเสบชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในกลุ่ม subviral agents สารพันธุกรรมของ HDV มีลักษณะเช่นเดียวกับไวรอยด์ คือ RNA สายเดี่ยว (negative sense) ลักษณะเป็นวงกลม และมี intramolecular base pairing ภายใน จึงมีลักษณะเป็นแท่ง [14] ด้วยเหตุนี้บางครั้งจึงจัด HDV ไว้ในกลุ่มเดียวกับไวรอยด์ แต่สิ่งที่ HDV ต่างไปจากไวรอยด์ที่สำคัญมีอยู่ 2 ประการคือ (1) สารพันธุกรรมของ HDV กำหนดการสร้างโปรตีนหนึ่งชนิด เรียกว่า delta antigen (HDAg) ซึ่งแบ่งเป็น 2 รูปแบบ (form) คือ small delta antigen (S-HDAg) และ large delta antigen (L-HDAg) โดย S-HDAg มีบทบาทสำคัญในการเริ่มต้นของกระบวนการ genome replication ส่วน L-HDAg มีบทบาทสำคัญในช่วง assembly เพื่อให้เกิดเป็น virion ใหม่ [19] และ (2) HDV เป็น subviral agent ที่ก่อโรคในคน (ไม่ใช่ในพืชอย่างพวกไวรูซอยด์

และไวรอยด์) อย่างไรก็ตาม HDV ก็ยังมีคุณลักษณะบางอย่างคล้ายคลึงกับพวก satellite ด้วย กล่าวคือ การเพิ่มจำนวนภายในโฮสต์เซลล์ของ HDV ต้องอาศัย helper virus ซึ่งคือ Hepatitis B virus (HBV) ดังนั้น การติดเชื้อ HDV ในคนจึงอาจเป็นไปได้ 2 ลักษณะคือ ติดไปพร้อมกันกับการติดเชื้อ HBV ในคราวเดียว เรียกว่า co-infection หรือมีการติดเชื้อ HBV อยู่ก่อน (chronic หรือ carrier stage) แล้วจึงค่อยติดเชื้อ HDV ตามมา เรียกว่า superinfection การติดเชื้อ HDV ร่วมกับ HBV ทำให้อาการตับอักเสบมีความรุนแรงมากขึ้น และส่งผลให้ผู้ป่วยมีโอกาสเกิดภาวะตับแข็ง (cirrhosis) เร็วยิ่งขึ้น

HDV เป็นไวรัสที่มีขนาดเล็กที่สุดที่พบในคน (virion มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 36 นาโนเมตร) สารพันธุกรรมมีขนาดประมาณ 1,700 นิวคลีโอไทด์ และมีเอนเวลลอปซึ่งได้มาจาก HBV ดังนั้นที่เอนเวลลอปจึงพบ Hepatitis B serface antigen (HBsAg) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนที่มีขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาดคือ small (S), medium (M) และ large (L)-HBsAg เอนเวลลอปจะหุ้มสารพันธุกรรมของ HDV และ delta antigen ไว้ภายใน (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 โครงสร้างของ Hepatitis D virus [15]

กลไกการเข้าสู่เซลล์ตับ (hepatocyte) ซึ่งเป็นเซลล์เป้าหมายของ HDV ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เชื่อว่าน่าจะคล้ายคลึงกับ HBV โดยเชื้อ HDV ใช้โครงสร้าง HBsAg (เชื่อว่าคือ L-HBsAg) ที่อยู่บน envelope ไปจับกับ hepatocyte membrane receptor ซึ่งคือ heparin sulphate proteoglycan ที่ปรากฏอยู่บนผิวของเซลล์ตับ [15] หลังจากที่ HDV เข้าสู่เซลล์ และเกิดกระบวนการ uncoating แล้ว สารพันธุกรรมของ HDV จะเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อเพิ่มจำนวน การเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของ HDV ต้องอาศัยเอนไซม์ DNA-dependent RNA polymerase จากโฮสต์เซลล์ อีกทั้งสารพันธุกรรมของ HDV มี ribozyme activity ซึ่งมีบทบาทสำคัญใน genome replication [16] ขั้นตอนการเพิ่มจำนวน HDV สรุปได้คร่าวๆ ดังนี้ สารพันธุกรรมของ HDV (genomic RNA) เป็นแม่แบบในการสร้าง antigenomic RNA โดยวิธี rolling circle replication จากนั้น antigenomic RNA จะถูกใช้เป็นแม่แบบในการสร้าง genomic RNA และมีการ transcription เพื่อสร้าง mRNA ซึ่งจะถูกใช้เป็นแม่แบบในการสร้าง HDAg ในไซโตพลาสม จากนั้น HDAg จะถูกส่งกลับเข้าไปนิวเคลียสเพื่อจับกับ genomic RNA จะเห็นได้ว่าการเพิ่มจำนวนของ HDV ไม่ได้อาศัย helper virus หรือ HBV แต่ HBV จะเข้ามาเกี่ยวข้องในขั้นตอน attachment (อาศัย HBsAg เพื่อจับกับ receptor site บนผิวของ hepatocyte) ขั้นตอน assembly โดยการสร้าง outer membrane-HBV envelope มาหุ้ม nucleocapsid ของ HDV ไว้ และขั้นตอน release เพื่อปลดปล่อย complete HDV virion ออกนอกเซลล์ (รูปที่ 6) [17]

อาการของโรคตับอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ HDV จะไม่แตกต่างจาก HBV แต่อาจรุนแรงกว่าการติดเชื้อ HBV เพียงอย่างเดียว คือ ในกรณีที่เป็นแบบเฉียบพลัน (acute) ผู้ป่วยจะมีอาการอ่อนเพลีย ปวดเมื่อตามกล้ามเนื้อ ปวดข้อ คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร อาจพบผื่นขึ้นตามตัว และอาจพบว่ามีอาการตัวเหลืองตาเหลืองร่วมด้วย (อาการตัวเหลืองตาเหลืองนี้อาจหายไปเองได้ภายในไม่กี่สัปดาห์) ส่วนในกรณีที่เป็นแบบเรื้อรัง (chronic) ผู้ป่วยอาจไม่แสดงอาการให้เห็น แต่เซลล์ตับจะถูกทำลายไปเรื่อยๆ จนเข้าสู่ภาวะตับแข็ง และอาจเป็นมะเร็งตับในที่สุด

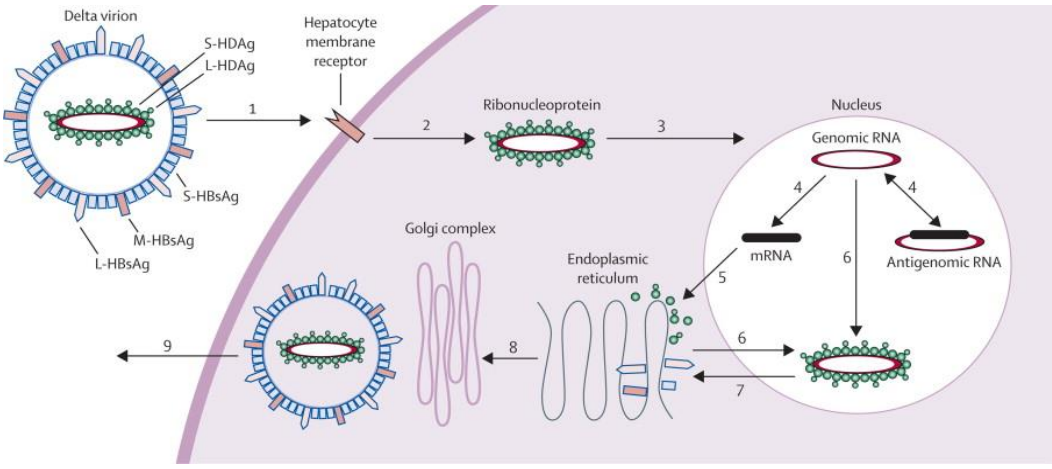
การติดเชื้อ HDV สามารถพบได้ทั่วโลก พบบ่อยในอเมริกากลาง ประเทศในแถบเมดิเตอร์เรเนียนตะวันออกกลาง และอเมริกาใต้ ในประเทศไทยพบได้ค่อนข้างน้อย จากข้อมูลเมื่อปี ค.ศ. 2013 ประชากรที่ติดเชื้อ HBV ประมาณ 15-20 ล้านคนทั่วโลก ติดเชื้อ

HDV ด้วย [15] ปัจจุบันพบว่า HDV มีอยู่ 8 genotype ซึ่งมีความสามารถในการก่อโรคแตกต่างกัน และบาง genotype ก็พบจำกัดอยู่เพียงบางพื้นที่เท่านั้น (ยกเว้น genotype 1 ที่สามารถพบได้ทั่วโลก) การติดต่อของเชื้อ HDV จะเช่นเดียวกับ HBV คือ ผ่านทางเลือดและสารคัดหลั่ง ทางการใช้เข็มฉีดยาร่วมกัน (ในหมู่ผู้เสพสารเสพติด) และทางเพศสัมพันธ์ การป้องกันการติดเชื้อ HDV สามารถทำได้โดยอาศัยการป้องกันการติดเชื้อ HBV ซึ่งเป็น helper virus ดังนั้นวัคซีนที่ใช้ป้องกันการติดเชื้อ HBV จึงสามารถป้องกันการติดเชื้อ HDV ด้วยโดยปริยาย ส่วนวัคซีนป้องกัน HDV โดยตรงยังไม่มี

พรีออน

พรีออน มาจากคำว่า proteinaceous infectious particle (ที่จริงควรเป็น “proin” แต่มีการสลับตำแหน่งระหว่าง “o” กับ “i” กลายเป็น “prion”) หมายถึงโปรตีนที่สามารถทำให้เกิดโรคที่สามารถติดต่อได้ (transmissible) ดังนั้นพรีออนจึงไม่จัดเป็นสิ่งมีชีวิต แต่การที่พรีออนซึ่งเป็นโปรตีนสามารถก่อโรคได้นั้น [18, 19] เกิดจากการเปลี่ยนรูปร่างของโปรตีนจากรูปหนึ่งไปเป็นอีกรูปหนึ่ง (conformational change) โดยพรีออนในรูปที่ทำให้เกิดโรคได้นี้จัดเป็น misfolded protein หรือเป็นโปรตีนที่มีรูปร่างทุติยภูมิ (secondary structure) ผิดไปจากเดิม [19] เนื่องจากพรีออนเป็นโปรตีนจึงไม่มีสารพันธุกรรมใดๆ เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นจึงมีความทนทานสูงกว่า infectious agent ชนิดอื่นๆ คือ สามารถทนต่อการถูกทำลายด้วยความร้อน รังสี และเอนไซม์ (เช่น DNase, RNase) ได้ค่อนข้างดี [20]

พรีออนทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ โดยโรคที่เกิดจากพรีออนจะทำให้เกิดความผิดปกติที่สมอง (encephalopathy) อาการสำคัญที่พบ คือ เนื้อสมองถูกทำลาย โดยเริ่มจากมีจุดในสมองเรียกว่า amyloid plaque ซึ่งต่อมาเนื้อสมองจะมีลักษณะเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (เรียกว่า spongiform encephalopathy) [18] ส่งผลให้ผู้ป่วยมีอาการผิดปกติทางสมอง สัตว์หรือคนที่เป็นโรคที่มีสาเหตุจากพรีออนมักเสียชีวิตในที่สุด อาการอื่นๆ ที่พบได้แก่ น้ำหนักลด ซูบผอม นอนไม่หลับ การทำงานของกล้ามเนื้อผิดปกติ สมองเสื่อม เป็นต้น หากเป็นในสัตว์อาจพบว่าสัตว์มีอาการผิดปกติด้านการทรงตัว การยืน การเดิน การกินอาหาร และมีพฤติกรรมแตกต่างไปจากตัวอื่นที่อยู่ในฝูงเดียวกัน โรคที่เกิดจากพรีออนจัดเป็น amyloid disease ชนิดหนึ่ง (อยู่ในกลุ่มเดียวกับโรค alzheimer) เรียกว่า transmissible spongiform encephalopathies (TSE) และเป็นโรคที่มีการดำเนินโรคอย่างช้าๆ จึงจัดเป็น slow infection disease [20] โรคที่เกิดจากพรีออน



รูปที่ 6 ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนของ Hepatitis D virus [17]

ที่พบในสัตว์ ได้แก่ scrapie พบในสัตว์จำพวก แพะ แกะ transmissible mink encephalopathy (TME) พบในตัวมิงค์ feline spongiform encephalopathy (FSE) พบในสัตว์จำพวกแมว เสือ และสิงโต chronic wasting disease (CWD) พบในกวาง และ bovine spongiform encephalopathy (BSE หรือ mad cow disease) พบในวัว เป็นต้น [20] ส่วนโรคที่เกิดจากพรีออนที่พบในคน ได้แก่ Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), familial fatal insomnia (FFI), Gerstmann-Straussler-Scheinker disease (GSS) และ kuru เป็นต้น [20] ทั้งนี้โรคที่เกิดจากพรีออนโรคแรกที่พบในสัตว์คือ scapie พบเมื่อปี ค.ศ. 1732 ในยุโรป ต่อมาจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับโรคที่เกิดจากพรีออน กันอย่างกว้างขวาง ส่วนโรคที่เกิดจากพรีออนโรคแรกที่พบในคน คือ kuru ซึ่งพบในราวปี ค.ศ. 1900 ในชนเผ่ามนุษย์กินคนซึ่งเป็นชาวพื้นเมืองที่อาศัยอยู่ในประเทศปาปัวนิวกินี ต่อมาในปี ค.ศ. 1959 พบว่า พยาธิสภาพที่พบในเนื้อสมองและอาการของโรค scrapie และ kuru มีลักษณะคล้ายคลึงกันและเชื่อว่าโรคทั้งสองชนิดนี้น่าจะสามารถถ่ายทอดไปยังสัตว์และคนอื่นได้ ทั้งนี้ในระยะแรกที่ยังไม่ทราบว่าอะไรเป็นสาเหตุของโรคที่เกิดจากพรีออน จึงเรียกต้นเหตุของการเกิดโรคพรีออนว่า transmissible agent จนกระทั่งปี ค.ศ. 1967 นักวิทยาศาสตร์ในยุคนั้นเชื่อแน่ว่า transmissible agent คือโปรตีนที่สามารถเพิ่มจำนวนได้เอง อย่างไรก็ตามความคิดนี้เป็นเรื่องที่ขัดแย้งกับทฤษฎี “central dogma” ในทางชีววิทยาที่กล่าวว่า DNA เป็นตัวกำหนดการสร้าง RNA โดยผ่านกระบวนการ transcription และ RNA เป็นตัวกำหนดการสร้างโปรตีนโดยผ่านกระบวนการ translation

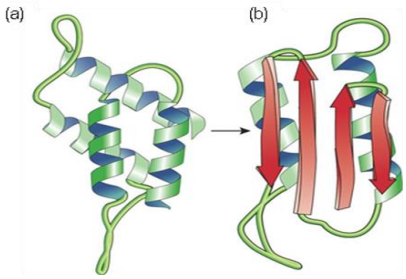
เมื่อการศึกษาเกี่ยวกับพรีออนดำเนินมาจนถึงปี ค.ศ. 1982 นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกจึงยอมรับว่าสาเหตุของโรค พรีออนที่แท้คือโปรตีน โดยเรียกว่า prion protein (PrP) เพื่อให้ต่างจากไวรัสและไวรอยด์ โปรตีนดังกล่าวสามารถสกัดได้จากสมองของสัตว์ที่เป็นโรคพรีออน PrP มีอยู่ 2 รูปแบบ (form) คือ รูปแบบปกติ (PrP^{C}) และรูปแบบผิดปกติ (PrP^{Sc} ซึ่งเป็นรูปแบบที่ก่อโรค) [20] ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาพรีออนในช่วงแรก เป็นการศึกษาในโรค scrapie เป็นหลัก ดังนั้น “Sc” จึงหมายถึงพรีออนรูปแบบผิดปกติที่พบในโรค scrapie แต่ก็สามารถหมายถึงพรีออนรูปแบบผิดปกติที่พบในโรคอื่นๆ ที่พบตามมาในภายหลังด้วย

ในร่างกายคนมียีนที่ควบคุมการสร้าง PrP อยู่บนแขนข้างสั้น (p arm) ของโครโมโซมคู่ที่ 20 ชื่อว่ายีน *PRNP* ยีนนี้มีการแสดงออกในเซลล์สมองและเซลล์ในเนื้อเยื่ออื่นๆ อีกหลายชนิด [21] ซึ่งเมื่อเกิดการแสดงออกของยีนดังกล่าวจะทำให้เซลล์สร้าง PrP ซึ่งเป็น integral membrane protein ที่พบอยู่บนผิวเซลล์ของเซลล์ที่สร้างโปรตีนนั้น (โปรตีนนี้มีชื่ออีกอย่างหนึ่งว่า CD230) หน้าที่ของโปรตีนดังกล่าวนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด [18] นักวิทยาศาสตร์บางคนเชื่อว่าโปรตีนนี้น่าจะเกี่ยวข้องกับการขนส่ง copper เข้าสู่ภายในเซลล์ [22] และบางคนเชื่อว่าโปรตีนนี้ทำหน้าที่ปกป้องเซลล์สมอง ไม่ให้โดนทำลายจากการบาดเจ็บต่างๆ หรือเรียกว่าทำหน้าที่เป็น neuroprotection [28] เป็นต้น

ในคน PrP^{C} เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 209 ตัว มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี รูปร่างทุติยภูมิเป็นแบบ alpha-helix ประมาณ 43% และไม่ทนต่อเอนไซม์ protease เมื่อ PrP^{C} เปลี่ยนไปเป็น PrP^{Sc} (ด้วยกลไกใดยังมิทราบแน่ชัด) จะมีโครงสร้างและคุณสมบัติเปลี่ยนไปจากเดิม คือ ไม่ละลายน้ำ มีรูปร่างทุติยภูมิแบบ alpha-helix ลดลงเหลือเพียง 30% และแบบ β-sheet เพิ่มขึ้นเป็น 43% และทนต่อเอนไซม์ protease ได้ (รูปที่ 7) [20] เมื่อศึกษาลำดับกรดอะมิโนเปรียบเทียบระหว่าง PrP^{C} กับ PrP^{Sc} ในโรค FFI และ CJD พบว่ากรดอะมิโนตัวที่ 178 ของ PrP^{C} เป็น aspatate แต่ของ PrP^{Sc} เป็น asparagine ดังนั้น mutation ของยีน *PRNP* จึงน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคพรีออนในคน [24]

PrP^{Sc} สามารถเกิดขึ้นในร่างกายได้เองหรืออาจรับมาจากภายนอก เช่น เข้าสู่ร่างกายโดยการกินสัตว์หรือผลผลิตจากสัตว์ที่มีการการปนเปื้อน

พรีออนโดยตรง การปลูกถ่ายอวัยวะ (tissue/organ transplantation) การผ่าตัดสมอง (neurosurgery) เป็นต้น เนื่องจากพรีออนมีความทนทานในสิ่งแวดล้อมได้ดี และไม่ถูกทำลายได้ง่ายโดยน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้กำจัดจุลินทรีย์และไวรัสโดยทั่วไป จึงอาจปนเปื้อนมากับเครื่องมือ/อุปกรณ์ทางการแพทย์ที่ใช้ในการผ่าตัด [20] อีกทั้ง PrP^{Sc} มีคุณสมบัติทนต่อเอนไซม์ protease ได้ค่อนข้างดี ดังนั้นเมื่อปรากฏในร่างกายแล้วจึงถูกทำลายได้ยากกว่า PrP^{C} วิธีการเพิ่มจำนวนของ PrP^{Sc} แม้ว่าจะยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ก็เชื่อว่าเมื่อมี PrP^{Sc} ปรากฏขึ้นในร่างกายแล้ว ก็จะยิ่งส่งผลให้เกิดการเหนี่ยวนำให้มีการสร้าง PrP^{Sc} ออกมาจากเซลล์มากขึ้นเรื่อยๆ และเกิดการสะสมของ PrP^{Sc} ทั้งภายนอกและภายในเซลล์ [20] เซลล์ที่มีการสะสม PrP^{Sc} ก็จะตายไปด้วยกระบวนการ apoptosis [25] ส่วน PrP^{Sc} ที่สะสมอยู่นอกเซลล์สมอง เริ่มแรกจะมีลักษณะคล้ายเส้นใย (เรียกว่า PrP^{Sc} fiber) และมองเห็นเป็นจุดในเนื้อสมองเรียกว่า amyloid plaque เมื่อเวลาผ่านไปก็จะทำให้เนื้อสมองค่อยๆ ถูกทำลายและเกิด spongiform encephalopathy ในที่สุด [19] กลไกการทำให้เกิดโรคของ PrP^{Sc} ยังไม่ทราบแน่ชัด สมมติฐานที่อาจเป็นไปได้ มีดังนี้ PrP^{Sc} มีคุณสมบัติเป็นพิษโดยตรงต่อเซลล์สมอง (neurotoxin) หรือ PrP^{C} สูญเสียหน้าที่ไปเนื่องจากถูกเปลี่ยนให้ไปอยู่ในรูป PrP^{Sc} หรือ ในระหว่างที่เกิดการเปลี่ยนจาก PrP^{C} ไปเป็น PrP^{Sc} มีการสร้างสารพิษบางอย่างขึ้น เรียกว่า toxic intermediate เป็นต้น [20]



รูปที่ 7 การเปลี่ยนรูปร่างของพรีออนจาก PrP^{c} (a) ไปเป็น PrP^{Sc} (b) [20]

โรคที่เกิดจากพรีออนในคนแม้จะสามารถติดต่อกันได้ แต่ก็จัดเป็นโรคที่ติดต่อยาก กลุ่มอาชีพที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อ ได้แก่ ศัลยแพทย์ นักพยาธิวิทยา สัปเหร่อ เป็นต้น เนื่องจากโรคพรีออนเป็นโรคที่มีระยะฟักตัวยาวนาน (โดยเฉพาะในกรณีที่พรีออนไม่ได้เข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางโดยตรง) เนื้อเยื่อที่อาจพบว่ามีการเพิ่มจำนวนของพรีออนได้คือ lymphoreticular system (ทั้ง primary lymphoid organs และ secon dary lymphoid organs) ดังนั้นวิธีการป้องกันในเบื้องต้นสำหรับคนที่คาดว่าไปสัมผัสกับพรีออนมาหรือได้รับพรีออนเข้าสู่ร่างกายโดยบังเอิญ สามารถทำได้โดยการให้ยากดภูมิต้านทาน (เช่น corticosteroids) เป็นต้น [20] แนวทางการรักษาโรคพรีออนในสัตว์ยังอยู่ในระหว่างการทดลอง ส่วนในคนยังไม่มีวิธีการรักษา

เอกสารอ้างอิง

[1] Emiliani, C. 1993. Extinction and viruses. **Biosystems**. 31: 155-159.

[2] Diener, T. O., Michael, P. M. and Stanley, B. P. 1982. “ Viroids and prions” . **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 79: 5220-5224.

[3] Symons, R. H. 1991. “The intriguting viroids and virusoids: What is their information content and how did they evolve?” . **Molecular plant-microbe interactions** 4 (2): 111-121.

[4] Rasochova, L., Passmore, B. K., Falk, B. W. and Miller, W. A. 1997. “The Satellite RNA of Barley Yellow Dwarf Virus-RPV Is Supported by Beet Western Yellows Virus in Dicotyledonous Protoplasts and Plants”. **Virology**. 231 (2): 182-191.

[5] Buzayan, J. M., Gerlach, W. L., Bruening, G., Keese, P. and Gould, A. R. 1986. “Nucleotide sequence of satellite tobacco ringspot virus RNA and its relationship to multimeric forms”. **Virology**. 151 (2): 186-199.

[6] Davies, C., Haseloff, J. and Symons, R. H. 1990. “Structure, self-cleavage, and replication of two viroid-like satellite RNAs (virusoids) of subterranean clover mottle virus”. **Virology**. 177 (1): 216-224.

[7] Lai, M. M. 2005. “RNA Replication without RNA-Dependent RNA Polymerase: Surpri ses from Hepatitis Delta Virus”. **Journal of Virology**. 79 (13): 7951-7958.

[8] Fraenkel-Conrat, H. 1983. “RNA-dependent RNA polymerases of plants”. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 80: 422-424.

[9] Ricardo, F., Maria-Eugenia, G., Diego, M. S., Maria-Angeles, N., Alberto, C., Selma, G., Marcos De la, P. and Jose-Antonio, D. 2009. “Viroid replication: rolling circles, enzymes and Ribozymes”. **Viruses**. 1: 317-334.

[10] Flores, R., Grubb, G., Elleuch, A., Nohales, M. A., Delgado, S. and Gago, S. 2011. “Rolling-circle replication of viroids, viroid-likesatellite RNAs and hepatitis delta virus: Variations on a theme”. **RNA Biology**. 8 (2): 200-206.

[11] Flores, R., Serra, P., Minoia, S., Di serio, F. and Navarro, B. 2012. “Viroids: from gen otype to phenotype just relying on RNA sequence and structural motifs”. **Frontiers in Microbiology**. 3 (217): 1-9

[12] Flores, R., Gas, M. E., Molina-Serrano, D., Nohales, M. A., Carbonell, A., Gago, S., De la Pena, M. and Daros, J. A. 2009. “Viroid replication: rolling-circles, enzymes and ribozymes”. **Viruses**. 1: 317-334.

[13] Barba, M. and Hadidi, A. 2009. “RNA silencing and viroids”. **Journal of Plant Pathology**. 91 (2): 243-247.

[14] Kos, A., Dijkeme, R., Arnberg, A. C., van der Meide, P. H. and Schellekens, H. 1986. “The hepatitis delta (δ) virus possesses a circular RNA”. **Nature**. 323**:**558-560.

[15] Abbas, Z. and Afzal, R. 2013. “Life cycle and pathogenesis of hepatitis D virus: A review”. **World Journal of Hepatology**. 5 (12): 666-675.

[16] Jeng, K. S., Daniel, A. and Lai, M. M. 1996. “A pseudoknot ribozyme structure is active in vivo and required for hepatitis delta virus RNA replication”. **Journal of Virol ogy**. 70 (4): 2403-2410.

[17] Hughes, S. A., Wedemeyer, H. and Harrison, P. M. 2011. “Hepatitis delta virus”. **The lancet**. 378 (9785): 73-85.

[18] Byron, C. and Gerald, S. B. 2006. “Review Article Prions and their partners in crime”. **Nature**. 443: 803-810.

[19] Allison, K., Bradley, R. G. and Byron, C. 2013. “Prions and the Potential Transm issibility of Protein Misfolding Diseases”. **Annual Review of Microbiology**. 67: 543-564.

[20] Collinge, J. 2005. “ Molecular neurology of prion disease” . **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**. 76: 906-919.

[21] Byron, C. and Gregory, J. R. 1991. “ The scrapie-associated form of PrP is made from a cell surface precursor that is both protease-and phospholipase-sensitive” . **The Journal of Biological Chemistry**. 226 (27): 18217-18223.

[22] Jackson, G. S., Murray, I., Hosszu, L. L. P., Gibbs, N., Waltho, J. P., Clarke, A. R. and Collinge J. 2001 “Location and properties of metal-binding sites on the human prion protein” . **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 98 (15): 8531-8535.

[23] Zamponi, G. W. and Stys, P. K. 2009. “Role of prions in neuroprotection and neurodeg en- eration”. **Prion**. 3 (4): 187-189.

[24] Monari, L., Chen, S. G., Brown, P., Parchi, P., Peterson, R. B., Mikol, J., Gray, F., Cortelli, P., Montagna, P. and Ghetti, B. 1994. “Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: different prion proteins determined by a DNA poly morphism”. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 91 (7): 2839-2842.

[25] Liberski, P. P., Sikorska, B., Bratosiewicz-Wasi, J., Gajdusek, D. C. and Brown, P. 2004. “ Neuronal cell death in transmissible spongiform encephalopa-thies (prion dise ases) revisited: from apoptosis to auto phagy” . **International Journal of Bioch emistry & Cell Biology**. 36 (12): 2473-2490.