



การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ออนุภาคนาโน

พัชราภรณ์ กิวยวัฒน์^{1*}, สุกัญญา ศรีจำปา², ปาริชาติ บัวโรย^{3,4}

Received: June 8, 2016

Revised & Accepted: July 21, 2016

บทคัดย่อ

นาโนเทคโนโลยีถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันทั้งทางด้านอุตสาหกรรม วิทยาศาสตร์สุขภาพ และการแพทย์ เช่น วัสดุนำส่งยา วัคซีน เครื่องสำอาง วัสดุทดแทนอวัยวะหรือต่อเชื่อมกับเนื้อเยื่อ ไบโอเซนเซอร์ เป็นต้น ในการใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ มนุษย์อาจต้องสัมผัสกับอนุภาคนาโนโดยตรงและทางอ้อม อย่างไรก็ตาม อนุภาคนาโนยังคงเป็นสิ่งแปลกปลอมภายนอกที่เข้าสู่ร่างกาย อาจหลีกเลี่ยงมิได้ที่ต้องเผชิญกับการทำหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกัน การศึกษาการตอบสนองของร่างกายต่ออนุภาคนาโนจึงมีความสำคัญ โดยกลไกของระบบภูมิคุ้มกันในการตอบสนองต่ออนุภาคนาโนนั้นมีความสัมพันธ์กับคุณลักษณะของอนุภาคที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น ทั้งขนาด รูปร่าง และประจุของอนุภาคนาโน รวมทั้งการประยุกต์เชื่อมต่อโมเลกุลต่างๆ เป็นตัวกำหนดรูปแบบการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบกระตุ้นการตอบสนอง (immunostimulation) และยับยั้งการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) บทความนี้ได้รวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันต่ออนุภาคนาโน อันจักเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาอนุภาคนาโนเพื่อจะนำไปใช้ในด้านสุขภาพอย่างปลอดภัย ตลอดจนประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนในอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในชีวิตรประจำวัน

คำสำคัญ: นาโนเทคโนโลยี, อนุภาคนาโน, การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน

¹กลุ่มวิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁴ศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Immunity in responses to nanoparticles

Patcharaporn Tipayawat^{1*}, Sukanya Srijampa², Parichart Boueroy^{3,4}

Abstract

Nanotechnology is widely used for current industry, health sciences and medicine in the different utilization such as drug delivery materials, safe vaccines, cosmetics, material replacement organs or tissue, biosensors. Human may have chance to expose to nanoparticles directly or indirectly. The understanding of immune system in response to nanoparticles is important. The mechanism of the immune responses are related to the characteristics of nanoparticles such as sizes, shapes, surface charges, and molecular connectivity on nanoparticles. Interestingly, these properties can be conducted on to the immune responses in both immunostimulation and immunosuppression. This review article focuses on the functions and effects of the immune system in responses to nanoparticles. Therefore, this knowledge gives advantage for the development of nanoparticles for application in health, as well as in devices used in everyday life, in order to promote a better quality of life.

Keywords: Nanotechnology, Nanoparticles, Immune Response

¹Division of Clinical Microbiology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

²Graduate School, Khon Kaen University

³Department of Microbiology Faculty of Medicine, Khon Kaen University

⁴Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Khon Kaen University

*Corresponding author: (e-mail: patchatip@kku.ac.th)

บทนำ

เทคโนโลยีนาโนเป็นวิทยาศาสตร์แขนงหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาและพัฒนาวัสดุนาโนในระดับนาโนเมตร ประมาณ 1-1,000 นาโนเมตร (nanometer; nm) การเรียงตัวของอนุภาคนาโนที่ต่างกันทำให้คุณสมบัติทางกายภาพเชิงฟิสิกส์ เคมี และชีวภาพของวัสดุนาโนแตกต่างกัน นำไปสู่การประยุกต์ใช้งานที่หลากหลาย ปัจจุบันวัสดุนาโนถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งทางการแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น วัสดุเพื่อการนำส่งยา วัคซีน เครื่องสำอาง ไบโอเซนเซอร์ (biosensors) องค์ประกอบโครงสร้างกระดูก และเทคโนโลยีเพื่อทำให้เกิดภาพเพื่อการวินิจฉัยและรักษาเป็นต้น^(1,2) ในการนำวัสดุนาโนมาใช้ในชีวิตประจำวันหรือทางการแพทย์นั้น ย่อมมีการสัมผัสกับร่างกายมนุษย์ทั้งภายนอกหรือเข้าสู่ร่างกาย จึงหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน

ระบบภูมิคุ้มกันเป็นระบบหนึ่งที่สำคัญของสิ่งมีชีวิตทำหน้าที่ในการรับรู้สิ่งแปลกปลอมที่สัมผัสหรือเข้าสู่ร่างกาย อนุภาคนาโนถูกนำมาประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน ล้วนมีโอกาสสัมผัสหรือเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ผ่านช่องทางการนำไปใช้รูปแบบต่างๆ เช่น การได้รับผ่านทางเดินอาหาร ผิวหนัง และอากาศ ทั้งทางตรงและทางอ้อม⁽³⁾ เมื่อร่างกายต้องเผชิญกับสิ่งแปลกปลอมต่างๆ รวมทั้งอนุภาคนาโน ระบบภูมิคุ้มกันจะพยายามทำลายหรือตอบสนอง เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมให้หมดไปจากร่างกายโดยเร็ว

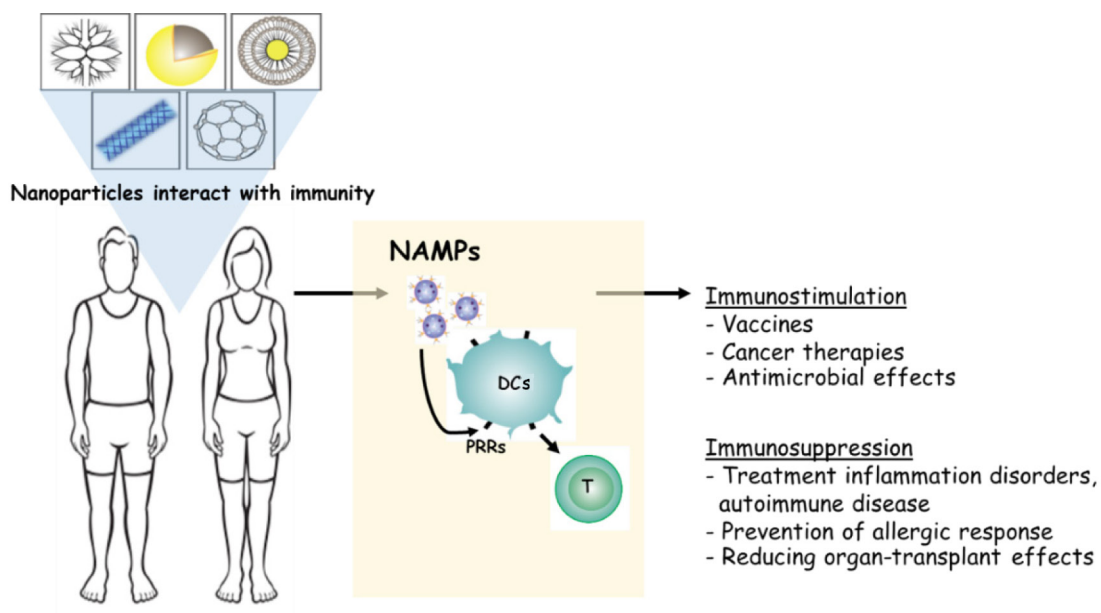
การทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ประกอบด้วย 2 ระบบย่อย คือ ภูมิคุ้มกันแบบ innate และ adaptive immunity โดย innate immunity เปรียบเสมือนปราการด่านแรกของร่างกายที่ทำหน้าที่รับรู้และทำลายสิ่งแปลกปลอมการรับรู้ต่อสิ่งแปลกปลอมอาศัยโปรตีนตัวรับจดจำรูปแบบ (pattern recognition receptors, PRRs) ซึ่ง PRRs ที่สำคัญ ได้แก่ Toll-like receptors (TLRs), NOD-like receptors (NLRs) และ RIG-I-like receptors (RLRs) รับรู้ต่อรูปแบบโครงสร้างโมเลกุลตามธรรมชาติของสิ่งแปลกปลอมที่เรียกว่า pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) เช่น ไลโปโปรตีน ไลโปโพลีแซคคาไรด์ และสารพันธุกรรมของเชื้อโรค นอกจากนี้ยังรับรู้ต่อรูปแบบโมเลกุลของเซลล์ที่ถูกทำลายหรือเซลล์ตาย (damage-associated molecular patterns; DAMPs) หรือ alarmins ได้แก่ สารพันธุกรรมของเซลล์ที่ตาย โปรตีน หรือคาร์โบไฮเดรตที่ถูกปล่อยออกมาจากเซลล์

เป็นต้น⁽⁴⁾ และจากนวัตกรรมในปัจจุบันที่มีการพัฒนาอนุภาคนาโนเพื่อใช้ประโยชน์ ด้วยคุณสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ ไม่ว่าจะเป็นองค์ประกอบ อาทิเช่น ขนาด รูปร่าง พื้นผิวประจุ และคุณสมบัติการละลาย อาจมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันจากการรับรู้ต่อส่วนประกอบของโมเลกุล (nanoparticle-associated molecular patterns (NAMPs))⁽⁵⁾ กระตุ้นการตอบสนองของเซลล์ในระบบนี้ ได้แก่ นิวโตรฟิล (neutrophils) โมโนไซต์ (monocytes) และแมคโครฟาจ (macrophages) ในกลุ่มฟาโกไซติกเซลล์ (phagocytic cells) นอกจากนี้ยังมี dendritic cells (DCs) และ natural killer cells (NK cells) เป็นเซลล์ที่มีบทบาทในระบบ innate immunity

สำหรับอีกระบบหนึ่งที่มีความสำคัญของภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ระบบ adaptive immunity ประกอบด้วยประเภทเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ ได้แก่ ทีเซลล์และบีเซลล์ (lymphocytes; T cell และ B cell) ทำหน้าที่ในการตอบสนองแบบเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกายหรือวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อหรือส่วนประกอบของเชื้อชนิดนั้นๆ และเมื่อมีเชื้อโรคชนิดเดิมเข้าสู่ร่างกายอีกครั้ง ร่างกายจะตอบสนองในรูปแบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immunity) 2 แบบ คือ ภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (cell-mediated immunity) จากการทำงานของ specific T cell และภูมิคุ้มกันแบบพึ่งแอนติบอดี (antibody หรือ humoral immunity) จากการทำงานของ specific B cell ผลิตสารต่อต้านแบบเฉพาะที่เรียกว่า แอนติบอดี (antibody) เพื่อต่อต้านเชื้อโรคชนิดนั้นๆ

โดยกลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันต้องอาศัยบทบาทการทำหน้าที่ของเซลล์ทั้งในระบบ innate และ adaptive immunity ซึ่งเชื่อมโยงสัมพันธ์ต่อการกระตุ้นการตอบสนองของกันและกัน เช่น ในการทำงานของ T cell รับรู้ต่อแอนติเจนแบบจำเพาะได้ โดยอาศัยโปรตีนรับรู้ที่จำเพาะ (receptor) บนเยื่อหุ้มเซลล์ของ T cell ซึ่งจำเพาะต่อแอนติเจนชนิดเดียวเท่านั้น ในการรับรู้ต่อแอนติเจนของ T cell จะเกิดขึ้นเมื่อแอนติเจนหรือเซลล์แปลกปลอมถูกจับกิน (phagocytosis) ด้วย macrophage cells หรือ DCs ซึ่งสิ่งแปลกปลอมที่ถูกจับกินอาจเป็นเซลล์ของเชื้อไวรัส แบคทีเรีย หรือเซลล์มะเร็ง เมื่อเชื้อโรคหรือองค์ประกอบเซลล์มะเร็งเข้าสู่เซลล์ที่จับกินจะถูกย่อยสลายเป็นโปรตีนสายสั้นๆ ที่เรียกว่า เปปไทด์ (antigen processing) และนำเสนอให้กับ T cell ผ่านทาง major histocompatibility complex (MHC) class

I หรือ II ขึ้นกับชนิดของแอนติเจน และเมื่อ T cell รับรู้ต่อแอนติเจนที่ตัวรับจำเพาะบนผิวของเซลล์แล้วพัฒนาเป็น specific T cell ที่ทำงานได้ดี สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น และ specific T cell จะเคลื่อนที่ไปยังตำแหน่งที่แอนติเจนเข้ามาในร่างกาย เพื่อที่จะต่อสู้กับแอนติเจนชนิดเดียวกันกับแอนติเจนที่เคยได้รับ การทำงานของ T cell มีหลายลักษณะ ได้แก่ ไซโตทอกซิกทีเซลล์ (cytotoxic T cells) เฮลเปอร์ทีเซลล์ (helper T cells) และซัพเพรสเซอร์ทีเซลล์ (suppressor T cells) โดยขึ้นกับชนิดของแอนติเจนที่มากระตุ้น^(6, 7) จะเห็นได้ว่าระดับหรือรูปแบบการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่ต่างกัน ส่งผลต่อการทำงานของภูมิคุ้มกันทั้งในแง่กระตุ้นหรือลดการทำงานซึ่งขึ้นกับลักษณะหรือชนิดของสิ่งแปลกปลอมที่รับรู้



รูปที่ 1 การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่อาจเกิดขึ้นได้ทั้งในแบบการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน สามารถควบคุมความเป็นพิษและลักษณะการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันตามประเภทของอนุภาคนาโนหรือวัสดุนาโน หรือร่วมกับชีวโมเลกุลที่นำมาเชื่อมต่อบนอนุภาค [NAMPs; nanoparticle-associated molecular patterns, PRRs; pattern recognition receptors, DCs; dendritic cell, T; lymphocytic T cell] (ดัดแปลงจาก Fadeel (2012) และ Kononenko และคณะ (2015))

ขนาดของอนุภาคนาโนที่มีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Effect of nanoparticle size to immune responses)

ปัจจุบันมีหลายการศึกษาที่ชี้ให้เห็นความสัมพันธ์ของขนาดของอนุภาคนาโนต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน เพราะเป็นหนึ่งในปัจจัยหลักที่ส่งผลโดยตรงต่อปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการกระตุ้นการจับกินหรือการกระตุ้นการสร้างเคโมไคน์และไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการ

การสืบค้นองค์ความรู้จากงานวิจัยหรือบทความวิจัยปัจจุบันที่เกี่ยวกับความแตกต่างของอนุภาคนาโน โดยมุ่งเน้นอนุภาคนาโนของทอง (gold nanoparticles; AuNPs) และเงิน (silver nanoparticles; AgNPs) ทั้งขนาดอนุภาค รูปร่าง และประจุ ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันทั้งในแบบของการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulation) เช่น การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ active cells การสร้างสารน้ำเคโมไคน์ (chemokines) และไซโตไคน์ (cytokines) ที่เหนี่ยวนำการอักเสบ เป็นต้น และการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) เช่น การกระตุ้นการทำงานของ suppressive cells และลดการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เป็นต้น (**รูปที่ 1**) รวมทั้งตัวอย่างการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีทางการแพทย์

ตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งกลไกที่เกี่ยวข้องอาจนำไปสู่การอักเสบ การเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์ หรือชักนำให้เกิดการตายของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ในบทความนี้จะนำเสนอความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคนาโนต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโดยเรียงลำดับการศึกษาการตอบสนองของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันต่ออนุภาคนาโนขนาดเล็กไปใหญ่ และตามประเภทวัสดุของอนุภาคนาโน (**ตารางที่ 1**)

ตารางที่ 1 ขนาดของอนุภาคนาโนเงินและทองต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

ชนิดของอนุภาค	ขนาด	ตัวอย่างที่ศึกษา	ผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน	เอกสารอ้างอิง
อนุภาคนาโนเงิน			Immunostimulation	
	5 และ 28 nm	Monocytes, peripheral mononuclear cells (PBMCs)	กระตุ้นการสร้าง IL-1 β , อนุภาคนาโนเงินที่ขนาด 5 nm มีความเป็นพิษมากกว่าขนาด 28 nm	Yang และคณะ (2012)
	15, 30 และ 55 nm	Rat alveolar macrophages	อนุภาคขนาด 15 nm มีความสามารถในการกระตุ้นการสร้าง TNF- α , MIP-2 และ IL-1 β มากกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า	Carlson และคณะ (2008)
	68.9 nm	RAW 264.7 macrophages	กระตุ้นการสร้าง ROS และ TNF- α	Park และคณะ (2009)
	20, 80 และ 113 nm	RAW 264.7 macrophages	อนุภาคขนาดเล็กที่ 20 nm เป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่กว่า, อนุภาคทั้งสามขนาดมีความสามารถในการกระตุ้น IL-6, TNF- α และ G-CSF	Park และคณะ (2011)
อนุภาคนาโนทอง			Immunostimulation	
	3, 6 และ 40 nm	Macrophages	กระตุ้นให้มีการสร้าง IL-1, IL-6 และ TNF- α	Yen และคณะ (2009)
	13 nm	RAW 264.7 macrophages	Immunosuppression อนุภาคนาโนทองไม่มีผลในการกระตุ้นการสร้าง IFN- β	Matthew และคณะ (2009)
	60 nm	Murine macrophage cells	อนุภาคนาโนทองไม่มีผลในการกระตุ้นการสร้าง IL-6, TNF- α , nitric oxide และ ROS	Zhang และคณะ (2010)

AgNPs เป็นอนุภาคที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการประยุกต์ใช้เพื่อการฆ่าเชื้อจุลชีพ แต่มักพบการรายงานถึงความเป็นพิษต่อเซลล์หรือสัมพันธ์กับการอักเสบ โดยพบว่าขนาดของอนุภาคเป็นปัจจัยหลักประการหนึ่งต่อการควบคุมปฏิกิริยากับเซลล์ อนุภาคขนาดเล็กมีผลต่อความสามารถในการถูกจับกินโดย phagocytic cells อย่างแมคโครฟาจ ได้ดีกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ และเมื่ออนุภาคนาโนถูกจับกินจะสามารถกระตุ้นแมคโครฟาจ ผ่าน signal transduction pathway ส่งผลต่อการกระตุ้นการอักเสบต่อไป และ

อาจมีผลในการเป็นพิษต่อเซลล์โดยเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน จากการศึกษาฤทธิ์ของ AgNPs ขนาดเล็ก คือ 5 และ 28 nm ต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันกับแบบ innate immunity ในเซลล์ primary human monocytes พบว่า AgNPs มีความสามารถในการกระตุ้นการสร้าง interleukin-1 β (IL-1 β) ซึ่งเป็น pro-inflammatory cytokines ตัวหนึ่งที่มีบทบาทในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระบบ innate immunity โดยมีหน้าที่ในการกระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจ และ endothelial cells เพื่อให้สร้างไซโตไคน์

หรือสร้างโมเลกุลที่ใช้ในการยึดเกาะ⁽⁸⁾ โดยการสร้าง IL-1 β จะถูกควบคุมผ่าน inflammasomes⁽⁹⁾ และทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า AgNPs ขนาด 5 nm มีความเป็นพิษมากกว่าอนุภาคขนาด 28 nm โดย AgNPs ขนาด 5 nm จะทำลายไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ส่งผลให้มีการปล่อย mitochondrial DNA และไปส่งเสริมกระตุ้นผ่าน inflammasomes ด้วย 2 กลไก คือ ผ่านการรั่วไหลของ cathepsin จากไลโซโซม (lysosomes) เนื่องมาจากการทำลายเยื่อหุ้มไลโซโซมของ AgNPs และอีกกลไกหนึ่งเป็นการกระตุ้น K⁺ efflux ทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้วย AgNPs ดังนั้น AgNPs ขนาด 5 nm สามารถกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ IL-1 β เพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการทำลายเซลล์⁽¹⁰⁾

AgNPs ขนาด 15, 30 และ 55 nm มีความสามารถในการกระตุ้นการสร้าง reactive oxygen species (ROS) และกระตุ้นการสร้าง tumor necrosis factor- α (TNF- α), macrophage inflammatory proteins (MIP-2) และ IL-1 β โดย AgNPs ขนาด 15 nm จะสามารถกระตุ้นการสร้างสารน้ำไซโตไคน์เหล่านี้ได้สูงกว่าอนุภาคขนาดอื่น⁽¹¹⁾ AgNPs ที่ใหญ่กว่า 50 nm เช่น ขนาด 68.9 nm มีฤทธิ์กระตุ้นการแสดงออกของ TNF- α ในเซลล์เพาะเลี้ยงแมคโครฟาจ (RAW 264.7) ที่ควบคุมการเกิดการอักเสบ โดยภายหลังการเกิดกระบวนการจับกิน AgNPs และกระตุ้นการสร้าง ROS ภายในแมคโครฟาจส่งผลให้เกิดการหลั่ง TNF- α โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของ TNF- α นำไปสู่การทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และกระตุ้นการตายแบบ apoptosis ที่เกิดจากการ ionization ของ AgNPs⁽¹²⁾ นอกจากนี้ TNF- α ส่วนใหญ่สามารถสร้างได้จากเซลล์แมคโครฟาจมีส่วนสำคัญในการควบคุมการสร้างไซโตไคน์อื่นในกระบวนการเกิดการอักเสบ⁽¹³⁾ แม้หลายการศึกษาชี้ให้เห็นว่า AgNPs ขนาดเล็กมักส่งผลต่อการกระตุ้นการอักเสบ แต่ก็มีส่วนสำคัญในการกระตุ้นการฆ่าทำลายเชื้อได้ดีขึ้น ดังเห็นได้จาก AgNPs ขนาด 3, 6 และ 40 nm สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งไซโตไคน์ ได้แก่ IL-1, IL-6 และ TNF- α จากแมคโครฟาจเพิ่มมากขึ้น และส่งเสริมการขนส่ง AgNPs ที่ถูก endocytosis เข้าในเซลล์ เพื่อไปพินิจรวมกันกับ phagosome ที่มีเชื้อโรคอยู่ ทำให้เกิดการเพิ่มศักยภาพของเซลล์แมคโครฟาจในการฆ่าเชื้อได้ดียิ่งขึ้น⁽¹⁴⁾

นอกจากนี้ ในการศึกษาฤทธิ์ของ AgNPs ที่ขนาดแตกต่างกัน คือ 20, 80 และ 113 nm โดยพบ AgNPs ที่

ขนาด 20 nm มีฤทธิ์ความเป็นพิษมากกว่า AgNPs ที่มีขนาดใหญ่กว่า เนื่องจาก AgNPs ขนาด 20 nm มีการกระตุ้นการสร้าง ROS ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาคขนาด 80 และ 113 nm นอกจากนั้นยังพบว่า AgNPs ทุกขนาดมีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง IL-6, TNF- α และ granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) ซึ่งเป็นไซโตไคน์สำคัญในกระบวนการอักเสบ⁽¹⁵⁾ ซึ่ง AgNPs ที่ขนาดแตกต่างกันสามารถกระตุ้นให้เซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 เกิดการอักเสบผ่านการกระตุ้น ROS และกระตุ้น transcription factor NF-kB signaling pathway โดยส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการสร้าง cyclooxygenase 2 (COX-2), TNF- α และ IL-6 เพิ่มมากขึ้น⁽¹⁶⁾ และ AgNPs กระตุ้นให้เกิดการสร้างไซโตไคน์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบผ่าน NF-kB signaling pathway⁽¹⁷⁾ ในการรวบรวมข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นถึงขนาดของ AgNPs ที่มีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยการตอบสนองส่วนใหญ่สัมพันธ์กับการกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์จากเซลล์ในระบบ innate immunity ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ

นอกจาก AgNPs ที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์แล้ว AuNPs ก็เป็นอีกหนึ่งนาโนเทคโนโลยีที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายเช่นกัน จากการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับขนาดของ AuNPs ต่อระบบภูมิคุ้มกัน nucleic acid-gold nanoparticle conjugates ขนาดเล็ก 13 nm ไม่สามารถกระตุ้นการสร้าง interferon- β (IFN- β) ได้⁽¹⁸⁾ ขณะเดียวกัน AuNPs ขนาด 60 nm ไม่มีผลต่อการเพิ่มของระดับ IL-6, TNF- α , nitric oxide และ ROS ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบใน murine macrophage cells เช่นเดียวกัน⁽¹⁹⁾ ซึ่งกลไกของการทำปฏิกิริยาของ AuNPs ในการยับยั้งการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันนั้นมีข้อดีในการนำไปใช้ป้องกันการทำลายเนื้อเยื่อหรืออวัยวะในการปลูกถ่ายหรือใช้ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันไวเกินได้⁽²⁰⁾ อย่างไรก็ตามในการศึกษาของ Yen และคณะ (2009) พบว่า AuNPs ที่ขนาด 3, 6 และ 40 nm มีความสามารถในการกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ IL-1, IL-6 และ TNF- α จากแมคโครฟาจ⁽¹⁴⁾

นอกจากนี้ AuNPs ถูกพัฒนาเพื่อใช้ในการขนส่งยาโปรตีน หรือกรดนิวคลีอิกเข้าสู่เซลล์ ซึ่งการศึกษาถึงคุณสมบัติการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโน ทำให้เข้าใจกลไกการทำลายเซลล์หรือการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์ว่า

จะเกิดภายหลังจากการจับกินของอนุภาคหรือเมื่ออนุภาคเข้าสู่เซลล์ อันนำไปสู่การขนส่งโมเลกุลที่ต้องการอย่างมีประสิทธิภาพ Chithrani และคณะ (2006) ได้วิเคราะห์การเข้าสู่เซลล์ของ AuNPs ที่ขนาดแตกต่างกัน ได้แก่ ขนาด 14, 50 และ 74 nm พบว่า AuNPs ที่ขนาดแตกต่างกันส่งผลถึงคุณสมบัติในการเข้าสู่เซลล์ที่ต่างกัน จากการนับจำนวนอนุภาคหลังจากเข้าเซลล์ พบจำนวนอนุภาคเข้าสู่เซลล์ได้ที่จำนวน 3000, 6160 และ 2988 อนุภาค ตามลำดับ⁽²¹⁾ นอกจากนี้พบว่าขนาดของอนุภาคยังเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการกระจายของอนุภาคภายในร่างกายอีกด้วย การศึกษาของ De Jong และคณะ (2008) สนับสนุนผลการศึกษานี้ของ Chithrani และคณะ โดยพบว่าขนาดที่ต่างกันของ AuNPs 10, 50, 100 และ 250 nm มีผลต่อการกระจายของอนุภาคในร่างกายไปตามอวัยวะต่างๆ ในสัตว์ทดลอง โดยพบว่าอนุภาคขนาดเล็กที่สุดคือ 10 nm มีการกระจายไปตามอวัยวะต่างๆ เช่น เลือด ตับ ม้าม ไต รังไข่ ต่อมไทมัส หัวใจปอดและสมอง ในขณะที่พบการแพร่กระจายของอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ คือ 50, 100 และ 250 nm สามารถตรวจพบเฉพาะในเลือด ตับและม้าม จากการศึกษาดังกล่าวทำให้ทราบว่า AuNPs ที่มีขนาดเล็กมีความสามารถในการแพร่กระจายไปตามอวัยวะต่างๆ ได้ดีกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่⁽²²⁾ จากข้อมูลเหล่านี้ได้ชี้ให้เห็นว่าอนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กสามารถถูกจับกินโดย phagocytic cells ได้ดีกว่าและมีแนวโน้มจะมีฤทธิ์ความเป็นพิษที่สูงกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ อย่างไรก็ตามยังมีความขัดแย้งในบางการศึกษาว่าความแตกต่างของขนาดอนุภาคไม่มีผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์แต่มีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยปฏิริยาภายหลังจาก AuNPs เข้าสู่เซลล์ทำให้เกิดการกระตุ้นแมคโครฟาจให้สร้าง pro-inflammatory cytokines เช่น IL-1, IL-6, TNF- α และ macrophage inflammatory protein 2 (MIP2) ส่งผลต่อการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการอักเสบและทำให้แมคโครฟาจ ทำลายจุลชีพได้ดียิ่งขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Yen และคณะ (2009) พบว่า AuNPs สามารถกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ IL-1, IL-6 และ TNF- α ในแมคโครฟาจ อย่างไรก็ตามจากหลายการศึกษาที่ได้กล่าวมาในข้างต้นเกี่ยวข้องกับขนาดของ AuNPs นั้น ชี้ให้เห็นว่าปฏิริยาของอนุภาคนาโนทองจะมีแนวโน้มในการทำให้เกิดการยับยั้งภูมิคุ้มกัน โดยมักไม่พบการกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ

รูปร่างของอนุภาคนาโนต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Effect of nanoparticle shape to immune responses)

รูปร่างของอนุภาคเป็นอีกหนึ่งปัจจัยของอนุภาคนาโนที่มีส่วนสำคัญต่อปฏิริยาของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะการเข้าสู่เซลล์ การจับกินของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันและการกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิริยาการอักเสบในการวิเคราะห์คุณสมบัติความเป็นพิษและการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (cytotoxicity and immunogenic effects) ของ AuNPs ที่มีรูปร่างกลม (spheres) ขนาด 3.5 ± 0.7 nm พบการเข้าสู่เซลล์ในลักษณะ pinocytotic uptake และ AuNPs รูปร่างกลมมีความสามารถในการลดการสร้างอนุมูลอิสระ ROS และ reactive nitrogen species (RNS) นอกจากนี้ยังพบว่า AuNPs ไม่กระตุ้นการสร้าง pro-inflammatory cytokines เช่น TNF- α และ IL-1- β ในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7⁽²³⁾ นอกจากนี้ในการศึกษาเปรียบเทียบ AuNPs รูปร่างกลมและแท่ง (rods) ในการนำเข้าสู่เซลล์ของเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 พบว่า AuNPs แบบกลมสามารถถูกจับกินได้ดีกว่าอนุภาคที่เป็นรูปร่างแท่ง⁽²⁴⁾ เช่นเดียวกันกับการศึกษาคุณสมบัติของ AuNPs ที่มีรูปร่างทั้งกลมและแท่งในการเข้าสู่เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม AuNPs รูปร่างกลมมีความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ดีกว่ารูปร่างเป็นแท่ง⁽²¹⁾ ดังนั้น ในการพัฒนา AuNPs เพื่อใช้ในการขนส่งยาหรือใช้ในการพัฒนาการรักษา รูปร่างของอนุภาคจึงมีส่วนสำคัญในการเข้าสู่เซลล์ นอกเหนือจากรูปร่างกลมและแท่งแล้ว AuNPs ยังมีรูปร่างแบบอื่นที่มีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ในตัวอย่างการวิเคราะห์รูปร่างของ AuNPs ที่มีรูปร่างแตกต่างกัน 3 แบบ คือ กลม แท่ง และกลมมีหนาม (urchins) พบว่ากลไกในการทำปฏิริยาระหว่างอนุภาคต่อระบบภูมิคุ้มกันขึ้นอยู่กับรูปร่างที่ต่างกัน โดย AuNPs รูปร่างกลมมีหนามสามารถกระตุ้นการแสดงออกของ TLR-2 ได้ดีกว่าแบบแท่ง AuNPs ทั้งรูปร่างกลมและแท่งกระตุ้นการสร้าง granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) เพิ่มขึ้น ในขณะที่มีความเข้มข้นของไซโตไคน์นี้ลดลงจากการกระตุ้นด้วย AuNPs รูปร่างกลมมีหนาม⁽²⁵⁾

นอกจากนี้ อนุภาคนาโนยังมีผลต่อการเชื่อมโยงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบ innate และ adaptive immunity ซึ่ง Villiers และคณะ (2009) ศึกษาผลของ

AuNPs รูปร่างกลมขนาด 10 nm ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน dendritic cells (DCs) ของ C57BL/6 mice พบว่า AuNPs ไม่เป็นพิษต่อ DCs โดยไม่พบการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis และผู้วิจัยยังได้ทดสอบฤทธิ์ของ AuNPs ต่อการกระตุ้นการสร้าง IL-12p70 ที่มีผลต่อการกระตุ้นทำงานของ T lymphocytes และ IL-6 เป็นอโตไซโตไคน์ (auto-cytokine) ของการกระตุ้นการทำงานของ DCs ในกระบวนการอักเสบของ innate immunity พบว่า AuNPs ไม่มีผลต่อการกระตุ้นการสร้าง IL-6 แต่น่าจะมีผลต่อการ

ยับยั้งการอักเสบ ในขณะที่การยับยั้งการสร้าง IL-12p70 ส่งผลให้มีการลดการตอบสนองของ T lymphocytes ภายหลังเซลล์ DCs ได้รับการกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) ซึ่งเป็นการลดการตอบสนองแบบไม่จำเพาะของ T lymphocytes (bystander T cells) ที่ตอบสนองต่อไซโตไคน์แวดล้อม⁽²⁶⁾ จึงสรุปได้ว่า รูปร่างของอนุภาคเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนกำหนดการตอบสนองของการทำงานในระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบ immunostimulation และ immunosuppression ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของขนาดของอนุภาคนาโนต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

ผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน	รูปร่าง	ตัวอย่างที่ศึกษา	เอกสารอ้างอิง
Immunostimulation			
อนุภาคนาโนทองแบบกลมสามารถถูกจับกินได้ดีกว่าอนุภาคที่มีรูปร่างแท่ง	กลมและแท่ง	RAW 264.7 macrophages	Janat-Amsbury และคณะ (2011)
กระตุ้นการแสดงออกของ TLR-2	กลมมีหนาม ขนาด 10–80 nm	Murine microglial N9 cells	Hutter และคณะ (2010)
กระตุ้นการสร้าง IL-1 α , TNF- α , GM-CSF	กลมและแท่ง ขนาด 10–80 nm	Murine microglial N9 cells	Hutter และคณะ (2010)
Immunosuppression			
อนุภาคนาโนทองไม่มีผลในการกระตุ้นการสร้าง TNF- α และ IL-1 β	กลมขนาด 3.5 $\pm$ 0.7 nm	RAW264.7 macrophage	Shukla และคณะ (2005)
อนุภาคนาโนทองไม่เป็นพิษต่อเซลล์ DCs และไม่พบการเหนี่ยวนำการตายแบบ apoptosis รวมทั้งไม่มีผลในการกระตุ้นการสร้าง IL-12p70 และ IL-6	กลมขนาด 10 nm	Dendritic cells (DCs) ของ C57BL/6 mice	Villiers และคณะ (2009)
ลดการสร้าง GM-CSF	กลมมีหนามขนาด 10–80 nm	Murine microglial N9 cells	Hutter และคณะ (2010)

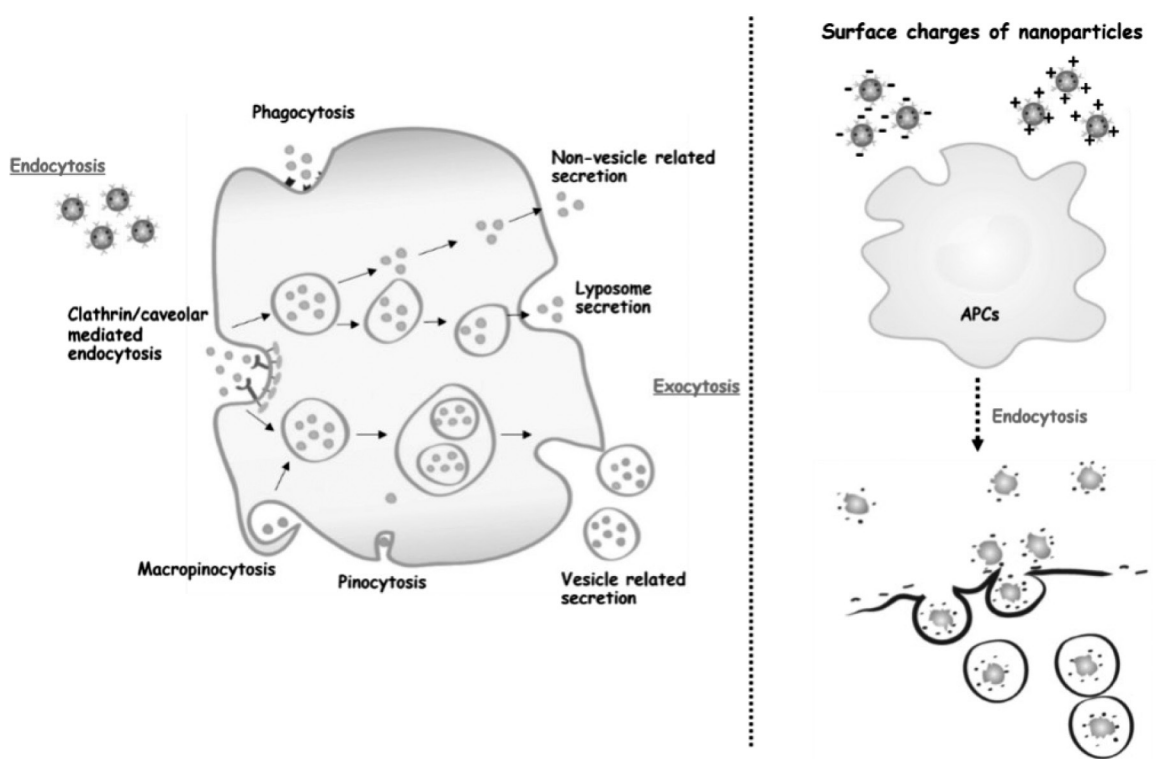
ความแตกต่างของประจุบนผิวของอนุภาคต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Effect of surface charges of nanoparticle to immune responses)

นอกจากรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยากับเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ยังมีอีกคุณสมบัติหนึ่งของอนุภาคนาโน คือ functional groups และประจุบนผิวของอนุภาค (surface charges) ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยากับเซลล์ในร่างกาย เช่น ความสามารถในการละลายน้ำ การ

จับกับ macromolecule และการจับกับเซลล์ เป็นต้น ในการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า AuNPs ที่มีประจุบวกถูกจับกินได้มากกว่า AuNPs ประจุลบและไม่มีประจุ ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก AuNPs ประจุบวกจับกับ extracellular matrix ที่มีประจุลบ ซึ่งเป็นการกระตุ้นการเข้าเซลล์ นอกจากนี้เยื่อหุ้มเซลล์ที่มีลักษณะเป็น lipid bilayer มี phosphate เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์มีประจุเป็นลบ ซึ่งตรงข้ามกับประจุบวกบนผิว AuNPs ทำให้สามารถเข้าเซลล์ได้ดีกว่าประจุ

ชนิดอื่น (รูปที่ 2)⁽²⁷⁾ อย่างไรก็ตาม AuNPs ประจุบวกมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่า AuNPs ประจุชนิดอื่น เนื่องจาก การที่ AuNPs สามารถเข้าเซลล์ได้ดี จึงส่งผลให้มีการเพิ่ม permeability ของเซลล์ และสูญเสียความสมดุลต่างๆ ภายในเซลล์ และนำไปสู่การเพิ่มการตายของเซลล์⁽²⁸⁾ ในแง่ของปฏิกิริยาของอนุภาคนาโนประจุต่างๆ กับเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน จากการศึกษา mouse peritoneal mast cells กับ AuNPs และ AgNPs ทั้งประจุบวกและประจุลบ พบว่า AuNPs ประจุบวกและ AgNPs ประจุลบลดการหลั่ง serot-

onin ของ mast cells และลักษณะของประจุบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนมีผลต่อการลดลงของการปลดปล่อยแกรนูลจากเซลล์ (degranulation process) โดยเฉพาะ AgNPs ประจุลบ เนื่องจาก AgNPs ประจุลบมี hydrodynamic diameter กว้างกว่า AgNPs ประจุบวก เมื่อบ่มเลี้ยงร่วมกับซีรัมที่มีในอาหารเลี้ยงเซลล์ทำให้เพิ่มการตกตะกอน ไปเกาะอยู่บริเวณที่มีเซลล์อยู่ ซึ่งลักษณะทางกายภาพเช่นนี้ อาจนำไปสู่การยับยั้งการจับของ mast cells กับ extracellular matrix ที่มีผลต่อการยับยั้ง การปลดปล่อยแกรนูล⁽²⁹⁾



รูปที่ 2 การเข้าสู่เซลล์แบบ endocytosis ของอนุภาคนาโนสามารถเกิดขึ้นหลากหลายรูปแบบ ได้แก่ phagocytosis, clathrin/caveolar mediated endocytosis, macropinocytosis และ pinocytosis ซึ่งการมีประจุบนพื้นผิวอนุภาคนาโนมีผลต่อการส่งเสริมการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อนุภาคนาโนพื้นผิวประจุบวกเข้าเซลล์ได้ดีกว่าประจุชนิดอื่น [APCs; antigen presenting cells] (ดัดแปลงจาก Wang และคณะ (2015) และ Oh และคณะ (2015) ⁽³⁶⁾)

นอกจากนี้ AuNPs ที่มีประจุต่างกันต่อการกระตุ้นการตอบสนองของ antigen presenting cells (APCs) และการทำงานของ T cell โดยประจุบนพื้นผิวและการเชื่อมต่อกับแอนติเจนที่จำเพาะ ทำให้ APCs สามารถจับกิน AuNPs ประจุบวกได้มากกว่า AuNPs ประจุลบหรือไม่มีประจุ นำไปสู่การควบคุมการแสดงออกของ co-stimulatory molecules ของ APC และ AuNPs ประจุบวกสามารถเหนี่ยวนำการกระตุ้น antigen-specific CD4⁺ T cell ได้ดีกว่า AuNPs ประจุลบและไม่มีประจุ ทำให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ

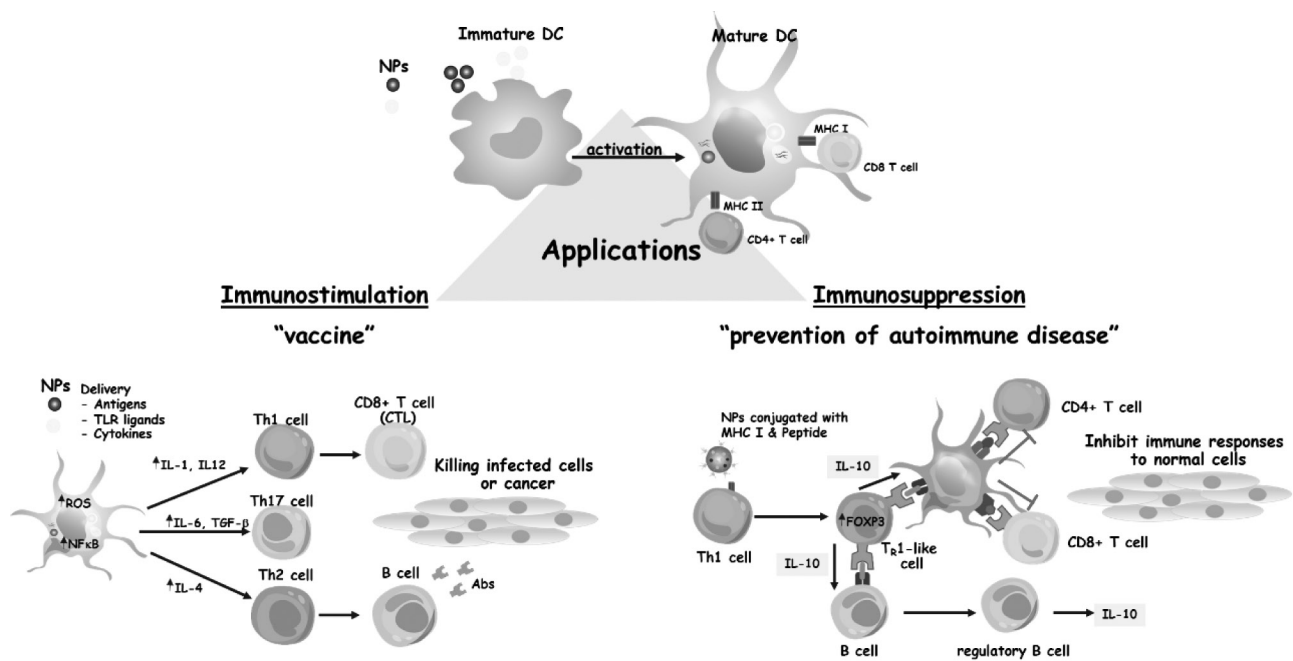
antigen-specific CD4⁺ T cell⁽³⁰⁾ คุณสมบัติดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อการผลิตวัคซีนได้

การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Applications of nanoparticles for immunity)

อนุภาคนาโนที่ถูกพัฒนาขึ้นล้วนมีคุณสมบัติพิเศษทางกายภาพ เคมี และชีววิทยาจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานที่หลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานทางการแพทย์และ

วิทยาศาสตร์สุขภาพ ตัวอย่างของการนำอนุภาคนาโนไปประยุกต์ใช้เพื่อควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้ง innate และ adaptive immunity เช่น การผลิตวัคซีน⁽³¹⁾ การรักษามะเร็ง⁽³²⁾ และการบำบัดภูมิไวเกิน⁽³³⁾ เป็นต้น ด้วยคุณสมบัติและความสามารถของอนุภาคนาโนในการขนส่งสาร ดังนั้น สารชีวโมเลกุลที่มีความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันจึงถูกนำมาเชื่อมต่อกับอนุภาคนาโนเพื่อการนำส่ง เช่น เปปไทด์ของเซลล์มะเร็ง ยาเคมีบำบัด สารสกัดจากธรรมชาติ และแอนติเจนของเชื้อก่อโรค เป็นต้น ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเซลล์กลุ่ม APCs รับรู้และนำไปสู่การกระตุ้นการทำงานของ B cells หรือ T cells ที่จำเพาะต่อเซลล์เป้าหมาย เช่น เซลล์ที่มีการติดเชื้อ และเซลล์มะเร็ง เป็นต้น หรือการเกิดปฏิกิริยาการขนส่งสารและกระตุ้นภูมิคุ้มกันในเวลาเดียวกัน (รูปที่ 3)^(30, 34) โดยผลต่อการกระตุ้น

ต้น APCs ทำให้เกิดการแสดงออกเพิ่มขึ้นของโมเลกุลบนผิวเซลล์ อย่าง homing receptors เช่น CC-chemokine receptor 7 (CCR7) และ co-stimulatory molecules ได้แก่ CD40, CD80 และ CD86 ส่งผลให้มีการหลั่งไซโตไคน์เพิ่มขึ้น และกระตุ้น B cells และ T cells ในลำดับถัดไป นอกจากนี้ในการใช้อนุภาคนาโนขนส่งแอนติเจนและ adjuvants อาจช่วยเหนี่ยวนำทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis หรือ necrosis ช่วยเพิ่มการตอบสนองภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนในลักษณะของการเกิด antigen cross-presentation เป็นกลไกที่เกิดจากการที่ exogenously antigens ถูกนำไปเสนอบน MHC class I โดยเกิดจากการที่แอนติเจนหลุดจากอนุภาคนาโนเข้า cytoplasm เป็น phagosome ใน APCs ผ่านกระบวนการย่อยเป็นเปปไทด์แล้วถูกนำเสนอโดย MHC class I⁽³⁴⁾



รูปที่ 3 การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเพื่องานทางวิทยาศาสตร์สุขภาพและการแพทย์ โดยใช้ควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันด้วยกลไกที่แตกต่างกันทั้งแบบการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน เช่น การประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ หรือป้องกันการเกิดโรคภูมิแพ้ตนเอง เป็นต้น [NPs; nanoparticles, Th cell; T helper cell, CTL; cytotoxic lymphocyte, T_R1-like cell; regulatory T cell, FOXP3; forkhead box P3] (ดัดแปลงจาก Douglas และคณะ (2013))

การนำ AuNPs ที่เคลือบด้วยผนังเซลล์ของแบคทีเรียมาใช้เป็นวัคซีนป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียพบว่ามีการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ดี และยังเหนี่ยวนำการสร้าง IFN- γ และ IL-17 เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นถึงการกระตุ้นการทำงานของ T helper 1 (Th1) และ Th17 ตอบสนองต่อการทำลายแบคทีเรีย⁽³¹⁾ นอกจากนี้ยังมีการนำอนุภาคนาโนแบบโพลิเมอร์ (polymer nanoparticles) เช่น poly lactide-co-glycolic acid (PLGA) NPs เหนี่ยวนำการตอบสนองของ DCs ซึ่งเป็น APCs เพื่อการรักษามะเร็ง โดยการนำอนุภาคนาโนเชื่อมกับแอนติเจนของมะเร็งและ small interference RNA (siRNA) เพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีนใน DCs อย่าง suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) เป็น negative regulator ควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เมื่อ DCs จับกินแอนติเจนที่ถูกนำส่งโดย PLGA-NPs แล้วย่อยเป็นเปปไทด์และนำเสนอแอนติเจนในรูปแบบ cross-presentation เหนี่ยวนำให้ cytotoxic T lymphocyte ทำงาน แล้วเกิดการแสดงออกของยีน SOCS1 ทำให้มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นของ pro-inflammatory cytokines เช่น TNF- α , IL-6, IL-12 และ IL-2 ดังนั้นการยับยั้งการแสดงออกของยีน SOCS1 จึงมีความจำเป็นสำหรับ DCs ในการเพิ่มฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง ซึ่งการนำอนุภาคนาโนมาประยุกต์ใช้จึงอาจเป็นแนวทางใหม่เพื่อการรักษามะเร็งชนิดต่างๆ⁽³²⁾

ในทางตรงกันข้ามนอกจากการนำอนุภาคนาโนมาใช้เพื่อการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน อนุภาคนาโนยังสามารถนำไปใช้ในการลดหรือกวดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ โดยหลักการหรือกลไกที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน อาจเป็นการส่งเสริมให้สร้างไซโตไคน์หรือชีวโมเลกุลที่มีคุณสมบัติในการลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน เช่น transforming growth factor- β (TGF- β) เป็นไซโตไคน์ที่กระตุ้นให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ COX-2, prostaglandin E2 (PGE2) และ IL-10 จาก APCs ส่งผลต่อการยับยั้งการทำงานของ B cells และ T cells นอกจากนี้ในการนำส่งโดยอนุภาคนาโนอาจมีการเชื่อมต่อกับสารกดภูมิคุ้มกัน เช่น sirolimus ลดการสร้าง IL-2 ทำให้จำนวน B cells และ T cells ลดลง และ steroids กดการแสดงออกของ nuclear factor-kB (NF-kB) และส่งเสริมการแสดงออกของ forkhead box P3 (FOXP3) ส่งผลให้เกิดการทำงานของ regulatory T cell (Treg)⁽³⁴⁾

อนุภาคนาโนเคลือบด้วยเปปไทด์ของโปรตีนร่างกายที่สัมพันธ์กับโรคแพ้ภูมิตนเอง (autoimmune disease) จับได้กับ MHC class II พบว่าหนูที่ได้รับอนุภาคนาโนมีการเปลี่ยนแปลงการทำงานของ Th1 cells ซึ่งมี receptor ที่จำเพาะกับเปปไทด์ โดยการเหนี่ยวนำการทำงานของ specific T cells (Th1 cells) ที่รับรู้ต่อ self-protein กลับพัฒนาไปเป็น regulatory (T_R1-like) T cells หลัง anti-inflammatory cytokine อย่าง IL-10 กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของ B cells ไปเป็น regulatory B cells ที่หลั่ง IL-10 และ T_R1-like cells ยังสามารถปรับเปลี่ยน APCs ที่ทำหน้าที่นำเสนอเปปไทด์และสร้างไซโตไคน์ IL-10 ต่อ Th cells ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของ T helper cells (CD4⁺ T cells) และ cytotoxic T cells (CD8⁺ T cells) (**รูปที่ 3**) ดังนั้น อนุภาคนาโนเพื่อการประยุกต์ใช้ในการลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยอาจอาศัยหลักการการเลือกเป้าหมายอย่าง Th cells หรือ APCs ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาของ autoimmune reactions ในแนวโน้มนี้อาจลดลง และด้วยเหตุนี้ อนุภาคนาโนที่เชื่อมต่อกับสารหรือยากดภูมิคุ้มกันและจับกับเปปไทด์ที่สัมพันธ์กับ autoimmune disease จึงนำไปสู่การยับยั้งการอักเสบของ autoimmune disease⁽³⁵⁾

บทสรุป

นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในหลากหลายด้านรวมทั้งด้านการแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ โดยการประยุกต์ใช้คุณสมบัติจำเพาะของอนุภาคนาโน ตามความต้องการในการนำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งการนำมาใช้นั้นมนุษย์อาจหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะต้องสัมผัสหรือถูกนำมาใช้โดยตรงกับร่างกาย การรับรู้และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ควรเข้าใจ อนุภาคนาโนแต่ละชนิดที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น มีความแตกต่างกันทั้งรูปร่าง ขนาด และประจุบนผิว ส่งผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันที่ต่างกัน โดยการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่ออนุภาคนาโนมีทั้งในแง่ของการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน ตัวอย่างของการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น อนุภาคนาโนเงินมีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ให้หลั่งไซโตไคน์และสร้าง ROS ที่อาจนำไปประยุกต์ใช้ในการเสริมการทำงานของภูมิคุ้มกันในการทำลายเชื้อแบคทีเรียได้แต่ต้องพิจารณาความเป็นพิษต่อเซลล์ร่วมด้วย อนุภาคนาโนทองมีฤทธิ์ทั้งด้านการตอบสนองและยับยั้งการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ซึ่ง

คุณสมบัติลดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันสามารถนำไปใช้เพื่อการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะหรือรักษาภาวะภูมิคุ้มกันไวเกินได้ นอกจากนี้อนุภาคนาโนสามารถถูกต่อเชื่อมกับสารนิวคลีโอไทด์หรือเปปไทด์ที่ต้องการเพื่อพัฒนาเป็นวัคซีนส่งเสริมการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่จำเพาะใช้ในการรักษามะเร็งหรือโรคติดเชื้อได้ อย่างไรก็ตาม ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับปฏิกิริยาของอนุภาคนาโนต่อระบบภูมิคุ้มกันยังคงมีความสำคัญและจำเป็นที่ต้องมีการศึกษาต่อไป เพื่อให้ได้องค์ความรู้ที่ได้รับการพิสูจน์อย่างชัดเจนสามารถนำไปสู่การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Zhang L, Gu FX, Chan JM, Wang AZ, Langer RS, Farokhzad OC. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 83: 761–9.
2. Sanvicens N, Marco MP. Multifunctional nanoparticles – properties and prospects for their use in human medicine. *Trends Biotechnol* 2008; 26: 425–33.
3. Cupaioli FA, Zucca FA, Boraschi D, Zecca L. Engineered nanoparticles. How brain friendly is this new guest? *Prog Neurobiol* 2014; 119-120: 20–38.
4. Nace G, Evankovich J, Eid R, Tsung A. Dendritic cells and damage-associated molecular patterns: endogenous danger signals linking innate and adaptive immunity. *J Innate Immun* 2012; 4: 6–15.
5. Fadeel B. Clear and present danger? Engineered nanoparticles and the immune system. *Swiss Med Wkly* 2012; 142:1–9.
6. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia, PA, USA: Elsevier; 2009.
7. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 24–32.
8. Karin N. Induction of protective therapy for autoimmune diseases by targeted DNA vaccines encoding pro-inflammatory cytokines and chemokines. *Curr Opin Mol Ther* 2004; 6: 27–33.
9. Kepp O, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondrial control of the NLRP3 inflammasome. *Nat Immunol* 2011; 12: 199–200.
10. Yang EJ, Kim S, Kim JS, Choi IH. Inflammasome formation and IL-1b release by human blood monocytes in response to silver nanoparticles. *Biomaterials* 2012; 33: 6858–67.
11. Carlson C, Hussain SM, Schrand AM, Braydich-Stolle LK, Hess KL, Jones RL, et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *J Phys Chem B* 2008; 112: 13608–19.
12. Park EJ, Yi J, Kim Y, Choi K, Park K. Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 872–8.
13. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene* 2010; 20: 87–103.
14. Yen HJ, Hsu SH, Tsai CL. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes. *Small* 2009; 5: 1553–61.
15. Park MV, Neigh AM, Vermeulen JP, de la Fonteyne LJ, Verharen HW, Briedé JJ, et al. The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. *Biomaterials* 2011; 32: 9810–7.
16. Nishanth RP, Jyotsna RG, Schlager JJ, Hussain SM, Reddanna P. Inflammatory responses of RAW 264.7 macrophages upon exposure to nanoparticles: Role of ROS-NFkB signaling pathway. *Nanotoxicology* 2011; 5: 502–16.
17. Deng ZJ, Liang M, Monteiro M, Toth I, Minchin RF. Nanoparticle-induced unfolding of fibrinogen promotes Mac-1 receptor activation and inflammation. *Nat Nanotechnol* 2011; 6: 39–44.
18. Massich MD, Giljohann DA, Seferos DS, Ludlow LE, Horvath CM, Mirkin CA. Regulating immune response using polyvalent nucleic acid-gold nanoparticle conjugates. *Mol Pharm* 2009; 6: 1934–40.

19. Zhang Q, Hitchins VM, Schrand AM, Hussain SM GP. Uptake of gold nanoparticles in murine macrophage cells without cytotoxicity or production of pro-inflammatory mediators. *Nanotoxicology* 2011; 5: 284–95.
20. Kononenko V, Narat M, Drobne D. Nanoparticle interaction with the immune system. *Arh Hig Rada Toksikol* 2015; 66: 97–108.
21. Chithrani BD, Ghazani AA, Chan WC. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Lett American Chemical Society*; 2006; 6: 662–8.
22. De Jong WH, Hagens WI, Krystek P, Burger MC, Sips AJ, Geertsma RE. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials* 2008; 29: 1912–9.
23. Shukla R, Bansal V, Chaudhary M, Basu A, Bhonde RR, Sastry M. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview. *Langmuir* 2005; 21: 10644–54.
24. Arnida, Janat-Amsbury MM, Ray A, Peterson CM, Ghandehari H. Geometry and surface characteristics of gold nanoparticles influence their biodistribution and uptake by macrophages. *Eur J Pharm Biopharm* 2011; 77: 417–23.
25. Hutter E, Boridy S, Labrecque S, Lalancette-Hebert M, Kriz J, Winnik FM, et al. Microglial response to gold nanoparticles. *ACS Nano* 2010; 4: 2595–606.
26. Villiers C, Freitas H, Couderc R, Villiers MB, Marche P. Analysis of the toxicity of gold nanoparticles on the immune system: effect on dendritic cell functions. *J Nanopart Res* 2010; 12: 55–60.
27. Wang P, Wang X, Wang L, Hou X, Liu W, Chen C. Interaction of gold nanoparticles with proteins and cells. *Sci Technol Adv Mater* 2015; 16: 1–15.
28. Lin J, Zhang H, Chen Z, Zheng Y. Penetration of lipid membranes by gold nanoparticles: Insights into cellular uptake, cytotoxicity, and their relationship. *ACS Nano* 2010; 4: 5421–9.
29. Marquis BJ, Liu Z, Braun KL, Haynes CL. Investigation of noble metal nanoparticle ζ -potential effects on single-cell exocytosis function in vitro with carbon-fiber microelectrode amperometry. *Analyst* 2011; 136: 3478–86.
30. Seydoux E, Rodriguez-Lorenzo L, Blom RAM, Stumbles PA, Petri-Fink A, Rutishauser BR, et al. Pulmonary delivery of cationic gold nanoparticles boost antigen-specific CD4(+) T Cell Proliferation. *Nanomedicine* 2016; 12: 1815–26.
31. Gao W, Fang RH, Thamphiwatana S, Luk BT, Li J, Angsantikul P, et al. Modulating antibacterial immunity via bacterial membrane-coated nanoparticles. *Nano Lett* 2015; 15: 1403–9.
32. Heo MB, Cho MY, Lim YT. Polymer nanoparticles for enhanced immune response: combined delivery of tumor antigen and small interference RNA for immunosuppressive gene to dendritic cells. *Acta Biomater* 2014; 10: 2169–76.
33. Sabatos-Peyton CA, Verhagen J, Wraith DC. Antigen-specific immunotherapy of autoimmune and allergic diseases. *Curr Opin Immunol* 2010; 22: 609–15.
34. Smith DM, Simon JK, Baker JR Jr. Applications of nanotechnology for immunology. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 592–605.
35. Clemente-Casares X, Blanco J, Ambalavanan P, Yamanouchi J, Singha S, Fandos C, et al. Expanding antigen-specific regulatory networks to treat autoimmunity. *Nature* 2016; 530: 434–40.
36. Oh N, Park JH. Endocytosis and exocytosis of nanoparticles in mammalian cells. *Int J Nanomedicine* 2014; 6: 51–63.