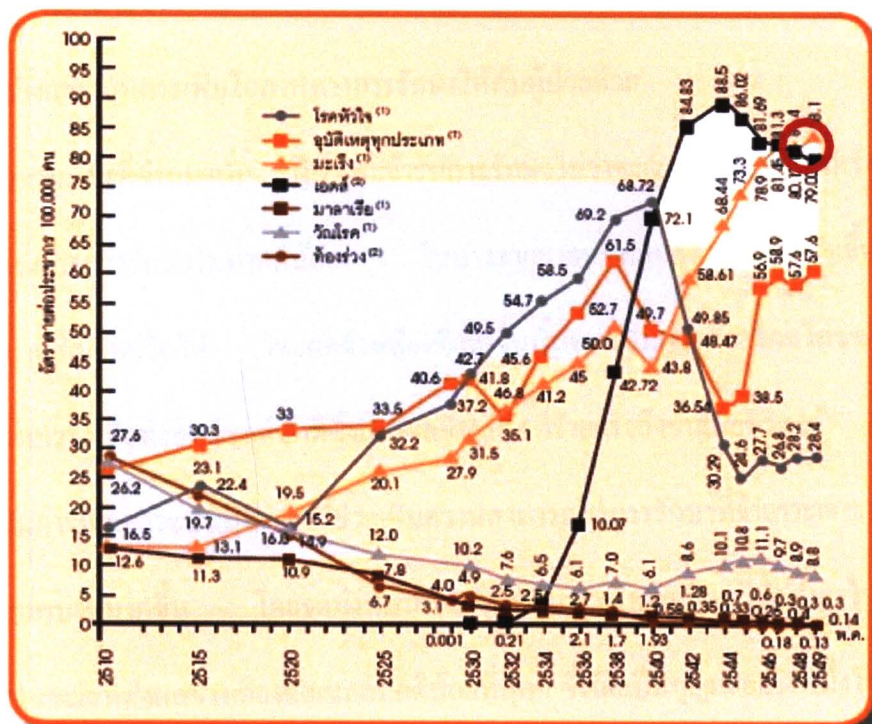


บทที่ 1

บทนำและที่มาของปัญหา

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

จากข้อมูลการตายของประชากรไทยโดยสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุขปี 2549
ชี้ว่า การตายจากเนื่องจากมะเร็งทุกชนิดเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่ง และอัตราการตายจากมะเร็งยังคงสูงขึ้น
อย่างต่อเนื่องไปในอนาคต ตามกราฟที่แสดงด้านล่าง⁽¹⁾



รูปที่ 1 แสดงอัตราการตายของประชากรไทยในปี 2548-2550⁽¹⁾

จากสถิติในปี พ.ศ. 2550 มะเร็งเป็นโรคร้ายที่เป็นหนึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายทั่วโลกถึง 7.9 ล้าน
คน คิดเป็น 13 % ของการตายทั้งหมด⁽²⁾ จากสถิติของมะเร็งทั่วโลกในคนอายุตั้งแต่ 0-64 ปี ผู้ที่เริ่มเป็นมะเร็ง
จำนวน 10.9 ล้านคน เสียชีวิตจำนวน 6.7 ล้านคน ชนิดของมะเร็งซึ่งมีอัตราการตาย 10 อันดับแรก ในผู้ชาย

คือ มะเร็งปอด (lung cancer) มะเร็งกระเพาะอาหาร (stomach cancer) มะเร็งตับ (liver cancer) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (colon and rectum cancer) มะเร็งหลอดอาหาร (esophageal cancer) มะเร็งต่อมลูกหมาก (prostate cancer) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) มะเร็งตับอ่อน (pancreas cancer) มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (bladder cancer) และ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (Non-Hodgkin lymphoma) ขณะที่ในผู้หญิง คือ มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม (breast cancer) มะเร็งปากมดลูก (cervix cancer) มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งตับ มะเร็งรังไข่ (ovarian cancer) มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งตับอ่อน และ มะเร็งเม็ดเลือดขาว

สำหรับสถิติของสาเหตุและอัตราการตาย 10 อันดับแรกต่อประชากรทั้งประเทศ ของประเทศไทยที่มีจำนวนประชากร 62,526,693 คน ในปี พ.ศ. 2547 พบว่าสาเหตุการตายจากมะเร็งเป็นอันดับที่ 1⁽²⁾ และคาดว่าอัตราการเป็นมะเร็งจะเพิ่มขึ้นทุกปี ด้วยเหตุนี้การศึกษาค้นคว้าวิจัยทางด้านมะเร็งจึงยังคงเป็นงานวิจัยที่มีประโยชน์อย่างยิ่งและเป็นการเพิ่มโอกาสทางการรักษาให้กับผู้ป่วยด้วย

การรักษามะเร็งที่ผ่านมานั้น ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาไม่ว่าจะด้วยวิธีเคมีบำบัดหรือรังสีบำบัดมักจะได้รับผลข้างเคียงจากการรักษาไม่มากนักน้อย ในบางรายอาจทนต่อผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นไม่ไหวจนถึงขั้นปฏิเสธการรักษาหรือเสียชีวิตได้ โดยผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นนั้นอาจเป็นผลมาจากกลไกของการรักษาด้วยวิธีต่าง ๆ นั้นมีผลรบกวนหรือทำลายเซลล์ปกติซึ่งเป็นผลข้างเคียงที่ร้ายแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้

ปัจจุบันการพัฒนาระบบนำส่งยาที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการรักษาที่จำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งนั้นเริ่มเข้ามามีบทบาทมากขึ้น โดยจุดมุ่งหมายในการพัฒนาระบบนำส่งยาที่นำส่งยาไปยังเป้าหมายอย่างจำเพาะเจาะจงในขณะที่ส่งผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติน้อยที่สุด ซึ่งถือเป็นกุญแจอย่างหนึ่งในการพัฒนาระบบนำส่งยา ในการพัฒนาระบบนำส่งยาสำหรับยามะเร็งนั้นการใช้ประโยชน์จากโมเลกุลที่มีการแสดงออกอย่างจำเพาะเจาะจงบนผิวเซลล์มะเร็งหรือโมเลกุลที่มีการแสดงออกมากอย่างชัดเจนบนผิวเซลล์มะเร็งมาใช้ประโยชน์ในการเป็นส่วนที่ให้ระบบนำส่งยามาจับ เพื่อที่จะนำส่งยาเข้าสู่เซลล์มะเร็งอย่างจำเพาะเจาะจง โดยอาศัยการปฏิกิริยาที่เกิดจากการจดจำระหว่างโมเลกุล อาทิเช่น ปฏิกิริยาระหว่างตัวรับและตัวจับบนผิวเซลล์

(ligand–receptor) หรือปฏิกิริยาระหว่าง antigen -antibody⁽³⁾ โดยที่ระบบนำส่งยานั้นจะมีการคัดแปลงโดยนำโมเลกุลที่จับอย่างจำเพาะเจาะจงกับโมเลกุลบนผิวเซลล์มะเร็งมาเชื่อมต่อกับระบบนำส่งยาเพื่อที่จะทำหน้าที่เป็นตัวนำระบบนำส่งยาไปสู่เซลล์มะเร็งเป้าหมาย ปัจจุบันนี้ได้มีโปรตีนหลายตัวที่มีการตรวจพบบนผิวเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกเฉพาะบนเซลล์มะเร็งหรือมีการแสดงออกอย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับการแสดงออกในเซลล์ปกติ⁽⁴⁾ ยกตัวอย่างเช่น Claudin-4 ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีการแสดงออกอย่างเด่นชัดในเซลล์มะเร็งหลายชนิด ซึ่งได้ถูกนำมาเป็นโมเลกุลเป้าหมายสำหรับลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง⁽⁵⁾

Leukocyte Function Associated Antigen-1 (LFA-1) ซึ่งเป็นโปรตีนอีกชนิดที่มีการแสดงออกบนผิวเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและได้ถูกนำมาใช้เป็นโมเลกุลเป้าหมายสำหรับระบบนำส่งยา Chittasupho และคณะ⁽⁷⁾ ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาระบบนำส่งยาที่จำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวพบว่า ระบบนำส่งยาชนิดใหม่ที่มีการนำเปปไทด์ที่สังเคราะห์มาจากส่วนที่จับกับ LFA-1 มาคอนจูเกตกับนาโน-พาร์ทิเคิลเพื่อที่จะเป็นโมเลกุลที่ใช้ในระบบนำส่งไปจับกับ LFA-1 ที่มีการแสดงออกอยู่บนผิวเซลล์มะเร็งนั้นสามารถจับและถูกนำเข้าสู่เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้สูงกว่าระบบนำส่งยาที่ไม่ได้มีการคอนจูเกตกับโมเลกุลใดๆ (unconjugated nanoparticles)⁽⁶⁻⁷⁾ ที่น่าสนใจไปกว่านั้นคือ Lima และคณะได้พบว่าเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวจากผู้ป่วยนั้นมีการแสดงออกของ LFA-1 มากกว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติถึง 5 เท่า⁽⁸⁾

เปปไทด์ซึ่งได้จากการค้นพบของ Professor Siahaan และคณะ ที่มีชื่อว่า (cIBR) ที่ได้พิสูจน์ว่าเป็นชิ้นส่วนเปปไทด์ (peptide sequence) ที่จำเป็นและสั้นที่สุดจาก Intracellular Cell Adhesion Molecule -1 (ICAM-1) สำหรับจับกับ LFA-1 ให้ปรากฏอยู่บนผิวของนาโนพาร์ทิเคิล เนื่องจากมีรายงานว่า เม็ดเลือดขาว (leukocyte) มีส่วนของ selectin immunoglobulin (IgG) และ integrins ซึ่ง integrin ของ leukocyte ที่แสดงการจับกับ ICAM-1 คือ Leukocyte Function-Associated Antigen-1 (LFA-1) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถจับกับ ICAM-1 และปรากฏอยู่มากบนผิวเซลล์มะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งตับอ่อน มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia)⁽⁵⁻⁷⁾ เป็นต้น และยังไม่มีผู้ใดรายงานถึงการนำ เปปไทด์ cIBR

ชนิดนี้มาประกอบกับนาโนพาร์ติเคิลเพื่อนำส่งยาต้านมะเร็งไปสู่เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เป็นตัวแทนของมะเร็งเม็ดเลือดที่เกิดขึ้นโดยเฉพาะต่อผู้ป่วยเด็ก (targeted drug delivery) โดยเฉพาะต่อมะเร็งที่พบว่ามะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันมีอุบัติการณ์สูง ซึ่งเกิดขึ้นประมาณ 3-4 รายต่อเด็ก 100,000 คน หรือเท่ากับ 1/3 ของมะเร็งที่เกิดในเด็ก ในปัจจุบันพบว่าปัญหาผู้ป่วย leukemia ในจังหวัดเชียงใหม่มีอุบัติการณ์ในการเกิดโรคสูงที่สุดในประเทศไทย⁽⁸⁾ ทั้งนี้จึงได้ศึกษาถึงการเตรียมระบบนำส่งยาชนิดใหม่และประเมินถึงประสิทธิภาพเบื้องต้นถึงความจำเพาะเจาะจงของระบบนำส่งยาต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่มีการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์ เพื่อเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาจากการที่ยาต้านมะเร็งไม่มีความจำเพาะทำให้ง่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติ และทำให้เกิดการทำลายเซลล์ปกติจนเกิดอาการข้างเคียงต่างๆ ได้

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ออกแบบและประเมินระบบนำส่งยาต้านมะเร็งด้วยนาโนพาร์ติเคิลที่คอนจูเกตกับเปปไทด์ที่ได้จาก ICAM-1 เพื่อเพิ่มความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว
2. ศึกษาปัจจัยด้านต่างๆ ที่สำคัญของระบบนำส่งยาที่ได้พัฒนาขึ้น เช่น พื้นผิว ขนาด ประสิทธิภาพการจุยของนาโนพาร์ติเคิล ความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง เป็นต้น
3. ตรวจสอบระดับการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่แตกต่างกันทั้งสี่ชนิด
4. ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการนำเข้าของระบบนำส่งยาโดยเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสี่ชนิด
5. ศึกษาความเกี่ยวข้องระหว่างระดับการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์กับระดับความสามารถในการนำเข้าของระบบนำส่ง cIBR คอยจูเกตนาโนพาร์ติเคิลของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสี่ชนิดที่มีระดับการแสดงออกของ LFA-1 ที่แตกต่างกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลในเชิงเศรษฐศาสตร์ สังคม และสิ่งแวดล้อม

จากระบบนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพ จะสามารถลดการสูญเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็ง และลดอัตราการตายอันเนื่องมาจากอาการข้างเคียง อันเนื่องมาจากยาเคมีบำบัด ซึ่งผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากตัวยา และตัวทำลายสำหรับตัวยา เช่น ผมร่วง คลื่นไส้ อาเจียน และน้ำหนักลดนั้น มีผลรุนแรงต่อร่างกาย จิตใจ และการรักษาของผู้ป่วย นอกจากนั้นยังมีผลกระทบต่อญาติมิตร ซึ่งต้องใช้เวลาในการดูแลผู้ป่วย ซึ่งเป็นการสูญเสียทรัพยากรมนุษย์ รายได้ และประโยชน์ต่างๆ ทั้งต่อครอบครัวของผู้ป่วย และประเทศชาติ ซึ่งผลงานที่ได้น่าจะมีประโยชน์ในการพัฒนาระบบนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งชนิดที่มีการแสดงออกของ LFA-1 และสามารถนำไปเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ หรือตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารทางวิชาการ เพื่อประโยชน์แก่นักวิจัยและบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องที่จะนำข้อมูลที่ได้ไปประกอบในการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งในอนาคต

การพัฒนาเทคโนโลยี

เนื่องจากงานวิจัยนี้ใช้เทคโนโลยีนาโนพาร์ติเคิลมาพัฒนาระบบนำส่งยามะเร็ง และพัฒนาบริเวณผิวของนาโนพาร์ติเคิลของยาให้เฉพาะกับเซลล์เป้าหมายได้โดยตรง เนื่องจากยารักษามะเร็งในปัจจุบันนั้นมีการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็ง และมีผลต่อเซลล์ปกติของร่างกายด้วย ระบบนำส่งยานี้ออกแบบเพื่อให้มีการนำส่งยาด้านมะเร็งที่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยตรงโดยผลต่อเซลล์ปกติต่ำกว่า เพราะประยุกต์ปฏิกิริยาการจับกันระหว่าง LFA-1 ที่แสดงออกบนผิวของ leukocytes และ ICAM-1 derived cIBR peptide ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงในการจับกันสูง มาใช้สำหรับงานวิจัยนี้ด้วย จากเทคโนโลยีที่ได้พัฒนาน่าจะมีประโยชน์ต่อสถาบันอุดมศึกษาที่จะได้พัฒนาให้เกิงานวิจัยอย่างต่อเนื่อง และได้พัฒนาให้เกิดผลิตภัณฑ์ยารักษาโรคมะเร็งต่อไปในอนาคต เทคโนโลยีที่ได้จะเป็นต้นแบบให้เกิดการพัฒนาการออกแบบระบบนำส่งยาที่สามารถดัดแปลงโดยนำโมเลกุลอื่นที่สามารถจับกับโมเลกุลเป้าหมายมาเชื่อมต่อได้

การพัฒนาศิลปะการ

การวิจัยในครั้งนี้ความต้องการที่จะพัฒนานักศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษาผู้ร่วมวิจัยจำนวน 2 คน (โท 1 คน และ เอก 1 คน) แต่ในขณะนี้เมื่อนักศึกษาระดับปริญญาเอก 2 คน ที่กำลังศึกษาวิจัยเรื่องนี้อยู่ คือ นางสาว ชุติ จิตสุโก ซึ่งกำลังศึกษาวิจัย ณ มหาวิทยาลัยแคนซัส เพื่อกลับมาปฏิบัติหน้าที่เป็นอาจารย์ ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จ. นครนายก และ นางสาว รังษิณี พงษ์ประดิษฐ์ ซึ่งกำลังศึกษาวิจัย ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และกำลังสมัครเพื่อเป็นอาจารย์ ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งบุคลากรที่ได้รับการสนับสนุนจากโครงการวิจัยนี้ จะเป็นผู้ที่มีความรู้ ความสามารถในการพัฒนาตนเอง และสามารถดำเนินงานวิจัยให้บรรลุ เพื่อเป็นกำลังสำคัญในการทำการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ และการศึกษาในระดับอุดมศึกษาต่อไป

ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิด (Conceptual Framework) ของโครงการวิจัย

มะเร็งเม็ดเลือด หรือ leukemia นั้น เป็นมะเร็งชนิดที่เกิดขึ้นกับเม็ดเลือดขาวซึ่งมีความรุนแรงและมีอัตราการตายสูงโดยเฉพาะในเด็ก ซึ่งเม็ดเลือดขาวจะแพร่ไปในกระแสเลือดได้ทั่วร่างกายซึ่งยากต่อการรักษาโดยการจำกัดส่วนของร่างกาย ซึ่งนอกจากจะต้องให้ยาต้านมะเร็งไปด้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งแล้ว ยาต้านมะเร็งก็ยังไปมีผลกระทบต่อเซลล์ปกติที่อยู่ร่วมกับเซลล์มะเร็งอย่างไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ การทราบถึงความแตกต่างระหว่างเซลล์ปกติกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวมีการแสดงออกมากของโมเลกุลโคบอนผิวเซลล์มากกว่าบนผิวเซลล์ปกติ จะสามารถใช้โมเลกุลนั้นเป็นเป้าหมายและหาว่าจะสามารถใช้สารหรือโมเลกุลอีกชนิดที่มีการจับกันอย่างจำเพาะเจาะจงมาจับกับอนุภาคนาโนที่บรรจุยาต้านมะเร็งไว้จากรายงานการวิจัยพบว่ามะเร็งเม็ดเลือดขาวมีระดับการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์สูง และจากความรู้ทางด้าน molecular biology และ peptide chemistry พบว่า LFA-1 มีความจำเพาะต่อ ICAM-1 การพิสูจน์โดย Prof. Sihaan และคณะจากมหาวิทยาลัยแคนซัส พบว่าเมื่อนำ ICAM-1 derived peptides sequence ที่มีความจำเพาะเจาะจง กับ LFA-1 มาทำการบ่มกับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ LFA-1 ที่อยู่บนผิว

ของ T cells จะเกิดการจับกันและถูกนำเข้าสู่เซลล์ (internalize) ในที่สุด ทำให้มีความคิดที่จะนำ ICAM-1 derived peptides ซึ่งได้มีการสังเคราะห์เลียนแบบเปปไทด์ต้นแบบของ Prof. Siahaan มาใช้ร่วมกับการเตรียมยาในรูปแบบที่เป็นนาโนพาร์ติเคิล ในการศึกษาระบบนำส่งยาโดยระบุเป้าหมายให้เป็นตัวรับที่อยู่บนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวหรือเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกมากของ LFA-1 บนผิวเซลล์ได้

ขอบเขตการวิจัย

ทำการประเมินถึงประสิทธิภาพของนาโนพาร์ติเคิลที่เตรียมจาก biodegradable polymer ที่ถูก conjugate ให้นาโนพาร์ติเคิลมี peptide ที่สามารถจับกับ receptor ที่อยู่บนผิวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยจะทำการประเมินปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมนาโนพาร์ติเคิล ชนิดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว การถูกจับนำเข้าสู่เซลล์ของนาโนพาร์ติเคิลและความจำเพาะเจาะจงและประสิทธิภาพในการนำยาเข้าสู่เซลล์