

สัมภาษณ์ นักวิจัยดีเด่นแห่งชาติ 2563

Interview with Outstanding National Researchers 2020

พงษ์ราม รามสุต

Pongrama Rammasoot

ศูนย์ความเป็นเลิศการวิจัยแอนติบอดี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

Center of Excellence in Antibody Research, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

E-mail pongrama.rama@mahidol.ac.th

บทคัดย่อ

บทความนี้กล่าวถึงความก้าวหน้าของการพัฒนาชีวภาพโมโนโคลนัลแอนติบอดี (Monoclonal Antibody: MAb) เพื่อใช้รักษาโรคไข้เลือดออก ซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขระดับโลกที่ยังไม่มียารักษาเฉพาะ ทีมวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านการวิจัยแอนติบอดี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ร่วมมือกับ Osaka University พัฒนา Neutralizing Human Monoclonal Antibody (NhuMAb) ซึ่งสามารถยับยั้งไวรัสเดงกีทั้ง 4 สายพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยปรับแต่งแอนติบอดีให้สามารถทำงานได้โดยไม่ก่อให้เกิด Antibody-Dependent Enhancement (ADE) ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้โรครุนแรงขึ้น การพัฒนายาดังกล่าวได้ผ่านการทดสอบในสัตว์ทดลอง เช่น หนู Suckling Mice และลิง Marmoset โดยให้ผลการยับยั้งไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทีมวิจัยสามารถจดสิทธิบัตรครอบคลุมใน 11 ประเทศ และได้รับความสนใจจากบริษัท BSV Biosciences สหรัฐอเมริกา ที่เข้ามาลงทุนและนำเข้าสู่การผลิตในโรงงานมาตรฐาน GMP รวมถึงดำเนินการทดลองทางคลินิก (Phase I-III) เพื่อออกสู่ตลาด ความสำเร็จของการพัฒนา NhuMAb นอกจากจะช่วยให้ประเทศไทยพึ่งพาตนเองในการผลิตยาชีวภาพแล้ว ยังช่วยลดภาระค่าใช้จ่ายด้านสาธารณสุข และเพิ่มโอกาสทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมยาและเทคโนโลยีชีวภาพ การพัฒนานี้เป็นตัวอย่างของนวัตกรรมจากงานวิจัยที่สามารถต่อยอดไปสู่เชิงพาณิชย์ตามแนวทาง Thailand 4.0 อีกทั้งยังช่วยให้ผู้ป่วยไข้เลือดออกทั่วโลกได้รับการรักษาที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้น

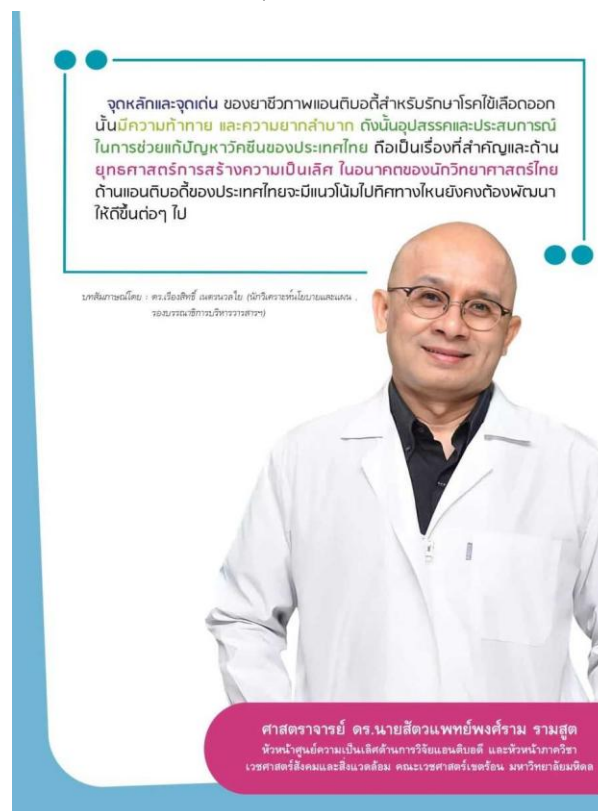
คำสำคัญ: โมโนโคลนัลแอนติบอดี, ไข้เลือดออก, ยาชีวภาพ, การยับยั้งไวรัส, นวัตกรรมทางการแพทย์

Abstract

This article describes the progress of the development of monoclonal antibody (MAb) biopharmaceuticals for the treatment of dengue fever, a global public health problem with no specific cure. The research team from the Center of Excellence in Antibody Research, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, collaborated with Osaka University to develop a Neutralizing Human Monoclonal Antibody (NhuMAb) that can effectively inhibit all four strains of dengue virus by modifying the antibody to work without causing Antibody-Dependent Enhancement (ADE), a factor that makes the disease more severe. The development of this drug has been tested in experimental animals, such as suckling mice and marmosets, and has shown effective virus inhibition. The research team has been able to register patents covering 11 countries and has attracted the attention of BSV Biosciences, a company

in the United States, which has invested in and brought the drug into production in a GMP-standard factory, as well as conducting clinical trials (Phase I-III) to bring it to market. The success of the development of NhuMAb not only helps create opportunities for Thailand to be self-reliant in the production of biological drugs but also helps reduce the burden of public health expenses and increase economic opportunities in the pharmaceutical and biotechnology industries. This development is an example of innovation from research that can be further developed into commercialization in line with Thailand 4.0 guidelines, and it will also help dengue patients worldwide receive more effective and safer treatment.

Keywords: Monoclonal antibodies, Dengue, Biopharmaceuticals, Virus inhibition, Medical innovation



ศาสตราจารย์ (พิเศษ) ดร. นสพ. พงศ์ราม รามสูต ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการวิจัยแอนติบอดี ภาควิชาเวชศาสตร์ สังคมและสิ่งแวดล้อม คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
Collaborative Professor, Osaka University

ยาชีวภาพโมโนโคลนัลแอนติบอดีมนุษย์สำหรับรักษาโรค

โมโนโคลนัล แอนติบอดี (Monoclonal Antibody; MAbs) เป็นสารชีวภาพที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยและรักษาโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคทางพันธุกรรม และโรคติดเชื้อต่างๆ ซึ่งจนถึงปัจจุบัน สารชีวภาพที่มีราคาแพงที่สุดในโลกก็คือ MAbs ที่ชื่อ ว่า Eculizumab; Soliris (<http://www.medicalbillingandcoding.org/blog/the-11-most-expensive-medicines-in-america/>) ใช้สำหรับรักษาโรคมูมิคุ้มกันทำลายเม็ดเลือดแดงของตัวเอง (paroxysmal nocturnal

hemoglobinuria) ผลิตโดยบริษัท Alexion Pharmaceutical USA. โดยค่าใช้จ่ายในการรักษาจากการใช้ MAb นี้คือ 127 ล้านบาทต่อการรักษาใน 1 ปี โดยในปี ค.ศ. 2009 ปีเดียว ยอดการขาย MAb Soliris ของบริษัท Alexion pharmaceutical มียอดสูงถึง 9,100 ล้านบาท ทำให้บริษัทเปลี่ยนสถานะจากบริษัทที่ก่อตั้งใหม่กลายเป็นบริษัทขนาดใหญ่ ภายในเวลาเพียง 2 ปี เท่านั้น โดยขนาดของตลาดแอนติบอดีและโปรตีนรักษาโรคได้เติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี ค.ศ. 2017 ขนาดของตลาดแอนติบอดีรักษาโรคได้เติบโตเพิ่มขึ้นสูงถึง 100,000 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ([http://www.bccresearch.com/pressroom/bio/global-market-biologics-reach-nearly-\\$252-billion-2017](http://www.bccresearch.com/pressroom/bio/global-market-biologics-reach-nearly-$252-billion-2017))

ในแต่ละปี ประเทศไทยต้องนำเข้าสารที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยและรักษาโรคถึงปีละกว่าแสนล้านบาท (3,333 ล้านดอลลาร์สหรัฐ) ตัวอย่างเช่น ยาชีวภาพ MAb Palivizumab (Synagis) นำเข้าจากประเทศสวีเดน (Arexis AB c/o Swedish Orphan Biovitrum AB) ที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ Respiratory syncytial virus (RSV) ฉีดรักษาเพียง 0.5 ml มีราคาถึงเกือบ 60,000 บาท ดังนั้นการพัฒนาสร้าง MAb สำหรับตรวจวินิจฉัยและรักษาโรค ขึ้นใช้เองในประเทศ จึงเป็นเรื่องที่สำคัญและจำเป็นมาก ทั้งยังมีโอกาสที่จะสร้างเศรษฐกิจของประเทศให้เติบโตขึ้นจากธุรกิจ MAb ที่ใช้ในการรักษา และวินิจฉัยโรคเขตร้อนได้

โรคไข้เลือดออก โรคที่ยังไม่มียารักษา

โรคไข้เลือดออก เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของโลก เกิดจากการติดเชื้อ Dengue virus (DENV) มี 4 serotypes แพร่โดยยุงลาย *Aedes Spp.* แต่ละปี จะมีประชากร 3,900 ล้านคน หรือครึ่งหนึ่งของประชากรโลกอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อ DENV ประมาณ 390 ล้านคนทั่วโลกติดเชื้อ DENV โดยมีเกือบ 100 ล้านคนแสดงอาการป่วย ในจำนวนนี้มีผู้ป่วยถึง 500,000 คนที่เป็นไข้เลือดออกชนิดรุนแรง (DHF or DSS) และมีผู้เสียชีวิตมากกว่า 25,000 คนต่อปี (WHO report on dengue 2019) จนถึงปัจจุบัน ยังคงไม่มียาที่เฉพาะในการยับยั้ง DENV และ วัคซีนที่มีอยู่ก็ยังคงมีความไม่แน่นอนในการป้องกันโรค โดยมี efficacy ต่อ DENV serotype 2 ต่ำเพียง 36 % การพัฒนายาดังกล่าวจึงมีความสำคัญมาก โดยจากงานวิจัยของ Srikiatkachorn et al (2012) พบว่าปริมาณ DENV ที่สูงในช่วงมีไข้ จะมีผลต่อการเกิดไข้เลือดออกชนิดรุนแรง DHF ดังนั้นถ้ามียาที่ลดปริมาณ DENV ในช่วงมีไข้ นอกจากจะสามารถลดปริมาณไวรัสได้แล้ว ยังจะมีผลดีในการลดความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกได้ ทำให้นักวิจัยพยายามพัฒนาสาร Neutralizing Monoclonal Antibody ยับยั้ง DENV เพื่อใช้เป็นยาชีวภาพรักษาโรคไข้เลือดออก

ยาชีวภาพโมโนโคลนัลแอนติบอดีมนุษย์สำหรับรักษาโรคไข้เลือดออก

ทีมนักวิจัยที่ศูนย์ความเป็นเลิศการวิจัยแอนติบอดี (Center of excellence for antibody research; CEAR) คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ร่วมกับนักวิจัยจาก Osaka University ประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรกในโลกในการสร้างแอนติบอดีมนุษย์ (Neutralizing Human Monoclonal Antibody; NhuMAb) ยับยั้งไวรัสไข้เลือดออก ทั้ง 4 serotypes โดยวิธี Hybridoma (SPYMEG cell) (Setthapramote et al., 2012) โดย NhuMAb จับกับ DENV ที่ envelope (E) protein domain II (fusion loop) ซึ่ง 70 % ของ DENV ในร่างกายผู้ป่วยจะเป็น immature และ partially mature โดยจะ display E protein ส่วน domain II ที่ผิวไวรัส ทำให้ NhuMAb ที่สร้างขึ้นสามารถจับและยับยั้ง DENV ส่วนใหญ่ที่พบในร่างกายผู้ป่วย และ Anti E - NhuMAb ที่สร้างขึ้นนี้ให้ผลการยับยั้งไวรัสไข้เลือดออก ทั้ง 4 serotypes โดยมี neutralization activity (NT) สูงถึง 90 -100% โดยผู้วิจัยได้คัดเลือก candidate NhuMAb ที่ดีที่สุดจำนวน 2 clones คือ หมายเลข 19 และ 54 มาทดสอบการยับยั้งการติดเชื้อ DENV ในสัตว์ทดลอง ซึ่งให้ผลเพิ่มการรอด

ชีวิตของหนู suckling mice ที่ถูกฉีดเชื้อ DENV เข้าสมองอย่างมีนัยสำคัญ (Sasaki et al., 2013) และยังสามารถกำจัดเชื้อ DENV จาก 10 ล้านตัว ที่ถูกฉีดเข้าช่องท้อง ลิง Marmoset จนเหลือ 0 ภายใน 2 วัน โดยได้จดสิทธิบัตร 2 ฉบับ คือ WO 2013035345A2, และ WO 2014064943A1 คู่ครองใน 11 ประเทศ (USA, Australia, Japan, India, Indonesia, Singapore, Malaysia, Philippine, Vietnam, Laos and Thailand) โดย มหาวิทยาลัยมทิดล และ Osaka University ร่วมเป็นเจ้าของสิทธิบัตร



Japan Science and Technology Agency

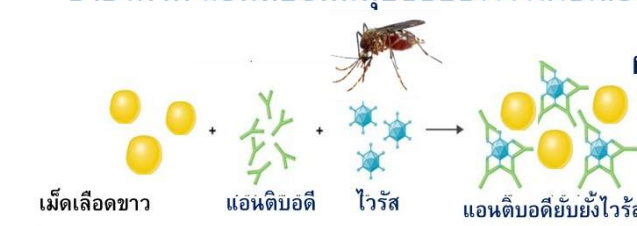


Japan International Cooperation Agency



The Thailand Research Fund

ยาชีวภาพ แอนติบอดีมนุษย์ยับยั้งไวรัสไข้เลือดออกทั้ง 4 สายพันธุ์



เม็ดเลือดขาว + แอนติเจน + ไวรัส → แอนติบอดียับยั้งไวรัส

ผลิตมาตรฐาน GMP 2557-2562



2552-2556

ยับยั้งไวรัสไข้เลือดออกทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ 95-100 %

IFN α / β / γ R-/- (AG129) Mice





Pre-clinical tested in AG 129 mice and monkey

จดสิทธิบัตร

ใน 11 ประเทศ

Dengue-virus serotype neutralizing antibodies
 WO 2013035345 A3
 Publication date: Sep 16, 2013
 Filing date: Sep 7, 2012
 Priority date: Sep 9, 2011
 Also published as: WO2013035345A2

Inventors
 Chayanee Sethapramote, Tadashi Sasaki, Motoki Kuhara, Pongrarn Ramasoota, Aree Thattiyaphong, Surapee Anantapreecha, Pathom Sawanpanyalert, Yoshinobu Okuno, Kazuyoshi Ikuta, Aichareeya Anuegonpipat, Panadda Onpakson, Apichai Prachasuphap, Less e

Applicant
 Osaka University, The Research Foundation For Microbial Diseases of Osaka University, Medical And Biological Laboratories Co., Ltd, Mahidol University, Department of Medical Sciences (DMS), Less e

John Kaundinya PhD
 President & Chief Operating Officer
 380 Woodview Avenue
 Morgan Hill CA 95037
 USA
 Phone : 408-722-1778
 Email : john.k@bsvbio.com

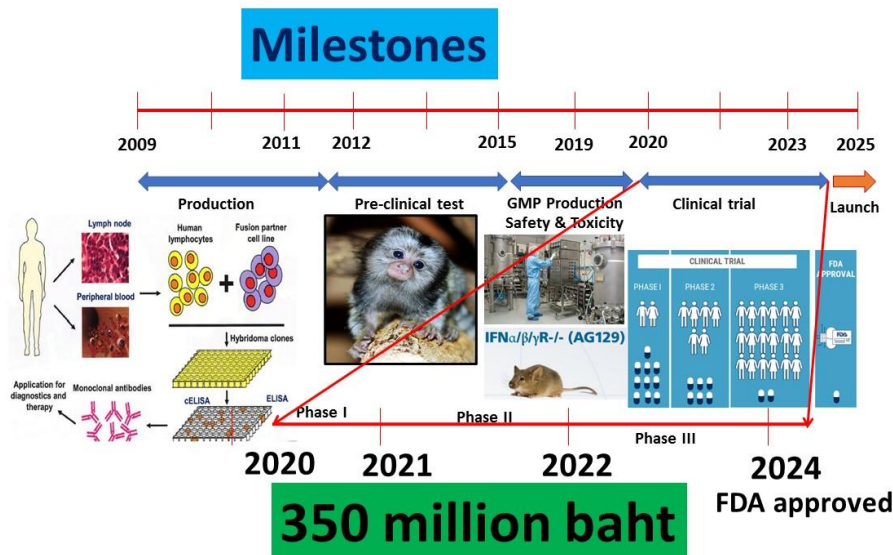
กำลังพัฒนาสู่เชิงพาณิชย์

(2562-2568) (ยอดขาย 15 ปี)

ยาชีวภาพโมโนโคลนัลแอนติบอดีมนุษย์ที่ยับยั้งไวรัสไข้เลือดออกและไม่ทำให้เกิด ADE

จากปัญหาของโรคไข้เลือดออก เมื่อผู้ป่วยมีการติดเชื้อซ้ำ (secondary infection) แต่ครั้งหลังติดจาก DENV สายพันธุ์ที่แตกต่างจากการติดเชื้อครั้งแรก ในกระแสเลือดของผู้ติดเชื้อซ้ำจะมีทั้ง Neutralizing antibody ต่อ DENV สายพันธุ์ที่ติดเชื้อมาก่อน และ Non neutralizing antibody ที่จะจับกับ DENV สายพันธุ์ที่ติดใหม่นี้ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้ง DENV สายพันธุ์ที่ติดใหม่นี้ได้ โดย DENV ที่ติดใหม่จะจับกับแอนติบอดีที่ส่วนปลายด้าน Fragment antigen binding (Fab) และนำ DENV ติดใหม่ไปเพิ่มการติดเชื้อมีเซลล์เม็ดเลือดขาว effector cell ที่จับกับส่วนปลายด้าน Fragment crystalline (Fc) ของแอนติบอดี ก่อให้เกิดการติดเชื้อ DENV มากขึ้น และทำให้เกิดความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น เรียกว่า การเกิด Antibody dependent Enhancement (ADE) ดังนั้นเพื่อพัฒนายาชีวภาพ NhuMAb ที่ยับยั้ง DENV ทั้ง 4 serotypes โดยไม่ก่อให้เกิด ADE ทีมวิจัยของเราจึงได้สร้าง Fc modified NhuMAb (จาก NhuMAb โคลนหมายเลข 19 และ 54) โดยเปลี่ยนส่วน Fc ของ NhuMAb ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน L234A และ L235A (LALA) ทำให้ส่วน Fc ของ Fc modified NhuMAb ไม่จับกับ effector cell และไม่นำ DENV มาก่อให้เกิดการติดเชื้อ DENV มากขึ้น และได้ทดสอบพบว่า Fc modified NhuMAb 19 และ Fc modified NhuMAb 54 ที่สร้างขึ้น สามารถยับยั้งไวรัส DENV ทั้ง 4

serotypes ได้ 90-100% NT โดยไม่ก่อให้เกิด ADE กับ DENV ทั้ง 4 serotypes ในเซลล์ K562 ที่มี Fc Receptor เลย (Ramadahny et al, 2015; InJampa et al, 2017)



พัฒนายาจากห้องปฏิบัติการ 10 ปี จนมีบริษัทมาพัฒนาต่อสู่เชิงพาณิชย์

เป้าหมายสูงสุด ของการพัฒนายาชีวภาพ Therapeutic antibody คือการใช้รักษาได้จริงในมนุษย์ ซึ่งในประเทศที่พัฒนาแล้ว หลังจากทีนักวิจัยได้ทำการวิจัยพัฒนายาขึ้น ทดสอบ *in vitro* และ *in vivo* และจดสิทธิบัตรไว้แล้ว ถ้าบริษัทยาชีวภาพได้พิจารณาความเป็นไปได้และความคุ้มค่าแล้ว บริษัทยาก็จะนำยาชีวภาพนั้นมาลงทุนพัฒนาต่อ โดยจะต้องมีการลงทุนผลิตในระดับอุตสาหกรรม ในโรงงานยาชีวภาพมาตรฐาน Good Manufacturing Practice (GMP) แล้วนำยาชีวภาพนั้นมาทดสอบในสัตว์ทดลองที่มีระบบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันกับไวรัสใกล้เคียงกับมนุษย์ แล้วทดสอบต่อในอาสาสมัคร (Clinical trial phase 1 - 3) จนถึงผ่านการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยา และ ออกจำหน่ายเชิงพาณิชย์ ซึ่งต้องมีการลงทุนรวมกว่า 350 ล้านบาท ดังนั้น ที่ผ่านมา ผู้วิจัยจึงได้พยายามเป็นอย่างมาก ที่จะติดต่อกับบริษัทยาชีวภาพทั้งในไทย และ ต่างประเทศ เพื่อมาลงทุนกับยาชีวภาพ NhuMAb ที่ผู้วิจัยได้ใช้เวลากว่า 10 ปี (พ.ศ. 2552-2562) ในการพัฒนาขึ้นมา

จนในที่สุด หลังจากได้ติดต่อผ่านทาง E-mail และ โทรศัพท์มาในระยะหนึ่ง ในช่วงกลางปี พ.ศ. 2561 Dr. John Kaundinya ประธานบริษัท BSV Biosciences ได้เดินทางมาจากประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อทำสัญญากับ ผู้วิจัยที่ศูนย์ความเป็นเลิศการวิจัยแอนติบอดี (CEAR) คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล โดยบริษัทได้ขอข้อมูล antibody genes NhuMAb โคลน 19, โคลน 54 และ Fc modified NhuMAb โคลน 19 และ 54 ที่ทางผู้วิจัยได้จดสิทธิบัตรและรายงานไว้ (Pitaksajakul et al, 2014) ไปทำการผลิต candidate NhuMAb ทั้ง 4 โคลน ในโรงงานอุตสาหกรรมยาชีวภาพมาตรฐาน GMP และ ทำการทดสอบ NhuMAb ในการยับยั้งเชื้อ DENV ทั้ง 4 serotypes ในหนูทดลองดัดแปลงพันธุกรรมที่มีระบบภูมิคุ้มกันต้านต่อเชื้อไวรัสใกล้เคียงกับมนุษย์ คือหนูสายพันธุ์ IFN- α /β/γR-/- (AG129) โดยหนูทดลองถูกฉีดเชื้อ DENV ก่อนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วรักษาด้วย NhuMAb และ Fc-modified NhuMAb โดยผลการทดสอบพบว่า Fc-modified NhuMAb โคลน 54 ให้ผลยับยั้ง DENV 4 serotypes ได้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ MAb clone ที่สร้างจากนักวิจัยชื่อดังจากประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นที่พอใจแก่ประธานบริษัท BSV-Biosciences มาก

ส่งผลให้ประธานบริษัท BSV-Biosciences ได้เดินทางมาดำเนินการต่อในการทำสัญญา Licensing กับมหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อนำ Fc-modified NhuMAb โคลน 54 เข้าสู่เชิงพาณิชย์ โดยได้ร่างสัญญาจ่ายผลประโยชน์ให้แก่ มหาวิทยาลัยมหิดล และ หน่วยงานที่เป็นเจ้าของสิทธิบัตร ซึ่งถือได้ว่าเป็นผลงานวิจัยที่คิดค้นพัฒนาโดยนักวิจัยไทย ที่มีบริษัทขนาดใหญ่จากต่างประเทศสนใจ มาลงทุนผลิตยาชีวภาพในโรงงาน GMP ลงทุนทดสอบในสัตว์ทดลอง และ ลงทุนทดสอบต่อไปในอาสาสมัคร Clinical trial phase 1-3 จนถึงผ่านการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยา และ ออกจำหน่ายเชิงพาณิชย์ (รวมการลงทุนตั้งแต่ผลิต ทดสอบ จนถึง ขอ อย. ประมาณ 350 ล้านบาท) ซึ่ง นอกจากมหาวิทยาลัยมหิดลและ หน่วยงานร่วมสิทธิบัตรจะได้ผลตอบแทนจากบริษัทจากค่า Milestone payment ก้อนแรก (ประมาณ 17.5 ล้านบาท) และค่า Royalty 4 % ของยอดขายต่อปี เป็นเวลา 15 ปี ตามสัญญา รวม 3,000 ล้านบาท (ประมาณ 200 ล้านบาท / ปี ถ้ามียอดขาย 5,000 ล้านบาท จากการขายปีละ 1 ล้าน dose ราคา dose ละ 5,000 บาท จากที่ WHO ประมาณการณ์ จำนวนผู้ป่วยไข้เลือดออกทั่วโลกที่แสดงอาการป่วยต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลประมาณปีละ 100 ล้านคน ถ้า ประมาณเพียงแค่ 1 % ของผู้ป่วยดังกล่าวคือ 1 ล้านคน สนใจจะรักษาโดยใช้ยาชีวภาพนี้) และยังเป็นประโยชน์กับประเทศไทยในด้านการพัฒนานวัตกรรมจากงานวิจัยสู่เชิงพาณิชย์ ตามนโยบาย Thailand 4.0 และที่สำคัญที่สุดคือ ได้สร้างยาชีวภาพตัวแรกสำหรับรักษาโรคไข้เลือดออก ที่ในทุกๆปี มีผู้ป่วยไข้เลือดออกเกือบร้อยล้านคนที่ต้องการยารักษาโรคนี้ ที่จะช่วยให้ผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกไม่ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน (1 - 2 อาทิตย์เป็นอย่างน้อย) ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายเป็นหลักหมื่นๆ บาท รวมทั้งลดค่าเสียเวลาและเสียโอกาสจากการหยุดงานอีกด้วย

บริษัทฯได้ขนาดของยาที่จะใช้ในมนุษย์แล้ว

โดยล่าสุด ในปี พ.ศ. 2563 บริษัท BSV-Biosciences ได้นำ Fc-modified NhuMAb โคลน 54 ที่ผลิตจากโรงงานยาชีวภาพมาตรฐาน GMP มาทดสอบหาขนาดของยาที่น้อยที่สุดที่ใช้รักษาหนู AG-129 ที่ถูกฉีดเชื้อ DENV (S221 strain) จำนวน 1.5×10^7 PFU เข้ากระแสเลือด แล้วทิ้งไว้ 1 วันจึงฉีกรักษา แล้วสามารถรอดชีวิตได้ 100 % เพื่อเป็นการหา first dose in human ในการทำ Phase I Clinical trial โดยพบว่าขนาดของยา Fc-modified NhuMAb ที่ 25-50 mg / kg เป็น dose ที่เหมาะสมที่สุดในการทำ Phase I Clinical trial ดังนั้นในการทดสอบในอาสาสมัครในขั้นต่อไป ผู้วิจัยจะใช้ Fc-modified NhuMAb โคลน 54 ที่ผลิตจากโรงงานยาชีวภาพมาตรฐาน GMP ที่ขนาดความเข้มข้น 25-50 mg / kg มาทดสอบ Phase I Clinical trial ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 90 คน และ ทดสอบ Phase II Clinical trial ในอาสาสมัครผู้ป่วยไข้เลือดออก จำนวน 100 คน (กำลังดำเนินการ)

Dr. John Kaundinya, President, BSV Bio-Sciences Inc. signed contract for produce & test our NhuMAbs, licensing contract was signed.



สรุปเทคโนโลยีที่ได้พัฒนาขึ้น (Originality/Technology effort/Technology sophistication)

กระผมและทีมงานวิจัยใช้ความพยายามมากกว่า 10 ปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2552 จนประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรกในโลกในการสร้างแอนติบอดีมนุษย์ (Neutralizing Human Monoclonal Antibody; NhuMAb) ยับยั้งไวรัสไข้เลือดออกทั้ง 4 serotypes โดยใช้ SPYMEG myeloma cell (Setthapramote et al., 2012) โดยประยุกต์แนวคิดเทคโนโลยีการสร้างแอนติบอดีทั้งจากที่กระผมและ ดร. ปานน้ำทิพย์ ได้เรียนรู้จาก Professor George P Smith (Nobel Prize laureate 2018) และจากที่การทำงานร่วมกับทีมนักวิจัยจาก Osaka University จากเป้าหมายจะผลิต NhuMAb เพื่อใช้ในมนุษย์ ให้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยา (Food and drug administration; FDA) โดยใช้วิธี Stable expression ใน CHO cells กระผมและทีมงานจึงได้สร้าง recombinant IgG NhuMAb โดยการ clone IgG genes ของมนุษย์จาก Hybridoma cell โคลน 19 และ 54 แล้วตัดต่อเข้าสู่ Plasmid DNA ที่สามารถ express recombinant IgG ใน Mammalian cell (CHO cells) ซึ่งพบว่า recombinant human IgG (โคลน 19 และ 54) ที่สร้างได้ สามารถยับยั้ง Dengue virus ทั้ง 4 serotypes ได้เช่นเดียวกับกับ NhuMAb ที่สร้างจาก Hybridoma cell (Sasaki et al, 2013; Pitaksajakul et al; 2014) แต่สามารถใช้ในมนุษย์ได้ ตามมาตรฐานของ US. FDA โดยได้จดสิทธิบัตร 2 ฉบับ คຸ້ມครອງใน 11 ประเทศ โดย มหาวิทยาลัยมหิดล และ Osaka University ร่วมเป็นเจ้าของสิทธิบัตร (1.Dengue-virus serotype neutralizing antibodies www.google.com/patents/WO2013035345A2, 2.Antigenic peptide derived from dengue virus www.google.com/patents/WO2014064943A1)

ต่อมาเพื่อพัฒนาอายุชีวภาพ NhuMAb ที่ยับยั้ง DENV ทั้ง 4 serotypes โดยไม่ก่อให้เกิด ADE ทีมนักวิจัยจึงได้สร้าง Fc modified NhuMAb (จาก NhuMAb โคลนหมายเลข 19 และ 54) โดยเปลี่ยนส่วน Fc ของ NhuMAb ที่ตำแหน่งกรด อะมิโน L234A และ L235A (LALA) ทำให้ส่วน Fc ของ Fc modified NhuMAb ไม่จับกับ effector cell และไม่นำ DENV มาก่อให้เกิดการติดเชื้อ DENV มากขึ้น และได้ทดสอบพบว่า Fc modified NhuMAb 19 และ Fc modified NhuMAb 54 ที่สร้างขึ้น สามารถยับยั้งไวรัส DENV ทั้ง 4 serotypes ได้ 90-100% NT โดยไม่ก่อให้เกิด ADE กับ DENV ทั้ง 4 serotypes ในเซลล์ K562 (Ramadhani et al, 2015; Injampa et al, 2017)

ต่อมากระผมได้ใช้ความพยายามอย่างมากในการติดต่อหา บริษัทยาชีวภาพทั้งในไทย และ ต่างประเทศ เพื่อมาลงทุนกับยาชีวภาพ NhuMAb ที่เราได้ใช้เวลากว่า 10 ปี พัฒนาขึ้นมา จนกระทั่งในที่สุดมีประธานบริษัท BSV-Biosciences ได้มาทำสัญญา Licensing กับมหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อนำ Fc-modified NhuMAb โคลน 54 เข้าสู่เชิงพาณิชย์ ซึ่งถือได้ว่าเป็นผลงานวิจัยที่คิดค้นพัฒนาโดยนักวิจัยไทย ที่มีบริษัทขนาดใหญ่จากต่างประเทศสนใจ มาลงทุนผลิตยาชีวภาพในโรงงาน GMP ลงทุนทดสอบในสัตว์ทดลอง และ ลงทุนทดสอบต่อไปในอาสาสมัคร Clinical trial phase 1-3 จนถึงผ่านการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยา และ ออกจำหน่ายเชิงพาณิชย์ (รวมการลงทุนตั้งแต่ผลิตทดสอบ จนถึง ขอ อย. ประมาณ 300 ล้านบาท) ซึ่งการที่บริษัทเอกชนตัดสินใจลงทุนกว่า 300 ล้านบาทนี้เพราะได้พิจารณาจากผลการทดสอบพบว่า Fc-modified NhuMAb โคลน 54 ของเราให้ผลยับยั้ง DENV 4 serotypes ในหนู AG-129 ได้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ candidate MAbs อื่นๆของนักวิจัยจาก สหรัฐอเมริกา และ ยุโรป ที่ทดสอบพร้อมกัน แสดงให้เห็นถึงศักยภาพการสร้างแอนติบอดีรักษาโรคจากนักวิจัยไทยว่าไม่ด้อยกว่านักวิจัยในประเทศสหรัฐอเมริกาหรือยุโรปเลย

ผลกระทบเชิงเศรษฐกิจและสังคม

เกิดผลกระทบแล้วระดับประเทศ / ตลาดต่างประเทศ

ผลงาน โมโนโคลนัล แอนติบอดีมนุษยารักษาโรคไข้เลือดออก และ โมโนโคลนัล แอนติบอดีมนุษยารักษาโรคไข้เลือดออกที่ไม่ก่อให้เกิด ADE ถือได้ว่าเป็นผลงานของนักวิจัยไทยที่มีบริษัทขนาดใหญ่จากต่างประเทศสนใจ มาลงทุนผลิตยาชีวภาพในโรงงาน GMP ลงทุนทดสอบในสัตว์ทดลอง และ ลงทุนทดสอบต่อไปในอาสาสมัคร Clinical trial phase 1-3 จนถึงผ่านการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยา และ ออกจำหน่ายเชิงพาณิชย์ (รวมการลงทุนตั้งแต่ผลิตทดสอบ จนถึง ขอ อย. ประมาณ 350 ล้านบาท) ซึ่ง นอกจากมหาวิทยาลัยมหิดลและหน่วยงานร่วมสิทธิบัตรจะได้ผลตอบแทนจากบริษัทจากค่า Milestone payment (ประมาณ 17.5 ล้านบาท) และค่า Royalty 4 % ของยอดขายต่อปีเป็นเวลา 15 ปี ตามสัญญา รวม 3,000 ล้านบาท (ประมาณ 200 ล้านบาท / ปี ถ้ามียอดขาย 5,000 ล้านบาท จากการขายปีละ 1 ล้าน dose ราคา dose ละ 5,000 บาท จากที่ WHO ประมาณการณ์จำนวนผู้ป่วยไข้เลือดออกทั่วโลกที่แสดงอาการป่วยต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลประมาณปีละ 100 ล้านคน ถ้าประมาณเพียงแค่ 1 % ของผู้ป่วยดังกล่าวคือ 1 ล้านคน สนใจจะรักษาโดยใช้ยาชีวภาพนี้) และยังเป็นประโยชน์กับประเทศไทยในด้านการพัฒนาวัตกรรมจากงานวิจัยสู่เชิงพาณิชย์ ตามนโยบาย Thailand 4.0 และที่สำคัญที่สุดคือ ได้สร้างยาชีวภาพตัวแรกสำหรับรักษาโรคไข้เลือดออก ที่ในทุกๆปี มีผู้ป่วยไข้เลือดออกเกือบร้อยล้านคนที่ต้องการยารักษาโรคนี้ ที่จะช่วยให้ผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกไม่ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน (1 - 2 อาทิตย์เป็นอย่างน้อย) ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายเป็นหลักหมื่นๆ บาท รวมทั้งลดค่าเสียเวลาและเสียโอกาสจากการหยุดงานอีกด้วย

การยกย่องให้เกียรติแก่นักวิจัยที่สร้างผลงานเพื่อช่วยมนุษยชาติ

ในช่วงเวลา 12 ปี ที่กระผมและทีมวิจัยได้พัฒนาสิ่งประดิษฐ์นี้ ส่งผลให้ได้รับรางวัลหลายรางวัล จากหน่วยงานต่างๆ ทั้งในและต่างประเทศ ดังต่อไปนี้

รางวัล	สถาบันที่ให้รางวัล	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
1. นักวิจัยดีเด่นแห่งชาติ	คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	2563
สภาวิจัยแห่งชาติ		

2. รางวัลมหาวิทยาลัยมหิดล สาขาการประดิษฐ์และนวัตกรรม	รับพระราชทานจากสมเด็จพระเทพรัตน มหาวิทยาลัยมหิดล	2563
3. รางวัลศิษย์เก่าดีเด่น สาขานักวิชาการ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	2563
4. Outstanding MPH Alumni (Master of Public Health)	คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล	2562
5. รางวัลสัตวแพทย์เกษตรผู้ทรงคุณค่า แก่วิชาชีพและสร้างประโยชน์ให้สังคม	สมาคมนิสิตเก่าคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2560
6. รางวัลสัตวแพทย์ดีเด่นแห่งชาติ สายงานวิชาการ	สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์	2559
7. รางวัลผลงานประดิษฐ์คิดค้นดีเด่น แห่งชาติ สภาวิจัยแห่งชาติ	คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	2559
6. รางวัลนิสิตเก่าดีเด่น และปัยทองคำ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2559
7. รางวัลชนะเลิศ Best pitching of business model	Royal Academy of Engineering, United Kingdom	2558
8. รางวัลผลงานวิจัยดีเด่น สภาวิจัยแห่งชาติ	คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	2557
9. รางวัลบุคคลต้นแบบ Mu Brand Ambassador	มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเวชศาสตร์เขตร้อน	2557
10. รางวัลศิษย์เก่าดีเด่น ด้านการสร้างนวัตกรรม	มหาวิทยาลัยมหิดล คณะสาธารณสุขศาสตร์	2557
11. รางวัลชนะเลิศเหรียญทอง Gold Medal Award	TAIPEI INT'L INVENTION SHOW & TECHNOMART, Taipei, Taiwan	2557
12. รางวัล Honor of Invention	World Invention Intellectual Property Association (WIIPA)	2557
13. รางวัล Leading Innovation Award Forum (IIPF)	International Intellectual Property	2557
14. รางวัล Excellent Invention Award Industry Association (TIIIA)	International Intellectual Property	2557
15. The Highest Download paper 2013	Elsevier Science Publisher	2557
16. Collaborative Professor	Osaka University, Osaka, Japan	2553-ปัจจุบัน
17. รางวัลผลงานวิจัย สภาวิจัยแห่งชาติ	คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	2553

กระผมขอขอบคุณทีมงานวิจัยที่ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการวิจัยแอนติบอดี ภาควิชาเวชศาสตร์

กระผมขอขอบคุณทีมงานวิจัยที่ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการวิจัยแอนติบอดี ภาควิชาเวชศาสตร์สังคมและสิ่งแวดล้อม และ ผู้บริหารคณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล รวมทั้งแหล่งทุนวิจัยทั้งจากประเทศไทย (วช., สกสว.) และญี่ปุ่น (JST-JICA SATREPS) ที่ช่วยสนับสนุน งานวิจัยยาชีวภาพรักษาโรคไข้เลือดออก ตั้งแต่เป็นงานวิจัยพื้นฐานจนสามารถพัฒนาต่อสู้เชิงพาณิชย์ได้ในที่สุด

ศาสตราจารย์ (พิเศษ) ดร. นสพ. พงศ์ราม รามสูต

เอกสารอ้างอิง

1. Injampa S, Pipattanaboon C, Benjathummarak S, Boonha K, Wongwit W, Hananantachai H, **Ramasoota P**, et al. Generation and characterization of cross-neutralizing human monoclonal antibody against four serotypes of dengue virus without enhancing activity. PeerJ 2017; 5: e4021.
2. Pitaksajakul P, Benjathummarak S, Pipattanaboon C, Wongwit W, Tamaki Okabayashi T, Kuhara M, Misaki R, Fujiyama K, **Ramasoota P**. Antibody germline characterization of cross-neutralizing human IgGs against four serotypes of dengue virus. Biochem Biophys Res Commun. 2014; pii: S0006-291X(14)00410-0.
3. Ramadhany R, Hirai I, Sasaki T, Ono KI, Ramasoota P, Ikuta K, Kurosu T. Antibody with an engineered Fc region as a therapeutic agent against dengue virus infection. Antiviral Res. 2015 Oct 29. pii: S0166-3542(15)30013-9. Doi: 10.1016/j.Antiviral.2015.10.012
4. Sasaki T, Setthapramote C, Kurosu T, Nishimura M, Asai A, Omokoko MD, Pipattanaboon C, Pitaksajakul P, Limkittikul K, Subchareon A, Chaichana P, Okabayashi T, Hirai I, Leungwutiwong P, Misaki R, Fujiyama K, Ono K, Okuno Y, **Ramasoota P**, Ikuta K. Dengue virus neutralization and antibody-dependent enhancement activities of human monoclonal antibodies derived from dengue patients at acute phase of secondary infection. Antiviral Res. 2013 Jun;98(3):423-31.
5. Setthapramote C, Sasaki T, Puiprom O, Limkittikul K, Pitaksajakul P, Pipattanaboon P, Sasayama M, Leungwutiwong P, Phumratanapapin W, Chamnanchan S, Kusolsuk T, Jittmittraphap A, Asai A, Arias JF, Hirai I, Kuhara M, Okuno Y, Kurosu T, **Ramasoota P***, Ikuta K*. Human monoclonal antibodies to neutralize all dengue-virus serotypes using lymphocytes from patients at the acute phase of the secondary infection. Biochem Biophys Res Commun. 2012;423:867-872.
6. Srikiatkachorn A, Wichit S, Gibbons RV, Green S, Libraty DH, Endy TP, Ennis FA, Kalayanaroj S, Rothman AL. Dengue viral RNA levels in peripheral blood mononuclear cells are associated with disease severity and preexisting dengue immune status. PLoS One. 2012;7(12):e51335. doi: 10.1371/journal.pone.0051335. Epub 2012 Dec 19
7. WHO report on dengue 2019 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>