



โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ผลกระทบทางชีววิทยาของการรักษาโรคมะเร็งเต้านมด้วยวิธีการรักษาร่วมระหว่างรังสี อนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน ในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

Biological effects of combined treatment of radiation, gold nanoparticle and hyperthermia in human breast cancer MCF-7 cell line

ชื่อนิสิต นางสาวปุณยานุช ภูมิกันตยา **เลขประจำตัว** 5832049223

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the senior project authors' files submitted through the faculty.

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ

ผลกระทบทางชีววิทยาของการรักษาโรคมะเร็งเต้านมด้วยวิธีการรักษาร่วมระหว่างรังสี
อนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน ในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

นิสิตในโครงการ

นางสาวปุณยานุช ภูมิกันตยา

รหัสนิสิต 5832049223

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

ศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงการ

อาจารย์ ดร.ฐิติทิพย์ ทิพยมนตรี

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ปีการศึกษา 2561

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการวิจัย	: ผลกระทบทางชีววิทยาของการรักษาโรคมะเร็งเต้านมด้วยวิธีการรักษา ร่วมระหว่างรังสีอนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน ในเซลล์มะเร็ง เต้านม MCF-7
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	: นางสาวปณยานุช ภูมิกันตยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	: ศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	: อาจารย์ ดร.ฐิติทิพย์ ทิพยมนตรี
ภาควิชา	: ชีววิทยา

บทคัดย่อ

โรคมะเร็งเต้านมจัดว่าเป็นโรคมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับหนึ่งในเพศหญิง เป้าหมายหลักของการใช้รังสีในการรักษาโรคมะเร็งเต้านม คือการให้รังสีพลังงานสูงแก่เซลล์มะเร็ง โดยที่เซลล์ปกติข้างเคียงได้รับผลกระทบจากรังสีน้อยที่สุด อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของการใช้รังสีรักษาสามารถที่จะพัฒนาให้สูงมากยิ่งขึ้นได้ โดยการใช้นิโคตินร่วมกับวิธีการรักษาแบบอื่น เช่น การใช้นิโคตินร่วมกับอนุภาคทองคำขนาดนาโน (Gold nanoparticle, GNP) ซึ่งมีคุณสมบัติที่เป็นตัวช่วยเสริมประสิทธิภาพของรังสี (Radiosensitizer) หรือการใช้นิโคตินร่วมกับให้ความร้อนที่สูง (Hyperthermia) ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการตอบสนองของเซลล์มะเร็งเต้านม human breast adenocarcinoma MCF-7 cell line ต่อการรักษาร่วมระหว่างรังสี อนุภาคทองคำขนาดนาโนและความร้อน กระบวนการศึกษาด้วยวิธี Clonogenic assay ถูกนำมาใช้ เพื่อศึกษาผลของการอยู่รอดของเซลล์ MCF-7 ที่ผ่านการรักษาด้วยการฉายรังสี (0-5 Gy) การเติม GNP (0-0.05 nM) หรือ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง 46 องศาเซลเซียส (°C) เพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับผลของการรักษา ด้วยวิธีการรักษาร่วม ซึ่งทำโดยการเติม GNP (0.01 และ 0.05 nM) ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46°C เป็นระยะเวลา 5 นาที และตามด้วยการนำเซลล์ไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการให้รังสีเอกซ์ ที่ปริมาณรังสี เท่ากับ 2 Gy นอกจากนี้ ยังศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อปริมาณการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนในเซลล์ MCF-7 จากผลการทดลองพบว่า อัตราการตายของเซลล์ MCF-7 จะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับปริมาณรังสีหรือความเข้มข้นของ GNP ที่เพิ่มขึ้น พร้อมกันนี้ในการบ่มเซลล์ที่อุณหภูมิ 46°C ไม่ได้ทำให้เกิดการตายของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้ เป็นที่น่าสังเกตอย่างยิ่งว่า การบ่มเซลล์ที่อุณหภูมิ 46°C นั้นส่งผลทำให้มีปริมาณของ GNP ผ่านเข้าไปสะสมอยู่ภายในเซลล์มีมากขึ้น ซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้อง ในการตรวจพบอัตราการตายของเซลล์ MCF-7 ที่มากที่สุด ภายหลังจากการใช้รังสีรักษาร่วมกับ GNP และความร้อน เมื่อเทียบกับการให้การรักษาด้วยรังสี หรือ GNP หรือความร้อนสูง เพียงอย่างเดียว ดังนั้นจากผลการศึกษาครั้งนี้ สามารถแสดงให้เห็นว่า การใช้รังสีรักษาร่วมกับ GNP และการใช้ความร้อน สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ได้ดีมากยิ่งขึ้น ดังนั้น ผลจากการศึกษาที่ได้นี้อาจจะถูกนำไปใช้ เพื่อเป็นข้อมูลทางเลือกในการรักษามะเร็งเต้านมได้ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: ความร้อน, รังสี, โรคมะเร็งเต้านม, อนุภาคทองคำขนาดนาโน

Research title : Biological effects of combined treatment of radiation, gold nanoparticle and hyperthermia in human breast cancer MCF-7 cell line

Student name : Miss Poonyanuch Poomikantaya

Advisor : Professor Chanpen Chanchao, Ph.D.

Co-advisor : Thititip Tippayamontri, Ph.D.

Department : Biology

Abstract

Breast cancer classified as the number one most common cancer in women. Goal of radiation treatment for breast cancer is to deliver a high dose of radiation to cancer cells while sparing surrounded healthy normal cells. Therefore, it has been intensively focused on the development of radiation treatment protocols by using gold nanoparticle as a radiation enhancer (radiosensitizer), and using high heat (Hyperthermia) together with radiotherapy. Therefore, the objective of this research is to study the biological response of MCF-7 breast cancer cells to combined treatment of radiotherapy, gold nanoparticles and hyperthermia. Clonogenic assay was performed to evaluate the cytotoxicity of combined treatments. Cells were treated with different dose of radiation (0-5 Gy), GNP at different concentration (0-0.05 nM), and hyperthermia at temperature of 46°C. The accumulation of GNP inside MCF-7 cells after incubated at 46°C for 5 min was evaluated via a transmission electron microscope. Our results demonstrated that the combined treatment of radiation, GNP and hyperthermia can induced a maximum cancer cell death. Moreover, we also found that incubated MCF-7 cells under hyperthermia condition at 46°C after added GNP can induce a higher amount of intracellular accumulation of GNP inside MCF-7 cells, compared to the incubation of cells under a conventional condition of 37°C. This result can be used to explain a higher level of cancer cell death that was observed after incubated cells under a hyperthermia condition together with radiation and GNP, compared to the treatment of each treatment modalities alone. In conclusion, our results showed that the combined treatment of radiotherapy with gold nanoparticles and hyperthermia can further enhance the treatment efficiency of radiation in MCF-7 breast cancer cells. This information can be used to develop an alternative treatment protocol that offers a better treatment outcome for breast cancer patients.

Keywords: Breast cancer, Gold nanoparticle, Hyperthermia, Radiation

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.จันทรเพ็ญ จันทรเจ้า อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ให้คำปรึกษาและกำลังใจในการเรียนและการทำงานวิจัย ตลอดจนดำเนินเรื่องและเอกสารต่าง ๆ จนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ฐิติทิพย์ ทิพยมนตรี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงการ ที่เสียสละเวลา พร้อมให้คำปรึกษา คำแนะนำเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการและช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำงานวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงกระบวนการคิด วิเคราะห์ข้อมูลในการนำเสนอผลงาน การเขียนรายงาน และการนำเสนองานวิจัย จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร.อภิวัฒน์ มุทิรางกูร ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ และรองศาสตราจารย์ ดร.สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา ภาควิชาโภชนาการและการกำหนดอาหาร คณะสหเวชศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือ รวมถึงอุปกรณ์ต่าง ๆ สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ฝ่ายรังสีวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องสำหรับการฉายรังสีในงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณศิริเพ็ญ เวชการณีย์ เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาชีววิทยาทุกท่าน ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำต่าง ๆ ทั้งในด้านการเรียน การทำงาน การใช้ชีวิตในอนาคต และให้คำติชมในงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการช่วยเหลือ ดำเนินงาน และอำนวยความสะดวกในการจัดส่งเอกสารที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ครอบครัวและเพื่อน ๆ ทุกคนที่คอยให้คำแนะนำและการสนับสนุน รวมทั้งเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณฝ่ายวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุเคราะห์เงินทุนสนับสนุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูปภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการนำเสนอโครงการ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	4
1.2.1 วัตถุประสงค์หลัก	4
1.2.2 วัตถุประสงค์รอง	4
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	5
2.1 โรคมะเร็งเต้านม	5
2.2 วิธีการรักษาโรคมะเร็งเต้านม	7
2.3 การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีการฉายรังสี	7
2.4 อนุภาคทองคำขนาดนาโน	9
2.5 การใช้ความร้อนมาช่วยในการรักษามะเร็ง.....	10
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน	12
3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี.....	12
3.1.1 วัสดุและอุปกรณ์	12
3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	12
3.2 วิธีการดำเนินงาน.....	13
3.2.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์	13

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.2 การสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนในเซลล์ MCF-7.....	13
3.2.3 การวัดอัตราการอยู่รอดของเซลล์ (Clonogenic assay).....	13
3.2.4 การวิเคราะห์การตายของเซลล์มะเร็งเต้านม.....	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	16
4.1 ผลการศึกษาการสะสมอนุภาคทองคำขนาดนาโนภายในเซลล์มะเร็งเต้านม.....	16
4.1.1 ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	16
4.1.2 ณ อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส.....	17
4.2 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง.....	18
4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับการฉายรังสีเพียง อย่างเดียว.....	18
4.2.2 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับอนุภาคทองคำ ขนาดนาโนเพียงอย่างเดียว.....	19
4.2.3 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับการให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว.....	20
4.2.4 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับอนุภาคทองคำ ขนาดนาโนร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส.....	21
4.2.5 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งหลังได้รับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสร่วมกับฉายรังสีปริมาณ 2 Gy.....	22
4.2.6 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งหลังได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนร่วมกับ ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสและฉายรังสีปริมาณ 2 Gy.....	23
บทที่ 5.....	24
วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา.....	24
5.1 วิจารณ์ผลการศึกษา.....	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.2 สรุปผลการศึกษา.....	26
5.3 การศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต.....	27
เอกสารอ้างอิง.....	28
ภาคผนวก	31

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 สถิติการเกิดมะเร็งเต้านมในปี ค.ศ. 2018..... 2

รูปที่ 2 สถิติการเกิดมะเร็งเต้านมในประเทศไทยในปี พ.ศ.2555..... 2

รูปที่ 3 มะเร็งเต้านมในระยะต่าง ๆ..... 5

รูปที่ 4 ภาพจำลองการฉายรังสีแบบภายนอกให้แก่ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม..... 8

รูปที่ 6 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนพลังงานมวลของโฟตอนในตัวกลางที่เป็นเนื้อเยื่ออ่อนและทองคำ
..... 10

รูปที่ 7 การสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนภายในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่บ่มภายใต้
อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่กำลังขยาย 10000 เท่า โดยที่ ลูกศร (→) แสดงบริเวณที่มีการ
สะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนอยู่ภายในเซลล์ 16

รูปที่ 8 การสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนภายในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ถูกบ่มภายใต้
อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ที่กำลังขยาย 5000 เท่า โดยที่ ลูกศร (→) แสดงบริเวณที่มีการสะสม
ของอนุภาคทองคำขนาดนาโนอยู่ภายในเซลล์..... 17

รูปที่ 9 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากได้รับการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี
แตกต่างกัน ตั้งแต่ 0-5 Gy ที่อุณหภูมิห้อง แสดงค่าเฉลี่ย ± ความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย โดย
ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ และใช้ linear-quadratic model เป็น model ในการเขียนกราฟ..... 18

รูปที่ 10 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโน
เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้รับอนุภาค
ทองคำขนาดนาโน) แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ *
หมายถึง P < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และ ** หมายถึง P < 0.05 เมื่อเทียบกันระหว่างกลุ่มที่
ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนเพียงอย่างเดียว 19

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 12 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังจากได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนเพียงที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโน และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ * หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และ ** หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนและความร้อนร่วมกัน.....21

รูปที่ 13 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที ร่วมกับฉายรังสีปริมาณ 2 Gy เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการฉายรังสี) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ * หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และ ** หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับความร้อนและรังสีร่วมกัน.....22

รูปที่ 14 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังจากได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที และการฉายรังสีปริมาณ 2 Gy เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (บ่มเซลล์ที่ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ร่วมกับฉายรังสี 2 Gy โดยที่ไม่ได้รับการให้อนุภาคทองคำขนาดนาโน) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ * หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม.....23

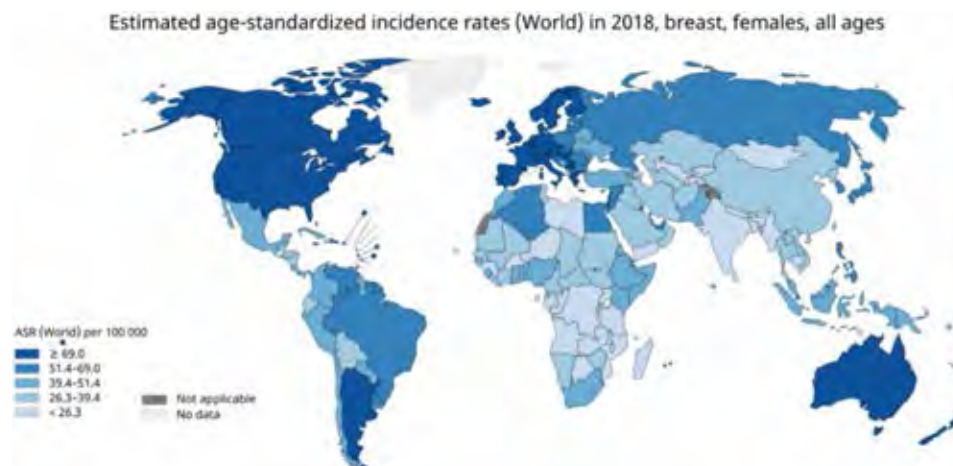
รูปที่ 15 แนวคิดและกระบวนการในการใช้ความร้อนที่สูง (Hyperthermia) ที่ส่งผลในการกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันและยับยั้งการซ่อมแซม DNA ของเซลล์มะเร็ง รวมถึงปรากฏการณ์การเกิด Heat Shock Protein.....25

บทที่ 1

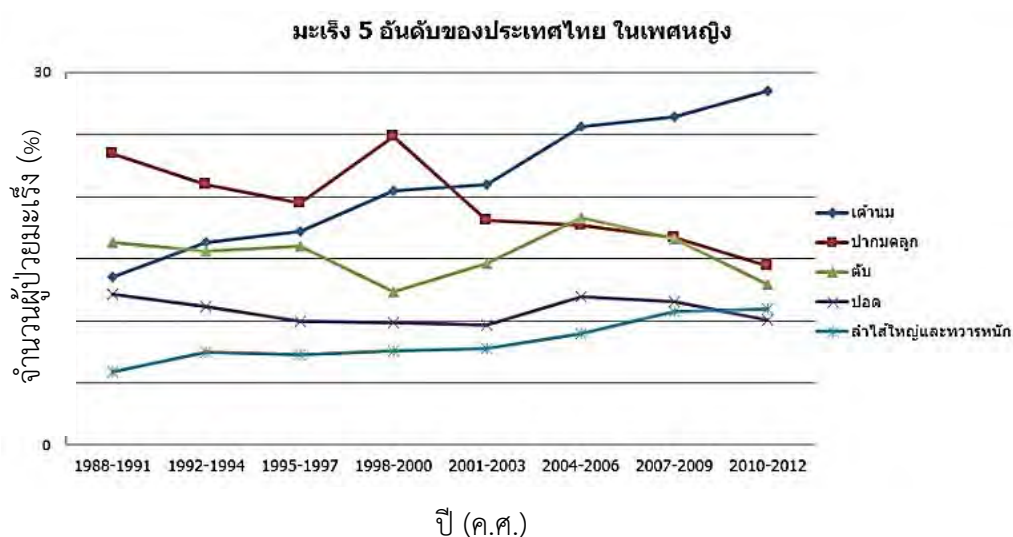
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการนำเสนอโครงการ

มะเร็ง (cancer) เป็นเซลล์ภายในร่างกายของมนุษย์ที่มีการแบ่งตัวผิดปกติและรวดเร็ว จนทำให้ร่างกายไม่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตนั้นได้ ดังนั้นเมื่อการแบ่งตัวและเจริญของเซลล์มะเร็งมีมากขึ้น จะส่งผลกระทบต่ออวัยวะเริ่มต้นของการกำเนิดมะเร็ง (primary organ) และสามารถที่จะลุกลามไปทำลายเซลล์เนื้อเยื่อข้างเคียง หรือมีการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปตามหลอดเลือดหรือทางเดินน้ำเหลืองไปสู่อวัยวะอื่น ๆ ที่อยู่ไกลออกไป (metastasis) ซึ่งถ้าไม่ได้รับการรักษาเซลล์มะเร็งอย่างมีประสิทธิภาพ จะทำให้อวัยวะเหล่านั้นถูกทำลายจนไม่สามารถทำงานได้ และในท้ายที่สุดผู้ป่วยจะเสียชีวิต (ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, 2555) จากการรายงานขององค์การอนามัยโลก หรือ WHO จัดให้มะเร็งเป็นสาเหตุอันดับที่สองของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก ซึ่งมะเร็งปอดจัดว่าเป็นชนิดของมะเร็งที่พบมากที่สุดในเพศชาย ในขณะที่มะเร็งเต้านม จะพบมากที่สุดในเพศหญิง (World Health Organization, 2018) (รูปที่ 1) จากการรวบรวมสถิติในปี 2012 มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งส่งผลกระทบต่อผู้หญิงในแต่ละปีมากกว่า 1.5 ล้านคน และมีจำนวนผู้หญิงเสียชีวิต 570,000 รายจากมะเร็งเต้านมซึ่งคิดเป็น 15% ของการเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งในผู้หญิง (World Health Organization, 2015) สำหรับประเทศไทย จากการทำสถิติในปี พ.ศ. 2555 ของสถานวิทยามะเร็ง โรงพยาบาลศิริราช พบว่ามะเร็งเต้านมเป็นสาเหตุอันดับหนึ่งของมะเร็งทั้งหมดในผู้หญิงไทย และมีแนวโน้มว่าจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งเต้านมจะเพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี ในปัจจุบันพบผู้ป่วยมะเร็งเต้านมเฉลี่ยประมาณ 30 – 40 คนต่อประชากร 100,000 คน (รูปที่ 2) (ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, 2555) ซึ่งการรักษาโรคมะเร็งเต้านมที่ได้ผลดีและเป็นที่ยอมรับกันในปัจจุบัน ได้แก่ การรักษาโดยการผ่าตัด การใช้ยาเคมีบำบัด และการฉายแสงหรือรังสีรักษา โดยแผนการรักษาจะขึ้นอยู่กับระยะความก้าวหน้าของโรคมะเร็งเต้านม จากการรายงานก่อนหน้านี้พบว่าประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็งจะเพิ่มสูงขึ้นเป็นอย่างมากหากมีการใช้รังสีร่วมรักษากับเคมีบำบัด (ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, 2555; Butterworth *et al.*, 2012)



รูปที่ 1 สถิติการเกิดมะเร็งเต้านมในปี ค.ศ. 2018 (World Health Organization, 2018)



รูปที่ 2 สถิติการเกิดมะเร็งเต้านมในประเทศไทยในปี พ.ศ.2555 (ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, 2555)

จุดมุ่งหมายหลักของการฉายแสงคือเพื่อให้พลังงานของรังสีเข้าไปทำลายเซลล์มะเร็งเป้าหมาย โดยที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อปกติที่อยู่ข้างเคียง ในปัจจุบันมีการนำอนุภาคทองคำขนาดนาโน (gold nanoparticle, GNP) มาใช้กันอย่างแพร่หลายในงานทางด้านรังสีรักษา (Wang *et al.*, 2015; Jain *et al.*, 2012) โดย GNP มีคุณสมบัติเป็นตัวช่วยเสริมประสิทธิภาพของรังสี หรือ ที่เรียกว่า radiosensitizer ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคทองคำขนาดนาโนเป็นโลหะหนัก มีค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนรังสีที่ดี (Butterworth *et al.*, 2012) ซึ่งเป็นผลมาจากปรากฏการณ์คอมป์

ตัน คือปรากฏการณ์ที่เมื่อมีการยิงโฟตอนของรังสีเอกซ์ให้เข้าชนกับอิเล็กตรอนของอะตอมของอนุภาคทองคำขนาดนาโน แล้วจะทำให้เกิดกระเด็นออกมาของอิเล็กตรอนและ โฟตอนที่มีค่าพลังงานในตัว (Butterworth *et al.*, 2012) อันจะช่วยให้ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ของรังสีนั้นเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ข้อดีของการใช้อนุภาคทองคำขนาดนาโน คือ อนุภาคทองคำนาโนสามารถที่จะผ่านเข้าไปในเซลล์มะเร็งได้ดีเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ เนื่องด้วยอนุภาคทองคำขนาดนาโนมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าเซลล์ปกติโดยรอบ ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงเป็นการเหมาะสมอย่างยิ่งในการนำเอาอนุภาคทองคำขนาดนาโนมาใช้ร่วมกันกับการฉายรังสี อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการทำการรักษาร่วมจะมีมากน้อยอย่างไรนั้นขึ้นอยู่กับพลังงานของรังสีเอกซ์สเปกตรัมและความเข้มข้นของอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ใช้ในกระบวนการรักษาเซลล์มะเร็ง (Hainfeld *et al.*, 2014)

ถึงแม้ว่าแนวคิดในการใช้ความร้อนที่สูง (hyperthermia) ในการทำลายเซลล์มะเร็งจะเป็นแนวคิดที่มีมานานแล้ว (Cherukuri *et al.*, 2010) หากแต่ว่าการนำความร้อนไปใช้ในการรักษาร่วมไม่ว่าจะเป็นร่วมกับรังสีรักษาหรือการใช้ยาเคมีบำบัดยังคงเป็นแนวคิดที่ใหม่และยังไม่ได้นำไปใช้อย่างกว้างขวางในงานทางคลินิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการรักษาร่วมสำหรับโรคมะเร็งเต้านมด้วยการใช้ความร้อน ความรู้ความเข้าใจในโลกการทำงานที่ส่งผลต่อกระบวนการทางชีววิทยาของเซลล์มะเร็งยังคงไม่ชัดเจน และมีความจำเป็นที่จำต้องทำการการศึกษาที่มากขึ้น กระบวนการทำงานเพื่อให้เกิดความร้อนที่สูง เกิดจากปรากฏการณ์เชิงแสงคือมีการสร้างความร้อนที่ได้จากแสงที่มาจากภายนอก ที่มีความยาวคลื่นเดียวกันกับ Surface Plasmon Resonance (SPR) มาทำให้อิเล็กตรอนเกิดการสั่นและเหนี่ยวนำให้ปลดปล่อยพลังงานความร้อนออกมา เมื่อใช้ร่วมกับอนุภาคทองคำนาโน ความร้อนจะถูกถ่ายเทไปยังตัวกลางรอบ ๆ วัสดุทองคำขนาดนาโน เมื่ออุณหภูมิของตัวกลางเพิ่มขึ้นถึง 42 องศาเซลเซียส จะทำให้โปรตีนของเซลล์เสียสภาพและเยื่อหุ้มเซลล์แตก ส่งผลทำให้เซลล์มะเร็งตาย (อภิวัฒน์ ชมภูสอ, 2556) นอกจากนี้ความร้อนที่เพิ่มสูงขึ้น ยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษาด้วยเคมีบำบัด เพราะว่า ความร้อนมีผลทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด ทำให้การไหลของเลือดดีขึ้น นอกจากนี้ความร้อนยังสามารถเข้าไปทำให้เนื้อเยื่อชั้นนอกของหลอดเลือดได้รับความเสียหายเกิดเป็นช่องว่างที่กว้างขึ้น ที่สามารถทำให้อนุภาคทองคำขนาดนาโนไหลเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้ดีมากยิ่งขึ้น (Cherukuri *et al.*, 2010) จากการศึกษาของ Hainfeld และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้ความร้อนที่สูง พร้อมกับหรือภายใน 1-2 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีรักษา จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด (Hainfeld *et al.*, 2014) ด้วยเหตุนี้ การใช้รังสีรักษาร่วมรักษากับอนุภาคทองคำขนาดนาโนและความร้อนจึงมีความจำเพาะต่อการทำลายเซลล์มะเร็งได้โดยตรง

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาดูปริมาณการตายของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 โดยประเมินผลกระทบทางชีวภาพของการรักษาร่วมระหว่าง รังสี อนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน องค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนรักษามะเร็งเต้านม MCF-7 ในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และเป็นประโยชน์ต่อการรักษาร่วมระหว่าง รังสี อนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1.2.1 วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาการตอบสนองของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ต่อการรักษาร่วมระหว่างรังสี อนุภาคทองคำขนาดนาโนและความร้อน

1.2.2 วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาอัตราการตายของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากได้รับการฉายรังสี ร่วมกับอนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน

2. เพื่อเข้าใจกลไกที่เกี่ยวข้องต่อการตายของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากได้รับการฉายรังสีร่วมกับอนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน

บทที่ 2

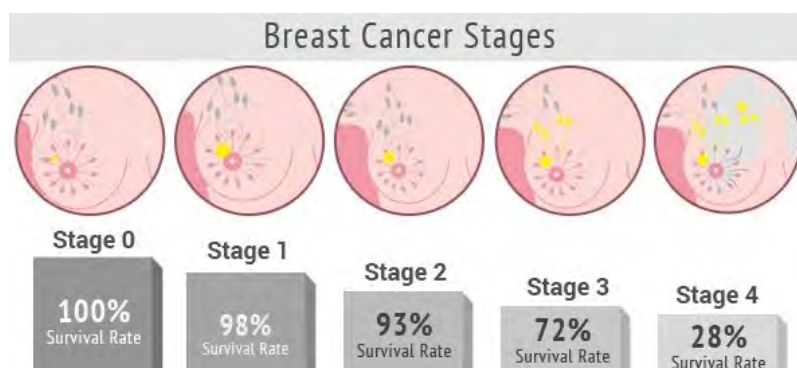
ทบทวนวรรณกรรม

2.1 โรคมะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านม คือ ความผิดปกติของเซลล์เต้านมที่เกิดการแบ่งตัวและสามารถลุกลามไปยังอวัยวะอื่น ๆ ได้ โดยทั่วไปเชื่อว่ามะเร็งเต้านมส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์ที่อยู่ระหว่างบริเวณท่อน้ำนมส่วนปลายและต่อมน้ำนม หรือบางทฤษฎีเชื่อว่า อาจมีต้นกำเนิดมาจากสเต็มเซลล์บริเวณท่อน้ำนมและต่อมน้ำนม แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นมะเร็งเต้านมชนิดต่าง ๆ จากการเก็บข้อมูลจำนวนผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2559 โดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติพบว่า มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่มีจำนวนผู้ป่วยมากที่สุดเป็นอันดับ 1 ในผู้หญิง และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2561)

ระยะของโรคมะเร็งเต้านม แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ดังแสดงในรูปที่ 3 (สุชาวัลย์ สุชาพงศ์, 2562) คือ

- ระยะ 0 เป็นระยะเริ่มต้นของเซลล์มะเร็ง ซึ่งยังไม่ลุกลามไปยังเนื้อเยื่อเต้านม
- ระยะ 1 ก้อนมะเร็งมีขนาดไม่เกิน 2 เซนติเมตร และยังไม่ลุกลามเข้า ต่อมน้ำเหลือง
- ระยะ 2 ก้อนมะเร็งมีขนาดระหว่าง 2-5 เซนติเมตร ซึ่งอาจจะลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองบริเวณรักแร้หรือไม่ก็ได้ หรือมีขนาดไม่เกิน 2 เซนติเมตรและลุกลามเข้าต่อมน้ำเหลืองบริเวณรักแร้แล้ว แต่ยังไม่แพร่กระจายไปสู่อวัยวะอื่น
- ระยะ 3 ก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่กว่า 5 เซนติเมตร และรุกรามเข้าต่อมน้ำเหลืองบริเวณรักแร้แล้ว แต่ยังไม่แพร่กระจายไปสู่อวัยวะอื่น
- ระยะ 4 มะเร็งแพร่กระจายไปสู่อวัยวะอื่น ๆ เช่น กระดูก ปอด ตับ หรือสมอง เป็นต้น



รูปที่ 3 มะเร็งเต้านมในระยะต่าง ๆ (ที่มา : <https://www.quora.com/Can-stage-3rd-breast-cancer-be-cured>)

อาการของโรคมะเร็งเต้านม

บางครั้งผู้หญิงที่เป็นมะเร็งเต้านม อาจไม่มีอาการของมะเร็งเต้านม และมะเร็งเต้านมส่วนใหญ่จะไม่มีอาการเจ็บหรือปวด (มีเพียงร้อยละ 10 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ที่มาพบแพทย์ด้วยอาการปวดเต้านม) ดังนั้นจึงควรไปพบแพทย์เมื่อมีอาการดังต่อไปนี้ (มณฑิยา มรุตกรกุล, 2562)

1. มีอาการเจ็บปวดเต้านมข้างหนึ่งในระดับเบาหรือบริเวณไหล่และหลังมีอาการเมื่อยและบวม
2. สามารถสัมผัสได้ว่าในเต้านมมีก้อนขนาดถั่วปากอ้าอยู่และไม่เจ็บปวด
3. ผิวหนังบริเวณที่มีก้อนเนื้อจะนูนขึ้น
4. ผิวหนังบริเวณหน้าอกบวมลงไปหรือย่น
5. หัวนมเอนและไม่สม่ำเสมอ
6. ผิวหนังของเต้านมหนาขึ้น และรูขุมขนใหญ่ขึ้น
7. หัวนมมีของเหลวไหลออกมา ซึ่งอาจเป็นเลือดหรือของเหลวปนเลือด

การตรวจคัดกรองมะเร็งเต้านม

การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งเต้านม คือ การตรวจค้นหามะเร็งเต้านมระยะเริ่มแรกในผู้ที่ยังไม่มีอาการของโรคหรือ precancerous lesion เพื่อวินิจฉัยและรักษาตั้งแต่ระยะเริ่มต้นของโรค ทำให้ลดอัตราการตายจากโรคมะเร็งได้ ซึ่งมีวิธีการตรวจคัดกรองมะเร็งเต้านม ดังนี้ (ภรณี เหล่าอิทธิ และ นภา ปริญญาติกุล, 2559)

1. การตรวจด้วยตนเองเป็นประจำทุกเดือน : ผู้หญิงทุกคนควรตรวจเต้านมด้วยตนเองทุกเดือนในวันที่ 5 หลังจากหมดประจำเดือน วิธีตรวจคือถูสบู่ที่มือ แล้วใช้กึ่งกลางตอนบนของนิ้วชี้และนิ้วกลางคลำสำรวจ เต้านม รวมทั้งรักแร้และกระดูกไหปลาร้าตามทิศทางเข็มนาฬิกา
2. การตรวจโดยการคลำสัมผัสของแพทย์ : แพทย์เฉพาะทางที่มีประสบการณ์สามารถใช้วิธีคลำสัมผัสเพื่อตรวจดูว่ามีก้อนเนื้อที่เต้านมหรือไม่ และสามารถคัดกรองผู้ป่วยมะเร็งเต้านมบางส่วนได้
3. การตรวจด้วยอัลตราซาวด์ : การตรวจอัลตราซาวด์สามารถวินิจฉัยลักษณะและตำแหน่งของก้อนเนื้อได้
4. การตรวจแมมโมแกรม : การตรวจแมมโมแกรมจะทำให้ได้ภาพที่ชัดเจน ซึ่งสามารถตรวจพบก้อนเนื้อที่มีขนาดเล็กที่การคลำสัมผัสยากจะตรวจพบ
5. การเจาะตรวจชิ้นเนื้อ : หากตรวจด้วยอัลตราซาวด์และแมมโมแกรมแล้ว ยังไม่สามารถจำแนกก้อนเนื้อหรือตุ่มหนองได้ ควรใช้วิธีนี้ตรวจการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ให้แน่ชัด

2.2 วิธีการรักษาโรคมะเร็งเต้านม

วิธีการรักษาโรคมะเร็งเต้านมที่ได้ผลดีและเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน (สุธาวัลย์ สุธาพงศ์, 2562 ; วินัย พอล, 2562) มีดังนี้คือ

1. การรักษามะเร็งเต้านม โดยการผ่าตัดมีอยู่ 2 วิธี

- การผ่าตัดเต้านมออกทั้งหมด เป็นการผ่าตัดเอาเต้านมข้างที่มีเนื้องอกออกทั้งหมด ร่วมกับต่อมน้ำเหลืองใต้รักแร้ออกไปด้วยในคราวเดียวกัน หากไม่มีการแพร่กระจายก็จะตัดเฉพาะเนื้อเยื่อเต้านมออกเพียงอย่างเดียว

- การผ่าตัดแบบสงวนเต้า หรือจะเรียกว่าการผ่าตัดแบบเก็บรักษาเต้านมไว้ โดยแพทย์จะผ่าตัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นก้อนเนื้อร้ายออกเท่านั้น แต่ยังคงเหลือเต้านมส่วนที่ดีเอาไว้

2. การรักษามะเร็งเต้านม โดยการฉายแสง (รังสีรักษา) ปริมาณที่ใช้สำหรับฉายรังสี 50 เกรย์ (Gy) ใน 25 ครั้ง โดยแบ่งการใช้ในแต่ละครั้งปริมาณ 1.8-2 Gy

3. การรักษามะเร็งเต้านม โดยยาต้านฮอร์โมน เช่น ยา Tamoxifen, ยากลุ่ม Aromatase Inhibitors (AI) (Letrozole) เป็นต้น

4. การรักษามะเร็งเต้านม โดยยาเคมีบำบัด เช่น ยา Doxorubicin, ยา cyclophosphamide, ยา Methotrexate เป็นต้น

5. การรักษามะเร็งเต้านม โดยยาที่มีการออกฤทธิ์จำเพาะ เช่น Trastuzumab เป็นต้น

มะเร็งเต้านมระยะเริ่มแรกมักรักษาโดยการผ่าตัดเป็นอันดับแรก และส่วนมากต้องการการรักษา ร่วมกับวิธีการรักษาอื่น ๆ เพื่อเสริมให้ผลของการรักษาดีมากยิ่งขึ้น เช่น ผ่าตัดก่อน หลังจากแผลหายจึงให้ยาเคมีบำบัด ต่อจากนั้นรักษาโดยการฉายแสงร่วมกับการให้ยาต้านฮอร์โมน ทั้งนี้ กระบวนการรักษานั้นจะขึ้นโดยตรงกับระยะของโรค คุณสมบัติของมะเร็ง รวมถึงวิธีการผ่าตัด เนื่องจากผู้ป่วยแต่ละรายมีรายละเอียดที่แตกต่างกัน ทำให้การรักษาย่อมมีความแตกต่างกันตามไป (สุธาวัลย์ สุธาพงศ์, 2562)

2.3 การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีการฉายรังสี

การรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบัน ใช้การผสมผสานกันหลายวิธี ทำให้การรักษาด้วยการฉายรังสี เข้ามามีบทบาทสำคัญ ในการรักษาโรคมะเร็งมากขึ้น โดยอาศัยหลักการที่ว่า การฉายรังสีไปยังเนื้อเยื่อของเนื้องอกหรืออวัยวะใด ๆ ก็ตามซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่มีชีวิต รังสีจะทำให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอ (DNA) ของเซลล์เนื้องอกโดยตรงทำให้เกิดการตายและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและสรีระวิทยาของเซลล์เนื้องอกนั้น ซึ่งเป้าหมายการรักษาด้วยการฉายรังสี คือ การรักษาให้หายขาด ในกลุ่มที่คาดว่าจะรักษาให้หายขาดได้ ต้องพิจารณาให้รังสีแก่ผู้ป่วย ในปริมาณที่เพียงพอ และบางครั้งต้องยอมรับผลข้างเคียง

ซึ่งหลีกเลี่ยงไม่ได้เพื่อให้ผู้ป่วยมีชีวิตอยู่รอดได้ โดยยึดหลักสำคัญคือ การให้ปริมาณรังสีที่สูงที่สุด เพื่อให้ได้ผลดีที่สุดและผลข้างเคียงที่ยอมรับได้ และการรักษาแบบประคับประคอง ใช้ในผู้ป่วยที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วย (มณีนารถ เรืองสกุล, 2560) โดยรูปที่ 4 แสดงภาพจำลองการฉายรังสีแบบภายนอกแก่ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม



รูปที่ 4 ภาพจำลองการฉายรังสีแบบภายนอกให้แก่ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม (ที่มา : <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/radiation-therapy-for-breast-cancer/about/pac-20384940>)

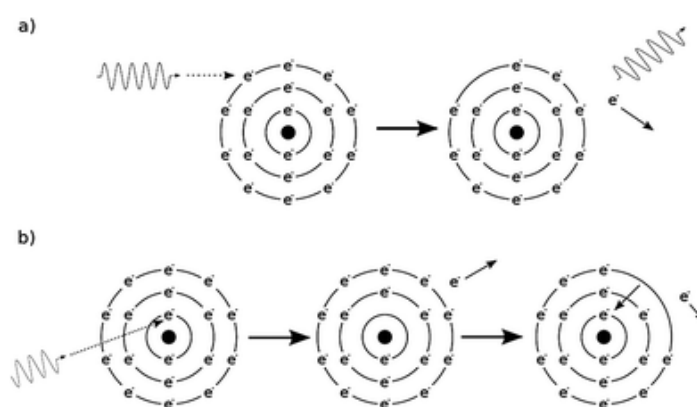
การฉายรังสีเพื่อการรักษาโรคมะเร็ง มักทำภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดครบตามโปรแกรมการรักษาแล้ว ถ้าหากผู้ป่วยมีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำ อาจต้องให้ผู้ป่วยพักการฉายรังสีจนกว่าค่าเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยนั้นกลับมาเป็นปกติ จึงจะสามารถทำการฉายรังสีต่อไป หรือการดูแลผิวหนังบริเวณที่ฉายรังสีก็เป็นสิ่งสำคัญ อย่างกรณีที่ผู้ป่วยได้รับการฉายรังสีบริเวณรักแร้ ซึ่งเป็นบริเวณที่มักเกิดความอับชื้นจากเหงื่อและการเสียดสีกับแขนเสื้อ อาจทำให้มีโอกาสเกิดแผลได้ (มณีนารถ เรืองสกุล, 2560) ซึ่งผลข้างเคียงระหว่างการฉายรังสี คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังบริเวณที่ฉายรังสี ผิวจะมีสีคล้ำขึ้น อาจมีอาการคันที่อวัยวะเคื่องสแปร์ร้อน บางรายอาจมีอาการเจ็บคอ กลืนอาหารลำบาก หากได้รับการฉายรังสีคลุมต่อมน้ำเหลืองบริเวณเหนือกระดูกไหปลาร้า ส่วนผลข้างเคียงหลังฉายรังสี คือ ผิวหนังบริเวณที่ฉายอาจเกิดฟองผิวด อาจมีอาการเจ็บแปลบ ๆ ที่เต้านมได้ (ศูนย์ความเป็นเลิศด้านโรคมะเร็ง คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี, 2561)

2.4 อนุภาคทองคำขนาดนาโน

นาโนเทคโนโลยีด้านมะเร็ง เป็นสหวิทยาการที่มีศักยภาพในการต่อสู้กับโรคมะเร็ง ซึ่งรวมไปถึงการถ่ายภาพระดับโมเลกุล การวินิจฉัยระดับโมเลกุล การรักษาด้วยการตั้งเป้าหมาย และชีวสารสนเทศศาสตร์ ปัจจุบันมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องในส่วนของนาโนเทคโนโลยีด้านมะเร็ง เพื่อระบุคุณลักษณะทางชีวภาพของเนื้องอกแต่ละชนิด ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพทางพันธุกรรมและโปรตีน สำหรับนำมาใช้ในการวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งได้อย่างจะเพาะเจาะจงต่อรายละเอียดในระดับโมเลกุลของผู้ป่วยในแต่ละราย (Cai *et al.*, 2008)

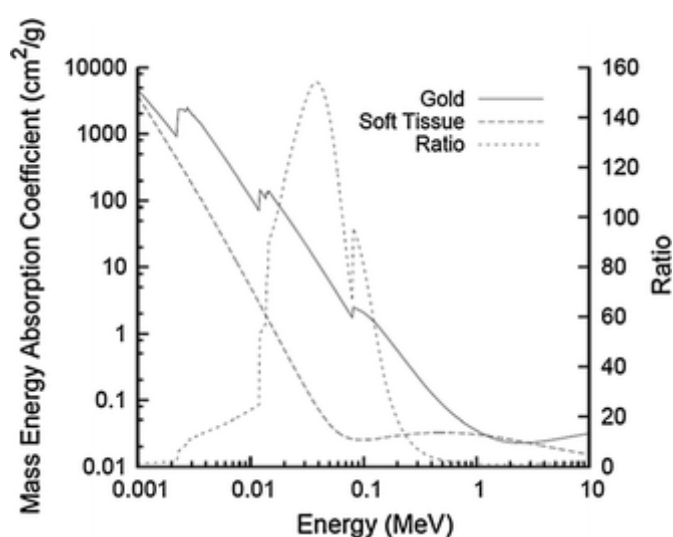
อนุภาคทองคำขนาดนาโนถูกใช้อย่างกว้างขวางในฐานะตัวพาขนาดนาโนใช้สำหรับการนำส่งยาเคมีบำบัด อนุภาคทองคำขนาดนาโนที่มีหมายเลขอะตอมสูง ทำให้มีการดูดกลืนรังสีเอ็กซ์ที่ดีขึ้น ดังนั้น อนุภาคทองคำขนาดนาโนจึงทำหน้าที่เป็น radiosensitizers ซึ่งเป็นตัวเพิ่มประสิทธิภาพของรังสีเอ็กซ์ (Beik *et al.*, 2019) นอกเหนือจากการใช้รักษาโรคแล้วอนุภาคนาโนอาจมีบทบาทในการปรับปรุงการตรวจจับและการวินิจฉัยโรคมะเร็ง (Cherukuri *et al.*, 2010)

อนุภาคทองคำขนาดนาโน มีค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนรังสีที่ดี ซึ่งเป็นผลมาจากปรากฏการณ์คอมป์ตัน (รูปที่ 5) คือปรากฏการณ์ที่เมื่อมีการยิงโฟตอนของรังสีเอ็กซ์ให้เข้าชนกับอิเล็กตรอนของอะตอมของอนุภาคทองคำขนาดนาโน แล้วจะทำให้เกิดกระเด็นออกมาของอิเล็กตรอนและ โฟตอนที่ม่ค่าพลังงานในตัว (Butterworth *et al.*, 2012)



รูปที่ 5 ภาพประกอบของไอออนไนซ์ที่เกิดจากปรากฏการณ์คอมป์ตัน (Compton effect) และโฟโตอิเล็กทริก (Photoelectric effect) จากปรากฏการณ์คอมป์ตัน (a) โฟตอนที่เข้าชนทำให้อิเล็กตรอนถ่ายโอนพลังงานบางส่วนออกจากอะตอมของทองคำ จากปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริก (b) โฟตอนที่เข้าชนทำให้อิเล็กตรอนถ่ายโอนพลังงานบางส่วนออกจากอะตอมของทองคำเช่นเดียวกัน เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดในชั้นในของอะตอมแล้วสามารถปล่อยอิเล็กตรอนชั้นนอกออกจากอะตอมได้ (Butterworth *et al.*, 2012; Rosa *et al.*, 2017)

ในระบบทางชีวภาพ แนวทางในการเพิ่มการตอบสนองต่อการรักษา ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ระหว่างเนื้องอกและการตอบสนองของเนื้อเยื่อปกติ เรียกว่า Therapeutic ratio ซึ่งเป็นการนำวัสดุที่มีจำนวนอะตอมสูง (Z) ผ่านเข้าสู่เป้าหมาย ซึ่งอนุภาคทองคำขนาดนาโนเป็นโลหะหนัก ($Z = 79$) จัดว่าเป็น radiosensitizer ที่มีประสิทธิภาพสูงในการส่งเสริมให้มีการตอบสนองต่อการฉายรังสีที่สูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากจำนวนอะตอมสูงของอนุภาคทองคำและค่าสัมประสิทธิ์พลังงานมวลเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่ออ่อน (รูปที่ 6) มีค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนพลังงานมวลของทองคำมากกว่าเนื้อเยื่ออ่อน อยู่ที่ 10-150 เท่าในช่วงพลังงาน 40 keV (Butterworth *et al.*, 2012; Rosa *et al.*, 2017)



รูปที่ 6 ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนพลังงานมวลของโฟตอนในตัวกลางที่เป็นเนื้อเยื่ออ่อนและทองคำ (Hubbell and Seltzer, 1996)

2.5 การใช้ความร้อนมาช่วยในการรักษามะเร็ง

การใช้ความร้อน เป็นวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพในงานด้านมะเร็งวิทยา ซึ่งจัดว่าเป็นรูปแบบใหม่ของการรักษาโรคมะเร็ง ที่นำไปใช้ร่วมกับวิธีการรักษาอื่น ๆ เช่นการผ่าตัด เคมีบำบัด การฉายรังสีและการบำบัดด้วยยีน (Fiorentini and Szasz, 2006) โดยมีจุดมุ่งหวังในการเพิ่มอัตราการตอบสนองของเนื้องอกและลดสถานะการเจ็บป่วยของผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม สำหรับการรักษาโดยวิธีการให้ความร้อน สามารถส่งผลทางชีววิทยา ดังนี้ (พวงทอง ไกรพิบูลย์, 2557) คือ

1. ทำให้การไหลเวียนของหลอดเลือดขนาดเล็ก และการเข้าถึงของออกซิเจนที่ก้อนมะเร็งเพิ่มขึ้น
2. ทำให้เกิดการยับยั้งการจำลองแบบของ DNA หรือทำให้เกิดข้อผิดพลาด

3. ยับยั้งขบวนการซ่อมแซมของเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน และยับยั้งการสร้างเส้นเลือดใหม่
4. กระตุ้นให้เกิด heat-shock proteins และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้เพิ่มมากขึ้น
5. ทำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งมากขึ้น
6. ช่วยลดการแบ่งตัวของมะเร็งทำให้ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลง

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน

3.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุและอุปกรณ์

- ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน
- จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 6 หลุม
- ปิเปตต์ทีป ขนาด 1000 ไมโครลิตร
- ปิเปตต์ทีป ขนาด 200 ไมโครลิตร
- ปิเปตต์ ขนาด 5 มิลลิลิตร
- ปิเปตต์ ขนาด 10 มิลลิลิตร
- หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร
- หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร
- เครื่องควบคุมการกระจายสารละลาย (pipette controller)
- ตู้ปฏิบัติการปลอดเชื้อ
- ตู้อบเพาะเชื้อ
- เครื่องปั่นเหวี่ยง
- เครื่องอบความร้อน

3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Minimum Essential Medium (MEM) (Sigma)
- 10 % fetal bovine serum (FBS)
- 2 mM glutamine
- 1 mM Sodium-pyruvate
- 100 units/mL penicillin
- 100 μ M streptomycin
- Phosphate Buffer Saline (PBS)
- Trypsin

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์

เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 จาก American Type Culture Collection ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Minimum Essential Medium (MEM) (Sigma) ที่เสริมด้วย 10 % fetal bovine serum (FBS) 2 mM glutamine 1 mM Sodium-pyruvate 100 units/mL penicillin และ 100 μ M streptomycin ในตู้อบเพาะเชื้อ humidified incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศภายในเครื่อง 5% (Fattahi-asl *et al.*, 2016)

3.2.2 การสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนในเซลล์ MCF-7

เลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 จำนวน 2×10^5 เซลล์ ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่เสริมด้วย 10 % FBS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการแทนที่ด้วยสารละลายอนุภาคทองคำขนาดนาโน ขนาด 12 nm ความเข้มข้น 1 mM ที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่ปราศจาก FBS และนำไปบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (Rahman *et al.*, 2009) โดยแบ่งอุณหภูมิที่บ่มออกเป็น 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเซลล์ ทำการรักษาสภาพเซลล์ และนำไปวิเคราะห์เพื่อดูการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ด้วยเครื่อง Transmission Electron Microscope (TEM) รุ่น JEM-2100/HR (200 kV) ผลิตโดยบริษัท JEOL, Japan (resolution point 0.23 nm และ Lattice 0.14 nm, Single tilt และ Double tilt ($\pm 30^\circ$) holder) ที่ศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.3 การวัดอัตราการอยู่รอดของเซลล์ (Clonogenic assay)

การทดลองโดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม การทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งไม่มีการฉายรังสี การเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโน และ ความร้อน กลุ่มที่ 2 แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มที่ได้รับการฉายรังสีเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่มีการเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโนเพียงอย่างเดียว และกลุ่มที่มีการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 3 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มที่มีการฉายรังสีร่วมกับการเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโน และกลุ่มที่มีการฉายรังสีร่วมกับการให้ความร้อน และกลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่มีการให้รังสีร่วมกับการเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน

การทดลองเพื่อหาอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งเต้านมภายหลังการรักษาด้วยวิธีต่าง ๆ มีกระบวนการทำการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Rahman และคณะ และของ Hainfeld และคณะ (Rahman *et al.*, 2009; Hainfeld *et al.*, 2014) เริ่มต้นจากการเลี้ยง

เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 จำนวน 300 เซลล์ ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่เสริมด้วย 10 % FBS ภายในตู้บ่มความชื้น ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นดำเนินการทดลองตามเงื่อนไขที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ในการศึกษานี้จะใช้ความเข้มข้นของอนุภาคทองคำนาโน ขนาด 12 nm (Nanoimmunotech™) ที่ 0.01 mM และ 0.05 nM โดยจะเลี้ยงเซลล์ในสารละลายอนุภาคทองคำขนาดนาโน ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่ปราศจาก FBS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการให้ความร้อนแก่เซลล์มะเร็งเต้านม โดยจะดำเนินการทดลองตามการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Fujiwa และ Watanabe (1990) และ Mohseni และคณะ (2016) โดยจะให้ความร้อนแก่เซลล์มะเร็งเต้านมที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที ด้วยเครื่อง Vacuum oven ยี่ห้อ Heraeus รุ่น VT 5042 EK ในการทำการทดลองนี้ได้รับความอนุเคราะห์ให้เข้าใช้เครื่องมือที่ตีพิมพ์ในวารสารวิศวกรรมศาสตร์นิวเคลียร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการฉายรังสีเซลล์มะเร็งเต้านม ทำโดยการฉายรังสีเอกซ์ที่ระดับปริมาณรังสี 2 เกรย์ (Gy) ด้วยเครื่อง Linac accelerator ยี่ห้อ Varian รุ่น Clinac IX ที่แผนกรังสีวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ภายหลังจากการทดลองกับเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ตามเงื่อนไขการทดลองต่าง ๆ เสร็จสิ้น นำเซลล์มะเร็งเต้านมไปเลี้ยงไว้ในตู้บ่มความชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศภายในเครื่องที่ 5% เป็นระยะเวลา 14-18 วัน เพื่อให้มีการสร้างโคโลนี หลังจากนั้นจึงเริ่มกระบวนการรักษาสภาพเซลล์ โดยการนำอาหารเลี้ยงเซลล์ออก แล้วเติม 70% ethanol บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงนำ ethanol ออก ล้างเซลล์อีกครั้งด้วยน้ำสะอาด หลังจากนั้นทำการย้อมโคโลนีด้วยสีย้อม crystal violet บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างเซลล์ด้วยน้ำสะอาด คั่วเพลดงบนกระดาษชำระเพื่อให้แห้งเป็นเวลา 1 คืน แล้วนับจำนวนโคโลนี โดยกำหนดว่า 1 โคโลนี จะต้องประกอบด้วยกลุ่มของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่มีจำนวนอย่างน้อย 50 เซลล์ ขึ้นไป แล้วทำการคำนวณหาค่า % Survival fraction (SF) ซึ่งคำนวณได้ ดังสมการ (1) และ (2) (Munshi *et al.*, 2005)

$$PE = \frac{\text{Number of colonies formed}}{\text{Number of cells seeded}} \times 100\% \quad \text{--- (1)}$$

$$SF = \frac{PE \text{ of treated sample}}{PE \text{ of control}} \times 100\% \quad \text{--- (2)}$$

3.2.4 การวิเคราะห์การตายของเซลล์มะเร็งเต้านม

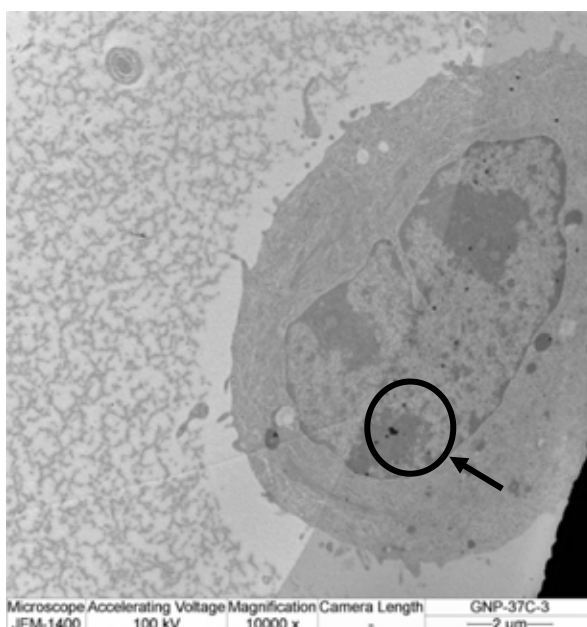
ใช้โปรแกรม IBM SPSS version 22 ในการคำนวณเปรียบเทียบอัตราการอยู่รอดของเซลล์ทั้ง 4 กลุ่ม ใช้ ANOVA กรณีมีการกระจายตัวแบบปกติ และใช้ Kruskal-Wallis Test กรณีมีการกระจายแบบไม่ปกติ โดยคำนวณค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P \leq 0.05$)

บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาการสะสมอนุภาคทองคำขนาดนาโนภายในเซลล์มะเร็งเต้านม

4.1.1 ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

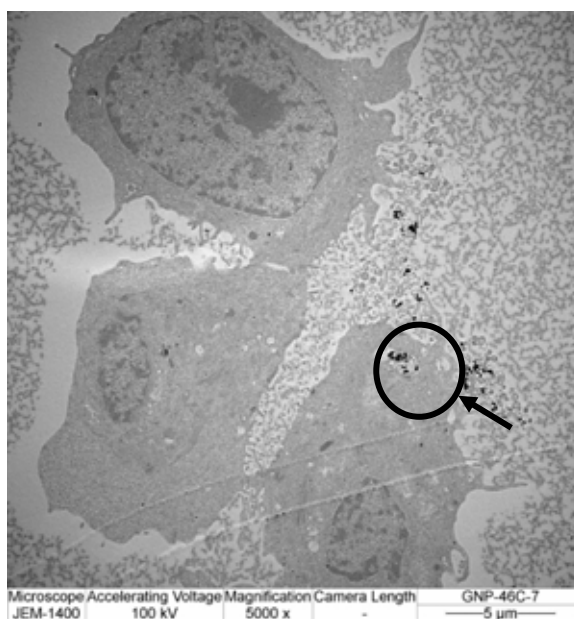
จากการตรวจสอบการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 1 nM ในเซลล์มะเร็ง MCF-7 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) พบว่ามีการสะสมอนุภาคทองคำขนาดนาโนบริเวณไซโทพลาสซึมของเซลล์ ดังแสดงบริเวณลูกศรในรูปที่ 7



รูปที่ 7 การสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนภายในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ป้อนภายใต้ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่กำลังขยาย 10000 เท่า โดยที่ ลูกศร (→) แสดงบริเวณที่มีการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนอยู่ภายในเซลล์

4.1.2 ณ อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส

จากการตรวจสอบการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 1 nM ในเซลล์มะเร็ง MCF-7 นำไปอบที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และถูกบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) จากรูปที่ 8 พบว่ามีการสะสมอนุภาคทองคำขนาดนาโนบริเวณไซโทพลาซึมของเซลล์ในปริมาณที่มากกว่า ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ดังแสดงบริเวณลูกศรในรูปที่ 8

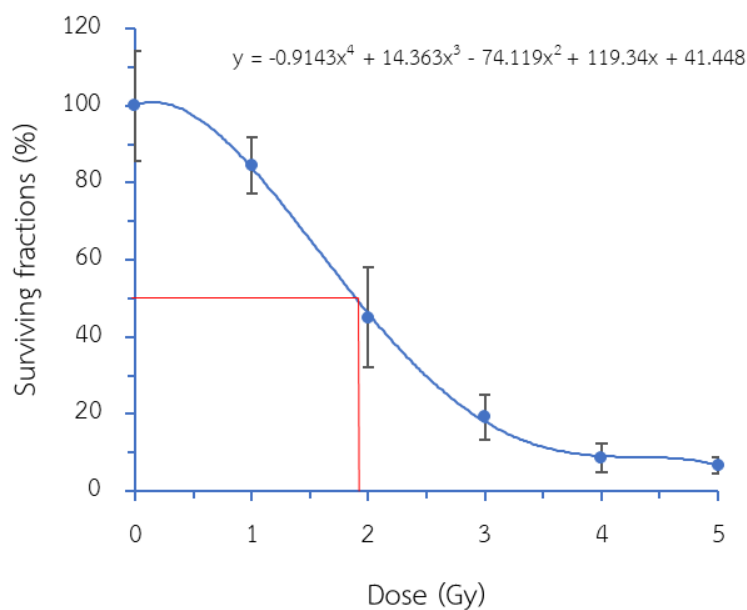


รูปที่ 8 การสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนภายในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ถูกบ่มภายใต้ อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ที่กำลังขยาย 5000 เท่า โดยที่ ลูกศร (→) แสดงบริเวณที่มีการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนอยู่ภายในเซลล์

4.2 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง

4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับการฉายรังสีเพียงอย่างเดียว

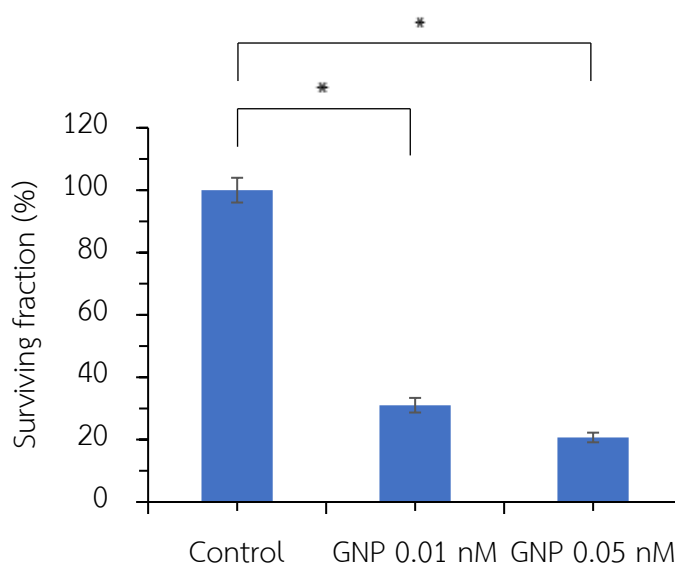
จากการทดสอบอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากการฉายรังสีที่ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 Gy และเซลล์ที่ไม่ได้รับรังสี ด้วยวิธี Clonogenis assay (n=6) พบว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับการฉายรังสีมีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 100 ± 14.2 และเซลล์ที่ได้รับการฉายรังสี 1, 2, 3, 4 และ 5 Gy มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 84.5 ± 7.3 , 45.0 ± 13.0 , 19.2 ± 5.9 , 8.5 ± 3.7 และ 6.8 ± 2.1 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 10 จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า เมื่อมีการให้ปริมาณรังสีกับเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 เพิ่มขึ้น ส่งผลให้อัตราการอยู่รอดของเซลล์ลดลง โดยปริมาณรังสีที่กระตุ้นทำให้เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) อยู่ที่ปริมาณรังสี 1.9 Gy



รูปที่ 9 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากได้รับการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีแตกต่างกัน ตั้งแต่ 0-5 Gy ที่อุณหภูมิห้อง แสดงค่าเฉลี่ย \pm ความเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย โดยทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ และใช้ linear-quadratic model เป็น model ในการเขียนกราฟ

4.2.2 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนเพียงอย่างเดียว

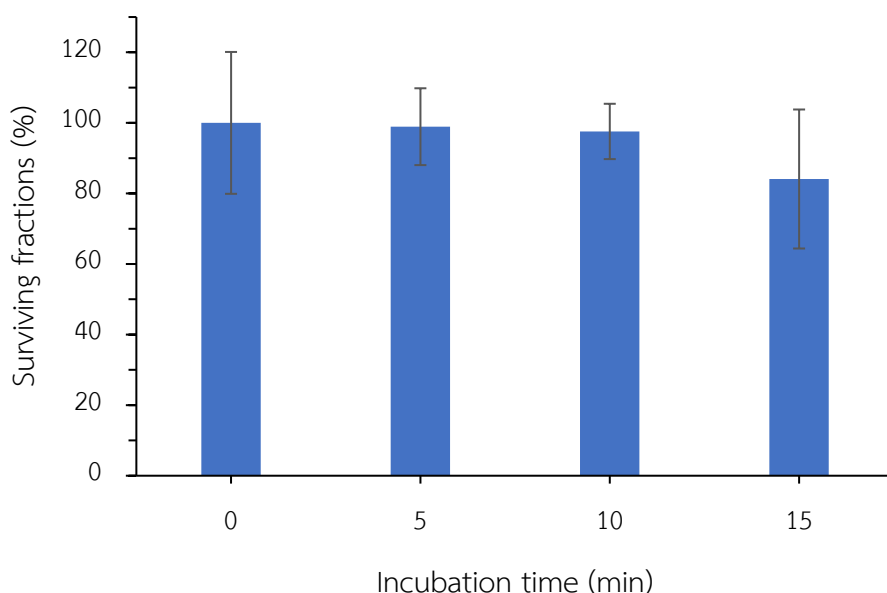
จากการทดสอบอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากการเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโน เพียงอย่างเดียว ที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ระดับความเข้มข้นของอนุภาคทองคำขนาดนาโนแก่เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 นั้นส่งผลต่ออัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม โดยที่เซลล์ที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.01 nM มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 31.0 ± 2.3 และเซลล์ที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.05 nM มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 20.7 ± 1.5 ดังรูปที่ 11 จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า อนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เป็นสัดส่วนขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นของอนุภาคทองคำขนาดนาโน



รูปที่ 10 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังจากได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนเพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโน) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ * หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

4.2.3 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว

จากการทดสอบอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที, 10 นาที, 15 นาที และเซลล์ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าเซลล์ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 100 ± 20.1 และเซลล์ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ที่เวลา 5 นาที, 10 นาที และ 15 นาที มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 98.9 ± 10.9 , 97.6 ± 7.8 และ 84.1 ± 19.7 ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังรูปที่ 11 จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า ในบ่มเซลล์ภายใต้การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลาที่แตกต่างกัน สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ได้ไม่แตกต่างกัน

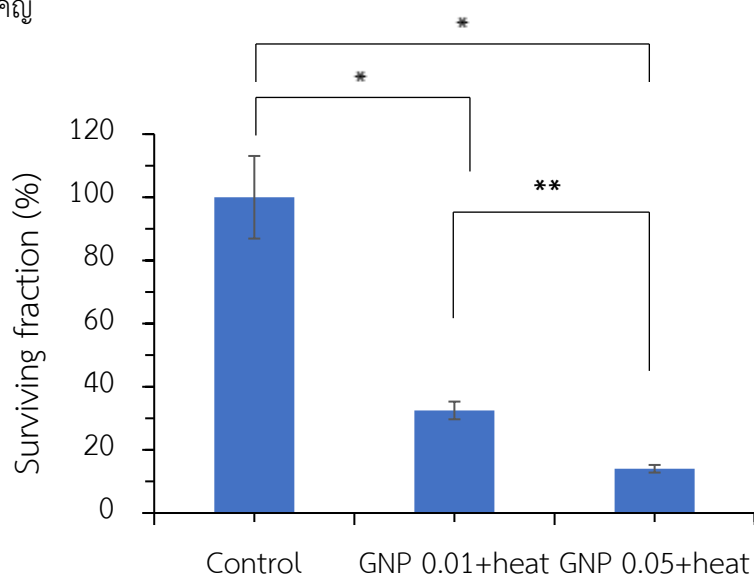


รูปที่ 11 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสและบ่มเป็นเวลา 5 นาที, 10 นาที และ 15 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ

4.2.4 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส

จากการทดสอบอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากการเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโน ที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที บ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเซลล์ที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.01 nM มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 32.48 ± 2.8 และเซลล์ที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.05 nM มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 14.0 ± 1.2 ดังรูปที่ 12 จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า อนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ใช้ร่วมกับ

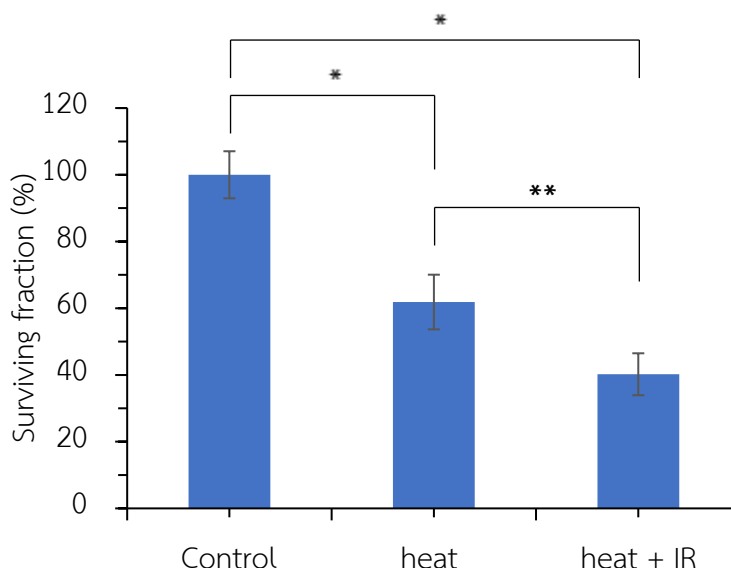
ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ได้เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 12 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังจากได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนเพียงที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโน และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ * หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และ ** หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนและความร้อนร่วมกัน

4.2.5 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสร่วมกับฉายรังสีปริมาณ 2 Gy

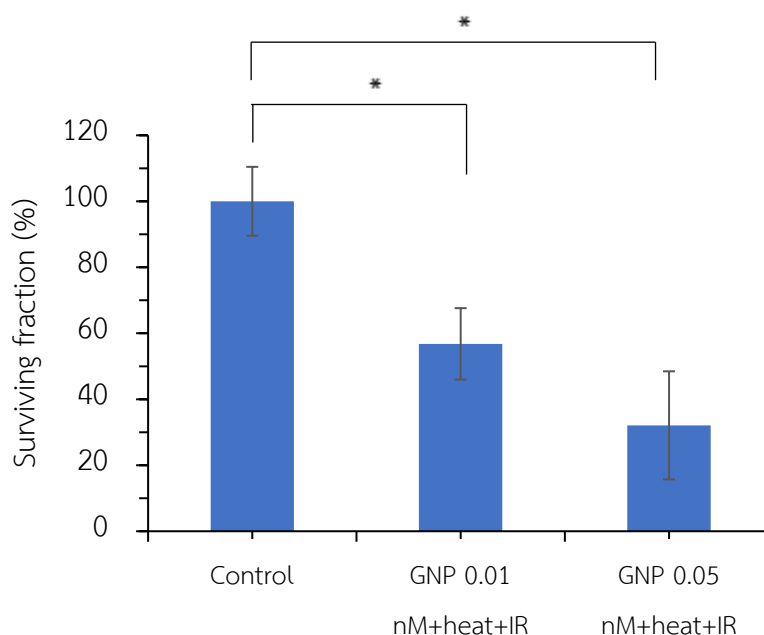
จากการทดสอบอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพียงอย่างเดียว, เซลล์ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ร่วมกับฉายรังสี 2 Gy และเซลล์ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า เซลล์ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 61.9 ± 8.2 และเซลล์ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสร่วมกับฉายรังสี 2 Gy มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 40.2 ± 6.3 ดังรูปที่ 13 จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสร่วมกับฉายรังสีปริมาณ 2 Gy สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ได้มากกว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 13 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที ร่วมกับฉายรังสีปริมาณ 2 Gy เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการฉายรังสี) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ * หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และ ** หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับความร้อนและรังสีร่วมกัน

4.2.6 ผลการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนร่วมกับ ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสและฉายรังสีปริมาณ 2 Gy

จากการทดสอบอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากการเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ฉายรังสีปริมาณ 2 Gy พบว่าเซลล์ที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.01 nM มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 56.8 ± 10.8 และเซลล์ที่ได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.05 nM มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์ คิดเป็นร้อยละ 32.1 ± 16.3 ดังรูปที่ 14 จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า อนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ใช้ร่วมกับ ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสและฉายรังสีปริมาณ 2 Gy สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ได้



รูปที่ 14 อัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 หลังจากได้รับอนุภาคทองคำขนาดนาโนที่ความเข้มข้น 0.01 nM และ 0.05 nM ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที และการฉายรังสีปริมาณ 2 Gy เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (บ่มเซลล์ที่ความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ร่วมกับฉายรังสี 2 Gy โดยที่ไม่ได้รับการให้อนุภาคทองคำขนาดนาโน) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยที่ * หมายถึง $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

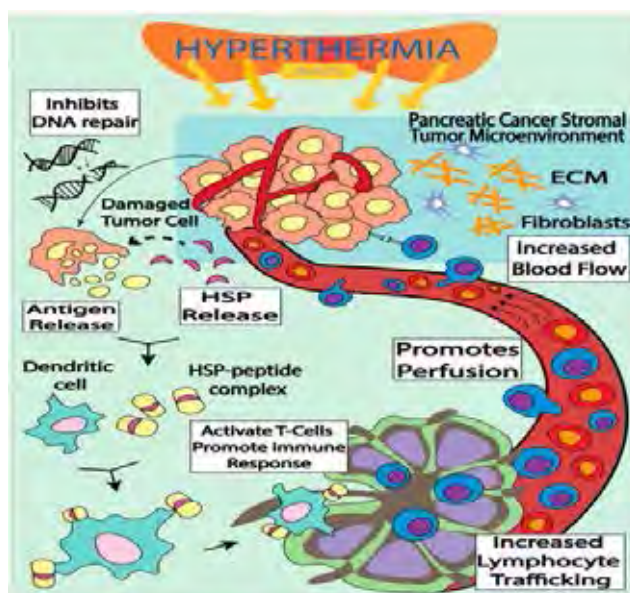
5.1 วิจารณ์ผลการศึกษา

จากงานวิจัยชิ้นนี้ได้ใช้ออนุภาคทองคำขนาดนาโน (GNP-citrate) ขนาด 12 nm ในการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) โดยที่ขนาดของอนุภาคทองคำขนาดนาโนมีผลต่อการเคลื่อนที่ผ่านเยื่อเซลล์เข้าไปสะสมในไซโทพลาสซึมและนิวเคลียสของเซลล์ ซึ่งการเข้าสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนเกิดขึ้นผ่านกระบวนการ endocytosis (Tippayamontri *et al.*, 2018) จากการศึกษาของ Janic และคณะ ได้ทำการศึกษาอนุภาคทองคำขนาด 4 nm และ 14 nm พบว่า อนุภาคทองคำขนาด 14 nm ไม่สามารถเข้าไปสะสมในนิวเคลียสของเซลล์ได้ แต่จะสะสมเฉพาะบริเวณไซโทพลาสซึมเท่านั้น ส่วนอนุภาคทองคำที่มีขนาดเล็กกว่า คือที่ขนาด 4 nm พบการสะสมของอนุภาคทองคำทั้งในนิวเคลียสและไซโทพลาสซึม อย่างไรก็ตามการเพิ่มประสิทธิภาพการเคลื่อนที่ผ่านเยื่อเซลล์ของอนุภาคทองคำขนาดนาโนนั้นสามารถทำได้โดยการให้ความร้อนแก่เซลล์ (Janic *et al.*, 2018) ซึ่งจากการวิจัยนี้พบว่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้มีการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนทั้งในนิวเคลียสและไซโทพลาสซึมที่แตกต่างกัน โดยที่เมื่อให้ความร้อนอุณหภูมิสูงแก่เซลล์ จะทำให้ช่องว่างภายในเยื่อหุ้มเซลล์มีขนาดกว้างมากขึ้น ส่งผลให้ทองคำขนาด 12 nm ที่ใช้ในการวิจัยนี้ สามารถเข้าไปสะสมภายในเซลล์ที่มากขึ้น

นอกจากนี้ ขนาดและรูปร่างของอนุภาคทองคำขนาดนาโนยังมีผลต่อการสะสมของอนุภาคทองคำขนาดนาโนด้วยเช่นเดียวกัน ซึ่งสามารถส่งผลกระทบต่อทางชีววิทยาต่อเซลล์ที่แตกต่างกัน กล่าวคือ (1) อนุภาคนาโนขนาดใหญ่ (> 50 nm) จะส่งผลกระทบต่อความเป็นพิษของเซลล์ ซึ่งจัดว่าเป็นปัญหาหลักของอนุภาคนาโนขนาดใหญ่ รวมถึงการเข้าไปสะสมภายในเนื้อเยื่อเซลล์ โดยที่จะเข้าไปสะสมของอนุภาคทองคำในตับแทน (2) อนุภาคนาโนขนาดเล็ก (< 5.5 nm) จะถูกขับออกผ่านทางไต (3) อนุภาคนาโนขนาดกลาง (20-60 นาโนเมตร) มีการดูดซึมเข้าเซลล์ได้ดีที่สุด (Janic *et al.*, 2018) และจากการศึกษาของ Tippayamontri และคณะ อนุภาคทองคำขนาดนาโนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 100 nm สามารถผ่านเยื่อเซลล์และเข้าไปสะสมที่ไซโทพลาสซึมได้ (Tippayamontri *et al.*, 2018)

งานวิจัยนี้พบว่าอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 นั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ภายหลังจากการได้รับการรักษาด้วยอนุภาคทองคำขนาดนาโน ร่วมกับการให้ความร้อน ซึ่งมีความ

สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ของ Mohammadi และคณะ ที่ทำการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง เต้านม MCF-7 ที่ได้รับการบำบัดด้วยอนุภาคทองคำขนาดนาโน ที่ขนาด 20 nm ร่วมกับการให้ความร้อน ที่ อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส (Mohammadi et al., 2018) โดยที่งานวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการให้อนุภาคทองคำขนาดนาโน ร่วมกับความร้อน ทำให้อัตราการตายของเซลล์นั้นลดลง โดยที่ความร้อนมีส่วนช่วยในการเพิ่มการไหลผ่านของอนุภาคทองคำเข้าไปสะสมภายในไซโทพลาสซึมเพิ่มมากขึ้น งานวิจัยก่อนหน้านี้ ของ Niedbala และคณะ (Niedbala et al., 2006) และจากการศึกษาของ Szasz และคณะ ได้กล่าวถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการใช้ความร้อนในเซลล์มะเร็งไว้ว่า (1) เพิ่มการไหลเวียนของเลือดและเมทาบอลิซึม โดยความร้อนไปเพิ่มการไหลเวียนเลือด รวมถึงช่วยเพิ่มการส่งออกซิเจนภายในหลอดเลือด ดังนั้นการเพิ่มความร้อนจึงทำให้เพิ่มความต้องการเมแทบอลิซึมของเซลล์ (2) เพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน โดยความร้อนไปทำลายเซลล์มะเร็ง โดยทำลายเซลล์บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเนื้องอก ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายที่เกี่ยวข้องกับรูปแบบโมเลกุล (Damage-associated molecular patterns: DAMPS) โดย DAMPS เหล่านี้จะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้จดจำการเกิดของมะเร็ง เซลล์ภูมิคุ้มกันจะช่วยกระตุ้นกระบวนการการตายของเซลล์ (apoptosis) (3) เมื่ออุณหภูมิในร่างกายสูง ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของ Heat shock protein ที่จำเพาะหรือที่เรียกว่าโปรตีนแชพเพอโรน (เช่น: HSP70) เพิ่มขึ้น (Szasz et al., 2013) ดังแสดงในรูปที่ 15



รูปที่ 15 แนวคิดและกระบวนการในการใช้ความร้อนที่สูง (Hyperthermia) ที่ส่งผลในการกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันและยับยั้งการซ่อมแซม DNA ของเซลล์มะเร็ง รวมถึงปรากฏการณ์การเกิด Heat Shock Protein (ที่มา : <https://www.mdpi.com/2072-6694/10/12/469>)

งานวิจัยนี้พบว่าอัตราการอยู่รอดของเซลล์ MCF-7 นั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญภายหลังจากการให้อนุภาคทองคำขนาดนาโน ความร้อน ร่วมกับการฉายรังสี ซึ่งเป็นที่ทราบกันอย่างกว้างขวางแล้วว่า อนุภาคทองคำขนาดนาโน สามารถนำไปใช้เป็นตัวเพิ่มประสิทธิภาพของรังสี หรือที่เรียกว่า radiosensitizer ซึ่งอนุภาคทองคำขนาดนาโนนั้นจะช่วยเพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระภายในเซลล์มะเร็ง ให้มีสัดส่วนเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นเมื่อมีการฉายรังสีให้แก่เซลล์มะเร็ง รังสีจะเข้าไปทำอันตรกิริยากับตัวกลางด้วยวิธีแบบโดยอ้อม เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะไปเหนี่ยวนำก่อให้เกิดมีความเสียหายต่อดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งที่เพิ่มขึ้น นำไปสู่การตายของเซลล์มะเร็งที่สูงมากยิ่งขึ้น (Beik *et al.*, 2019) นอกจากนี้ ผลกระทบทางชีววิทยาภายหลังจากการรักษาร่วมด้วยการให้อนุภาคทองคำขนาดนาโน ความร้อน และรังสี สามารถอธิบายได้จากการศึกษาของ Beik และคณะ (Beik *et al.*, 2019) ซึ่งรายงานว่ อนุภาคทองคำขนาดนาโนนั้นสามารถถูกนำไปใช้เป็นตัวดูดซับความร้อน ซึ่งจะส่งผลให้บริเวณภายในเซลล์ที่มีอนุภาคทองคำขนาดนาโนสะสมอยู่นั้นเกิดความร้อนเพิ่มขึ้นได้ ส่วนหลักการการนำอนุภาคทองคำขนาดนาโนไปใช้รักษาทางคลินิกร่วมกับ ความร้อน และรังสีรักษานั้นสามารถกล่าวได้ว่า อนุภาคทองคำขนาดนาโนจะเข้าไปสะสมอยู่บริเวณรอบเส้นเลือดของเนื้องอก เมื่อให้ความร้อนจะไปส่งผลให้หลอดเลือดได้รับความเสียหายโดยทำให้เกิดเป็นช่องว่างขนาดใหญ่ขึ้น รวมถึงส่งผลให้อนุภาคทองคำขนาดนาโนมีความไวต่อยาเคมีบำบัดหรือรังสีมากขึ้น รวมทั้งยังสามารถกล่าวได้ว่า โดยธรรมชาติหลอดเลือดของเนื้องอกจะมีหลอดเลือดที่มีขนาดเล็ก ส่งผลทำให้การไหลเวียนเลือดลดลง รวมทั้งส่งผลให้เลือดเกิดภาวะเป็นกรดและขาดออกซิเจนตามมาได้ ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการต่อต้านต่อการใช้รังสีรักษา ดังนั้น การใช้ความร้อนสูงแก่ก้อนเนื้องอก จะส่งผลให้หลอดเลือดเกิดการขยายตัวและเพิ่มการไหลเวียนของเลือด ส่งผลให้เซลล์มะเร็งมีความไวต่อรังสีมากยิ่งขึ้น ดังนั้น จึงสามารถทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็งด้านมประสบความสำเร็จมากยิ่งขึ้น

5.2 สรุปผลการศึกษา

การเติมอนุภาคทองคำขนาดนาโนร่วมกับการให้ความร้อนและการฉายรังสี สามารถช่วยเพิ่มการตายของเซลล์มะเร็งเต้านมได้ โดยการให้ความร้อนมีส่วนช่วยในการทำให้หลอดเลือดของเซลล์มะเร็งขยายตัวเกิดเป็นช่องว่าง ทำให้อนุภาคทองคำขนาดนาโนสามารถเข้าไปภายในหลอดเลือดได้ เมื่อฉายรังสีเข้าไปกระทบอนุภาคทองคำขนาดนาโนซึ่งเป็นตัวเพิ่มประสิทธิภาพของรังสีให้เข้าไปทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้มากขึ้น

5.3 การศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

จากงานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการศึกษาอนุภาคทองคำขนาดนาโนขนาด 12 nm เพียงขนาดเดียว ดังนั้นในส่วนของการศึกษาเพิ่มเติมอาจศึกษาอนุภาคทองคำขนาดนาโนในขนาดอื่น ๆ เปรียบเทียบอัตราการอยู่รอดของเซลล์ และในงานวิจัยนี้ศึกษาเฉพาะในมะเร็งเต้านมเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในมะเร็งกลุ่มอื่น ๆ เช่น มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ มะเร็งตับ เป็นต้น

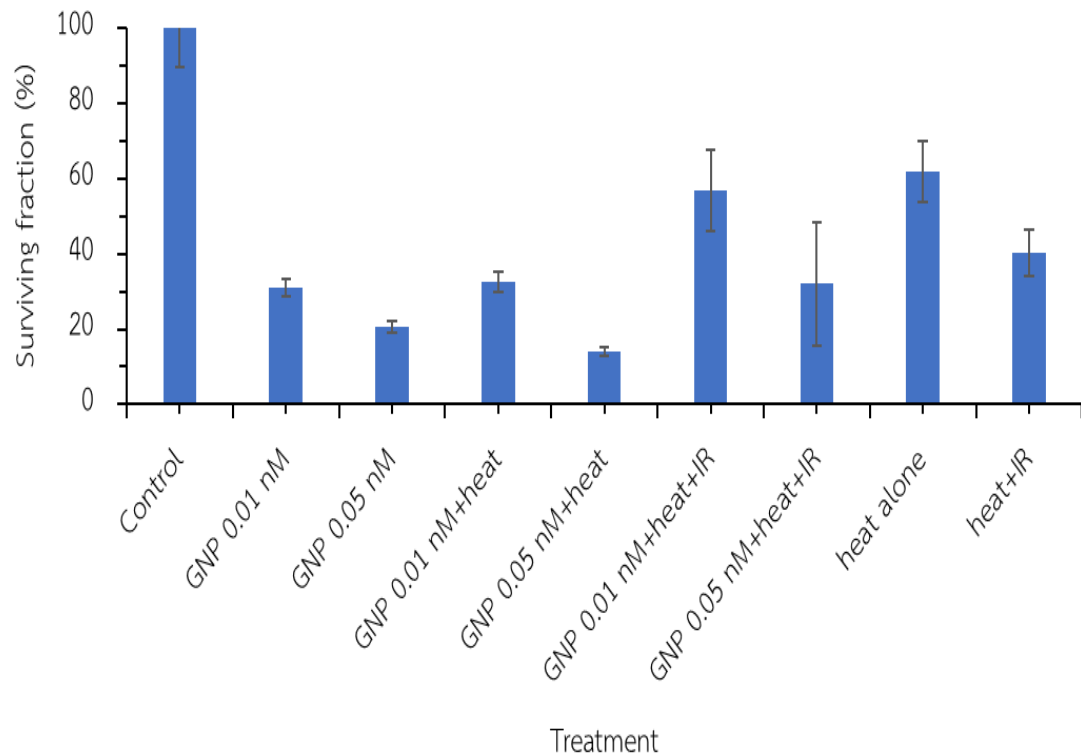
เอกสารอ้างอิง

- ชวลิต เลิศบุษยานุกุล. รังสีรักษาร่วมสมัย. 2553. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : สาขารังสีรักษา และมะเร็งวิทยา ภาควิชารังสีวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พวงทอง ไกรพิบูลย์. 2557 [ออนไลน์]. การรักษาโรคมะเร็งด้วยความร้อน (Hyperthermia). แหล่งที่มา : <http://haamor.com/th/คุยกับหมอรักษาโรคมะเร็ง-63/>. (12 มิถุนายน 2562).
- ภรณ์ เหล่าอิทธิ และ นภา ปริชญานิติกุล. มะเร็งเต้านม : ระบาดวิทยา การป้องกันและแนวทางการตรวจคัดกรอง. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 60, 5 (กันยายน-ตุลาคม 2559) : 497 – 507.
- ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล. มะเร็งเต้านม. 2555. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : สาขาศัลยศาสตร์ศีรษะ คอและ เต้านม ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- มณีนาด เรืองสกุล. 2560. [ออนไลน์]. การฉายรังสีมะเร็งเต้านม รู้ไหม? ว่าไม่อันตรายอย่างที่คิด. แหล่งที่มา : https://www.phyathai.com/article_detail/1985/th/. (12 มิถุนายน 2562)
- มณเฑียร มรุตกรกุล. 2562. [ออนไลน์]. โรคมะเร็งเต้านม" มะเร็งอันดับ 1 ของผู้หญิง. แหล่งที่มา : <http://www.sikarin.com/content/detail/136/>. (12 มิถุนายน 2562).
- วินัย พอล. 2562. [ออนไลน์]. ทำความเข้าใจ “โรคมะเร็ง” และวิธีการรักษา. แหล่งที่มา : https://www.phyathai.com/article_detail/2940/th. (12 มิถุนายน 2562).
- สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2561. ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2559. (กรุงเทพมหานคร : พรทรีพีการพิมพ์).
- สุธาวัลย์ สุธาพงศ์. 2562. [ออนไลน์]. เจ็บเต้านม คลำเจอก้อน อย่างนึงนอนใจ...กับสัญญาณเตือน “มะเร็งเต้านม”. แหล่งที่มา : https://www.phyathai.com/article_detail/2968/th/. (29 พฤษภาคม 2562).
- อภิวัฒน์ ชมภูสอ. 2556. โครงสร้างระดับนาโนของทอง : การสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้ในการรักษา โรคมะเร็ง Gold Nanostructures : Synthesis and Applications for Cancer Therapy. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Beik, J., Khateri, M., and Khosravi, Z. *et al.*, 2019. Gold nanoparticles in combinatorial cancer therapy strategies. *Coordination Chemistry Reviews*. 387 : 299-324.

- Butterworth K.T., McMahon, S.J., and Currellab, F.J. *et al.*, 2012. Physical basis and biological mechanisms of gold nanoparticle Radiosensitization. *Nanoscale*. 4(16) : 4830-4838.
- Cherukuri, P., Glazer, E.S., and Curley S.A., 2010. Targeted hyperthermia using metal nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 62(3) : 339-345.
- Fattahi-asl, J., Karbalaee, M., and Sanatizadeh, M. *et al.*, 2016. Synergetic effects of silver and gold nanoparticles in the presence of radiofrequency radiation on human kidney cells. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 6(4) : 231–237.
- Fiorentini, G., and Szasz, A. 2006. Hyperthermia today: Electric energy, a new opportunity in cancer treatment. *Journal of cancer research and therapeutics*. 2(2) : 41-46.
- Fujiwara, K. and Watanabe, T., 1990. Effects of Hyperthermia, Radiotherapy and Thermoradiotherapy on Tumor Microvascular Permeability. *Acta Pathologica Japonica*. 40(2) : 79-84.
- Hainfeld, J.F., Lin, L., and Slatkin, D.N. *et al.*, 2014. Gold nanoparticle hyperthermia reduces radiotherapy dose. *Nanomedicine*. 10(8) : 1609-1617.
- Jain, S., Hirst, D.G., and O'Sullivan, J.M., 2012. Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *The British Journal of Radiology*. 85(1010) : 101-113.
- Janic, B., Liu, F., Bobbitt K.R. *et al.*, 2018. Cellular Uptake and Radio-sensitization Effect of Small Gold Nanoparticles in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. 9(3) : 499.
- Mohammadi, A., Hashemi, B., and Mahdavi, S. *et al.*, 2018. [online]. Effect of the hyperthermia on the treatment of MCF-7 breast cancer cell line in the presence of gold nanoparticles. website : <https://www.researchgate.net/publication/323258376>. (Cited 2019 Jun 4).
- Mohseni, N., Sarvestani, F.S., and Ardestani, M.S. *et al.*, 2016. Inhibitory effect of gold nanoparticles conjugated with interferon gamma and methionine on breast cancer cell line. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(2) : 173-178.

- Munshi, A., Hobbs, M. and Meyn, R.E., 2005. Clonogenic cell survival assay. *Methods in Molecular Medicine*. 110 : 21-28.
- Niedbala, M., Mcnamee, J.P., and Raaphorst, G.P., 2006. Response to pulsed dose rate and low dose rate irradiation with and without mild hyperthermia using human breast carcinoma cell lines. *International Journal of Hyperthermia*. 22(1) : 61–75.
- Rahman, W.N., Bishara, N., and Ackerly, T. *et al.*, 2009. Enhancement of radiation effects by gold nanoparticles for superficial radiation therapy. *Nanomedicine*. 5(2) : 136-142.
- Rosa, S., Connolly, C., and Schettino, G. *et al.*, 2017. Biological mechanisms of gold nanoparticle radiosensitization. *Cancer Nanotechnology*. 8(1) : 1-25.
- Szasz, A., Iluri, N. and Szasz, O., 2013. Local Hyperthermia in Oncology—To Choose or not to Choose? In: Huilgol, N., Ed., *Hyperthermia*, InTech, Winchester, 1-82
- Tippayamontri, T., Shi, M., and Paquette B. *et al.*, 2018. Radiosensitizer Induced by Ultra-stable PVA-coated Gold Nanoparticles: A Study with Fricke Dosimeter, Plasmid DNA and F98 Glioma cells. *Cancer Nanomedicine*, 8 : 1-14.
- Wang, C., Jiang, Y., and Li, X. *et al.*, 2015. Thioglucose-bound gold nanoparticles increase the radiosensitivity of a triple-negative breast cancer cell line (MDA-MB-231). *Breast Cancer*. 22(4) : 413-420.
- World Health Organization. 2015. Breast cancer. [online]. Retrieved from World Health Organization website : <http://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/breast-cancer/en/>. (Cited 2018 Apr 6).
- World Health Organization. 2018. What is cancer?. [online]. Retrieved from World Health Organization website : <http://www.who.int/cancer/en/>. (Cited 2018 Apr 6).

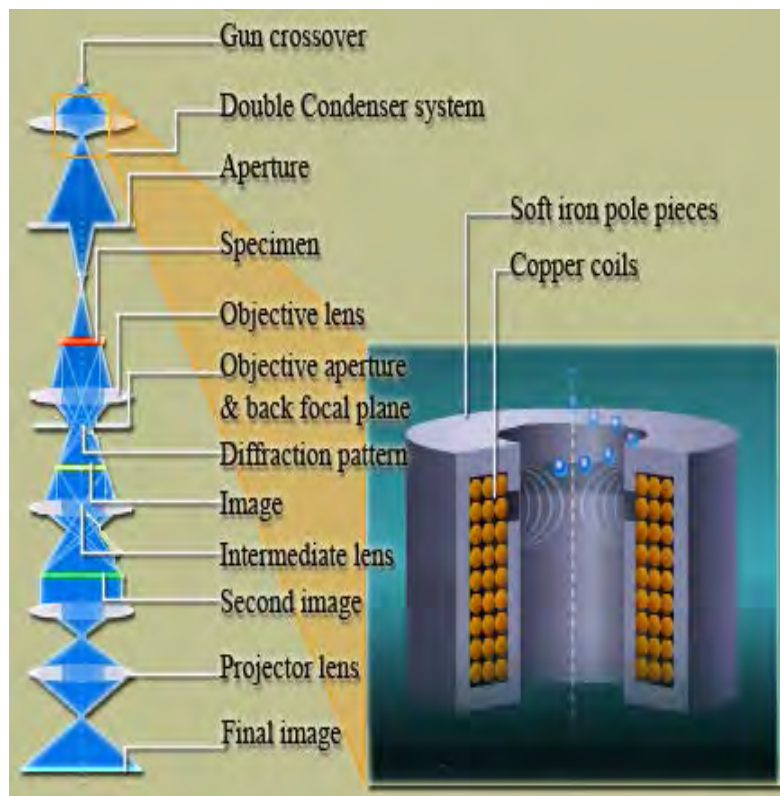
ภาคผนวก



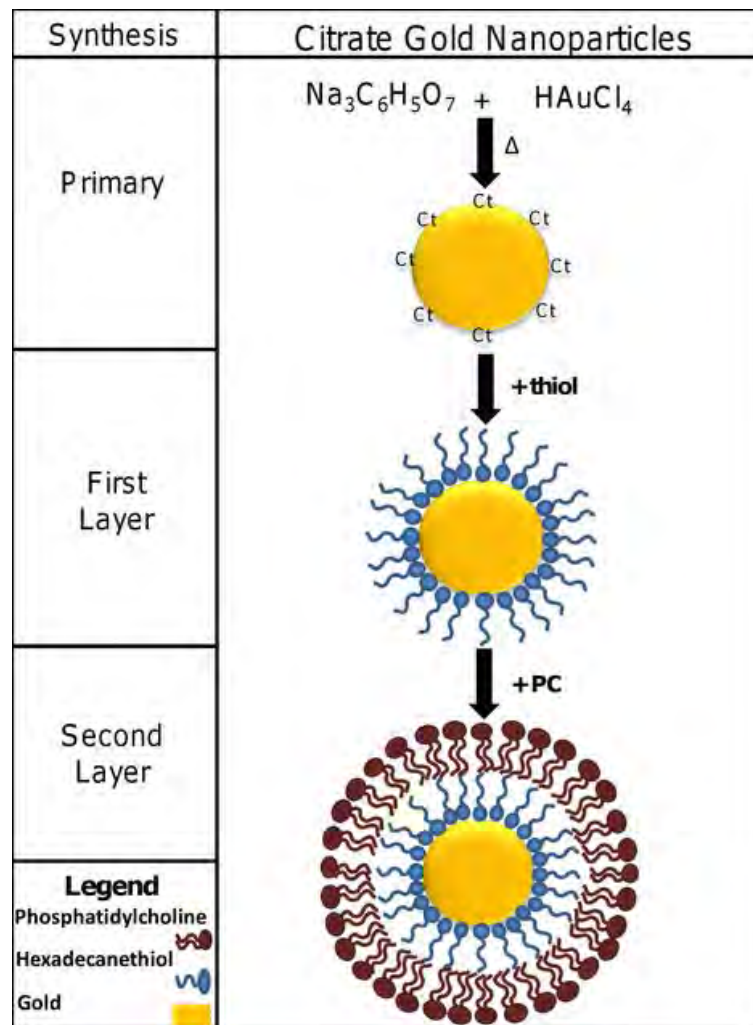
รูปที่ S1 อัตราการอยู่รอดเฉลี่ยของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ภายหลังจากได้รับการรักษาด้วยวิธีการรักษาร่วมของ รังสี อนุภาคทองคำขนาดนาโน และ ความร้อน โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่มีการให้รังสี อนุภาคทองคำขนาดนาโน และความร้อน) แสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทุกวิธีการทดลองทั้งหมด 6 ชั่วโมง



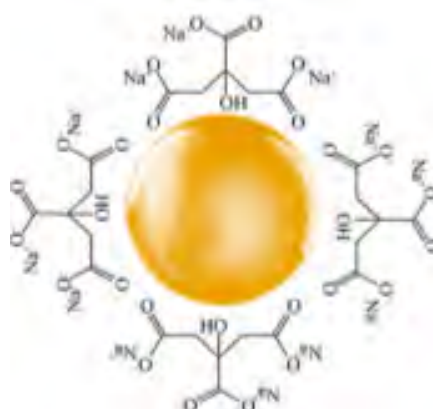
รูปที่ S2 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope : TEM)
รุ่น JEM-2100/HR (200 kV) (ที่มา : <http://www.nano.pitt.edu/node/488>)



รูปที่ S3 หลักการทำงานของ TEM : แหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนมาจาก electron gun อิเล็กตรอนจะผ่าน condenser lens เพื่อรวมแสงให้ตกกระทบบยังตัวอย่างที่ตัดเป็นแผ่นบาง ๆ ลำอิเล็กตรอนผ่านตัวอย่างไปยัง objective lens และ intermediate lens ซึ่งทำหน้าที่ในการขยายภาพ ขยายต่อโดย projector lens ทำการฉายภาพขยายลงบนฉากเรืองแสง (screen) หรือแผ่นฟิล์ม
(ที่มา : <http://science.buu.ac.th/part/mc/uploads/home/EM.pdf>)



รูปที่ S4 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำขนาดนาโนด้วยโซเดียมซิเตรต (ที่มา : <https://journals.plos.org/plosone/article/figure?id=10.1371/journal.pone.0129172.g001>)



รูปที่ S5 โครงสร้างอนุภาคทองคำขนาดนาโน (GNP-citrate) (ทางซ้าย) (ที่มา : <http://www.ades.pe/nitgold-cit-nanoparticulas-de-oro-recubiertas-de-citrato/>, ส า ร ล ะ ล าย อนุภาคทองคำขนาดนาโนขนาด 12 nm ความเข้มข้น 5.8 nM ที่ใช้สำหรับงานวิจัยนี้ (ทางขวา)