Refresher Course *บทความฟื้นวิชา*

โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน (Botulinum neurotoxins) กับการต้านมะเร็ง

จันเพ็ญ บางสำรวจ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

บทคัดย่อ โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน (Botulinum neurotoxins) สร้างจากเชื้อ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกชนิดไม่ใช้ออกซิเจนมีพิษยับยั้งการหลั่งสารสื่อประสาทโดยโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน โปรตีเอส (BoNT protease) จะย่อยสลาย SNARE (soluble NSF attachment protein receptor) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ใช้ในการหลั่งสารสื่อประสาท เมื่อโปรตีนนี้ถูกทำลายจึงทำให้กล้ามเนื้อไม่ตอบสนอง จากหลักการดังกล่าวจึงมีการพัฒนาโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน เพื่อใช้ในการรักษาโรคทางด้านระบบประสาท เช่น อาการแข็งเกร็งของกล้ามเนื้อคอ (cervical dystonia) อาการตากระตุก (blepharospasm) ปัจจุบันพบว่าสารพิษนี้สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้โดยผ่านทางการยับยั้งการหลั่งนอร์อีพิเนฟริน (norepinephrine) ทำให้หลอดเลือดคลายตัวเป็นการเปิดหลอดเลือดให้เลือดนำออกซิเจนมาเลี้ยงเซลล์ได้มากขึ้นซึ่งจะช่วยเพิ่มการตอบสนองต่อการรักษาด้วยรังสีและเคมีบำบัด นอกจากนี้ยังทำลายเซลล์มะเร็งได้โดยตรงโดยการหลั่งเอ็นไซม์โปรตีเอส (proteases) และ ไลเปส (lipases) ออกมาย่อยทำลายเซลล์มะเร็ง และยังช่วยลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อซึ่งอาจเกิดจากเซลล์มะเร็งเองหรือผลข้างเคียงของการรักษาแต่อย่างไรก็ตามการใช้โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ในการรักษามะเร็งนั้นยังไม่สามารถอธิบายกลไกได้แน่ชัดจึงจำเป็นต้องศึกษาต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: **โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน, *Clostridium botulinum*, SNARE, เซลล์มะเร็ง, หลอดเลือด**

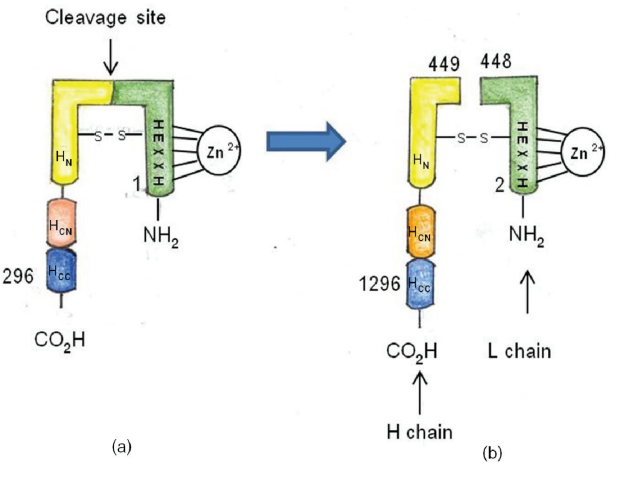
บทนำ

โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน (Botulinum neurotoxins, BoNTs) มีทั้งประโยชน์และโทษถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์เพื่อรักษาความผิดปรกติของกล้ามเนื้ออันเนื่องมาจากการทำงานของระบบประสาทโซมาติก (somatic nervous system) หรือระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system) เช่น ใบหน้ากระตุกครึ่งซีก (hemifacial spasm) อาการกล้ามเนื้อรอบดวงตาหดเกร็ง (blepharospasm) อาการตาเหล่ (stabismus) และโรคคอบิด (cervical dystonia) ซึ่งได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาใน ค.ศ. 1989[1] นอกจากนี้ยังใช้รักษาการมีเหงื่อออกมากผิดปรกติ (hyperhidrosis) โดยโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน (botulinum neurotoxins) จะไปยับยั้งการหลั่งอะซีทิลโคลีน (acetylcholine) จากปลายประสาทที่ไปเลี้ยงต่อมเหงื่อทำให้การหลั่งเหงื่อลดลง[2] ต่อมาจึงนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านความงามเพื่อลบริ้วรอยเหี่ยวย่นและใช้ต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน อีกด้านหนึ่งสารพิษนี้เป็น

สาเหตุของการเกิดโรคที่สำคัญคือ โรคโบทูลิซึม (botulism) ซึ่งมักจะเกิดจากการกินอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ อาการแสดงที่สำคัญคือ อ่อนเพลีย หนังตาตก กล้ามเนื้ออ่อนแรง โดยเฉพาะหากอาการรุนแรงมากจะทำให้กล้ามเนื้อกระบังลมซึ่งใช้ในการหายใจอ่อนแรงทำให้ผู้ป่วยหยุดหายใจและเสียชีวิตในที่สุด ดังนั้นในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 เชื้อนี้จึงถูกนำมาใช้เป็นอาวุธชีวภาพเนื่องจากมีความคงตัวสูง สามารถรับเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายและยังไม่มีวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการรักษาอาการที่เกิดจากสารพิษนี้[3] ปัจจุบันมีการศึกษาผลของชีวพิษนี้ต่อโรคมะเร็งซึ่งผู้ป่วยจำนวนมากหวาดหวั่นกับการรักษาของการใช้เคมีบำบัดหรือรังสีรักษา เนื่องจากอาการข้างเคียง เช่น คลื่นไส้อาเจียน ผมร่วง เบื่ออาหาร จนบางครั้งทำให้ผู้ป่วยเลิกรักษากลางคัน โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน จึงอาจเป็นอีกทางเลือกที่นำมาใช้ร่วมกับการรักษาปรกติทำให้เห็นผลของการรักษาได้เร็วช่วยให้ผู้ป่วยไม่ต้องทุกข์ทรมานกับการรักษานาน ๆ ในอนาคตอาจสามารถพัฒนาปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารพิษนี้ให้เหมาะสมจนสามารถใช้เป็นยาในการรักษาโรคมะเร็งได้โดยเกิดผลข้างเคียงน้อยที่สุด

โครงสร้างของ โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน

โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน เป็นโปรตีนที่สร้างจากเชื้อ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกชนิดไม่ใช้ออกซิเจน[4] มีลักษณะเป็นรูปแท่งพบได้ในดินและโคลนในทุกภูมิภาคของโลก แบ่งเป็น 7 ชนิดคือ ชนิด เอ ถึง ชนิด จี (A - G) โดยชนิด เอ บี อี และ เอฟ ทำให้เกิดโรคทางระบบประสาทในมนุษย์ ชนิด ซี และ ดี ทำให้เกิดโรคในสัตว์ ส่วนชนิด จี ยังไม่มีรายงานว่าทำให้เกิดโรคทั้งในคนและสัตว์[5] โบทูลินัม นิวโรท็อกซินสร้างจากไซโตพลาสซึมของแบคทีเรียออกมาในรูปที่ยังไม่พร้อมจะทำงาน (inactive form) เป็นโปรตีนสายเดี่ยวแล้วหลังจากนั้นจะถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์โปรตีเอส (protease) ได้เป็นรูปที่พร้อมทำงานได้ (active form) คือโปรตีนที่สั้นลงสองสายมีขนาด 100 กิโลดาลตัน (heavy chain หรือ H chain) และ ขนาด 50 กิโลดาลตัน (light chain หรือ L chain) ตามลำดับ โดยโปรตีนทั้งสองสายจะยังเชื่อมกันอยู่ด้วยพันธะกำมะถัน (disulfide) ในส่วนของ H chain นั้นแบ่งออกเป็น Hn และ Hc โดย Hc ทำหน้าที่เข้าไปจับกับตัวรับที่เซลล์ประสาทก่อนประสาน (presynaptic neuron) เพื่อพาเอาสารพิษนี้เข้าสู่เซลล์ประสาทด้วยวิธีเอ็นโดไซโตซิส (endocytosis) แล้วสร้างเป็นเอ็นโดโซม (endosome) โดยมีโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน บรรจุอยู่ภายในเอ็นโดโซมนั้น ส่วน Hn ทำหน้าที่พาส่วนของ L chain ออกจากเอ็นโดโซมเพื่อเข้าไปยังไซโตพลาสซึมของเซลล์ประสาทโดยการสร้าง channels ที่เยื่อหุ้มเซลล์แล้วผ่านออกไปทาง channels นั้น หลังจากนั้น L chain ซึ่งเป็นเอนไซม์โปรตีเอสจะเข้าไปทำลาย N-ethyl maleimide-sensitive factor attachment protein receptor (SNARE) complex[5,6] ซึ่งเป็นโปรตีนที่ใช้ในการดึงถุงบรรจุสารสื่อประสาท (synaptic vesicles) อะซีทิลโคลีน ให้



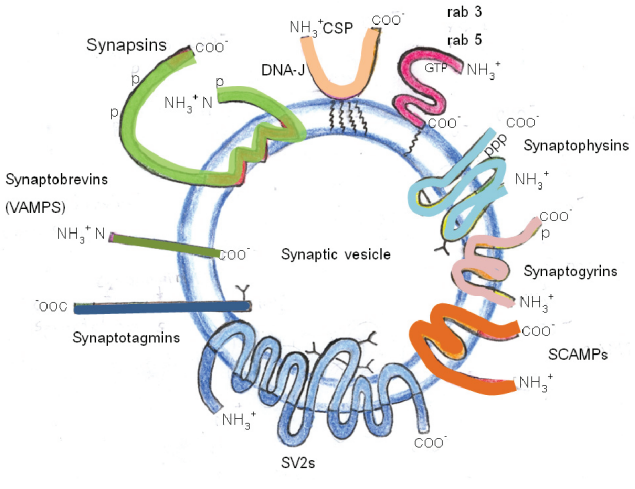
รูปที่ 1 โครงสร้างของ botulinum neurotoxin A (a) โครงสร้างมีลักษณะเป็นโปรตีนสายเดี่ยวซึ่งอยู่ในรูปไม่พร้อมทำงาน (inactive form) (b) หลังจากย่อยสลายเป็นโปรตีนสายสั้นสองสายคือ L chain และ H chain ที่ยังเชื่อมกันอยู่ด้วยพันธะกำมะถัน (disulfide) จะอยู่ในรูปพร้อมทำงานได้ (active form) ดัดแปลงจาก Ansiaux และ Galle, 2007[5]

เคลื่อนที่มาชิดกับเยื่อหุ้มเซลล์ของปลายประสาทเพื่อหลั่งสารสื่อประสาท

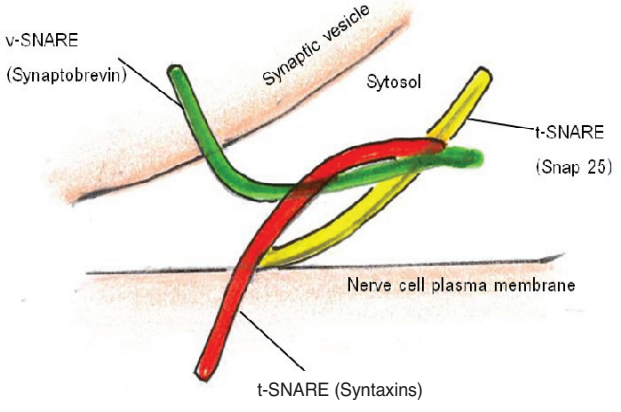
กลไกการหลั่งสารสื่อประสาท

ระบบประสาททำงานโดยเซลล์ส่งข้อมูลประสาทหนึ่งไปยังเซลล์ประสาทถัดไปโดยอาศัยสารสื่อประสาทเป็นตัวส่งข้อมูลหลายชนิด โดยสร้างและเก็บสารนี้ไว้ที่ปลายประสาท (synaptic terminal) ภายในถุง (vesicle) ซึ่งผิวด้านนอกมีโปรตีนหลายชนิดทำหน้าที่ช่วยหลั่งสารสื่อประสาท (รูปที่ 2)

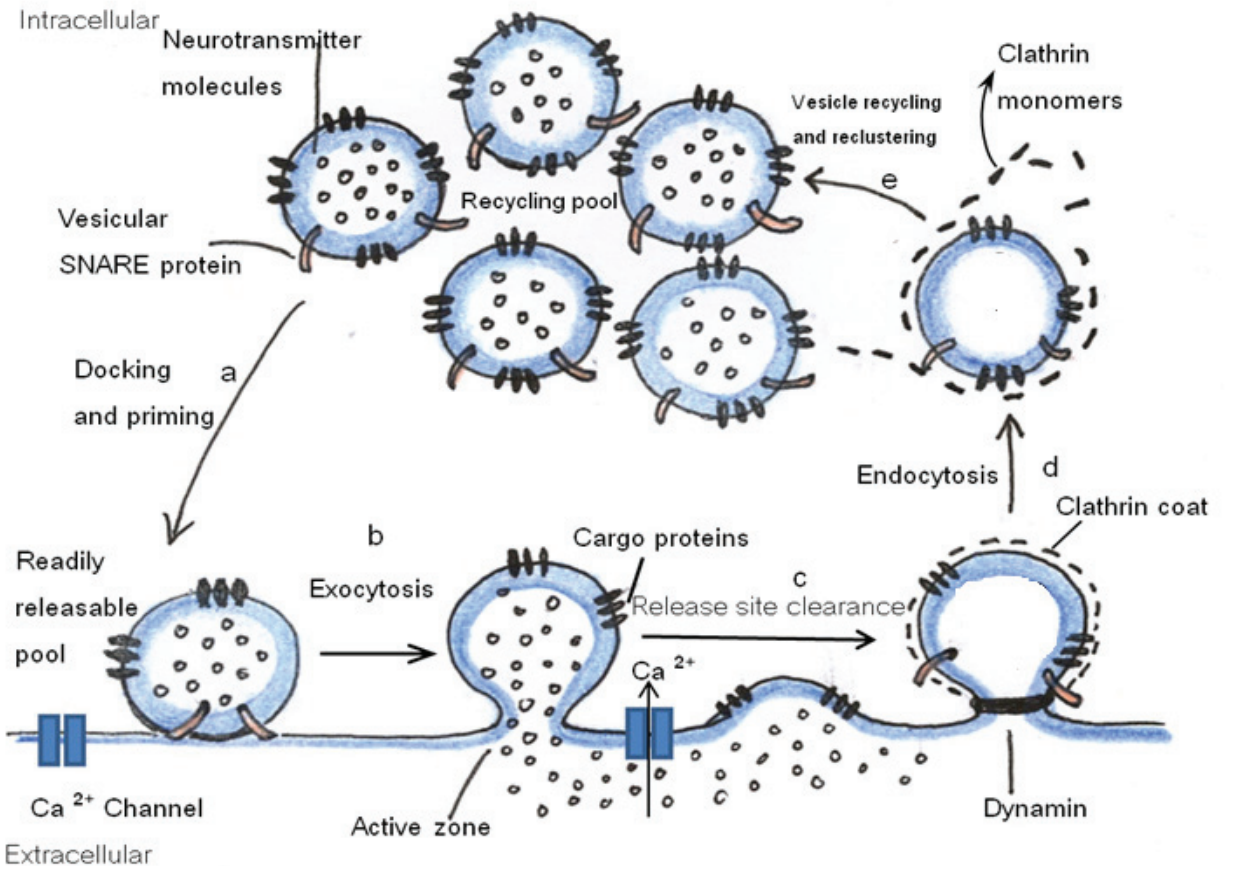
โปรตีนที่ใช้สำหรับช่วยหลั่งสารสื่อประสาทเรียกว่า SNARE (soluble NSF attachment protein receptor)[8] เช่น synapsin I ทำหน้าที่ยึดถุงบรรจุสารสื่อประสาท ให้เกาะอยู่กับโปรตีนอื่น ๆ ภายในปลายประสาทเพื่อไม่ให้ถุงบรรจุสารสื่อประสาทล่องลอยไปมา[9] ถุงที่ถูกยึดไว้ด้วยโปรตีนนี้เรียกว่า reserve pool ส่วนถุงที่เกาะอยู่ตรงปลายสุดของปลายประสาทที่กำลังจะหลั่งสารสื่อประสาทสู่ภายนอกเรียกว่า ready releasable pool การหลั่งสารสื่อประสาทจะต้องอาศัยโปรตีนที่อยู่ที่ผิวของทั้งถุงบรรจุสารสื่อประสาท และโปรตีนที่อยู่ที่ผิวของเยื่อก่อนประสาน (presynaptic membrane or nerve cell plasma membrane) โปรตีนที่สำคัญ ได้แก่ synaptobrevin, syntaxin I และ SNAP25 ทั้งนี้ synaptobrevin เป็นโปรตีนที่อยู่ที่ถุงบรรจุสารสื่อประสาท ซึ่งจะเข้าไปเกาะกับโปรตีนของเยื่อก่อนประสาน คือ syntaxin I โดยมี SNAP25 เป็นตัวช่วยให้ synaptobrevin และ syntaxin I จับกันแน่นขึ้น (รูปที่ 3) เมื่อจับกันแล้ว syntaxin I จะช่วยดึงถุงบรรจุสารสื่อประสาทให้เคลื่อนที่ลงมาเรื่อย ๆ จนมาถึงเยื่อก่อนประสาน แล้วจึงแทรกเข้าไปในเยื่อก่อนประสาน เพื่อหลั่งสารสื่อประสาทออกสู่ภายนอก (รูปที่ 4)



รูปที่ 2 โปรตีนที่ผิวของ vesicle (V-snare) ที่ใช้สำหรับการเคลื่อนที่นำ vesicle ไปยังปลายประสาทเพื่อหลั่งสารสื่อประสาท ดัดแปลงจาก siegel และคณะ, 1999[7] *(synapsins มีทั้งหมด 3 ชนิดคือ synapsin I, II และ III โดย synapsin I และ II มีหน้าที่ทั้งการหลั่งสารสื่อประสาทและช่วยในการเจริญของปลายประสาท แต่ synapsin I จะมีบทบาทเด่นในด้านการหลั่งสารสื่อประสาทมากกว่า ส่วน synapsin II มีบทบาทเด่นในเรื่องการเจริญของปลายประสาท synapsin III พึ่งค้นพบได้ไม่นาน จึงยังไม่ชัดเจนในหน้าที่ ดังนั้นในรูปจึงใช้ชื่อเป็น Synapsins เพื่อบ่งบอกให้รู้ว่าตัวที่อยู่ที่ vesicle นั้นมีหลายชนิด แต่ในเนื้อหาใช้ synapsin I เนื่องจากเป็นชนิดที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งสารสื่อประสาทมากที่สุด*



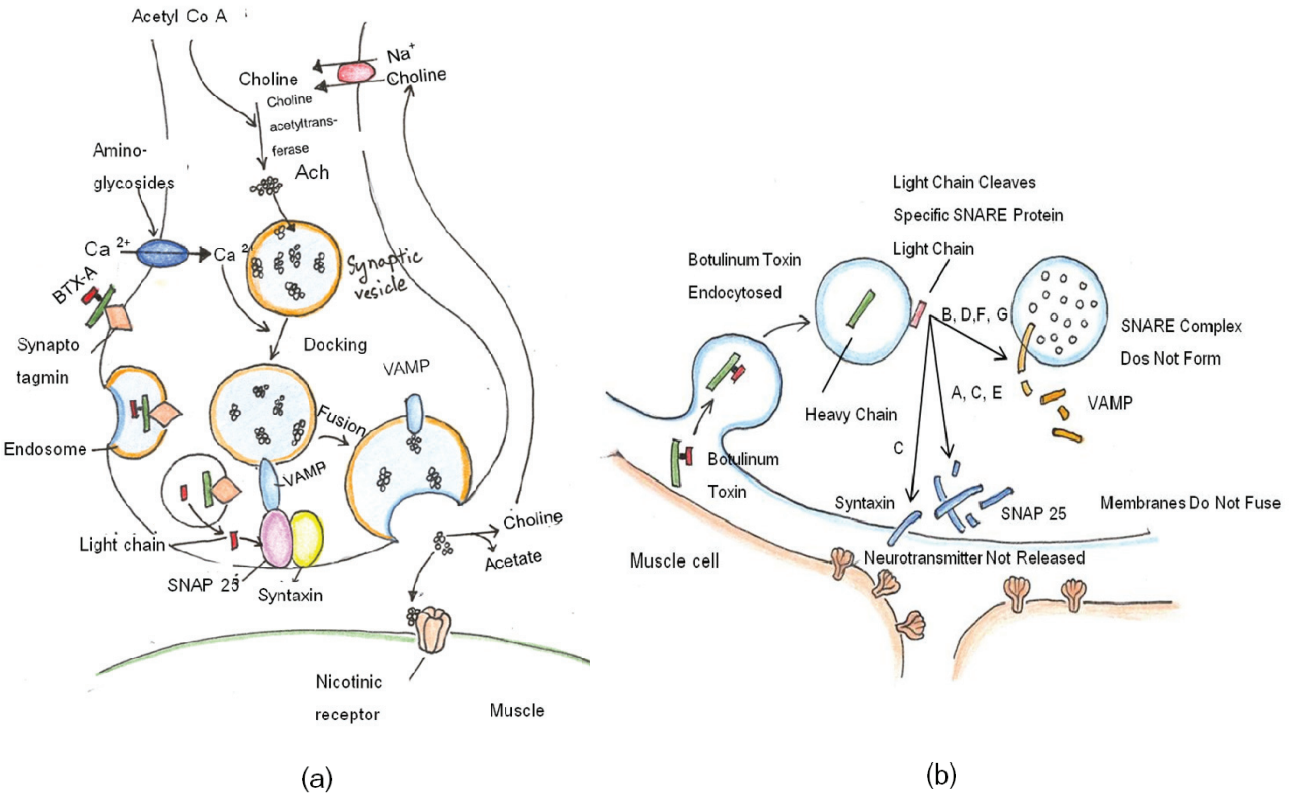
รูปที่ 3 การจับกันของ synaptobrevin และ syntaxin I โดยมี SNAP 25 ช่วยให้โปรตีน ทั้ง 2 ชนิดจับกันแน่นขึ้น ดัดแปลงจาก Alberts และคณะ, 2002[10] *(syntaxins มีหลายชนิดมีตำแหน่งที่อยู่แตกต่างกันไป syntaxin 1, 2, 3 จะอยู่ที่ plasma membrane ช่วยในการ exocytosis แต่ syntaxin 1 จะมีบทบาทมากที่สุดในการหลั่งสารสื่อประสาท ส่วนชนิดอื่น ๆ จะอยู่ในเซลล์ช่วยในการเคลื่อนที่ของออร์แกนเนลล์ เช่น syntaxin 5 มีหน้าที่ขนส่งสารระหว่าง ER กับ golgi apparatus ฯลฯ)*



รูปที่ 4 ขั้นตอนการหลั่งสารสื่อประสาท (a) Vesicle ที่จะหลั่งสารสื่อประสาทจะถูกนำมาไว้ที่ส่วนปลายของ axon เรียก vesicle นี้ว่า ready releasable pool (b) แล้ว vesicle ก็จะ fuse รวมกับเยื่อหุ้มเซลล์ของปลายประสาทเพื่อปล่อยสารสื่อประสาทออกไปยังช่องว่างระหว่างเซลล์ประสาทก่อนประสานและหลังประสาน (synaptic cleft) เรียกบริเวณที่มีการหลั่งสารสื่อประสาทนี้ว่า active zone โดยบริเวณนี้จะมี voltage-activated Ca^{2+} channels อยู่ด้านข้าง (c) เมื่อสารสื่อประสาทหลั่งออกไปจนหมด vesicle ก็ fuse รวมกับเยื่อหุ้มเซลล์อย่างสมบูรณ์ (d) หลังจากนั้นจะเกิดเอ็นโดไซโตซิส (endocytosis) เพื่อสร้างเป็น vesicle ใหม่ vesicle เหล่านี้ถูก coat ด้วย clathrin แล้วส่งต่อไปเรื่อย ๆ (e) จนส่วนของ cathrin หลุดออกไปเพื่อบรรจุสารสื่อประสาทเข้าไปใหม่แล้ว vesicle เหล่านี้ก็จะไปจับกันอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (vesicle clustering) เพื่อรอการกระตุ้นครั้งต่อไป ดัดแปลงจาก Haucke และคณะ, 1999[11]

การยับยั้งการหลั่งสารสื่อประสาทด้วยโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน

โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ทั้ง 7 ชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งอะซีทิลโคลีน ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่หลั่งออกมาจากปลายประสาทของเซลล์ประสาทยนต์ (motor neuron) ตรงบริเวณรอยต่อระหว่างปลายประสาทกับกล้ามเนื้อลาย (neuromuscular junction) ทำหน้าที่ช่วยให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อลาย สารพิษนี้จะใช้ส่วนของ Hc (H chain carboxy-terminal) เข้าไปจับกับตัวรับที่เซลล์ประสาทก่อนประสาน เพื่อเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีเอ็นโดไซโตซีส (receptor-mediated endocytosis) แล้วบรรจุอยู่ภายในเอ็นโดโซม หลังจากนั้นพันธะกำมะถัน (disulfide) จะถูกทำลาย ส่วนของ L chain จึงหลุดออกมาแล้วผ่านออกจากเอ็นโดโซมทาง ionic channel เพื่อไปทำลาย SNARE protein โดย โบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด เอ ซี และ อี จะทำลาย cleaves synaptosomal-associated proteins (SNAP-25) โบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิดบี ดี เอฟ และจี ทำลาย vesicle-



รูปที่ 5 การยับยั้งการหลั่งสารสื่อประสาทด้วยโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน (botulinumneuro toxins) (a) การเข้าสู่เซลล์ของโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ที่ปลายประสาทโคลิเนอร์จิก (cholinergic)[5] และ (b) การยับยั้งการหลั่งสารสื่อประสาทของโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน โดยการเข้าไปทำลาย SNAP-25, VAMP และ syntaxin ดัดแปลงจาก Arnon และคณะ, 2001[13]

associated membrane protein (VAMP) หรือมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า synaptobrevin II และ โบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด ซี ทำลาย syntaxin เมื่อ SNARE protein ต่าง ๆ เหล่านี้ถูกทำลายจะทำให้ถุงบรรจุสารสื่อประสาทไม่สามารถเคลื่อนลงไปสู่ส่วนปลายได้ (docking) จึงยับยั้งการหลั่งของสารสื่อประสาททำให้เกิดอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรงตามมา[12,13]

ความแรงและหน่วยของยาที่ใช้ในการรักษา

ปัจจุบันมีเพียงโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ชนิด เอ และ บี เท่านั้นที่ใช้เป็นยา ชนิดซี และเอฟเคยทดลองใช้ในมนุษย์แต่ยังไม่มีการนำมาใช้จริง[14] ชนิดแรกที่นำมาใช้ทางการแพทย์คือ โบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด เอ ภายใต้ชื่อการค้า Botox® และยังใช้ต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน ต่อมาได้มีการผลิตภายใต้ชื่อการค้าอื่น คือ Dysport®, CS-BOT® ส่วนโบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด บี มีจำหน่ายภายใต้ชื่อการค้า Myobloc® และ Neurobloc®[9] ปริมาณของสารพิษที่ใช้ในการรักษาจะใช้เป็น 1 หน่วย โดย 1 หน่วยมีค่าเท่ากับปริมาณของสารพิษที่ฉีดเข้าทางหน้าท้องของหนูพันธุ์ Swiss Webster เพศเมีย แล้วทำให้หนูดังกล่าวตายไปครึ่งหนึ่งของหนูทั้งหมดที่ใช้ทดสอบความแรงของสารพิษ[15] ทั้งนี้ยาที่ผลิตแต่ละบริษัทจะมีความแรงต่างกัน เช่น Botox® 1 หน่วย เท่ากับ Dysport® 2-5 หน่วย[16] แต่ประสิทธิภาพในการรักษาของ Dysport® จะต่ำกว่า Botox® โดย 1 หน่วยความแรงของ Botox® จะให้ผลการรักษาเทียบเท่ากับ 3 - 4 หน่วยของ Dysport® ส่วน CS-BOT®

นั้นให้ประสิทธิภาพในการรักษาต่อหน่วยความแรงใกล้เคียงกับ Botox®[17] ส่วนขนาดยาที่ใช้สำหรับรักษาโรคมะเร็งนั้นปัจจุบันยังอยู่ในขั้นของการทดลอง ซึ่งส่วนมากเป็นการทดลองในสัตว์ยังไม่นำมาใช้ในทางการแพทย์จึงไม่มีขนาดยาที่ใช้ได้ปลอดภัยและให้ผลการรักษาที่แน่นอนเหมือนดังเช่นยาอื่น

กลไกในการต่อต้านมะเร็ง

โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน มีประโยชน์ในการรักษาโรคมะเร็งซึ่งปัจจุบันยังมีการศึกษาน้อยมากเท่าที่มีรายงานพบว่า โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ช่วยรักษาและบรรเทาอาการของโรคมะเร็งด้วย 3 กลไกคือ

1. ช่วยลดอาการปวดที่เกิดจากการหดเกร็งของกล้ามเนื้อที่มีสาเหตุจากเซลล์มะเร็งหรือผลของการรักษา เช่น อาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อกระเพาะปัสสาวะภายหลังรักษามะเร็งปากมดลูก[18] การปวดของกล้ามเนื้อที่คอหลังใช้รังสีรักษามะเร็งที่คอและศีรษะ[19] รวมทั้งการรักษาที่ไขสันหลังระดับเอวและกระเบนเหน็บซึ่งส่งผลทำให้เกิดอาการกระตุกของกล้ามเนื้อตามมา[20] ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากรังสีไปทำลายเยื่อไมอีลิน (myelin sheath) ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการปวด[19] นอกจากนี้การรักษามะเร็งด้วยเคมีบำบัดยังมีผลข้างเคียงทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดแล้วทำให้หัวใจหยุดทำงานหรือกล้ามเนื้อหัวใจตายได้ จากการศึกษาของ Paiva และคณะ พบว่าภายหลังให้การรักษาคนไข้มะเร็งอัณฑะ มะเร็งปอด และมะเร็งต่อมทอนซิล ด้วยเคมีบำบัดโดยให้ยา 5-fluorouracil ร่วมกับ cisplatin ทำให้คนไข้มีอาการหัวใจขาดเลือดเนื่องจากหลอดเลือดเกิดการหดตัว[21] อาการปวดกล้ามเนื้อและการหดตัวของหลอดเลือดนี้บรรเทาได้โดยโบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด เอ เพราะสารพิษนี้เข้าไปทำลายโปรตีนที่ใช้สำหรับการหลั่งอะซีทิลโคลีน (acetylcholine) ที่บริเวณรอยต่อระหว่างปลายประสาทกับกล้ามเนื้อลายและนอร์อีพิเนฟริน (norepinephrine) ที่หลอดเลือดทำให้กล้ามเนื้อและหลอดเลือดคลายตัว[22] ส่งผลให้อาการปวดกล้ามเนื้อลดลงและเลือดมาเลี้ยงบริเวณดังกล่าวได้มากขึ้นซึ่งเป็นการป้องกันภาวะเซลล์ขาดเลือด อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวเป็นเพียงการบรรเทาอาการข้างเคียงจากการรักษาเท่านั้นไม่ใช่วิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาโรคมะเร็ง

2. ทำลายเซลล์มะเร็งโดยตรงจากเอ็นไซม์ที่หลั่งออกมาจากเชื้อโรค โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ยังสามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้โดยตรง เช่น เมื่อฉีดโบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด เอ เข้าไปยังต่อมลูกหมากของคนไข้มะเร็งต่อมลูกหมากพบว่าจำนวนเซลล์มะเร็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[23] หรือเมื่อฉีดสปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย Clostridia เข้าทางหลอดเลือดดำหรือฉีดเข้าโดยตรงที่เซลล์มะเร็ง เอ็นไซม์โปรตีเอส และ ไลเปส จากสปอร์ของเชื้อที่ฉีดเข้าไปนั้นจะเข้าไปย่อยสลายและทำลายเซลล์มะเร็ง[5] นอกจากนี้ร่างกายยังสร้างภูมิคุ้มกันต่อต้านกับเชื้อนี้ด้วย โดยที่ภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นไม่เพียงแต่ต่อต้านเชื้อ Clostridia เท่านั้นยังมีผลทำลายเซลล์มะเร็งด้วย การใช้ Clostridia ในการรักษามะเร็งนั้นมีผลต่อเซลล์ปรกติน้อยมากเพราะตัวมันเองเจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจึงสามารถแทรกซึมและเพิ่มจำนวนในเซลล์มะเร็งได้เนื่องจากเซลล์มะเร็งเป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ในภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxia) หรือเป็นเซลล์ที่ตายแล้ว (necrosis)[24] แต่อย่างไรก็ตามผลการยับยั้งเซลล์มะเร็งด้วยโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน นั้นเป็นผลจากการเปิดหลอดเลือดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ ของรังสีรักษาหรือเคมีบำบัดมากกว่าผลจากการทำลายเซลล์มะเร็งโดยตรง[25] เนื่องจากการเปิดหลอดเลือดนั้นจะทำให้ยาหรือรังสีสามารถเข้าไปทำลายเซลล์มะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งในปัจจุบัน ดังรายงานวิจัยของ Ansiaux และคณะ ที่พบว่าการให้โบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด เอ ร่วมกับการฉายรังสีและการให้ยา cyclophosphamide สามารถลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าการ

ฉีดโบทูลินัม นิวโรท็อกซินชนิด เอ เข้าไปที่เซลล์มะเร็งเพียงอย่างเดียว[22]

3. เปิดหลอดเลือดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาด้วยรังสีหรือเคมีบำบัด วิธีการในการทำลายเซลล์มะเร็งส่วนมากจะพุ่งเป้าไปที่หลอดเลือดที่เลี้ยงเซลล์มะเร็งนั้นซึ่งยาหลายชนิดก็ออกฤทธิ์ทำลายหลอดเลือด[26] หรือไปขัดขวางการเจริญเติบโตของหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงเซลล์มะเร็ง[27] ทำให้เซลล์มะเร็งขาดอาหารและออกซิเจนในส่วนของโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน มีผลที่หลอดเลือดเช่นเดียวกันแต่ให้ผลตรงกันข้าม คือทำให้หลอดเลือดขยายซึ่งเป็นการเปิดหลอดเลือดทำให้เลือดและออกซิเจนไปยังเซลล์มะเร็งได้มากขึ้น[28] การที่ออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์มากขึ้นจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษาด้วยรังสีและเคมีบำบัดเพราะระดับออกซิเจนที่มากขึ้นจะทำให้เซลล์มีความไวต่อการให้เคมีบำบัดหรือฉายแสงมากขึ้น กลไกที่ทำให้หลอดเลือดขยายของโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน นั้นเกิดจากการยับยั้งการหลั่งสารสื่อประสาทนอร์อีพิเนฟริน ซึ่งหลั่งจากเซลล์ประสาทหลังประสาน (postsynaptic neuron) ของระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic nervous system) ทำให้หลอดเลือดขยายเลือดจึงไหลเวียนและพาออกซิเจนมายังบริเวณนั้นได้มากขึ้น[29]

สรุป

โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน นั้นมีประโยชน์นานัปการที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายก็คือใช้ในด้านความงามช่วยลดริ้วรอย ส่วนในทางการแพทย์ใช้เพื่อการรักษาบรรเทาอาการของโรคต่าง ๆ เช่น การหดเกร็งของกล้ามเนื้อ หนังตากระตุก ใช้บรรเทาอาการปวด รวมทั้งใช้ลดการทำงานของต่อมต่าง ๆ เช่น ภาวะการหลั่งน้ำลายมาก หรือมีเหงื่อออกมากกว่าปรกติ ประโยชน์อีกด้านที่น่าสนใจคือการใช้รักษาโรคมะเร็งหากมีการพัฒนาให้มากขึ้นก็จะนำไปสู่ความเจริญก้าวหน้าทางด้านการแพทย์และการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเพราะการรักษามะเร็งด้วยจุลินทรีย์นั้นจะสามารถลดผลข้างเคียงหลายประการที่เกิดจากการรักษาด้วยรังสีหรือเคมีบำบัดอันจะทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นขณะรักษา ณ ปัจจุบันโบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ต่อโรคมะเร็งนั้นให้ผล 3 ด้านด้วยกันคือ ช่วยลดอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อซึ่งอาจเป็นผลจากเซลล์มะเร็งเองหรือผลจากการรักษาก็ตามแต่ผลการหดเกร็งดังกล่าวก็จะทำให้ผู้ป่วยมีอาการปวดตามมาการลดการหดเกร็งก็จะช่วยลดอาการปวดนั้นได้ อีกด้านคือช่วยขยายหลอดเลือดเพื่อให้เลือดไปยังเซลล์มะเร็งได้มากขึ้นซึ่งโดยปรกติเซลล์มะเร็งจะเป็นเซลล์ที่พร่องออกซิเจนทำให้การรักษาด้วยเคมีบำบัดหรือการฉายรังสีไม่เกิดผลเท่าที่ควรเพราะเป็นที่ทราบกันดีว่าเซลล์จะตอบสนองต่อรังสีหรือเคมีบำบัดดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับออกซิเจนภายในเซลล์ สุดท้ายคือเชื้อแบคทีเรียไปมีผลทำลายเซลล์มะเร็งโดยตรงจากการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันหรือมีการสร้างเอ็นไซม์เพื่อไปย่อยสลายเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตามความรู้ทางด้านการใช้โบทูลินัม นิวโรท็อกซิน ต่อการยับยั้ง เซลล์มะเร็งยังมีจำกัดยังไม่ได้นำมาใช้จริงในทางการแพทย์จำเป็นต้องศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมต่อไปในอนาคตเพื่อพัฒนาวิธีการรักษาให้มีประสิทธิภาพสูงสุดและเกิดผลข้างเคียงน้อยที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Ney JP, Joseph JR. Neurologic uses of botulinum neurotoxin type A. Neuropsychiatr Dis Treat 2007; 3(6):785-98.
2. Kocyigit P, Bostanci S. Botulinum toxin in the treatment of focal hyperhidrosis. Expert Rev Dermatol 2006; 1(2):217-25.
3. ชนกพรหม์ สุคนธ์พันธุ์. อาวุธชีวภาพ Botulinum neurotoxin. วารสารไทยไภษัชยนิพนธ์ 2548;4:1-10.
4. Tavallaie M, Salmanian AH, Bouzari S. Cloning of binding domain of *Clostridium botulinum* toxin. Arch Razi Ins 2000;51:113-22.
5. Ansiaux R, Galle Z B. Use of botulinum toxins in cancer therapy. Expert Opin Investig Drugs 2007; 16(2):209-18.
6. Huang W, Foster JA, Rogachesky AS. Pharmacology of botulinum toxin. J Am Acad Dermatol 2000;43:249-59.

7. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD. Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects. 6th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
8. Sutton RB, Fasshauer D, Jahn R, Brunger AT. Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4 A_ resolution. Nature 1998;395:347-53.
9. Cesca F, Baldelli P, Valtorta F, Benfenati F. The synapsins: key actors of synapse function and plasticity. Prog Neurobiol 2010;91:313-48.
10. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell. 4th ed. New York: Garland Science; 2002.
11. Haucke V, Neher E, Sigrist SJ. Protein scaffolds in the coupling of synaptic exocytosis and endocytosis. Nat Rev Neurosci 2011;12:127-38.
12. Dressler D, Saberi FA, Barbosa ER. Botulinum toxin : mechanism of action. Arq Neuropsiquiatr 2005; 63(1):180-5.
13. Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, et al. Botulinum toxin as a biological weapon: medical and public health management [Electronic version]. JAMA 2001;285(8): 1059-70.
14. Eleopra R, Tugnoli V, Rossetto O, Montecucco C, De Granddis D. Botulinum neurotoxin serotype C: a novel effective botulinum toxin therapy in human. Neurosci Lett 1977;224(2):91-4.
15. Aoki KR. A comparison of the safety magins of botulinum neurotoxin serotypes A, B and F in mice. Toxicon 2001;39(12):1815-20.
16. Van Den Bergh PY, Lison DF. Dose standardization of botulinum toxin. Adv Neurol 1998;78:231-35.
17. Wohlfarth KBH. Pharmacokinetic properties of different formations of botulinum neurotoxin type A. Mov Disord 2004:19(suppl. 8):S65-7.
18. Farquharson DI, Shingleton HM, Soong SJ, Sanford SP, Levy DS, Hatch KD. The adverse effects of cervical cancer treatment on bladder function. Gynecol Oncol 1987;27:15-23.
19. Van Daele D, Finnegan EM, Rodnitzky R, Zhen W, McCulloch TM, Hoffman HT. Head and neck muscle spasm after radiotherapy: management with botulinum toxin A injection. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2002;128:956-9.
20. Jamieson PW, Katirji MB. Idiopathic generalized myokymia. Muscle Nerve 1994;17:42-51.
21. Paiva CE, Michelin OC, Okoshi K. Acute coronary syndrome during chemotherapy: report of three cases. Rev Bras Cancerol 2009;55(1):55-8.
22. Ansiaux R, Baudelet C, Cron GO, Segers J, Dessy C, Martinive P, et al. Botulinum toxin potentiates cancer radiotherapy and chemotherapy. Clin Cancer Res 2006; 12:1276-83.
23. Karsenty G, Rocha J, Chevalier S, Scarlata E, Andrieu C, Zouanat FZ, et al. Botulinum toxin type A inhibits the growth of LNCaP human prostate cancer cells in vitro and in vivo. Prostate 2009;69(11):1143-50.
24. Mellaert LV, Barbeé S, Anneé J. Clostridium spores as anti-tumour agents. Trends Microbiol 2006;14(4):190-6.
25. Patyar S, Joshi R, Prasad Byrav DS, Prakash A, Medhi B, Das BK. Bacteria in cancer therapy: a novel experimental strategy. J Biomed Sci 2010;17:21
26. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 2000;407:249-57.
27. Fayette J, Soria JC, Armand JP. Use of angiogenesis inhibitors in tumor treatment. Eur J Cancer 2005;41: 1109-16.
28. Ansiaux R, Baudelet C, Cron GO, Segers J, Dessy C, Martinive P, et al. Botulinum toxin potentiates cancer radiotherapy and chemotherapy. Clin Cancer Res 2006; 12:1276-83.
29. Morris JL, Jobling P, Gibbins IL. Botulinum neurotoxin A attenuates release of norepinephrine but not NPY from vasoconstrictor neurons. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002;283:H2627-35.

Abstract **Botulinum Neurotoxins in Cancer Therapy**

Janpen Bangsumruaj
Department of Biology Science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University

Journal of Health Science **2012; 21:1049-57.**

Botulinum neurotoxins (BoNTs) are produced by *Clostridium botulinum,* an anaerobic spore-former gram positive bacillus. BoNT protease disables synaptic vesicle exocytosis by cleaving their cytosolic SNARE (soluble NSF attachment protein receptor) substrates that induce muscle weakness. It has become a valuable method in the treatment of neurological disorders such as cervical dystonia and blepharospasm. It has also been found to be anti-cancer by inhibiting norepinephrine releases for open tumor vessels. BoNT protease provides for tumor oxygenation and perfusion which leads to a substantial improvement in the tumor's response during radiotherapy or chemotherapy. When directly affecting germinating bacteria, hydrolytic enzymes, such as proteases and lipases, are secreted to destroy cancerous cells. Lastly, it reduces muscle toning by relieving spasms resulting from cancer or therapies. However, the anti-cancer effect of BoNT is not yet fully understood, therefore, further study is required.

Key words: **botulinum neurotoxins, *Clostridium botulinum*, SNARE, cancerous cells, tumor vessel**