ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
242359

รายงานฉบับสมบูรณ์

การประเมินนาโนพาร์ทิเคิลชนิดคอนจูเกตกับเปปไทด์ที่ออกแบบสำหรับนำส่งยาจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

Evaluation of Peptide-conjugated Nanoparticles Designed for Targeting to Leukemic Cells

โดย

ผศ. ดร. ชฎารัตน์ อัมพะเศวต
รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ
ผศ. ดร. ทรงยศ อนุชปรีดา

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2551

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
242359

รายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การประเมินนาโนพาร์ทิเคิลชนิดคอนจูเกตกับเปปไทด์ที่ออกแบบสำหรับนำส่งยาจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

Evaluation of Peptide-conjugated Nanoparticles Designed for Targeting to Leukemic Cells

โดย

ผศ. ดร. ชฎารัตน์ อัมพะเศวต
รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ
ผศ. ดร. ทรงยศ อนุชปรีดา

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2551

การประเมินนาโนพาร์ทิเคิลชนิดคอนจูเกตกับเปปไทด์ที่ออกแบบสำหรับนำส่งยาจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

Evaluation of Peptide-conjugated Nanoparticles Designed for Targeting to Leukemic Cells

โดย

ผศ. ดร. ชฎารัตน์ อัมพะเศวต
รศ. ดร. ศิริพร โอโกโนกิ
ผศ. ดร. ทรงยศ อนุชปรีดา

ที่ปรึกษาโครงการ

Associate Professor Cory J. Berkland
Professor Teruna J. Siahaan
Department of Pharmaceutical Chemistry, School of PharmacyThe University of Kansas

ชื่อหัวหน้าโครงการ (ไทย)	ผศ.ดร. ชฎารัตน์ อัมพะเศวต
(อังกฤษ)	Assist. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate
ตำแหน่งทางวิชาการ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8
หน่วยงานต้นสังกัด	ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
สถานที่ติดต่อ	ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์	0-5394-4342-3
โทรสาร	0-5322-2741
อีเมล์	chadarat@pharmacy.cmu.ac.th, aimchadarat@windowslive.com

ผู้ช่วยโครงการคนที่ 1 (ไทย)	ผศ.ดร.ทรงยศ อนุชปรีดา
(อังกฤษ)	Assist. Prof. Dr. Songyot Anuchapreeda
ตำแหน่งทางวิชาการ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์
หน่วยงานต้นสังกัด	ภาควิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
สถานที่ติดต่อ	ภาควิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์	0-5394-9237
โทรสาร	0-5394-5066
อีเมล์	songyot@chiang,.ac.th และ sanuchapreeda@yahoo.com

ผู้ช่วยโครงการคนที่ 2 (ไทย)	รศ.ดร. ศิริพร โอโกโนกิ
(อังกฤษ)	Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi
ตำแหน่งทางวิชาการ	รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
หน่วยงานต้นสังกัด	ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
สถานที่ติดต่อ	ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์	0-5394-4342-3
โทรสาร	0-5322-2741
อีเมล์	sirioko@pharmacy.cmu.ac.th และ sirioko@chiangmai.ac.th

คำนำ

แนวโน้มในการพัฒนายาสำหรับการรักษามะเร็งในปัจจุบันนั้นจะมุ่งเน้นไปทางการเพิ่มประสิทธิภาพของยาในขณะที่ลดผลข้างเคียงที่เกิดจากการรักษาให้เหลือน้อยที่สุดโดยเฉพาะผลจากผลกระทบต่อเซลล์ปกติ กลวิธีหนึ่งในการรักษาที่อาจช่วยลดผลกระทบต่อเซลล์ปกติดังกล่าวคือ การรักษาอย่างจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งเป้าหมายซึ่งการรักษาโดยใช้เคมีบำบัดในอดีตนั้นไม่สามารถนำส่งยาอย่างจำเพาะเจาะจงได้จึงมีการค้นคว้าวิจัยโดยอาศัยโมเลกุลบนผิวเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกมากกว่าเซลล์ปกติเป็นเป้าหมายที่จะนำส่งยาอย่างจำเพาะเจาะจง ในมะเร็งเม็ดเลือดขาวซึ่งเป็นโรคมะเร็งที่มีอุบัติการณ์การเกิดมากที่สุดในบรรดามะเร็งที่เกิดกับเด็กมีการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์อยู่หลายชนิดและLymphocyte Function Associated Antigen-1 (LFA-1) ซึ่งเป็นโปรตีนหนึ่งที่มีการแสดงออกบนผิวเซลล์เม็ดเลือดได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์เพื่อนำส่งยาอย่างจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในการวิจัยในครั้งนี้ จากผลการศึกษาในการวิจัยก่อนหน้านี้ (สนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน 2550) คณะผู้วิจัยได้นำเปปไทด์ cIBR ที่สังเคราะห์มาจากส่วนที่ใช้จับกับ LFA-1 ใน Intracellular Cell Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) ซึ่งเป็น ลิแกนด์ที่จับอย่างจำเพาะเจาะจงกับ LFA-1 นั้นไปติดกับอนุภาคนาโน และจากการทดลองในครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้นำเสนอวิธีการและแนวทางที่ได้พัฒนาให้ดีขึ้น ในการสร้างระบบนำส่งยาที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและประเมินปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการนำส่งระบบนำส่งยาสู่เซลล์มะเร็งเป้าหมาย

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการทดลองนี้อาจสามารถช่วยชี้นำไปสู่แนวทางการพัฒนาระบบนำส่งชนิดใหม่ที่อาจก่อให้เกิดประโยชน์ต่อวงการแพทย์และการสาธารณสุขในอนาคต

หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้วิจัยต้องกราบขออภัยและขอน้อมรับคำแนะนำ

คณะผู้วิจัย

มกราคม 2554

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยต้องขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ คณะกรรมการผู้พิจารณาอนุมัติโครงการ ผู้ทรงคุณวุฒิที่สละเวลาในการประเมินและให้คำแนะนำแก่งานวิจัยศูนย์บริหารงานวิจัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เป็นผู้พิจารณาให้ทุนและตรวจสอบการทำวิจัยในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยต้องขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเฉพาะฝ่ายวิจัยและบัณฑิตศึกษาและแขนงวิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัยทั้งด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ เวลา สถานที่ รวมทั้งผศ.ดร.สาวิตรี เจียมพานิชยกุล, ดร. ณัฐจีรา อินต๊ะใส และ อ. สิงห์คำ ธิมาจาก ที่สละเวลาให้คำปรึกษาและให้คำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการวิจัยในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณ Professor Teruna J. Siahaan และ Associate Professor Cory J Berkland ที่ปรึกษาโครงการและเป็นผู้ให้การสนับสนุนในการวิจัยทั้งการอนุเคราะห์สารเคมีที่จำเป็นและการถกแถลงในการทำการทดลอง และผู้มีส่วนสำคัญในการดำเนินการทดลองคือผู้ช่วยวิจัย นักศึกษาปริญญาเอก รังษินี พงษ์ประดิษฐ นักศึกษาปริญญาเอก ชุดา จิตตสุโภ ที่ได้ทุ่มเทแรงกายแรงใจในการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณหัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรมและเจ้าหน้าที่ของภาควิชาทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือให้การทำวิจัยครั้งนี้ลุล่วงไปด้วยดี

บทคัดย่อ

242359

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือการพัฒนาและประเมินระบบนำส่งยาชนิดนาโนพาร์ทิเคิลที่คอนจูเกตกับเปปไทด์ cIBR เพื่อนำส่งอย่างจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยศึกษาถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการนำส่งยา เช่น การมีเซรั่ม อุณหภูมิ ระยะเวลาการบ่มกับเซลล์ และผลของความเข้มข้นของอนุภาค ที่มีต่อความสามารถในการนำเข้าของระบบนำส่งยา มีการศึกษาการเข้าและออกของระบบนำส่งยาจากไลโซโซม รวมทั้งศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของโปรตีน Lymphocyte Function Associated Antigen-1 (LFA-1) บนผิวเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงสี่ชนิด (HL-60, Molt-4, Molt-3 และ U937) กับปริมาณการนำระบบนำส่งยาเข้าสู่เซลล์ ในการศึกษานี้ได้ทำการเตรียม poly(D,L-lactide-co-glycolide), PLGA นาโนพาร์ทิเคิล โดยวิธี solvent displacement และนำมาคอนจูเกตกับเปปไทด์ cIBR ที่สังเคราะห์เลียนแบบส่วนที่ใช้จับกับ LFA-1 ใน intracellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) ซึ่งเป็นโปรตีนที่จับอย่างจำเพาะเจาะจงกับ LFA-1 ขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีหมู่ฟังก์ชั่นเพื่อจับกับโมเลกุลเป้าหมาย (untargeted nanoparticles) และ cIBR คอนจูเกตนาโนพาร์ทิเคิล (cIBR conjugated nanoparticles) มีขนาด 178.9 ± 3.0 และ 219.2 ± 10.1 นาโนเมตร และมีค่า zeta potential -28.5 ± 2.17 และ -31.3 ± 1.37 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ เมื่อทำการพิสูจน์ความจำเพาะเจาะจงในการจับของ cIBR ต่อ LFA-1 ทั้งทางตรงและทางอ้อม พบว่า cIBR คอนจูเกตนาโนพาร์ทิเคิล นั้นมีความจำเพาะเจาะจงในการจับกับ LFA-1 อย่างมาก ในการศึกษาผลของเซรั่มต่อความสามารถในการนำระบบนำส่งยาเข้าสู่เซลล์นั้นพบว่าเซรั่มนั้นมีผลขัดขวางการนำระบบนำส่งยาเข้าเซลล์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของระบบนำส่งยาเพิ่มขึ้น และระยะเวลาในการบ่มกับเซลล์มากขึ้น ก็ทำให้การเข้าสู่เซลล์มากตามไปด้วย ส่วนการศึกษาผลของอุณหภูมิ (4°C และ 37°C) ต่อการนำเข้าของระบบนำส่งยาในเซลล์มะเร็งนั้นพบว่า ที่อุณหภูมิ 37°C เซลล์นำระบบนำส่งยาเข้าสู่เซลล์มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เป็นการยืนยันถึงเซลล์มีการนำอนุภาคนาโนเข้าแบบเอนโดไซโทซีสที่ผ่านการจับกับรีเซพเตอร์ ยิ่งไปกว่านั้นยังพบปรากฏการณ์ การหนีออกจากไลโซโซม ของ cIBR คอนจูเกตนาโนพาร์ทิเคิล ซึ่งช่วยลดการสูญเสียของอนุภาคจากการทำลายโดยเอนไซม์ในไล

242359

โซโซมอีกด้วย ในการศึกษาปริมาณการนำเข้าของระบบนำส่งยาทั้งสองชนิดโดยเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสี่ชนิด พบว่า cIBR-คอนจูเกตนาโนพาร์ทิเคิลถูกนำเข้าสู่เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้มากกว่านาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีเป้าหมายอย่างมีนัยสำคัญ และ จากการศึกษาระดับการแสดงออกของโปรตีน LFA-1 บนผิวเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวพบว่าเซลล์ Molt-3 มีการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับระดับการแสดงออกบนผิวเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับระดับการนำเข้าของระบบนำส่งยาสูงสุดโดยเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว Molt-3 ยิ่งไปกว่านั้นระบบนำส่งยาที่สังเคราะห์ขึ้นมานั้นยังได้ถูกทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง และพบว่าไม่ทำอันตรายต่อเซลล์ จากผลการศึกษาตามที่กล่าวมานั้นพบว่าระบบนำส่งยา cIBR คอนจูเกตนาโนพาร์ทิเคิลมีประสิทธิภาพและความจำเพาะเจาะจงในการจับและนำเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้ดีกว่าการนำส่งในอนุภาคแบบไม่มีเป้าหมายและยังมีข้อดีที่สามารถหลบหลีกจากการโดนทำลายด้วยเอนไซม์ในไลโซโซม ดังนั้นในการพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดนี้ สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาระบบนำส่งยาต้านมะเร็งไปสู่มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีโปรตีน LFA-1 ปรากฏอยู่บนผิวเซลล์ได้อย่างจำเพาะเจาะจงต่อไป

Abstract

242359

The aims of this study were to develop and evaluate a cIBR-conjugated nanoparticle drug delivery system for specific targeting to leukemic cells. Various factors affecting to the delivery such as serum in culture media, temperature, incubation time and nanoparticle concentration were investigated on the delivery system cell-internalization. Lysosome trafflicking of the delivery system was studied. In addition, the relationship between degree of Lymphocyte Function Associated Antigen-1 (LFA-1) expression on four leukemia cell lines surface (HL-60, Molt-4, Molt-3 และ U937) and degree of specific-cell binding and internalization were also investigated. In this study, poly(D, L-lactide-co-glycolide), PLGA nanoparticles were prepared by solvent displacement method. The nanoparticles were then conjugated with the cIBR peptide which is the synthesized peptide sequence in the Intracellular Cell Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) for specific binding to LFA-1. The mean diameters and surface charges of untargeted nanoparticles and cIBR conjugated nanoparticles were 178.9 ± 3.0 and 219.2 ± 10.1 nm and -28.5 ± 2.17 and -31.3 ± 1.37 milliVolt, respectively. The specificity of the cIBR-conjugated nanoparticles to LFA-1 on leukemic cell lines was both directly and indirectly proven. When serum was added in the medium, inhibition of cell binding and uptake was observed. Increase of the nanoparticle concentration and incubation time led to significantly increase in the internalization into the leukemic cells. From the study of temperature effect (4°C และ 37°C), uptake of cIBR-NPs into all four cell lines was significantly higher at 37°C, indicating an energy-dependent receptor binding endocytosis mechanism for nanoparticles internalization. Further finding on lysosome trafflicking, cIBR-conjugated nanoparticles escaped from the lysosome faster than the untargeted nanoparticles. Among four cell lines, Molt-3 cells expressed significantly higher LFA-1 expression. The highest level of LFA-1 expression level of Molt-3 corresponded to the highest level of cIBR conjugated nanoparticles binding and internalization

242359

in this cell line. In addition, cytotoxicity of the nanoparticles was performed on all tested cells. The results showed good cell survival. In summary, the developed polymeric cIBR-conjugated nanoparticles were efficiently and specifically targeted to cancer cells compared to the untargeted nanoparticles. Additional benefit upon lysosome escape could protect the degradation of the particles and/or entrapped drug from endosomal enzymes. Consequently, the investigation of this drug delivery device can be guidance for the development of specific drug delivery system directed to leukemic cells with LFA-1 overexpressed on cell surface in the future.

คำสำคัญ (Keywords) ของโครงการวิจัย นาโนพาร์ทิเคิล (nanoparticle), cIBRคอนจูเกต (cIBR-conjugate), มะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia), LFA-1 (Lymphocyte Function Associated Antigen-1), การนำส่งยาสู่อวัยวะเป้าหมาย (targeted drug delivery)

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทที่ 1 บทนำและที่มาของปัญหา	16
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	23
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	50
บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัยและวิจารณ์ผลการทดลอง	64
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาวิจัย	94
บรรณานุกรม	103
ภาคผนวก	107

สารบัญรูป

เรื่อง	หน้า
รูปที่1 แสดงอัตราการตายของประชากรไทยในปี 2548-2550	16
รูปที่ 2. ชนิดของระบบนำส่งยา	40
รูปที่3 แสดง conformation ของ LFA-1 บนผิวเซลล์	45
รูปที่4 แสดงการจับของสองเปปไทด์ของ LFA-1 คือ cLABL และ LBE	47
รูปที่ 5 (A) การติดตามปริมาณเปปไทด์ cIBR ใน supernatant ภายหลังปฏิกิริยาการคอนจูเกตกับนาโนพาร์ทิเคิล	66
รูปที่ 5 (B) ผลของ EDC ต่อปฏิกิริยาการคอนจูเกต	66
รูปที่ 6 ผลของ PMA ต่อการเกาะติดระหว่างเซลล์ชนิดเดียวกันของ Molt-3 cells	67
รูปที่ 7 การกระตุ้น LFA-1 โดย PMA ไม่แสดง LFA-1 บน Molt-3 cells แต่เปลี่ยนโครงสร้างของ LFA-1	68
รูปที่ 8 ความจำเพาะเจาะจงของ anti-LFA-1-FITC ต่อ LFA-1	68
รูปที่ 9 (A) แสดง Molt-3 cells มีการนำ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลเข้าเซลล์มากกว่านาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีเป้าหมายอย่างมีนัยสำคัญ	69
รูปที่ 9 (B) ผลของความเข้มข้นของนาโนพาร์ทิเคิลต่อการนำ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลเข้าเซลล์	69

เรื่อง	หน้า
รูปที่ 10 (A) การนำ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลเข้าเซลล์ Molt-3 ลดลงตามความเข้มข้นของเปปไทด์ cIBR อิสระ แสดงถึงการนำเข้าสู่เซลล์ของนาโนพาร์ทิเคิลโดยผ่าน LFA-1 receptor	71
รูปที่ 10 (B) การนำ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลเข้าเซลล์ Molt-3 ถูกยับยั้งเมื่อมี I domain ของ LFA-1	71
รูปที่ 11 ผลของอุณหภูมิต่อการนำนาโนพาร์ทิเคิลเข้าเซลล์	73
รูปที่ 12 ภาพจากกล้องฟลูออเรสเซนซ์แสดงการนำ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลและ นาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีเป้าหมายโดย Molt-3 cells	74
รูปที่ 13 Intracellular trafficking ของ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลและนาโนพาร์ทิเคิลต่อส่วนของไลโซโซมของ Molt-3 cells	76
รูปที่ 14 ไมโครกราฟแสดงการเกาะติดของ Molt-3 cells (เขียว) กับ A549 cells (ไม่มีสี) หลังจากได้รับ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลที่ความเข้มข้นต่างๆ	78
รูปที่ 15 cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลยับยั้งการเกาะติดของเซลล์ต่างชนิดกันระหว่าง Molt-3 และ A549 cells การลดลงของเซลล์ Molt-3 ที่จับกับ A549 cells เมื่อได้รับ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิล	79
รูปที่ 16 (A) ผลของเซรั่มต่อการนำ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลเข้า Molt-3	80
รูปที่ 16 (B) การนำ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิลเข้าเซลล์ Molt-3 เมื่อมีการเติม BSA	80

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เรื่อง	หน้า
รูปที่ 17 การเปรียบเทียบการแสดงออกของ LFA-1 บนผิวเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด	81
รูปที่ 18 (A) ผลการเปรียบเทียบระหว่างการนำเข้า cIBR นาโนพาร์ทิเคิล กับ นาโนพาร์ทิเคิล โดยเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสี่ชนิด	83
รูปที่ 18 (B) ผลแสดงความสามารถในการนำเข้าของ cIBR นาโนพาร์ทิเคิล ของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสี่ชนิดที่เวลา 5 นาที	83
รูปที่ 19 ผลการจับและนำเข้าของระบบนำส่งยาการนำเข้าของ cIBR นาโนพาร์ทิเคิลโดยเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เวลา 5, 15, 30, 60 และ 90 นาที	84
รูปที่ 20 (A1) Fluorescent micrographs Molt-4 cells บ่มกับ นาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีเป้าหมาย	85
(A2) Molt-4 cells บ่มกับ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิล	
รูปที่ 20 (B1) Fluorescent micrographs HL-60 cells บ่มกับนาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีเป้าหมาย	85
(B2) HL-60 cells บ่มกับ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิล,	
รูปที่ 20 (C1) Fluorescent micrographs U937 cells บ่มกับนาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีเป้าหมาย	86
(C2) U937 cells บ่มกับ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิล,	
รูปที่ 20 (D1) Fluorescent microsgraphs Molt-3 cells บ่มกับนาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีเป้าหมาย และ	86

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 12 08 2554
ทะเบียน 242359
เรียกหนังสือ

เรื่อง	หน้า
(D2) Molt-3 cells บ่มกับ cIBR-นาโนพาร์ทิเคิล	
รูปที่ 21 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการจับและนำ cIBR นาโนพาร์ทิเคิลเข้าสู่เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสี่ชนิด	87
รูปที่ 22 (A) ผล cytotoxicity test ในเซลล์ Molt-4	88
รูปที่ 22 (B) ผล cytotoxicity test ในเซลล์ HL-60	89
รูปที่ 22 (C) ผล cytotoxicity test ในเซลล์ U937	89
รูปที่ 22 (D) ผล cytotoxicity test ในเซลล์ Molt-3	90
รูปที่ 23 standard curve ของ doxorubicin ที่นำมาใช้ในการหาปริมาณยาที่ถูกกักเก็บในระบบนำส่งยา	91
รูปที่ 24 กราฟแสดงการปลดปล่อย Doxorubicin จากระบบนำส่งยา ใน Phosphate buffer pH 4	92
รูปที่ 25 กราฟแสดงการปลดปล่อย Doxorubicin จากระบบนำส่งยา ใน Phosphate buffer pH 7.4	93
รูปที่ 26 การแสดงการเปรียบเทียบการปลดปล่อยตัวยาที่pH 4และ pH 7.4	93
รูปที่ 27 แสดง Immune synapse ระหว่าง T-cell กับ APC	108

สารบัญตาราง

เรื่อง	หน้า
ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบอาการทางคลินิกและการดำเนินโรคของ acute และ chronic leukemia	27
ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของ L1, L2 และ L3 ตาม FAB classification	28
ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของ M0 ถึง M7 ตาม FAB classification	29
ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบผลการย้อม cytochemistry ในมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ	31
ตารางที่ 5 Specific markers ใน AML	32
ตารางที่ 6 Specific markers ใน ALL	32
ตารางที่ 7 แสดงคุณสมบัติของระบบนำส่งยาที่ไม่มีเป้าหมายและ cIBR คอนจูเกตนาโนพาร์ทิเคิล	64
ตารางที่ 8 แสดงความหนาแน่นของเปปไทด์ cIBR บนผิวของอนุภาคนาโนพาร์ทิเคิล	65
ตารางที่ 9 แสดงค่า Fluorescence intensity ของตัวยาที่กักเก็บในระบบนำส่งยาทั้งก่อนและหลังที่ทำการคอนจูเกต	91
ตารางที่ 10 แสดงขนาดและประจุบนผิวของอนุภาคทั้งก่อนและหลังการทำปฏิกิริยา	92