

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

เชื้อเกลื้อน หรือ *Malassezia furfur* จัดอยู่ในกลุ่มราสองรูป (dimorphic fungus) ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นบนผิวหนังของคนและสัตว์ และยังเป็นสาเหตุของโรคผิวหนังต่าง ๆ เช่น รังแคชนิดเรื้อรัง (dandruff) โรคเกลื้อน (pityriasis versicolor) รูขุมขนอักเสบ (folliculitis) และสามารถติดเชื้อในกระแสเลือด (sepsis) ให้เกิดภาวะเลือดมีเชื้อรา (fungemia) ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เป็นต้น กลไกการเกิดโรคเหล่านี้ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าในบริเวณรอยโรคมีลักษณะหลายอย่างที่แตกต่างกันไปจากผิวหนังปกติ เช่น ปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น, ชนิดหลักของเชื้อ (predominant species) การสร้างเมลานินที่ผิดปกติ และสัญญาณของเชื้อ เป็นต้น โดยลักษณะที่สำคัญและเด่นชัดที่สุดในทางพยาธิคือ ในบริเวณรอยโรคจะพบเชื้อ *M. furfur* ทั้งแบบยีสต์ (yeast) และสายรา อยู่ร่วมกัน จนมีศัพท์เฉพาะทางพยาธิเรียกรูปแบบเชื้อชนิดนี้ว่า “spaghetti and meatballs” ซึ่งจะแตกต่างจากผิวหนังปกติที่พบแต่เชื้อในสัญญาณยีสต์เพียงอย่างเดียว จึงสันนิษฐานได้ว่าการสร้างสายราของเชื้อน่าจะมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการก่อโรคหรือการอุบัติของโรค

ในปัจจุบันมีการนำเทคนิคทางอณูชีววิทยามาใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ *Malassezia* มากขึ้น เช่น การระบุสายพันธุ์ จนนำไปสู่การค้นพบสายพันธุ์ใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นหลายสายพันธุ์ในช่วงเวลาไม่นานมานี้ แต่การศึกษากลไกการก่อโรคของเชื้อในระดับโมเลกุลมีการศึกษาน้อย ซึ่งในการศึกษาการสร้างสายราของเชื้อ *Malassezia* นั้น แม้ว่าทั่วโลกจะเริ่มศึกษามาไม่ต่ำกว่า 40 ปีแล้วก็ตาม แต่กลับไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากไม่สามารถกระตุ้นเชื้อให้สร้างสายราในห้องปฏิบัติการได้ แต่ไม่กี่ปีมานี้ได้มีการพบเงื่อนไขบางอย่างที่สามารถกระตุ้นการสร้างสายราของ *M. furfur* ในห้องปฏิบัติการได้ และมีลักษณะใกล้เคียงกับสายราที่เกิดบนผิวหนังผู้ป่วย และยังพบว่าเชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่เป็น virulence factor แตกต่างกันในระยะยีสต์และสายราอีกด้วย ทำให้เกิดคำถามต่อมาว่า นอกเหนือไปจาก virulence factor เหล่านี้ ในระหว่างระยะที่เป็นยีสต์และสายราของเชื้อ *M. furfur* มีชุดยีนใดที่มีแสดงออกแตกต่างกันบ้าง ซึ่งหากสามารถศึกษาลงไปในกระบวนการการถอดรหัส (transcription) ของยีนต่าง ๆ ได้ อาจนำไปสู่การอธิบายกลไกการเกิดโรคในระดับโมเลกุลได้ ซึ่งจะเป็นการสร้างองค์ความรู้ที่สำคัญในการนำไปต่อยอดออกแบบยาที่สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เป็น virulence factor ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *M. furfur* ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่จำเพาะต่อระยะที่เป็นยีสต์และสายราของ *M. furfur*
2. เพื่อระบุยีนที่มีการแสดงออกจำเพาะต่อระยะที่เป็นยีสต์และสายราของ *M. furfur*

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาการแสดงออกของยีนในระดับ transcription ของเชื้อ *M. furfur* CBS 1878^T ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรคเกลื้อน โดยศึกษาจากการเปรียบเทียบรูปแบบของแถบ DNA ที่ได้จากการทำ cDNA-RAPD ของตัวอย่างเชื้อที่เจริญในระยะยีสต์และสายรา นำชิ้นส่วน DNA ที่จำเพาะกับแต่ละระยะไปอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์และนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank เพื่อระบุชนิดของยีนที่แสดงออกอย่างจำเพาะต่อระยะยีสต์และสายรา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. พัฒนาความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของยีนและการเปลี่ยนสัณฐานของเชื้อ *Malassezia* ในระดับ transcription
2. เพิ่มพื้นฐานองค์ความรู้เกี่ยวกับการเกิดโรคจากเชื้อ *Malassezia* ที่สามารถต่อยอดไปสู่การวิจัยเพื่อหาวิธีการรักษาและป้องกันโรคได้อย่างถูกต้องตรงจุดยิ่งขึ้นในอนาคต
3. เผยแพร่งานวิจัยในการประชุมวิชาการหรือ ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับชาติหรือนานาชาติ
4. พัฒนาคุณภาพการศึกษาของนักศึกษาที่ลงทะเบียนในรายวิชา BIO 2102 ชีววิทยาของเซลล์ BIO 3105 อนุชีววิทยา โครงการวิจัย โดยนำความรู้และทักษะปฏิบัติการขั้นสูงเช่น การสกัด DNA และ RNA, เทคนิค PCR, การประยุกต์ใช้คอมพิวเตอร์ร่วมกับชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ในการวิเคราะห์ยีนและออกแบบไพรเมอร์ ไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนในภาคทฤษฎีและปฏิบัติของรายวิชาดังกล่าว เพื่อให้นักศึกษาได้มีความรู้และทักษะปฏิบัติการขั้นสูง ที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาต่อในระดับปริญญาโท และการทำงานที่เกี่ยวข้องกับอนุชีววิทยา