

การทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบ: ความสัมพันธ์ของยีนในระบบภูมิคุ้มกันของยุงก้นปล่อง ต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

Systematic review: the relationship of immune family gene in *Anopheles* mosquito
(Diptera: Culicidae) on *Plasmodium* infection

กิริติ กิตติวัฒนาวงศ์^{1*}, ธีรภมร เพ็งสกุล², โสภาวดี มูลเมฆ¹

Kerati Kittiwattanawong^{1*}, Theerakamol Pengsakul², Sopavadee Moonmake¹

¹สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 จังหวัดสงขลา,

²ศูนย์วิจัยสุขภาพและสิ่งแวดล้อม, คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

¹Office of Disease Prevention and Control Region 12 Songkhla,

²Health and Environmental Research Center, Faculty of Environmental Management,

Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla

* Corresponding author email: kerati.kw@gmail.com

Received: April 2, 2024

Revised: July 27, 2024

Accepted: August 12, 2024

บทคัดย่อ

การศึกษาในยีนในระบบภูมิคุ้มกันกลุ่ม JAK-STAT pathway ของยุงก้นปล่องในด้านกลไกการตอบสนองการติดเชื้อมาลาเรีย โดยทำงานร่วมกับยีน NOS, *TEP1*, *SOCS*, และ *HPX15* มีแนวโน้มที่จะแสดงให้เห็นถึงกลุ่มยีนที่ส่งเสริม หรือยีนกลุ่มต้องสงสัย ซึ่งส่งผลให้ยุงก้นปล่องมีศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรีย

การศึกษาในครั้งนี้ใช้การทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบโดยมีแนวทางการศึกษาว่าหากยุงก้นปล่องมียีนในกลุ่มต้องสงสัย ที่จะส่งเสริมศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรียเพิ่มขึ้นก็จะมีแนวโน้มให้ยุงก้นปล่องชนิดนั้น ๆ สามารถเป็นพาหะหลักในการนำ เชื้อมาลาเรียได้เช่นเดียวกัน หากมียีนในกลุ่มต้องสงสัยน้อยลงจะลดศักยภาพในการนำเชื้อมาลาเรียได้ การยับยั้งการแสดงออก ของยีนโดยเฉพาะในกลุ่มยีนที่ส่งเสริมให้ยุงก้นปล่องมีศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรียจึงเป็นแนวทางในการลดความสามารถ การเป็นพาหะนำโรคมมาลาเรียได้ ผลการสืบค้นอย่างเป็นระบบที่เกี่ยวข้องกับยีนกลุ่มต้องสงสัยที่ได้รับการยืนยันว่ามีความสัมพันธ์ ต่อการนำเชื้อมาลาเรีย หากยับยั้งการแสดงออกของยีนเหล่านี้จะทำให้การพัฒนาของเชื้อมาลาเรียลดลง เช่น การยับยั้งยีน *HPX15* ส่งผลให้จำนวนของ ookinete ที่เกิดขึ้นในทางเดินอาหารชั้นกลางของยุงก้นปล่องลดลงอย่างมีนัยสำคัญ หรือยีน *SOCS* และ ยีน *PIAS* ที่เป็นกลไก negative feedback ต่อ JAK-STAT เพื่อหยุดการกระตุ้นยีน NOS ซึ่งยับยั้งการเกิด Hyper-immunity แต่ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงหลังการติดเชื้อคือช่วงที่ ookinete มีการเจริญเติบโตเต็มที่และพร้อมที่จะฝังตัว การทบทวนอย่างเป็น ระบบครั้งนี้ได้ให้ความเข้าใจในระบบภูมิคุ้มกันของยุงก้นปล่องแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน รวมถึงบทบาทหน้าที่ของยีนแต่ละยีน และสามารถ นำองค์ความรู้ที่ได้ไปพัฒนาแนวทางที่สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ส่งเสริมให้ยุงก้นปล่องมีศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรีย เพื่อเป็นการป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคมมาลาเรียในอีกรูปแบบหนึ่ง

คำสำคัญ: มาลาเรีย, ยุงก้นปล่อง, ระบบภูมิคุ้มกัน, JAK-STAT pathway, ยีนกลุ่มต้องสงสัย

ABSTRACT

The study of genes in the immune system of *Anopheles* mosquitoes, specifically the JAK-STAT pathway, in relation to their response mechanisms to malaria infection, in conjunction with the genes NOS, *TEP1*, *SOCS*, and *HPX15*, collaborate within the JAK-STAT pathway to mount immune responses against malaria infection.

This study employs a systematic literature review approach with a research guideline that suggests if *Anopheles* mosquitoes possess suspect genes that increase their vector potential for malaria transmission, these mosquitoes are more likely to serve as primary vectors. Conversely, if fewer suspect genes are present, the potential for malaria transmission decreases. Inhibiting the expression of genes, particularly those that enhance the vector potential of *Anopheles* mosquitoes, is a strategy to reduce their competency to transmit malaria. The systematic review results related to confirmed suspect genes associated with malaria transmission indicate that inhibiting the expression of these genes can reduce the development of malaria parasites. For example, inhibiting the *HPX15* gene significantly reduces the number of ookinetes forming in the midgut of *Anopheles* mosquitoes. Additionally, the *SOCS* and *PIAS* genes act as negative feedback mechanisms for JAK-STAT to stop the activation of the *NOS* gene, which prevents hyper-immunity. However, within 24 hours post-infection, ookinetes fully mature and are ready for implantation. This systematic review provides an understanding of the immune systems of different *Anopheles* mosquito species, including the roles and functions of individual genes. The knowledge gained can be utilized to develop strategies to inhibit the expression of genes that enhance the vector potential of *Anopheles* mosquitoes for malaria transmission. This represents a novel approach to preventing and controlling malaria outbreaks.

Keywords: malaria, *Anopheles* mosquito, immune system, JAK-STAT pathway, suspected gene

1. บทนำ

การระบาดของโรคมาลาเรียเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญในประเทศไทยซึ่งมียุงก้นปล่อง (*Anopheles*) เป็นพาหะนำโรค โดยมียุงก้นปล่อง 6 ชนิดที่เป็นพาหะนำเชื้อมาลาเรียได้โดยเป็นพาหะหลัก 3 ชนิด คือ *An. dirus*, *An. minimus*, และ *An. maculatus* เป็นพาหะรอง 3 ชนิด คือ *An. acunitus*, *An. sundanicus*, และ *An. pseudowillmori* และพาหะสงสัยอีก 4 ชนิดคือ *An. philippinensis*, *An. barbirostris*, *An. campestris*, และ *An. culicifacies*⁽¹⁻²⁾ โรคมาลาเรียมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อโปรโตซัวชนิดพลาสโมเดียม (*Plasmodium*) ซึ่งมีสายพันธุ์ที่ก่อโรคในคนมีอยู่ 5 ชนิด คือ *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, และ *P. knowlesi* เชื้อพลาสโมเดียมมีวงจรชีวิตโดยอาศัยโฮสต์ (host) 2 ชนิด คือ ยุงก้นปล่องเพศเมียเป็นโฮสต์จำเพาะ (definitive host) และคนเป็นโฮสต์ตัวกลาง (intermediate host)⁽³⁾

แนวทางการศึกษาในปัจจุบันมีแนวโน้มในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตที่ดำรงตัวเป็นโฮสต์ (host) พาหะ (vector) และปรสิต (parasite) ในทางการแพทย์มีการศึกษาในคนที่ได้รับผลกระทบจากการป่วยเป็นมาลาเรีย เช่น วงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรียในคน การเกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ การศึกษาวิธีป้องกัน ยารักษา และการศึกษาจีโนมของคนเพื่อนำไปสู่ความรู้ใหม่ ๆ เช่น การศึกษาความหลากหลายของยีน P-450 ในคนโดยส่งผลต่อการกำจัดยา (drug-metabolism genes)

ซึ่งการกำจัดยาออกจากร่างกายก่อนที่ร่างกายจะกำจัดเชื้อมาลาเรียได้ทั้งหมด ทำให้เชื้อมาลาเรียยังคงเหลือในร่างกาย เช่น เชื้อมาลาเรียระยะในตับ ซึ่งสามารถทำให้ผู้ป่วยกลับป่วยอีกครั้ง (malarial relapse)⁽⁴⁾ ปัจจุบันการศึกษาในด้านของโฮสต์มีมากขึ้นทำให้มีการพัฒนาแนวทางการศึกษาในด้านพาหะและปรสิตในอีกทางหนึ่ง ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียเพื่อที่จะหายารักษาตัวใหม่ออกมาใช้งานในอนาคต การศึกษาจีโนมของเชื้อมาลาเรียต่อการดื้อยา เช่น การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphism) ของยีนหลายชนิดซึ่งต้องสงสัยว่าจะนำไปสู่การดื้อยาของเชื้อ *P. vivax*⁽⁵⁻⁶⁾ การศึกษาอนุกรมวิธานในการจัดจำแนกพาหะโดยอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา และชีวโมเลกุลเข้าด้วยกัน เช่น การจำแนกชนิดของยุงก้นปล่องซึ่งเป็นลักษณะเป็นชนิดซับซ้อน (complex species) เป็นต้น การศึกษาด้านพฤติกรรมอาหารของยุงก้นปล่อง การจัดจำแนกชนิดของยุงเป็นหนึ่งในแนวทางที่จะใช้ในการควบคุมประชากรยุง และหลีกเลี่ยงพื้นที่เสี่ยงที่จะโดนยุงกัด และนำไปสู่การใช้ยาควบคุมการระบาดของยุงก้นปล่องได้ และอีกหนึ่งการศึกษาที่สำคัญ และแนวโน้มมากขึ้นคือ การศึกษายีนในระบบภูมิคุ้มกันของยุงก้นปล่องในด้านกลไกในการตอบสนองต่อการติดเชื้อ เช่น การศึกษา Janus kinase (JAK) signal transducer and activator of transcription (STAT) pathway, ยีน *nitric oxide synthase* (NOS), ยีน *Thioester containing protein 1* (TEP1),

ยีน *suppressor of cytokine signaling (SOCS)*, ยีน *Protein inhibitor of activated STAT (PIAS)*, ยีน *heme peroxidase 15 (HPX15)* ต่อก่อกในการตอบสนองการติดเชื้อมาลาเรีย

การศึกษาของยุงก้นปล่องในแง่ของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไม่ว่าจะเป็นไวรัส แบคทีเรีย หรือโปรโตซัวในยุงจะมีระบบภูมิคุ้มกันที่สำคัญโดยทำงานผ่านกลไก Immune Deficiency (Imd) และ JAK-STAT pathway ซึ่งทั้งสองกลไกเป็นส่วนประกอบที่สำคัญ และมีความอนุรักษ์ของกลุ่มยีนสูงในกลุ่มแมลงปีก 1 คู่ (diptera)⁽⁷⁾ JAK-STAT เป็นส่วนที่พบได้ตั้งแต่กลุ่มแมลงไปจนถึงคนซึ่งมีบทบาทในการพัฒนา (development) สภาวะสมดุล (homeostatic) และระบบภูมิคุ้มกันในสิ่งมีชีวิต⁽⁸⁾

JAK-STAT pathway อาศัยการทำงานของโปรตีน JAK และ STAT ซึ่งจะถูกระตุ้นโดยตัวรับลิแกนด์ (receptor ligation) ที่ผิวเซลล์และสามารถถูกยับยั้งได้ด้วยยีน *SOCS*⁽⁹⁾ STAT pathway มีการศึกษาบางส่วนในกลุ่มแมลงปีกคู่ เช่น แมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) ซึ่งเป็นการศึกษา STAT pathway ในภาวะที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียและผลการศึกษาพบว่ามีการทำงานของ STAT pathway มากขึ้นเมื่อเกิดการติดเชื้อ⁽¹⁰⁻¹¹⁾ และกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกันของแมลงหวี่ เช่น ยีน *NOS*, ยีน *TEP1*, ยีน *SOCS*, ยีน *PIAS*, และยีน *HPX15*⁽¹¹⁾

การศึกษาโปรตีน *SOCS* ในกลุ่มสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น คน และหนู พบว่าการทำงานของ STAT pathway จะกระตุ้นยีน *SOCS* ให้มีการสร้างโปรตีน *SOCS* ขึ้นซึ่งการศึกษาพบว่ามีโปรตีน *SOCS* ถึง 8 ชนิด คือ CIS-SOCS family (CIS และ SOCS1-SOCS7) ในการควบคุมการทำงานและทราบแน่ชัดถึงหน้าที่ของโปรตีน *SOCS* ทั้ง 8 ชนิดว่ามีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น กระตุ้นการสร้างอินเตอร์ลิวคิน (Interleukin: IL) และ อิมมิโนโกลบูลิน (Immunoglobulin: Ig) การเปลี่ยนแปลงของ T-cell และกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว อีโอซิโนฟิล (eosinophil)⁽¹²⁾ แต่ในกลุ่มแมลงปีกคู่มีการศึกษากลไกและองค์ประกอบของโปรตีน *SOCS* ในแมลงหวี่เป็นหลัก โดยในแมลงหวี่มีการศึกษาโปรตีน *SOCS* เพียงหนึ่งชนิดเท่านั้นคือ โปรตีน *SOCS36E* ซึ่งมีหน้าที่ในการช่วยพัฒนาการของแมลงหวี่ในระยะไข่และดักแด้⁽¹³⁾ ในยุงมีการศึกษาบทบาทหน้าที่ของโปรตีน *SOCS* โดยมีบทบาทหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเช่นกัน โดยมีการทดลองระดับการแสดงออกของยีน *SOCS* ในยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ต่อการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออก (Dengue virus) พบว่ายุงลายบ้านจะมีการแสดงออกของยีน *SOCS* ในระดับที่สูงขึ้นกว่าสภาวะปกติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายีน *SOCS* ใน

ยุงลายบ้านมีความสำคัญต่อการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออก⁽¹⁴⁾ มีการศึกษา ยีน *SOCS* เพื่อให้เข้าใจกลไกการทำงาน และกลไกการติดเชื้อมาลาเรียของยุงก้นปล่อง โดยมีการศึกษาการแสดงออกของยีน *SOCS* ในยุงก้นปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรียซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ายีน *SOCS* เป็นยีนที่มีความสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันของยุงโดยจะมีการแสดงออกมากขึ้นเมื่อมีการติดเชื้อมาลาเรียเข้าไปโดยมีบทบาทในการยับยั้งการแสดงออกของยีนกลุ่มอื่น ๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ยีน *NOS* เพื่อยับยั้งการเกิด Hyperimmunity⁽¹⁵⁻¹⁶⁾ วัตถุประสงค์ของการทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบจะช่วยให้เห็นถึงความสำคัญของการศึกษา ยีนในระบบภูมิคุ้มกันของยุงก้นปล่องซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องที่ทำให้ยุงก้นปล่องเป็นพาหะในการนำเชื้อมาลาเรียได้และความเข้าใจในกลไกการทำงานของยีนจะสามารถช่วยให้เข้าใจและนำวิธีการทางอนุชีววิทยาเข้ามามีบทบาทในการควบคุมยุงก้นปล่องเพื่อการควบคุมโรคในพื้นที่ระบาดในประเทศไทย

2. เนื้อเรื่อง

1. ยีนในระบบภูมิคุ้มกันกลุ่ม JAK-STAT ของยุงก้นปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

กลไกการทำงานของยีนในระบบภูมิคุ้มกันกลุ่ม JAK-STAT ของยุงก้นปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรียอาศัยการทำงานของโมเลกุลโปรตีน JAK และ STAT ซึ่งถูกระตุ้นโดยตัวรับลิแกนด์ที่ผิวเซลล์ JAK-STAT มีการถูกระตุ้นในสภาวะที่มีการติดเชื้อจุลินทรีย์ และมีการทำงานของ JAK-STAT มากขึ้นเมื่อเกิดการติดเชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร⁽¹⁰⁻¹¹⁾

2. การทำงานของ JAK-STAT ของยุงก้นปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

เมื่อยุงก้นปล่องดูดกินเลือดซึ่งมีการติดเชื้อมาลาเรียในระยะติดต่อหรือแกมีโตไซต์ (gametocyte) จากโฮสต์ ทางเดินอาหารส่วนกลางของยุงก้นปล่องมีการตอบสนองต่อการติดเชื้อโดย JAK ซึ่งมีลักษณะเป็นไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinases) และจับอยู่กับตัวรับลิแกนด์โดยถูกระตุ้นด้วยโมเลกุลลิแกนด์จากการติดเชื้อ การจับของลิแกนด์กับตัวรับลิแกนด์ทำให้เกิดปฏิกิริยารวมตัวกัน (dimerization) ของตัวรับลิแกนด์และเกิดการกระตุ้น JAK ให้เกิดปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชัน (phosphorylation) ตัวเองและตัวรับ ผลทำให้ STAT สามารถมาจับกับตัวรับและเกิดปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชัน โดย JAK เกิดเป็น STAT ที่ถูกฟอสฟอริเลตเป็นโมเลกุลคู่ (combined STAT molecule) และอยู่ในรูปถูกระตุ้น (active form) เป็น transcription factor ที่ไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้อง^(11,17)

Han และคณะ ศึกษาการแสดงออกของ JAK และ STAT ในยุง *An. stephensi* ต่อการติดเชื้อ *P. berghei* พบว่าการทำงานของโปรตีน JAK และ STAT จะแสดงออกในระบบทางเดินอาหารของยุงภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากยุงกินปล่องดูดเลือดที่มีเชื้อมาลาเรียเข้าไป⁽¹⁸⁾ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bahia และคณะ ที่ได้ศึกษาในยุงกินปล่อง *An. aquasalis* ต่อการติดเชื้อ *P. vivax* เช่นกัน⁽¹⁷⁾

3. การแสดงออกของยีน NOS และ TEP1 ของยุงกินปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

การศึกษาการติดเชื้อมาลาเรียของยุง *An. gambiae* สามารถกระตุ้นการตอบสนองได้หลายแบบ โดยมีการศึกษา STAT pathway ในการกระตุ้นยีน NOS ในการสร้างไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) ซึ่งมีคุณสมบัติทำลายเชื้อมาลาเรียได้ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งในระบบภูมิคุ้มกัน⁽¹⁹⁾ มีการศึกษา ยีน NOS ด้วยการใช้เทคนิคการย้อมทางอิมมูโน (immunostaining) เพื่อตรวจสอบตำแหน่งการแสดงออกของยีน NOS ในยุง *An. stephensi* ต่อการติดเชื้อ *P. berghei* พบว่าการแสดงออกของยีน NOS จะแสดงออกในระบบทางเดินอาหารของยุงกินปล่องภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากดูดกินเลือดที่มีเชื้อมาลาเรียเข้าไปเพื่อทำลายโอโอไคเน็ต (ookinete) ที่ฝังตัวในชั้น basal-lamina ด้วยไนตริกออกไซด์⁽¹⁸⁾ และ STAT pathway สามารถกระตุ้นยีนซึ่งสร้าง TEP1 complex (TEP1, LRIM1, และ APL1) มาทำลายเชื้อมาลาเรียด้วยการจับกับโอโอไคเน็ตที่ฝังตัวในชั้น basal-lamina ให้เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่ม (agglutination)⁽²⁰⁻²²⁾

4. การแสดงออกของยีน SOCS ของยุงกินปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

การศึกษาของ Dhawan และคณะ พบการแสดงออกของยีน SOCS ในยุง *An. culicifacies* หลังการติดเชื้อ *P. berghei*⁽¹⁵⁾ และการศึกษาของกิริติ และคณะ ศึกษาการแสดงออกของยีน SOCS ในยุง *An. dirus* ต่อการติดเชื้อ *P. vivax* ซึ่งผลการศึกษาของ Dhawan และกิริติ แสดงให้เห็นว่ายีน SOCS มีการแสดงออกของยีนสูงขึ้นหลังจากมีการติดเชื้อมาลาเรีย โดยการทำงานของยีน SOCS จะกระตุ้นการสร้างโปรตีน SOCS ซึ่งทำหน้าที่ในกลไกการควบคุมแบบยับยั้งย้อนกลับ (negative feedback) ซึ่งกลไกสามารถยับยั้งการฟอสฟอริเลตของโมเลกุล JAK และ STAT จึงเป็นการหยุดกระบวนการถอดรหัส (transcription) ของยีน NOS⁽¹⁵⁻¹⁷⁾

5. การแสดงออกของยีน PIAS ของยุงกินปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

การทำงานของยีน PIAS มีกลไกการตอบสนองต่อการติดเชื้อเช่นเดียวกับยีน SOCS โดยจะแสดงออกหลังจากมีการ

ติดเชื้อมาลาเรีย การทำงานของยีน PIAS จะเป็นกลไกการควบคุมแบบยับยั้งย้อนกลับกระตุ้นการสร้างโปรตีน PIAS ที่สามารถเข้าจับกับโมเลกุลของ STAT ทำให้โมเลกุล STAT เข้าสู่สถานะหยุดทำงาน (inactive) และหยุดการกระตุ้นกระบวนการถอดรหัสของยีน NOS^(17,22)

6. การแสดงออกของยีน HPX15 ของยุงกินปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

การแสดงออกของยีน HPX15 จะเกิดขึ้นหลังจากที่ยุงกินปล่องมีการดูดกินเลือด โดยเลือดที่กินเข้าไป (bolus blood) รวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคจะทำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน เมื่อยีน HPX15 แสดงออกจะกระตุ้นการสร้างชั้น peritrophic matrix เคลือบทางเดินอาหารชั้นกลางของยุงกินปล่องทำให้เกิดสภาวะ “Low immunity zone” หรือพื้นที่ภูมิคุ้มกันต่ำ เพื่อลดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อเลือดและจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรค และปัจจัยดังกล่าวนำไปสู่สภาวะที่ส่งผลให้เชื้อมาลาเรียระยะแกมีโตไซตในเลือดสามารถพัฒนาและเจริญไปเป็นระยะโอโอไคเน็ตซึ่งสามารถเจาะเข้าสู่ชั้น basal-lamina ได้⁽²³⁻²⁵⁾

7. กลุ่มยีนที่ส่งเสริมให้ยุงกินปล่องมีศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรีย (suspected gene)

การศึกษายีนในระบบภูมิคุ้มกันกลุ่ม JAK-STAT ของยุงกินปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรียมีแนวโน้มที่จะแสดงให้เห็นถึงกลุ่มยีนที่ส่งเสริมให้ยุงกินปล่องมีศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรียหรือยีนกลุ่มต้องสงสัย (suspected gene) โดยมีแนวทางการศึกษาว่าหากยุงกินปล่องมียีนในกลุ่มต้องสงสัยที่จะส่งเสริมศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรียเพิ่มขึ้นก็จะมีแนวโน้มให้ยุงกินปล่องชนิดนั้น ๆ สามารถเป็นพาหะหลักในการนำเชื้อมาลาเรียได้ เช่นเดียวกันหากมียีนในกลุ่มต้องสงสัยน้อยลงก็จะลดศักยภาพในการนำเชื้อมาลาเรียได้ซึ่งเป็นที่มาของยุงกินปล่องที่เป็นพาหะหลัก พาหะรอง หรือไม่นำเชื้อมาลาเรีย⁽¹⁶⁾ ในการศึกษาการยับยั้งการแสดงออกของยีน (knock down gene) ของยีน HPX15 ด้วย RNAi (RNA interference) ผลการศึกษาพบว่าหากยีน HPX15 ถูกยับยั้งไม่ให้เป็นแสดงออกได้จะลดการสร้าง peritrophic matrix มาเคลือบทางเดินอาหารชั้นกลางของยุงกินปล่อง และลดการเกิดสภาวะพื้นที่ภูมิคุ้มกันต่ำ ส่งผลให้จำนวนของโอโอไคเน็ตเกิดขึ้นในทางเดินอาหารชั้นกลางของยุงกินปล่องลดลงอย่างมีนัยสำคัญเนื่องจากไนตริกออกไซด์ยังคงทำงานได้นานในทางเดินอาหารชั้นกลาง⁽²³⁻²⁵⁾

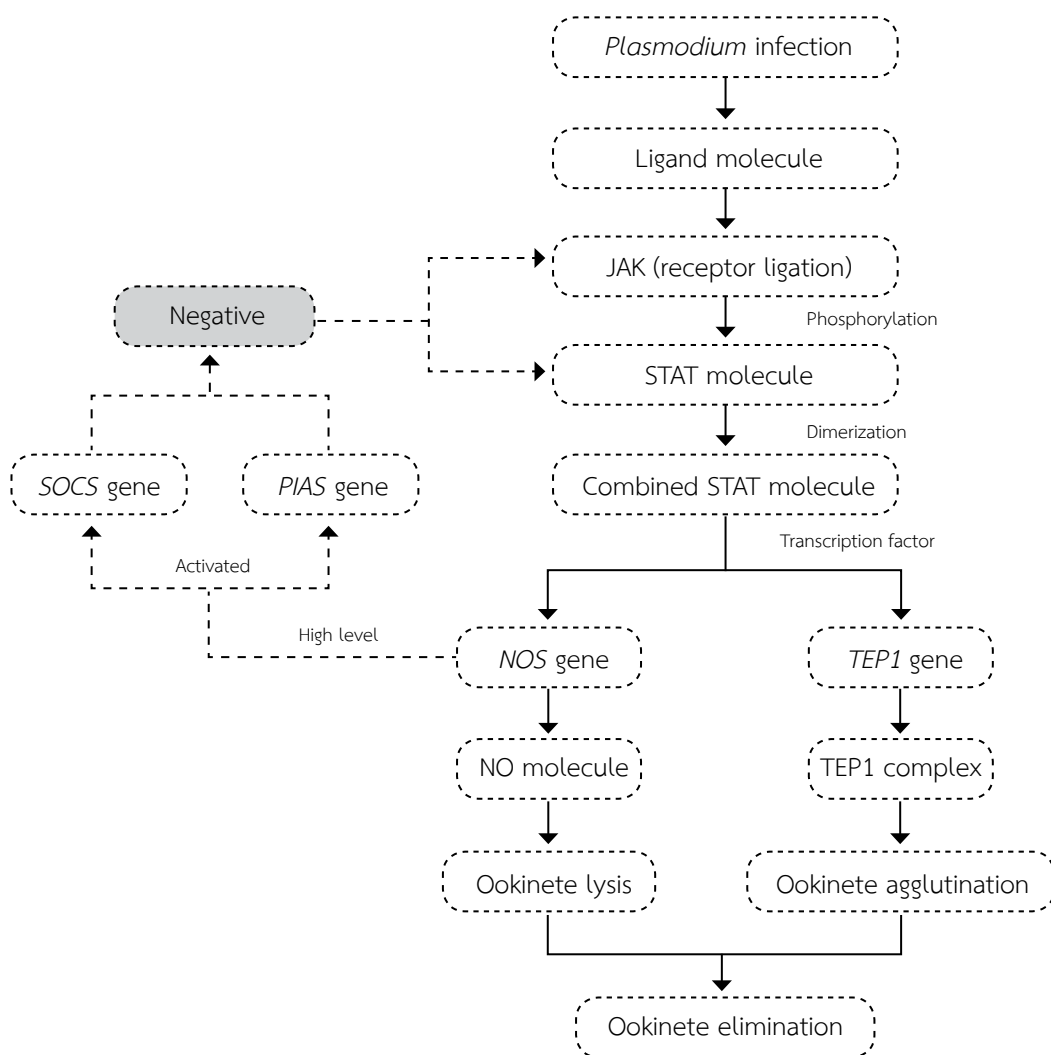
จากการศึกษาของกิริติ และคณะ พบว่ายีน SOCS มีการแสดงออกของยีนสูงที่สุด (36 เท่าจากสภาวะปกติ) ที่เวลา

24 ชั่วโมงหลังการติดเชื้อเนื่องจากกลไกการควบคุมแบบยับยั้งย้อนกลับต่อ JAK-STAT เพื่อหยุดการกระตุ้นยีน NOS และยับยั้งการเกิด Hyperimmunity แต่ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงหลังการติดเชื้อคือช่วงที่โอโอไคโนติมีการเจริญเติบโตเต็มที่ และพร้อมที่จะฝังตัวในชั้น basal lamina จากความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้น

หากยีน SOCS มีการแสดงออกน้อยลง หรือแสดงออกให้ช้าลงจากเดิมจะทำให้ยีน NOS ยังคงทำงานอย่างต่อเนื่องซึ่งจะส่งผลให้ในชั้น basal lamina ยังคงมีเนตริกออกไซด์ อยู่ในขณะที่โอโอไคโนติฝังตัวลงไปและมีแนวโน้มที่จะสามารถกำจัด ookinete ได้มากยิ่งขึ้น⁽¹⁶⁾

ตาราง 1 กลไกการตอบสนองของยีน และผลที่เกิดขึ้นเมื่อยูกันปล่องมีการติดเชื้อมาลาเรีย

กลไกการตอบสนอง	เวลาการแสดงออก	ผลที่เกิดขึ้น
JAK	ทันทีหลังจากโอโอไคโนติฝังตัวในชั้น basal-lamina ของทางเดินอาหารส่วนกลาง โดยการถูกกระตุ้นด้วยโมเลกุลลิแกนด์	JAK (ตัวรับลิแกนด์) กระตุ้นการรวมตัวของโมเลกุล STAT ^(10,11,17)
STAT	ทันทีหลังจากที่ถูก JAK กระตุ้น	เกิด STAT ที่ถูกฟอสฟอริเลตเป็นโมเลกุลคู่ และเป็น Transcription factor ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของยีน NOS และ TEP1 ^(10,11,17)
NOS gene	ทันทีหลังจากที่ถูก STAT กระตุ้นการการถอดรหัส	สร้างเนตริกออกไซด์เพื่อทำลายโอโอไคโนติที่ฝังตัวในชั้น Basal lamina ^(18,19)
TEP1 gene	ทันทีหลังจากที่ถูก STAT กระตุ้นการการถอดรหัส	สร้าง TEP1 complex (TEP1/LRIM1/APL1) เพื่อจับโอโอไคโนติที่ฝังตัวในชั้น basal lamina ให้เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่ม ^(20,21,22)
SOCS gene	เมื่อมี NO ปริมาณสูงในทางเดินอาหารส่วนกลาง	สร้างโปรตีน SOCS ซึ่งจะเป็นกลไกการควบคุมแบบยับยั้งย้อนกลับต่อ JAK-STAT เพื่อหยุดการกระตุ้นยีน NOS ซึ่งส่งผลให้เกิด Hyperimmunity ⁽¹⁶⁾
PIAS gene	เมื่อมี NO ปริมาณสูงในทางเดินอาหารส่วนกลาง	สร้างโปรตีน PIAS ซึ่งจะเป็นกลไกการควบคุมแบบยับยั้งย้อนกลับ โดยจับกับ STAT โมเลกุล เพื่อหยุดการกระตุ้นยีน NOS ซึ่งส่งผลให้เกิด Hyper immunity ⁽¹⁷⁾
HPX15 gene	เมื่อยูกันปล่องมีการดูดกินเลือดเข้าไป	สร้างชั้น peritrophic matrix เพื่อป้องกันการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันต่อเลือด และจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรค ⁽²³⁻²⁵⁾



ภาพที่ 1 กลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันกลุ่ม JAK-STAT ของยุงก้นปล่องต่อการติดเชื้อมาลาเรีย

ตาราง 2 ระดับการแสดงออกของยีน (จำนวนเท่าจากปกติ) ต่อการติดเชื้อมาลาเรียระยะต่าง ๆ ตามระยะเวลาหลังติดเชื้อมาลาเรีย

การแสดงออกของ ยีนหลังการติดเชื้อ มาลาเรีย	ระดับการแสดงออกของยีน (จำนวนเท่าจากปกติ) ต่อการติดเชื้อมาลาเรียระยะต่าง ๆ ตามระยะเวลาหลังติดเชื้อมาลาเรีย (hr.)									
	Gametocyte		Microgametocyte Macrogametocyte		Ookinete		Oocyst		Sporozoite	
	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54
JAK-STAT ^(10-11,17)	-	1	1	1.2	-	-	-	-	-	-
NOS gene ⁽¹⁸⁻¹⁹⁾	-	-	-	-	1.178	-	-	-	1.903	-
TEP1 gene ⁽²⁰⁻²²⁾	-	-	-	-	3.187	-	-	-	1.435	-
SOCS gene ⁽¹⁶⁾	1.66	-	3.86	-	38.85	-	0.41	-	1.74	-
PIAS gene ⁽¹⁷⁾	-	-	-	-	3.5	-	4.5	-	0.5	-
HPX15 gene ⁽²³⁻²⁵⁾	-	35	30	25	15	-	-	-	-	-

หมายเหตุ “-” ไม่มีผลการศึกษา

3. อภิปราย/วิจารณ์ผล

แนวทางการควบคุมยุงก้นปล่องซึ่งเป็นพาหะของเชื้อมาลาเรียในอนาคตมีแนวโน้มการศึกษาการยับยั้งการแสดงออกของยีนโดยเฉพาะในกลุ่มยีนที่ส่งเสริมให้ยุงก้นปล่องมีศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรีย หรือยีนกลุ่มต้องสงสัย เช่น ยีน *SOCS* หรือยีน *PIAS* โดยเฉพาะการศึกษาการยับยั้งการแสดงออกของยีน *HPX15* ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงการลดลงของระยะ ookinete ในทางเดินอาหารของยุงก้นปล่อง เพื่อความเข้าใจกลไกการทำงานของยีนในระบบภูมิคุ้มกันของยุงก้นปล่องแต่ละชนิดที่แตกต่างกันซึ่งส่งผลให้ยุงก้นปล่องแต่ละชนิดมีศักยภาพใน

การนำโรคมมาลาเรียแตกต่างกัน ความเข้าใจในกลไกการทำงานของยีนจะสามารถช่วยให้การนำวิธีการทางอนุชีววิทยามามีบทบาทในการควบคุมยุงก้นปล่องเพื่อการควบคุมโรคในพื้นที่ระบาด เช่น การพัฒนาสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการที่สามารถควบคุมยุงก้นปล่องในธรรมชาติ รวมไปถึงการพัฒนาเทคโนโลยีที่สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ส่งเสริมให้ยุงก้นปล่องมีศักยภาพในการนำโรคมมาลาเรียออกสู่พื้นที่ที่มีการระบาดของโรค เพื่อเป็นการสนับสนุน ป้องกัน และควบคุมการระบาดของโรคมมาลาเรียในอีกรูปแบบหนึ่ง

4. เอกสารอ้างอิง

1. Tainchum K, Kongmee M, Manguin S, Bangs MJ, Chareonviriyaphap T. *Anopheles* species diversity and distribution of the malaria vectors of Thailand. Trends Parasitol 2015;31(3):109-19.
2. Zhang C, Yang R, Wu L, Luo C, Yang Y, Deng Y, et al. Survey of malaria vectors on the Cambodia, Thailand and China-Laos Borders. Malar. J. 2022;21(399):1-12.
3. นันทดี เนียมน้ย. โรคมมาลาเรีย (Malaria). วารสารเทคนิคการแพทย์ 2555;40:4289-99.
4. Silvino ACR, Costa G, de Araújo FCF, Ascher D, Pires DEV, Fontes CJF, et al. Variation in Human *Cytochrome P-450* Drug-Metabolism Genes: A Gateway to the Understanding of *Plasmodium vivax* Relapses. PloS one 2016;11(7):e0160172.
5. Jovel IT, Mejía RE, Banegas E, Piedade R, Alger J, Fontecha G, et al. Drug resistance associated genetic polymorphisms in *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* collected in Honduras, Central America. Malar. J. 2011;10(376):1-7.
6. Buyon LE, Elsworth B, Duraisingh MT. The molecular basis of antimalarial drug resistance in *Plasmodium vivax*. Int J Parasitol Drugs Drug Resist 2021;16:23-37.
7. Waterhouse RM, Kriventseva EV, Meister S, Xi Z, Alvarez KS, Bartholomay LC, et al. Evolutionary dynamics of immune-related genes and pathways in disease-vector mosquitoes. AAAS 2007;316(5832):1738-43.
8. Zhang Y, Li BX, Mao QZ, Zhuo JC, Huang HJ, Lu JB, et al. The JAK-STAT pathway promotes persistent viral infection by activating apoptosis in insect vectors. PLoS Pathog 2023;19(3):e1011266.
9. Liongue C, O'Sullivan LA, Trengove MC, Ward AC. Evolution of JAK-STAT pathway components: mechanisms and role in immune system development. PloS one 2012;7(3):e32777.
10. Agaisse H, Perrimon N. The roles of JAK/STAT signaling in *Drosophila* immune responses. Immunol Rev 2004;198:72-82.
11. Arbouzova NI, Zeidler MP. JAK/STAT signalling in *Drosophila*: insights into conserved regulatory and cellular functions. Development 2006;133(14):2605-16.
12. Yoshimura A, Suzuki M, Sakaguchi R, Hanada T, Yasukawa H. *SOCS*, Inflammation, and Autoimmunity. Front. Immunol 2012;3(20):1-9.
13. Callus BA, Mathey-Prevot B. *SOCS36E*, a novel *Drosophila* *SOCS* protein, suppresses JAK/STAT and EGF-R signalling in the imaginal wing disc. Oncogene 2002;21(31):4812-21.
14. Souza-Neto JA, Sim S, Dimopoulos G. An evolutionary conserved function of the JAK-STAT pathway in anti-dengue defense. PNAS 2009;106(42):17841-6.

15. Dhawan R, Gupta K, Kajla M, Kumar S, Gakhar SK, Kakani P, et al. Molecular characterization of *SOCS* gene and its expression analysis on *Plasmodium berghei* infection in *Anopheles culicifacies*. *Acta Trop* 2015;152:170-5.
16. Kittiwattanawong K, Ponlawat A, Boonrotpong S, Nanakorn N, Kongchouy N, Moonmake S, et al. The effect of *Plasmodium vivax* infection on *SOCS* gene expression in *Anopheles dirus* (Diptera: Culicidae). *Trop Biomed* 2020;37(2):397-408.
17. Bahia AC, Kubota MS, Tempone AJ, Araújo HR, Guedes BA, Orfanó AS, et al. The JAK-STAT Pathway Controls *Plasmodium vivax* Load in Early Stages of *Anopheles aquasalis* Infection. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5(11):e1317.
18. Han Y, Thompson J, Kafatos FC, Barillas-Mury C. Molecular interactions between *Anopheles stephensi* midgut cells and *Plasmodium berghei*: the time bomb theory of ookinete invasion of mosquitoes. *EMBO J* 2000;19(22):6030-40.
19. Gupta L, Molina-Cruz A, Kumar S, Rodrigues J, Dixit R, Zamora RE, et al. The STAT pathway mediates late-phase immunity against *Plasmodium* in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Cell Host Microbe* 2009;5(5):498-507.
20. Smith RC, Vega-Rodríguez, Jacobs-Lorena M. The *Plasmodium* bottleneck: malaria parasite losses in the mosquito vector. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014;109(5):644-61.
21. Kwon H, Arends BR, Smith RC. Late-phase immune responses limiting oocyst survival are independent of *TEP1* function yet display strain specific differences in *Anopheles gambiae*. *Parasit Vectors* 2017;10(1):369.
22. Clayton AM, Dong , Dimopoulos G. The *Anopheles* Innate Immune System in the Defense against Malaria Infection. *J Innate Immun* 2014;6(2):169-81.
23. Kajla M, Gupta K, Gupta L, Kumar S. A fine-tuned management between physiology and immunity maintains the gut microbiota in insects. *Biochem. Physiol.* 2015;4(182):10-4172.
24. Kajla M, Kakani P, Choudhury TP, Kumar V, Gupta K, Dhawan R, et al. *Anopheles stephensi* Heme Peroxidase *HPX15* Suppresses Midgut Immunity to Support *Plasmodium* Development. *Front Immunol* 2017;14(8):249.
25. Baia-da-Silva DC, Alvarez LCS, Lizcano O, Costa FTM, Lopes CP, Orfanó A, et al. The role of the peritrophic matrix and red blood cell concentration in *Plasmodium vivax* infection of *Anopheles aquasalis*. *Parasit Vectors* 2018;11(148):1-10.