บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

โรคมะเร็งเกิดจากเซลล์ซึ่งผิดปกติไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ทำให้เพิ่มจำนวนและขนาด แพร่กระจายไปยังเซลล์และเนื้อเยื่อข้างเคียง สามารถแบ่งมะเร็งได้หลายชนิด คือ carcinoma เป็นมะเร็งที่เกิดที่ผิวหรือเนื้อเยื่อ sarcoma เป็นมะเร็งที่เกิดบริเวณกระดูกกล้ามเนื้อหรือเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia) [9]

มะเร็งเม็ดเลือดขาว คือโรคมะเร็งเม็ดเลือด พบการเพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือดตัวอ่อน ที่ไม่สามารถเจริญไปเป็นตัวแก่ได้ โดยในไขกระดูกจะพบเซลล์มะเร็งเป็นจำนวนมากเข้าไปเบียดบังเซลล์ปกติ จนในที่สุดเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวจะออกมาในกระแสเลือด และอาจแพร่กระจายเข้าสู่ reticulo-endothelial tissue ของม้าม ตับ และต่อมน้ำเหลือง และอาจเข้าสู่อวัยวะอื่นๆ หากไม่ทำการรักษาผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้

สาเหตุของการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว [10]

สาเหตุของการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่แท้จริงยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่จากการสังเกต ทดลอง และหาความสัมพันธ์ของสาเหตุต่างๆ สามารถสรุปสาเหตุที่อาจทำให้เกิดมะเร็งเม็ดเลือดได้ดังนี้

1. **สารเคมี (chemical carcinogens)** คือ สารเคมีบางชนิดสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนและข้อมูลทางพันธุกรรมภายในเซลล์ เช่น benzene ซึ่งผู้ที่คลุกคลีกับสารจำพวก benzene พบว่ามีโอกาสเกิด acute leukemia สูงกว่าคนปกติ, การใช้ organic solvent ต่างๆ หรือการใช้ยา เช่น chloramphenical, phenylbutazone, cytotoxic drugs จำพวก alkylating agents
2. **สารกัมมันตภาพรังสี (ionizing radiation)** สารรังสีสามารถทำให้สารพันธุกรรม คือ DNA เกิดการแตกหัก ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดมีข้อมูลผิดพลาดในระหว่างการซ่อมแซมสาย DNA

3. **เชื้อไวรัส (viruses)** เชื้อไวรัสบางชนิดทำให้เกิดการสอดแทรกของยีนของไวรัสเข้าในระหว่างยีนต่างๆของเซลล์เม็ดเลือดขาว ทำให้ข้อมูลทางพันธุกรรมผิดปกติไป เช่น เชื้อไวรัส Human-T-lymphocyte leukemia virus (HTLV) มีบทบาทร่วมทำให้ท้องที่ที่มีการระบาดของเชื้อไวรัสนี้อยู่มีอุบัติการณ์ของ leukemia สูงขึ้น หรือ Epstein-Barr virus อาจก่อโรค Burkitt's lymphoma ตามมา
4. **เชื้อชาติ (race)** ในชนเชื้อชาติต่างกันมักมีโอกาสเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวต่างชนิด และในอัตราที่ต่างกัน พบว่าอุบัติการณ์ของการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวในคนบางเชื้อชาติสูงกว่าปกติ เช่น ในกลุ่มชนผิวขาว (Caucasian) มีอัตราการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดสูงกว่าในชนกลุ่มผิวสี
5. **กรรมพันธุ์ (genetics)** ในครอบครัวที่มีประวัติมีสมาชิกเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาว พบว่าโอกาสที่ลูกหลานหรือญาติพี่น้องใกล้ชิดในสายเลือดเดียวกันจะเป็นโรคมีค่อนข้างสูง
6. **ความผิดปกติของโครโมโซม (chromosomal aberration)** ความผิดปกติในการสร้าง และการทำงานของโครโมโซม (chromosome) เช่น มีการสลับที่ (translocation), การขาดหายไป (deletion), การแทรกเพิ่มขึ้น (insertion) เป็นต้น ทำให้มีโอกาสเป็น leukemia ได้มากกว่าปกติ เช่น ในผู้ป่วย chronic myelocytic leukemia (CML) พบว่ามี Philadelphia chromosome (Ph^1) ซึ่งเกิดจากการมี translocation ระหว่าง chromosomeที่ 22 และ chromosomeที่ 9 (22q- กับ 9q+) ทำให้ได้โปรตีนขนาด 210 kDa แทนขนาดปกติคือ 145 kDa ซึ่งมี tyrosine kinase activity สูงขึ้น
7. **ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunodeficiency)** การมีภูมิคุ้มกันเสื่อมหรือบกพร่อง ทำให้มีโอกาสเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวมากกว่าปกติ เนื่องจากกลไกการกำจัดเซลล์มะเร็งบกพร่อง
8. **ภาวะไขกระดูกเสื่อม (chronic marrow dysfunction)** การมีไขกระดูกเสื่อมเรื้อรัง เช่น myelodysplastic syndrome (MDS), myeloproliferative disorder (MPD), aplastic anemia ฯลฯ อาจนำไปสู่การเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ในอนาคต หรือที่เรียกว่า preleukemia

การจำแนกและวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาว [9]

โดยทั่วไปผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวมักมาพบแพทย์ด้วยอาการเบื้องต้นคือ ซีด มีไข้ เลือดออก หรือปวดกระดูก จากการตรวจเซลล์มะเร็งในเลือดและในไขกระดูก พบว่ามะเร็งเม็ดเลือดขาวจากผู้ป่วยแต่ละรายมีลักษณะแตกต่างกัน ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาจึงได้สร้างหลักเกณฑ์ในการจำแนกมะเร็งเม็ดเลือดขาวเพื่อประโยชน์ในการใช้ยารักษาและทำนายโรค แต่เกณฑ์ของแต่ละกลุ่มไม่สามารถนำผลมาเปรียบเทียบกันจึงมีการตกลงร่วมกันของผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาเพื่อวางหลักเกณฑ์ในการจำแนกมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เป็นมาตรฐานเดียวกัน

1. **French-American-British (FAB) classification**

เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมทั่วโลก ใช้จำแนกชนิดของ acute leukemia โดยอาศัยการดูสัณฐานวิทยาของเซลล์ (cell morphology) ในกระแสเลือด (blood smear) หรือ ไขกระดูก (bone marrow) ที่ย้อมด้วยสี Romanowsky ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น Acute lymphoblastic leukemia (ALL) และ Acute leukemia non-lymphoblastic (ANLL) ซึ่งมีการตอบสนองต่อยาและการทำนายโรคที่ต่างกันอย่างชัดเจน และยังสามารถแยกชนิดย่อยได้อีก โดย ALL แยกได้เป็น L1-L3 และ ANLL แยกได้เป็น M0-M7

2. **Cytochemistry**

คือการย้อมพิเศษเพื่อใช้ตรวจสารเคมีของเซลล์เม็ดเลือด เซลล์ไขกระดูก และเซลล์ที่เจาะได้จากช่องเยื่อหุ้มต่างๆ โดยอาศัยหลักการที่เซลล์แต่ละประเภทมีสารเคมีที่ต่างกัน หรือเหมือนกันในปริมาณที่ต่างกัน ตัวอย่างของสารเคมีเหล่านี้ได้แก่ เอนไซม์ (Enzyme), ไขมัน (Lipid), คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate), เหล็ก (Iron) และสารชีวโมเลกุลอื่นๆ (Biology molecule) เป็นต้น ซึ่งในการจำแนกชนิดย่อยของ ANLL ด้วย FAB classification การดูลักษณะรูปร่างภายหลังการย้อม

สี ไม่สามารถจำแนกได้แน่นอนทุกครั้ง การใช้ cytochemistry จึงช่วยแยก ANLL เป็น M1, M2, M3, M4, M5, M6 และ M7 ได้ดียิ่งขึ้น และใช้เป็นมาตรฐานของ FAB classification

3. **การแยกชนิดตามคุณสมบัติทางภูมิคุ้มกันวิทยาโดยดูตัวบ่งชี้ที่ผิวเซลล์ (Immunologic classification of leukemia by surface markers)**

เป็นวิธีการใช้เทคนิคการย้อมทางภูมิคุ้มกันวิทยา โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody) ต่อ แอนติเจน (antigen) บนผิวเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ในการจำแนกชนิดของเม็ดเลือด มีประโยชน์มากในการจำแนกชนิดของ ALL ในเด็กออกเป็น B cell และ T cell ซึ่งไม่สามารถทำได้ด้วย FAB classification ช่วยให้การรักษาและทำนายโรคดีขึ้น

จากการจำแนกด้วยวิธีข้างต้นกับการศึกษาด้าน cell maturity ทำให้สามารถแบ่งลักษณะของมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ acute leukemia และ chronic leukemia โดยเปรียบเทียบลักษณะของ acute และ chronic leukemia ได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบอาการทางคลินิกและการดำเนินโรคของ acute และ chronic leukemia [10]

Presentation	Acute leukemia	Chronic leukemia
Onset	Short	Long
Death within	Months	Years
Ages	All	Adults
White cell counts	High/normal/low	High
Appearance of cells	Immature	Mature + immature
Neutropenia	Present	Absent
Anemia	Severe	Moderate
Platelets	Decrease	Normal/increase
Organomegaly	Mild	Severe

นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งโดยอาศัยหลักเกณฑ์ทาง cell lineage ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ lymphoid และ myeloid โดยกลุ่ม myeloid จะรวมเอาสาย granulocytic, monocytic, megakaryocytic และ erythrocytic เข้าไว้ด้วยกัน เมื่อเอาหลักเกณฑ์ทั้งสองมารวมกัน จะทำให้สามารถแบ่ง leukemia ได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่คือ

1. Acute lymphoblastic leukemia (ALL)
2. Acute myeloblastic leukemia (AML)
3. Chronic lymphoblastic leukemia (CLL)
4. Chronic myeloblastic leukemia (CML)

1. Acute lymphoblastic leukemia (ALL)

คือ มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่มีเซลล์ต้นกำเนิดของโรคเป็น lymphoid stem cell พบมากในเด็กอายุ 2-10 ปี สามารถจำแนกเป็นประเภทย่อยได้หลายวิธี ดังนี้

- **การจำแนก ALL ตาม FAB classification** ตามรูปร่างที่แตกต่างกันของ lymphoblast ทำให้แบ่ง ALL ได้เป็น 3 ชนิดคือ L1, L2 และ L3 ซึ่งมีลักษณะต่างๆกันดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของ L1, L2 และ L3 ตาม FAB classification [10]

Cytology **ลักษณะทาง cytology**	**L1** (Small, uniform lymphoblasts)	**L2** (Large, pleomorphic lymphoblasts)	**L3** (Burkitt's type, vacuolated and deeply basophilic cytoplasm)
Cell size	Small	Large and heterogeneous	Large and homogeneous
Nuclear chromatin	Homogeneous	Variable	Finely stippled
Nuclear shape	Regular	Irregular	Oval to round
Nucleoli	Rare	Present	1-3
Basophilia of cytoplasm	Moderate	Variable	Intense
Cytoplasmic vacuolation	Variable	Variable	Present

- **การจำแนก ALL ตาม membrane surface marker ของเซลล์** ได้แก่ T cell ALL, B cell ALL, Null cell ALL และ Mixed T and B cell ALL

2. **Acute myeloblastic leukemia (AML) หรือ Acute nonlymphoblastic leukemia (ANLL)**

AML คือ มะเร็งเม็ดเลือดที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยวัยกลางคนถึงสูงอายุ เกิดจาก multipotential stem cell ในไขกระดูกมีการแบ่งตัวตลอดเวลาอย่างรวดเร็วผิดปกติ และเซลล์ที่ได้ล้วนแต่เป็นเซลล์

ตัวอ่อน (blast cells) ที่ไม่สามารถเจริญไปเป็นเซลล์ตัวแก่ (mature cells)ได้ เนื่องจาก stem cell ที่เป็นต้นกำเนิดของ AML มีคุณสมบัติที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ได้หลายประเภท ลักษณะเซลล์ที่พบในผู้ป่วย AML จึงมีความหลากหลายทาง morphology, การย้อมติดสี cytochemistry และความผิดปกติของ chromosome การแบ่งชนิดของ AML จึงอาศัยการจำแนกตาม FAB classification ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของ M0 ถึง M7 ตาม FAB classification [10]

M0	Myeloblastic without maturation or Undifferentiated leukemia Blasts > 90% (of nonerythroid cells) Conventional cytochemistry negative
M1	Myeloblastic with minimal maturation Blasts > 90% (of nonerythroid cells) and promyelocytes < 10%
M2	Myeloblastic with maturation Blasts 30-89% of nonerythroid cells Granulocytic component > 10% Monocytic component < 20%
M3	promyelocytic Abnormal promyelocytes with heavy granulation and some with multiple Auer rods (faggots). Typical reniform or bilobed nucleus
M3 variant	Promyelocytic with usual hypogranular form
M4	Myelomonocytic Blasts > 30% , Monocytic component > 20%

	Monocytic + granulocytic component > 30% but < 80%
M4eo	M4 with eosinophilia > 5% Abnormal eosinophils with basophilic granules
M4baso	M4 with basophil maturation
M5a	Monoblastic Monoblast > 80%, granulocytic component < 20%
M5b	Promonocytic Monoblast < 80%, granulocytic component < 20%
M6	Erythroleukemia Erythropoetic component > 50% Blasts of nonerythroid cells > 30%
M7	Megakaryoblastic Megakaryoblasts > 30%

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบผลการย้อม cytochemistry ในมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ [11]

Types of Leukemia	Cytochemical Stains				
	PAS	**MPO**	**SB**	**CAE**	**NSE**
ALL	+++	-	-	-	-
M1	-	+/-	+/-	-	-
M2	-	++	++	++	+/-
M3	-	+++	++++	+++	-
M4	-	++	++	++	++
M4Eos	-	+	+	++	++
M5a	-	+/-	-	-	+++
M5b	+/-	-	-	-	+++
M6	+++	-	-	-	+/-
M7	++	-	-	-	-

หมายเหตุ: PAS = Periodic Acid-Schiff CAE = Chloroacetate esterase

MPO = Myeloperoxidase NSE = Nonspecific esterase

SB = Sudan black

ตารางที่ 5 Specific markers ใน AML [11]

Subtype	common phenotype
M0	DR, CD13, CD33, CD34, CD7-/+, TdT-/+
M1	Similar to M0 except CD15-/+
M2	DR-, CD13, CD33, more CD15 but less CD34
M3	DR, CD13,CD33 ,CD34+/-, CD2*
M4, M5	DR, CD15, CD14+/-, CD33 > CD13, CD34+/-,CD4w+
M6	DR, CD13+/-,CD33+/-, CD34, CD35 w+
M7	DR+/-, CD33+/-,CD41 ,CD43, CD61

ตารางที่ 6 Specific markers ใน ALL [11]

Subtype	common phenotype
B-Precursor ALL	DR, CD19, CD20+/-, CD24, CD10, CD34, TdT
Pre-B ALL	DR, CD19, CD20+/-, CD24, CD9, CD10, CD34-, cIgM, TdT+/-
B ALL	DR, CD19, CD20, CD24, CD22, CD10+/-, CD34-, sIgG, TdT-
T ALL	DR+/-, CD1, CD2, cCD3, CD5, CD7, dual CD4/CD8, CD10+/-, CD34+/-, CD5w+, TdT

+/- = variable, + or no sign = positive, w+ = weekly positive, * = occasionally positive, - = negative

3. **Chronic lymphoblastic leukemia (CLL)**

คือ มะเร็งที่มีการเพิ่มจำนวนของ lymphocyte ทั้งในไขกระดูก, ตับ, ม้าม, ต่อมน้ำเหลือง และในกระแสเลือด โดยส่วนใหญ่พบเป็น B cell พบได้บ่อยในกลุ่มชาวยุโรป ไม่พบในคนไทย

4. **Chronic myelocytic leukemia (CML)**

คือ ภาวะผิดปกติของเซลล์ไขกระดูกในการสร้างเม็ดเลือด ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งในกระแสเลือดและไขกระดูก โดยพบได้ตั้งแต่เซลล์ตัวอ่อนถึงเซลล์ตัวแก่

การรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาว [12]

ปัจจุบันมะเร็งเม็ดเลือดขาวถือว่าเป็นโรคมะเร็งที่มีโอกาสรักษาหายขาด ซึ่งการรักษาสามารถทำได้หลายวิธีโดยไม่ต้องอาศัยการผ่าตัด เช่น

1. การกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิต้านทานของผู้ป่วยเองทำลายเซลล์มะเร็ง (Immunotherapy)
2. รังสีรักษา (Radiotherapy)
3. การปลูกถ่ายไขกระดูก (Bone marrow transplantation)
4. การใช้ยาเคมีบำบัด (Chemotherapy)

ยาเคมีบำบัด คือยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งโดย การรักษาโดยใช้ยาเคมีบำบัดพบว่าให้ผลดีเมื่อให้ยาหลายชนิดรวมกันเป็นสูตร ยาเคมีบำบัดส่วนใหญ่มีฤทธิ์ขัดขวางการสร้างหรือการทำงานของ DNA โดยอาศัยคุณสมบัติ

- **Antimetabolites** เนื่องจากยาบางตัวมีลักษณะโมเลกุลคล้าย nucleotides จึงเข้าไปเป็นส่วนประกอบของ DNA ทำให้ เกิด DNA replication ไม่ได้ เซลล์จึงไม่สามารถแบ่งตัวได้ต่อไป

- **Alkylation ของ DNA** ยาจะทำให้เกิดการเติม methyl หรือหมู่ alkyl ในสายของ DNA จึงทำให้เส้น DNA ผิดปกติ ส่งผลให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในกระบวนการ replication ไม่สามารถทำงานได้จึงไม่เกิดการ replicate ของสาย DNA ดังกล่าวส่งผลให้การแบ่งตัวของเซลล์เกิดการหยุดชะงัก

- **Cross-linking** ยาไปขัดขวางการแยกกันของ DNA สายคู่ ทำให้ไม่เกิดการเพิ่มจำนวนของ DNA เซลล์จึงไม่เกิดการแบ่งตัวต่อไปได้อีก

- **Intercalation** ยาจะไปแทรกระหว่าง DNA สายเดี่ยวแต่ละสาย ทำให้ไม่สามารถถอดรหัสเป็น RNA และโปรตีนได้ผลที่ได้จึงทำให้ไม่เกิดการแบ่งเซลล์เกิดขึ้น

- **การทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (free-radical)** ทำให้จำนวนอิเล็กตรอนของโมเลกุลผิดปกติ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของ DNA

- **Topoisomerase inhibitors** ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ topoisomerase ซึ่งช่วยในการคลายเกลียว DNA เพื่อสร้าง DNA สายใหม่

แต่ยาบางชนิดมีการออกฤทธิ์ต่อส่วนอื่นของเซลล์ เช่น

- **การหยุดการแบ่งตัวของโครโมโซม**โดยการขัดขวางการทำงานของ microtubule

- **Receptor-mediated lympholysis** คือ ยาบางชนิดสามารถจับกับ steroid receptor ภายในเซลล์ แล้วเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิด apoptosis ได้ใน lymphoid cells

- **Asparaginase** ทำให้เซลล์มะเร็งขาดกรดอะมิโน Asparagine ทำให้เซลล์ทำงานไม่ได้และตายในที่สุด

หลักในการรักษามะเร็งโดยใช้ยาเคมีบำบัด

1. ยาที่ใช้ต้องทำลายเซลล์มะเร็งเร็วกว่าเซลล์ปกติอื่นๆของร่างกาย
2. การให้ยาขนาดสูงมีผลในการทำลายเซลล์มะเร็งมากกว่าขนาดต่ำโดยให้ยาขนาดสูงเท่าที่ร่างกายจะทนได้เพื่อทำลายเซลล์มะเร็งให้หมดและยังมีชีวิตอยู่ได้เป็นปกติ
3. การให้ยาต้องใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานพอสมควร
4. การให้ยาต้องให้หลายชนิดพร้อมกันเพื่อเพิ่มโอกาสในการทำลายเซลล์มะเร็งที่อาจมีการกลายพันธุ์ต่างกันและเป็นการลดผลข้างเคียงของยาเนื่องจากไม่ต้องใช้ขนาดยาที่สูงมากเช่นเดียวกับการใช้ยาชนิดเดียว

ผลข้างเคียงของการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด

จากคุณสมบัติของยาเคมีบำบัดส่วนใหญ่ ซึ่งทำลายเซลล์มะเร็งโดยการขัดขวางการสร้าง DNA เซลล์ปกติจำนวนมากในร่างกายก็มีความจำเป็นต้องสร้าง DNA เพื่อแบ่งตัวซ่อมแซมเซลล์ที่ตายไปเช่นกัน ดังนั้นการใช้ยาเคมีบำบัดจึงอาจส่งผลต่อเซลล์ปกติได้ดังนี้

1. ผลต่อระบบโลหิตวิทยา ทำให้เม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริตต่ำ เกิดภาวะซีดทำให้เม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะ neutrophil ต่ำ เกิดภาวะ neutropenia ผู้ป่วยติดเชื้อง่ายและมีเกล็ดเลือดต่ำลง
2. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร เกิดแผลในปากเนื่องจากเซลล์เยื่อบุช่องปากและลำไส้ถูกทำลาย
3. อาการคลื่นไส้ อาเจียน เนื่องจากมีการกระตุ้นศูนย์อาเจียนในสมอง
4. อาการผมร่วง
5. อาการอื่นๆ เช่น Vincristine ทำให้ระบบประสาทส่วนปลายทำงานผิดปกติ prednisolone ทำให้ทานอาหารมาก น้ำหนักเพิ่ม น้ำตาลในเลือดสูงจนเป็นเบาหวานได้

อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยวิธีที่กล่าวมาข้างต้นนั้นปัญหาที่พบโดยส่วนมากและเป็นปัญหาที่สำคัญนอกเหนือจากค่าใช้จ่ายที่มีราคาสูงนั้นคือ การรักษาจะมีผลกระทบต่อเซลล์ปกติซึ่งยารักษามะเร็งส่วนใหญ่พบว่ามีโครงสร้างขนาดใหญ่ ค่าการละลายไม่ดี เกิดอาการข้างเคียงมาก เช่น paclitaxel[13] โครงสร้างของยาเองไม่ละลายน้ำ เมื่อนำมาใช้รักษาผู้ป่วยต้องใช้ตัวทำละลายที่ชื่อ Cremophor EL (polyethoxylated castor oil) ซึ่งพบปัญหาตามมา คือ อาการข้างเคียง เช่น ความเป็นพิษต่อไต (nephrotoxicity) ระบบประสาท (neurotoxicity) นอกจากนี้ยามีผลต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติของร่างกาย การเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาและองค์ประกอบของเลือด เซลล์มะเร็งมีการต่อต้านยาโดยลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ และอาการข้างเคียงต่าง ๆ อาจทำให้ผู้ป่วยปฏิเสธที่จะเข้ารับการรักษาในครั้งต่อไปได้ยังให้เกิดการล้มเหลวในการรักษา ซึ่งถือได้ว่าเป็นกุญแจสำคัญที่ทำให้นักวิจัยเกิดแนวคิดในการพัฒนาการรักษาที่จะสามารถส่งผลต่อเซลล์มะเร็งโดยตรงและลดผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติเพื่อช่วยเพิ่มโอกาสในการรักษาแก่ผู้ป่วยมากขึ้น

จากความก้าวหน้าในการรักษาด้วยตัวยาทางหลอดเลือดดำได้นำไปสู่การพัฒนาอย่างต่อเนื่องของยาต้านมะเร็ง โดยประสิทธิภาพของยานั้นจะเกี่ยวข้องกับความสามารถในออกฤทธิ์อย่างจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งเป้าหมายในขณะที่ลดผลกระทบต่อเซลล์ปกติให้เหลือน้อยที่สุด จากที่กล่าวมาข้างต้นนั้นการออกฤทธิ์ของยาที่จำเพาะต่อเซลล์เป้าหมายอย่างมากที่สุดนั้นถือได้ว่าเป็นกุญแจสำคัญในการรักษาและนำไปสู่การพัฒนายาที่ทำให้เกิดความจำเพาะเจาะจงในการออกฤทธิ์มากขึ้น

จากปัญหาของยารักษามะเร็งจึงทำให้ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อหายาที่มีประสิทธิภาพและทำให้เกิดอาการข้างเคียงต่ำ ซึ่งวิถีทางการศึกษาค้นคว้าทางหนึ่งคือ การสร้างระบบการนำส่งยาเพื่อให้ยาไปยังเซลล์มะเร็งได้อย่างเหมาะสมและออกฤทธิ์เฉพาะเซลล์มะเร็งโดยไม่มีผลต่อเซลล์ปกติ ซึ่งวิธีที่กำลังศึกษาวิจัยกันอยู่มากคือ การใช้นาโนเทคโนโลยี เพื่อเตรียมนาโนพาร์ทิเคิล (nanoparticles)[14] ซึ่งเป็นระบบนำส่งยาที่มีขนาดตั้งแต่ 10-1000 นาโนเมตร ซึ่งชนิดของนาโนพาร์ทิเคิล มีความหลากหลาย เช่น ไลโปโซม (liposomes) เดนไดรเมอร์ (dendrimers) และนาโนสเฟียร์ (nanospheres) เป็นต้น โดยมีการปรับเปลี่ยนให้ในส่วนของผิวอนุภาคจับกับส่วนที่สามารถจับกับโมเลกุลเป้าหมายที่ผิวเซลล์มะเร็ง (Molecular target) ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการนำส่งยาไปยังเซลล์เป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงโดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่าง แอนติบอดี – แอนติเจน, ligand-receptor[15] โดยที่ molecular target ตัวแรกที่ถูกนำมาใช้ใน targeted cancer therapy คือ cellular receptor สำหรับ female sex hormone estrogen ที่พบใน breast cancers[16]

Molecular target

Molecular target อาจถือได้ว่าเป็นส่วนที่มีความสำคัญในการช่วยพัฒนาระบบนำส่งยาให้ถูกนำส่งไปยังเซลล์เป้าหมายอย่างจำเพาะเจาะจงมากขึ้น ซึ่ง Molecular target นั้นเป็นส่วนที่เป็นเป้าหมายของยา หรือระบบนำส่งยา จะเป็นตัวที่มีการแสดงออกอย่างเป็นเอกลักษณ์หรือมีการแสดงออกอย่างโดดเด่นมากในเซลล์มะเร็ง ซึ่งเป็นส่วนที่มีบทบาทในการจับกับยา หรือระบบนำส่งที่มีการเชื่อมจับกับโมเลกุลที่มีความจำเพาะเจาะจงในการจับกับตัว Molecular target นั้น อาทิเช่น แอนติบอดี (antibody) ที่สามารถจับกับ

แอนติเจน (antigen) บนผิวเซลล์ ลิแกนด์ ที่สามารถจับกับ ตัวรับ (receptor) ที่มีการแสดงออกบนผิวเซลล์เป็นต้น[17] Herceptin® เป็นยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เซลล์มะเร็งเต้านมนั้นมีการแสดงออกของโปรตีน HER2 บนผิวเซลล์อย่างมาก ถือได้ว่าเป็นตัวอย่างที่ดีที่ชี้ให้เห็นถึงความสำเร็จในการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะเจาะจงโดยอาศัย โปรตีน HER2 เป็นเป้าหมายที่นำยามายังเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกของโปรตีน HER2 อย่างโดดเด่น[18] สำหรับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวนั้นพบว่ามีโมเลกุลเป้าหมายหลายชนิดที่ได้มีการศึกษาสำหรับการพัฒนาระบบนำส่งยา อาทิเช่น

- Wilms' tumor gene 1 (WT1), PR1 (the protease -3 derived epitope peptide) และ RHAMM/CD168 ซึ่งได้ถูกนำมาพัฒนาในเปปไทด์วัคซีน[17]
- CD33 ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนที่สามารถพบได้บนเซลล์ไมอิลอยด์ในระหว่างที่มีการแบ่งเซลล์ แต่จะพบมากถึง 85-90 เปอร์เซนต์ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวแบบเฉียบพลันชนิด AML (Acute Myelogenous Leukemia)[19]
- CD22 ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนที่จำเพาะเจาะจงของเซลล์ลิมฟอยด์ชนิด B ซึ่งจะมีการแสดงออกอย่างสูงในภาวะที่เกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว[20]
- BCR-ABL kinase inhibitor ซึ่งได้ถูกพัฒนาเพื่อนำมาเป็นใช้เป็นโมเลกุลขนาดเล็กสำหรับการรักษาแบบจำเพาะเจาะจง กล่าวคือ [21]
    - Imatinib® ซึ่งได้ถูกนำมาใช้ในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง (Chronic lymphoblastic leukemia) แต่ฤทธิ์ในการรักษาสั้น ประมาณ 2-3 เดือน อีกทั้งยังพบรายงานการดื้อยาผู้ป่วยบางรายอีกด้วย
    - Dasatinib® ซึ่งเป็น ABL/Src kinase inhibitor ชนิดใหม่ที่ปรับปรุงมาจาก Imatinib® ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่าและสามารถใช้เป็นยารักษาสำหรับผู้ป่วยในรายที่ดื้อต่อการรักษาจาก Imatinib®

- FMS-like tyrosine kinase-3 (FLT3) ซึ่งจะพบการแสดงออกบนผิวเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวใน 70 เปอร์เซนต์ของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด AML (Acute Myelogenous Leukemia)[17]

- การยับยั้ง mTOR สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการักษาผู้ป่วยเด็กที่เป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด AML (Acute Myelogenous Leukemia) และ ALL (Acute Lymphocytic Leukemia)[19]

Nano-sized carrier systems สำหรับ drug targeting[15]

เป็นที่ทราบโดยทั่วกันว่าระบบนำส่งยาขนาดนาโนเมตรนั้นสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยาสู่เซลล์เป้าหมายได้มากขึ้น โดยการควบคุมให้ขนาดอนุภาคให้มีขนาดที่เหมาะสมกับสภาพทางกายภาพกล่าวคือหากอนุภาคมีขนาดใหญ่กว่าเส้นเลือดฝอยเมื่อนำเข้าสู่ร่างกายทางหลอดเลือดดำอาจส่งผลให้เกิดการอุดตันในระบบหมุนเวียนได้ โดยปกติแล้วขนาดอนุภาคไม่ควรเกิน 400 นาโนเมตรทั้งนี้เนื่องจากหากมีขนาดใหญ่กว่านี้จะถูกกำจัดโดย reticuloendothelial system มากกว่าที่จะเพิ่มระยะเวลาของระบบนำส่งยาในระบบหมุนเวียนโลหิตในทางตรงกันข้ามนั้นอนุภาคที่มีขนาดเล็กมากๆนั้นอาจส่งผลให้เกิดการกำจัดออกจากร่างกายโดยการกรองผ่านท่อหน่วยไตทำให้ระยะเวลาที่อยู่ในระบบหมุนเวียนน้อย เนื่องจากเป็นที่ทราบโดยทั่วกันว่าโมเลกุลที่มีน้ำหนักโมเลกุล น้อยกว่า 40000 นั้นจะถูกกำจัดออกโดยการกรองที่ไต ซึ่งพบว่าโมเลกุลที่มีน้ำหนัก 40000 นั้น เทียบเท่าได้กับอนุภาคที่มีขนาด 5 นาโนเมตร ดังนั้นขนาดอนุภาคที่เหมาะสมสำหรับระบบนำส่งยาเพื่อให้หมุนเวียนอยู่ในระบบหมุนเวียนโลหิตได้นานเพื่อนำส่งไปยังเซลล์เป้าหมายได้ในปริมาณมากนั้นควรอยู่ระหว่าง 10-200 นาโนเมตร

ชนิดของระบบนำส่งยา[15]

1. Water-soluble polymeric carriers

   เป็นสายของโพลิเมอร์ที่ถูกสังเคราะห์และโพลิเมอร์ที่พบในธรรมชาติ ซึ่งสามารถจับกับสารหรือยาไว้ที่สายของโพลีเมอร์ได้

2. Emulsion

เป็นระบบนำส่งยาชนิดที่มีลักษณะเป็นอิมัลชั่นที่ประกอบไปด้วย small droplet ที่อยู่ภายในชั้นของไขมันหรือน้ำที่ทำหน้าเป็นวัฐภาคภายนอกโดยอาศัยสารลดแรงตึงผิวที่เป็นตัวช่วยในการทำให้เกิดอนุภาค โดย small droplet นั้นสามารถกักเก็บสารไว้ภายในได้

3. Nanosphere

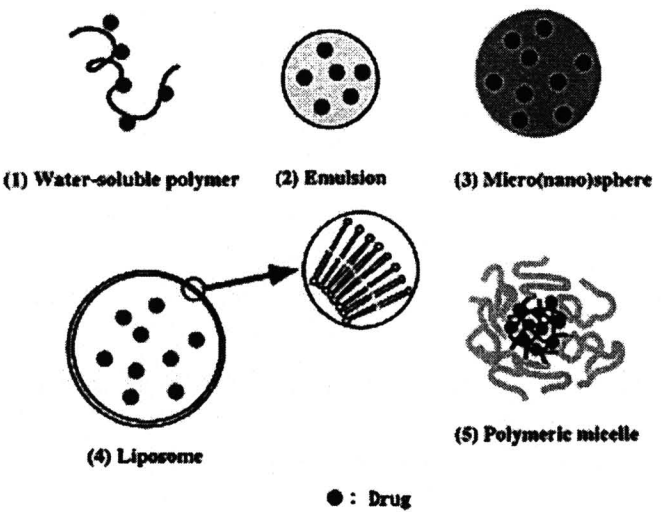
เป็นอนุภาคที่มีคุณสมบัติเป็นของแข็งที่เกิดจากโพลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติหรือที่สังเคราะห์ขึ้นมาทำให้เกิดรูปร่างเป็นลักษณะทรงกลมโดยวิธีต่างๆ ซึ่งอาศัยสารลดแรงตึงผิวมาช่วยในการเกิดอนุภาค

4. Liposome

เป็น vesicle ที่ใช้ lipid bilayer ทีมีลักษณะและคุณสมบัติคล้ายกับเยื่อหุ้มเซลล์กล่าวคือประกอบไปด้วยสองส่วนคือส่วนที่เป็น phospholipid และส่วนที่เป็นไขมันมาทำให้เกิดรูปร่างโดยอาศัยสารลดแรงตึงผิว

5. Polymeric micelle

เป็นอนุภาคที่เกิดจากการรวมตัวของสายโพลิเมอร์ซึ่งสามารถเกิดขึ้นเองได้โดยไม่ต้องอาศัยสารลดแรงตึงผิวโดยอาศัย Hydrophobic หรือ ion interaction ระหว่างโพลีเมอร์กันเองโดยที่ภายในแกนกลางจะมีลักษณะที่สามารถกักเก็บไว้ได้



รูปที่ 2. ชนิดของระบบนำส่งยา[15]

ซึ่งระบบที่สนใจจะศึกษา อยู่ในรูปแบบของนาโนสเฟียร์ ที่สามารถกระจายตัวยาอยู่ในตัวเมทริกซ์ของนาโนพาร์ทิเคิล ซึ่งข้อดีของการใช้นาโนสเฟียร์ คือ การเตรียมไม่ยุ่งยาก และอนุภาคมีขนาดที่เล็กทำให้นำส่งยาได้ดีทำให้สามารถผ่านออกจากเส้นเลือดคาปิลารี (capillaries) และเข้าสู่เซลล์จึงสามารถไปยังเซลล์เป้าหมายที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ได้

นอกจากนี้การใช้โพลีเมอร์ชนิดที่สลายตัวได้ภายในร่างกายยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาที่บริเวณเซลล์เป้าหมายได้ สำหรับโพลีเมอร์ที่ใช้สำหรับนาโนพาร์ทิเคิลมี 2 ชนิด[22] คือ ชนิดที่ไม่ถูกทำลายในร่างกาย (non-biodegradable) และชนิดที่ถูกทำลายหรือย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradable) โดยโพลี-เมอร์ชนิดหลังนี้ได้มีการทดลองพบว่าไม่เกิดอันตรายต่อร่างกายและไม่เหนี่ยวนำให้ระบบภูมิคุ้มกันต่อ- ต้านการขนส่งยา และยังสามารถนำมาใช้ในระบบขนส่งยาโดยเฉพาะ ไมโครและนาโนพาร์ทิเคิล โพลีเมอร์ ชนิดนี้ ได้แก่ poly(lactic-co-glycolic acid), (PLGA) เป็นต้น[23] และการปรับปรุงผิวของโครงสร้างของไมโครสเฟียร์ให้สามารถไปจับกับเซลล์เป้าหมายได้นั้น ได้มีรายงานถึงการเตรียมผิวของ microsphere ให้มีหมู่ carboxylic acid ที่สามารถต่อกับ ligand ต่าง ๆ ที่สามารถไปจับกับเซลล์เป้าหมายได้ ซึ่งเพิ่มความเฉพาะของ microsphere โดยที่ไม่เปลี่ยนแปลงการปลดปล่อยยาและรูปร่างของยา[24] ตัวอย่างการใช้ ligand เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยา เช่น การนำส่งนาโนพาร์ทิเคิลที่มีโฟเลต (folate) อยู่บนผิวเซลล์ เพื่อไปจับกับ

folate receptor ที่เป็น marker อยู่บนเซลล์ของมะเร็งรังไข่ มะเร็งลำไส้ และมะเร็งเต้านม หรือการใช้ antibody ต่อ integrin จับกับ นาโนพาร์ทิเคิล เพื่อต้านการสร้างหลอดเลือดใหม่ของมะเร็งที่มี การแสดงออกของ integrin เพิ่มมากขึ้น เป็นต้น[25-26]

สำหรับวิธีการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลมีหลายวิธี[22] เช่น

1. Solvent evaporation คือ ยาและโพลีเมอร์กระจายตัวอยู่ในตัวทำละลาย จากนั้นนำไปแขวนลอยใน aqueous phase ที่มี surfactants และ stabilizer อยู่อาศัยการคนและระเหยตัวทำละลายออกทำให้เกิดเป็นนาโนพาร์ทิเคิล

2. Phase separation คือ ใช้ระบบ 2 ระบบ คือ ยากระจายตัวในสารละลายที่มีโพลีเมอร์อยู่และเกิดขบวนการ polymerization และเกิดการห่อหุ้มยาจะได้นาโนพาร์ทิเคิล

3. Interfacial polymerization มีการกระจายของสาร monomer ใน liquid phase แล้วทำให้เป็น emulsion โดยเติมสาร monomer อีกชนิดหนึ่ง จนได้ขนาดอนุภาคที่ต้องการเกิดขบวนการ polymerization ที่ผิวของยา เป็นต้น

สำหรับตัวอย่างยาต้านมะเร็งที่ได้มีการศึกษาวิจัย โดยทำเป็นระบบนาโนพาร์ทิเคิล ได้แก่ paclitaxel (Taxol®)[27] เป็นการสร้างระบบนำส่งยาเพื่อลดปัญหาค่าการละลายต่ำมาก จึงจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายที่เป็นพิษและอาการข้างเคียงจากการใช้ยา โดยใช้ biodegradable polymer คือ PLGA และการวิจัยนี้กำหนดสัดส่วนของ monomer ให้ต่างกันเพื่อดูว่าสัดส่วนใดเหมาะสมต่อระบบนำส่งยานี้ มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดใหม่และตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) คือ d-α-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (vitamin E TPGS หรือ TPGS) ใช้วิธี solvent evaporation ในการสร้างนาโนพาร์ทิเคิล และตรวจสอบการนำส่งด้วยวิธีต่าง ๆ ทั้งคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ รูปร่าง ด้วยเครื่องมือ laser light scattering (LLS) scanning electron microscopy (SEM) ประสิทธิภาพการจุยา (drug encapsulation efficiency) การปลดปล่อยยา (drug release) เป็นต้น ซึ่งพบว่าขนาดยาที่ได้อยู่ในระดับนาโนเมตรการกระจายขนาดอยู่ในช่วงแคบ ประสิทธิภาพในการจุยาของนาโน

พาร์ทิเคิลคือ 100% และสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ นอกจากนี้ได้มีงานวิจัยที่ใช้ตัวทำอิมัลชันร่วม คือ montmorillonite (MMT) กับ PLGA ในการขนส่งยา paclitaxel เพื่อให้รับประทานได้ และตรวจวัดคุณสมบัติในด้านต่าง ๆ พบว่าขนาดของนาโนพาร์ทิเคิลประมาณ 310 nm มีการปลดปล่อยยาเป็นสองลักษณะ คือ เริ่มแรกปลดปล่อยอย่างรวดเร็ว และต่อมามีการปลดปล่อยแบบช้า ๆ แบบออกฤทธิ์เนิ่น (sustained release) และ MMT ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการนำเข้ายาสู่เซลล์มะเร็ง[28]

Lymphocyte Function Associated Antigen-1 (LFA-1)

โครงสร้างของ LFA-1[29-30]

LFA-1 หรือ CD11a/18 เป็นสมาชิกในกลุ่มของ leukocyte adhesion molecules ประกอบไปด้วย LFA-1 (CD11a/18) , Mac-1 (CD11b/18) และ LeuM5 (CD11c/18) ซึ่งจัดอยู่ใน $ß_2$ integrin family เป็น heterodimeric glycoprotein ซึ่งโดยปกติแล้วจะพบ LFA-1 บนผิวเซลล์ leukocyte ทุกชนิด โดยจะพบในช่วงที่เป็น early progenitors ของ erythroid burst forming unit, erythroid colony forming unit, granulocyte macrophage colony forming unit และ monocyte clolony forming unit โดยที่ในช่วงที่ monocyte เปลี่ยนแปลงไปเป็น macrophage นั้นพบว่าระดับการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์ลดลง และจะกลับมามีระดับการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นเมื่อมี interferon treatment

LFA-1 นั้นประกอบไปด้วยหน่วยย่อยสองหน่วยคือ α_Lและ $ß_2$ subunit ซึ่ง แต่ละ subunit นั้นมีมวลโมเลกุล 180 และ 95 kDa ตามลำดับ ซึ่ง divalent cation อาทิเช่น Ca^{2+} , Mg^{2+} นั้นจะมีบทบาทสำคัญในขั้นตอนการ stabilization และการเกิด complex ระหว่างสอง subunit ดังกล่าว โดยในส่วนของ α_L นั้นจะมีส่วนของ I- domain ที่เป็นส่วนที่สำคัญต่อการจับกับ Ligand (ICAM-1) โดยที่โครงสร้างของ I-domainนั้นจะมีส่วนที่เป็น ß-sheet อยู่ตรงกลางและมี α-helices ล้อมรอบ และในส่วนของ $ß_2$ subunit (Mw=95 kDa) นั้นเป็นส่วนที่จำเป็นสำหรับการทำงานของ LFA-1 โดยที่ $ß_2$ subunit นั้นประกอบไปด้วย ßI-like domain ซึ่งเป็นส่วนที่มีลักษณะคล้ายกับ I-domain ของ α_L subunit

Biosynthesis

ทั้ง α และ ß subunit นั้นจะถูกสังเคราะห์ขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยที่อาศัยตัวตั้งต้นที่ไม่เกี่ยวข้องกัน หลังจากที่มีการรวมกันนั้น subunit ของทั้ง α และ ß จะมีมวลโมเลกุลเพิ่มขึ้นจากการเกิด conversion ของ N-linked carbohydrate กับ complex ดังกล่าว การรวมตัวกันของตัวตั้งต้นของ α และ ß นั้นเป็นส่วนสำคัญกับกระบวนการแสดงออกของ heterodimer บนผิวเซลล์ สำหรับ CD18 นั้น โดยส่วนมากจะพบตัวตั้งต้นของ CD18 ถูกสังเคราะห์ใน lymphocyte และ monocyte มากกว่าของ CD11 ทั้ง 3 ชนิด โดยพบว่าชนิดของ α subunit นั้นมีผลต่อรูปแบบการเกิด glycosylation ใน CD18 ซึ่งใน Thymocyte นั้นพบว่ารูปแบบของ CD11a/18(LFA-1) เป็นแบบ sulfate

Intracellular storage site

สำหรับCD11b/CD18 และ CD11c/CD18 จะพบการเก็บสะสมในเซลล์ granulocyte และ monocyte ในระบบหมุนเวียน ในทางกลับกันนั้นจะไม่ค่อยพบการเก็บสะสมของ CD11a/18 (LFA-1) ในเซลล์เท่าไหร่นัก

LFA-1 มีบทบาทสำคัญในหลายๆกระบวนการ รวมทั้ง การจับกันระหว่างเซลล์เม็ดเลือดขาวกับ antigen presenting cell หรือเซลล์บุหลอดเลือดรวมทั้งกระบวนการการเกิด cytotoxic killing และการเคลื่อนย้ายของ endothelium ผ่าน lymph node ทั้งในสภาวะที่ปกติและในสภาวะที่เกิดการอักเสบ ยิ่งไปกว่านั้น LFA-1 ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิด immunological synapse ซึ่งเป็นการจับกันระหว่าง T cell และ Antigen Presenting Cell (APC) ในกระบวนการการตอบสนองภูมิคุ้มกัน

ICAM-1[30]

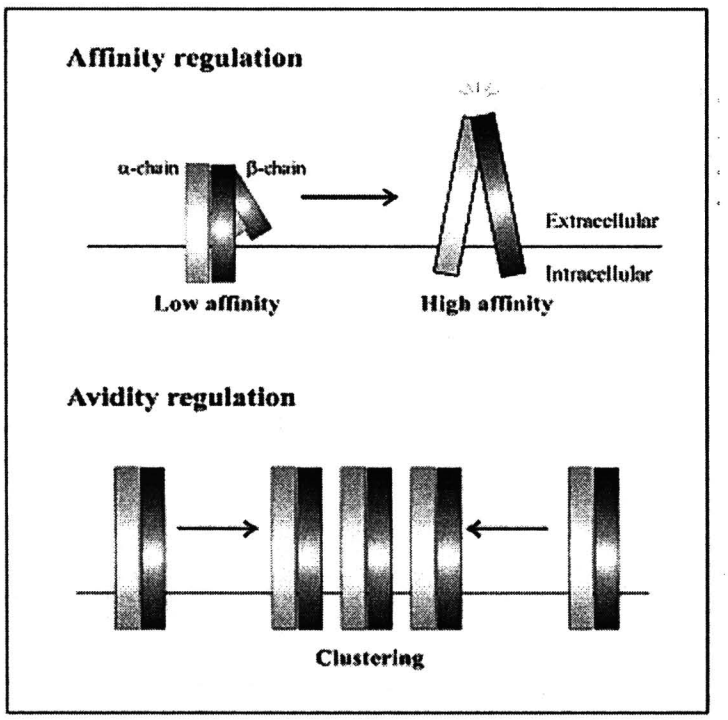
ICAM (Intercellular Adhesion Molecule) นั้นเป็นส่วนหนึ่งของ immunoglobulin superfamily (Ig-SF), ซึ่งประกอบไปด้วย 2-9 tandem ของ Ig domains โดย Ig domains เหล่านี้ จะฟอร์มส่วนที่ยื่นออกมานอกเซลล์ อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีความเหมือนกันในโครงสร้างหลักและความสามารถในการจับของ ICAM แต่รูปแบบในการแสดงออก การทำงานและการส่งสัญญาณของแต่ละตัวนั้นแตกต่างกันออกไป

ICAM-1 นั้นเป็นโมเลกุลในกลุ่มของ ICAM ที่มีการกระจายตัวในเซลล์ทั่วไป โดยจะมีระดับการแสดงออกที่ต่ำ ในทั้ง haematopoietic และ non-haematopoietic cells ซึ่งรวมถึง leukocytes and endothelial cells ซึ่งระดับการแสดงออกนั้นจะสามารถเพิ่มขึ้นได้เมื่อมี inflammatory mediators อาทิเช่น interleukin-1, tumour necrosis factor α และ interferon ICAM-1 นั้นประกอบด้วย Ig domains จำนวน 5 domain และเนื่องจากการทำมุม 90° ระหว่าง domains ที่ 3 และ4 นั้นทำให้ ICAM-1 มีลักษณะเป็น L-shaped โดย ICAM-1 อาจมีการจัดเรียงตัวกลายเป็น non-covalent homodimers บนผิวเซลล์ การเชื่อมโยงที่อาศัย Ig domain 4 interaction ซึ่งสามารถจับกับ domains 1 ทำให้เกิดเป็น W-shaped tetramers ICAM-1 นั้นมีบทบาทสำคัญในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและการอักเสบ การพัฒนาระบบประสาทและการพัฒนาของตัว ยิ่งไปกว่านั้น ICAM-1 ยังสามารถทำตัวเป็น co-stimulatory ligand ที่จับกับ LFA-1 เนื่องจากการกระตุ้น T cells และยังสามารถเป็นตัวเริ่มต้นในการส่งสัญญาณในเซลล์ใน pathways ต่างๆ

กลไกการจับกันระหว่าง LFA-1 กับ ICAM-1 [31]

กลไกการจับกันระหว่าง LFA-1และ ICAM-1 นั้นได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ถึงแม้ว่าในส่วนที่เป็น extracellular domain ของ LFA-1 จะใหญ่และมีโครงสร้างที่ค่อนข้างซับซ้อนแต่ในส่วนที่เป็น binding site นั้นจะพบได้เพียงใน I domain ของ αL[32] โดย crystal structures ของรูปทรงของ I-domain ที่แตกต่างกันถึงสองรูปทั้งแบบ เปิด และ แบบปิด นั้น จะพบในส่วนของ αM และ α2 I-domains ซึ่งเรียกว่า รูปแบบที่มีความชอบในการจับสูงและรูปแบบที่มีความชอบในการจับต่ำตามลำดับ ซึ่งส่วนที่แตกต่างในระหว่างสอง

รูปแบบนี้ คือส่วนของ side chains ที่มีการจับกับ Mg^{2+} ion ใน Metal Ion Dependent Adhesion Site (MIDAS) ทำให้ Mg^{2+} ion มีความเป็น electrophilic มากขึ้น สำหรับ acidic residue ใน ligand ซึ่งประจุโลหะดังกล่าวนี้เป็นศูนย์กลางของ binding site และเป็นตัวจับโดยตรงกับ Glu residue ใน ICAM-1 เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่าง closed conformation กับ open conformation นั้นพบว่า มีการเคลื่อนตัวของ C-terminal α-helix (α7)]ใน I domain ลงมา 10 Å และมีการจัดการเรียงตัวใหม่กลายเป็น loop กับ α7-helix เพื่อทำให้เกิดสายกับ ß subunit



รูปที่ 3 (บน) แสดง conformation ของ LFA-1 โดยรูปทางซ้ายแสดงรูปแบบที่เป็น low affinity รูปทางขวาแสดง high affinity (ล่าง) แสดงการ clustering ของ intregrin บนผิวเซลล์[31]

กระบวนการการกระตุ้นของ LFA-1 receptor นั้นสามารถแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการ กล่าวคือ

1. Outside-in signal

Outside-in signal นั้นเป็นการกระตุ้นโดยการที่ LFA-1 จับกับ ICAM-1 ที่อยู่ภายนอกเซลล์ ยังผลให้เกิด signaling cascade ขึ้นภายในเซลล์ signaling cascade นี้จะรวมถึงการกระตุ้น

tyrosine kinase associated protein-70 ที่เป็นตัวเริ่มต้นในการกระตุ้นโมเลกุล LFA-1 อื่นๆ เพื่อที่จะรวมตัวเป็น cluster

2. Inside–out signal

ในส่วนของ inside–out นั้นเกิดจากการกระตุ้นด้วยโมเลกุลบนผิวเซลล์ชนิดอื่นซึ่งจะเหนี่ยวนำให้ secondary messenger กระตุ้น activation state ของ LFA-1

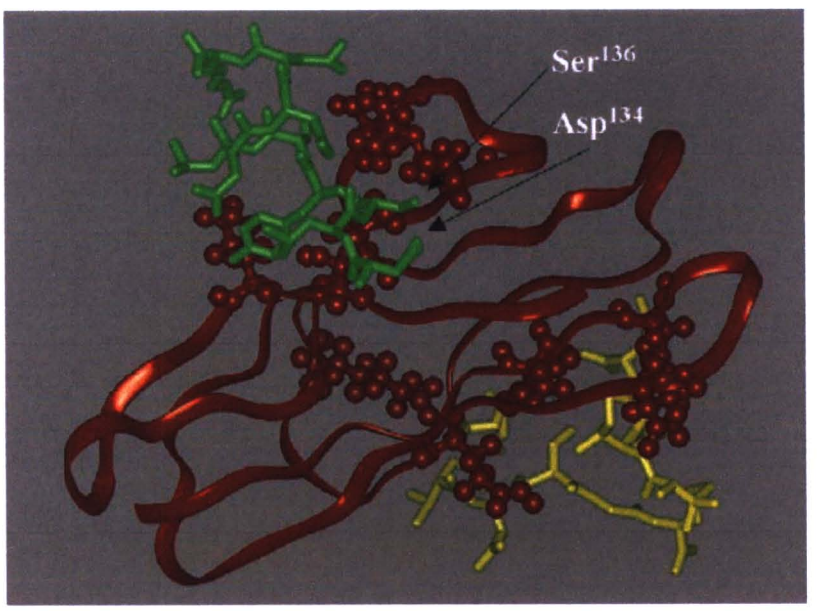
ตามที่ได้กล่าวมาแล้วนั้นบทบาทและหน้าที่ของ LFA-1 เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและการอักเสบ ดังนั้นโรคที่เกี่ยวข้องกับ LFA-1 จะเป็นในส่วนของโรคทางภูมิคุ้มกัน อาทิเช่น โรคแพ้ภูมิคุ้มกันตัวเอง การที่ร่างกายปฏิเสธการปลูกถ่ายอวัยวะ โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ซึ่งโดยส่วนมากแล้วนั้นจะเกี่ยวข้องกับการแสดงออกอย่างมากหรือลดลงของ LFA-1 บนผิวเซลล์ มีโมเลกุลหลายชนิดที่ได้ถูกนำมาใช้ในการพัฒนาเพื่อทำการบล็อก หรือยับยั้งการจับกันระหว่าง LFA-1 และ ICAM-1 อาทิเช่น เปปไทด์ โมเลกุลขนาดเล็ก และแอนติบอดี ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการพัฒนาแล้วออกสู่ตลาดเพื่อใช้จริง อาทิเช่น Efalizumab (Raptiva®) ซึ่งเป็น anti human LFA-1 antibody ที่เคยถูกนำมาใช้เป็นสารกดภูมิคุ้มกันในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน แต่อย่างไรก็ตาม Raptiva® ได้ถูกถอดออกจากตลาดในช่วงกลางปี 2009 เนื่องมาจากมีผลต่อการเพิ่มความเสี่ยงในการเกิด Leukoencephalopathy (PML) ซึ่งอาจทำให้ถึงแก่ความตายได้[33] มีรายงานว่าการรักษาแบบใช้แอนติบอดี้ LFA-1 หรือใช้แบบการรักษาผสมกับ แอนติบอดี ICAM-1 มีประสิทธิภาพในการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของสัตว์ทดลองหลังจากได้รับการเปลี่ยนถ่าย islet หัวใจ ลำไส้เล็ก และเส้นประสาท การรักษาด้วยแอนติบอดี LFA-1 นั้นได้แสดงถึงการป้องกันการเกิด autoimmune encephalomyelitis และโรคเบาหวานที่เกิดจากภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลอง และยังมีข้อดีในการรักษาข้ออักเสบในสัตว์ทดลองด้วย[34-35]

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

cIBR[36-38]

เปปไทด์แบบวง (cIBL, cIBR, cIBC, CH4 และCH7) เป็นเปปไทด์ที่สังเคราะห์จากส่วนของโดเมน 1 (Domain1) ในตำแหน่งที่ 1-21 ของโปรตีน ICAM-1 ที่เป็นส่วนใช้จับกับ LFA-1 ได้ถูกนำมาใช้ในการบล็อกปฏิกิริยาของ LFA-1/ICAM-1 บน T-cells และ เซลล์เยื่อบุหลอดเลือด

cIBR เป็นเปปไทด์ที่แสดงผลการยับยั้งปฏิกิริยาระหว่าง LFA-1/ICAM-1 ได้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเปปไทด์ cIBL และ cIBC ที่ถูกสังเคราะห์มาเช่นเดียวกับเปปไทด์ cIBR โดยลำดับอะมิโนของเปปไทด์ cIBR คือ cyclo(1,12)PenPRGGSVLVTGC ซึ่งได้ถูกนำมาใช้เป็นโมเลกุลที่เป็นตัวนำส่งระบบนำส่งยา



รูปที่ 4 แสดงการจับของสองเปปไทด์ของ LFA-1 คือ cLABL และ LBE ซึ่งจับกับ ICAM-1 อย่างจำเพาะเจาะจง[21]

LFA-1 Targeted Nanoparticles

จากที่กล่าวมาข้างต้นนั้นระบบนำส่งยาเป้าหมาย (Targeted drug delivery) เป็นอีกระบบนำส่งยาหนึ่งที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและลดความเป็นพิษที่เกิดจากผลข้างเคียงของยาต้านมะเร็งโดยการเพิ่มการสะสมที่อวัยวะ เนื้อเยื่อ หรือ เซลล์เป้าหมายมากกว่าในเซลล์ปกติ การเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของระบบนำส่งยาเพื่อไปยังเป้าหมายนั้น ระบบนำส่งยาจะถูกนำมาจับกับตัวจับ (ligand) ที่มีความจำเพาะเจาะจงในการ

จับกับตัวรับ (receptor) ที่พบบนอวัยวะ เนื้อเยื่อ หรือเซลล์ที่ต้องการผลในการนำส่งยาที่จำเพาะเจาะจง ซึ่งจะมีการแสดงออกที่แตกต่างไปจากสภาวะปกติ

มีโมเลกุลหลายชนิดทั้ง แอนติบอดี เปปไทด์และโมเลกุลขนาดเล็กได้ถูกนำมาพัฒนาเพื่อใช้ในการยับยั้งการจับกันระหว่าง LFA-1 และ ICAM-1 ในส่วนของยานั้น Efalizumab (Raptiva®) ซึ่งเป็นแอนติบอดีของ LFA-1ได้เคยถูกระบุให้ใช้เป็นสารที่ใช้กดภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน แต่ได้ถูกถอนออกไปจากตลาดเนื่องจากการใช้ยาดังกล่าวจะไปเพิ่มความเสี่ยงต่อระบบสมองส่วนกลางซึ่งอาจทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้[39]

เปปไทด์ชนิดเป็นวง (cyclic peptide) ที่สังเคราะห์จากส่วนที่ใช้จับกับ LFA-1 ของ ICAM-1 ได้ถูกนำมาศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งการจับของ LFA-1 กับ ICAM-1[40] ซึ่งพบว่าเปปไทด์ดังกล่าวสามารถยับยั้งการจับกันระหว่าง LFA-1 กับ ICAM-1 ในงานวิจัยร่วมกันกับมหาวิทยาลัยแคนซัสมีการศึกษาการพัฒนาระบบนำส่งยาโดยอาศัย LFA-1 เป็นโมเลกุลเป้าหมายในการนำส่งระบบนำส่งยาโดยใช้ เปปไทด์ชนิดเป็นวงดังกล่าวมาคอนจูเกตกับนาโนพาร์ทิเคิลเพื่อเป็นระบบนำส่งยาที่จำเพาะเจาะจงกับ Lymphoblastic T cell ที่มีการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์ พบว่าระบบนำส่งยาที่มีการคอนจูเกตกับเปปไทด์ดังกล่าวนั้นสามารถจับและถูกนำเข้าโดยเซลล์ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับระบบนำส่งยาที่ไม่มีการคอนจูเกต[7]

สำหรับงานวิจัยนี้ได้มุ่งศึกษาเซลล์มะเร็งเป้าหมาย ที่เป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆซึ่งเป็นเซลล์ตัวแทนของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่างๆ ซึ่งโดยปกติแล้วเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมหรือเกิดความผิดปกติ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส เข้าสู่ร่างกาย leukocyte จะทำหน้าที่ปกป้องร่างกายโดยการเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่ติดเชื้อและเข้าสู่ขบวนการซ่อมแซมโดยที่ leukocyte จะเข้าไปเกาะติดกับ endothelium ซึ่งขบวนการที่ leukocyte สามารถเกาะติดกับ endothelium ได้เนื่องจากที่ endothelium มีบริเวณที่จับคือ intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) หรือ vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) และ leukocyte มีส่วนของ selectin immunoglobulin (IgG) และ integrins ซึ่ง integrin ของ leukocyte ที่แสดงการจับกับ ICAM-1

คือ leukocyte function-associated antigen-1 (LFA-1, CD11a/CD18) และที่ปรึกษาของคณะผู้วิจัย Prof. Siahaan, T.J. จาก Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, The University of Kansas ได้ทำการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาจับกันระหว่าง LFA-1 ที่แสดงออกบนผิวของ leukocytes และ ICAM-1 derived peptides ว่าความจำเพาะเจาะจงนั้นจะขึ้นอยู่กับ sequence ของ peptide ที่นำมาศึกษา และ peptide ดังกล่าวนั้นสามารถจับกับ receptor ที่อยู่บนผิวของ T cells และถูกนำเข้าสู่เซลล์ (internalize) ในที่สุด[19,20] ทำให้มีความคิดที่จะนำ ICAM-1 derived peptides ซึ่งจะได้รับการสนับสนุนจาก Prof. Siahaan มาใช้ในการศึกษาระบบนำส่งยาโดยระบุเป้าหมายให้เป็นตัวรับที่อยู่บนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว หรือเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกมากของ LFA-1 ได้ โดยการศึกษาครั้งนี้จะเน้นที่การสร้างระบบนำส่งยามากกว่าจะเน้นที่ตัวยาต้านมะเร็ง ซึ่งคณะผู้วิจัยหวังว่าจะสามารถนำส่งยาต้านมะเร็งที่มีจำหน่ายอยู่แล้วในท้องตลาด ให้มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น โดยมีฤทธิ์ข้างเคียงที่ต่ำลง ซึ่งเป็นจุดมุ่งหมายที่สำคัญต่อการพัฒนายารักษาโรคมะเร็ง