

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) สำนักพระราชวัง ปีงบประมาณ พ.ศ.2555 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่น เจ้าหน้าที่โครงการ อพ.สธ. และเจ้าหน้าที่การไฟฟ้า เขื่อนจุฬาภรณ์ ในการประสานงานโครงการและการประสานงานด้านต่างๆ มาโดยตลอด

คณะผู้วิจัย

มีนาคม 2556

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมของสมุนไพรวงศ์อะนาคาร์เดียซีในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยขอนแก่น พื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2555 **จำนวนเงิน** 100,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี เริ่มทำการวิจัยเมื่อ เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2554 ถึง เดือน กันยายน พ.ศ. 2555

รายนามคณะผู้วิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัดและหมายเลขโทรศัพท์

หัวหน้าโครงการและผู้วิจัยหลัก

1. รศ.ดร.กิตติศักดิ์ ศรีพานิชกุลชัย สัดส่วนของงานที่ทำ 35 %
ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
หน่วยงาน ภาควิชากายวิภาคศาสตร์คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น โทรศัพท์ 043- 363064,
043-348381 โทรสาร 043-348375
E-mail: skitti@kku.ac.th

ผู้ร่วมวิจัย

1. ศ.ดร.บังอร ศรีพานิชกุลชัย สัดส่วนของงานที่ทำ 35%
ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์
หน่วยงาน คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
โทร /โทรสาร 0-4320-2521
E-mail: bungorn@kku.ac.th
2. นางนิรามัย ผางกระโทก สัดส่วนของงานที่ทำ 30 %
ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
หน่วยงาน คณะเทคโนโลยีการเกษตร ม. บุรพา วิทยาเขตสระแก้ว
ต. วัฒนานคร อ. วัฒนานคร จ. สระแก้ว 27160
เบอร์มือถือ 083-1477567 Email: niramai@buu.ac.th

บทคัดย่อภาษาไทย

จุดประสงค์ของการศึกษานี้ คือการศึกษาศักยภาพในการต้านมะเร็งเต้านมของพืชในวงศ์อะนาคาร์เดียซี 3 ชนิด คือ กอกกัน แลงง้อ และอด ที่เก็บจากพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ ซึ่งเป็นพื้นที่ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากลำต้นของพืชทั้ง 3 ชนิด ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล สามารถต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านมทั้งชนิด MDA-MB-231 ซึ่งไม่มี estrogen receptor และ MCF-7 ซึ่งมี estrogen receptor ได้ใกล้เคียงกัน ภายในเวลา 48 ชั่วโมง โดยสารสกัดสามารถต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 374.96 ± 22.13 และ $384.96 \pm 58.5 \mu g/ml$ ตามลำดับ) รองลงมา คือ สารสกัดแลงง้อ (IC_{50} เท่ากับ 384.76 ± 7.75 และ $397.26 \pm 65.09 \mu g/ml$ ตามลำดับ) และสารสกัดกอกกัน (IC_{50} เท่ากับ 493.25 ± 114.15 และ $414.05 \pm 50.21 \mu g/ml$ ตามลำดับ) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดออกฤทธิ์อย่างไม่มีเฉพาะต่อ estrogen receptor สำหรับ tamoxifen ซึ่งเป็นยามาตรฐานในการรักษามะเร็งเต้านม สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดได้ดี (IC_{50} เท่ากับ 35.31 ± 1.16 และ 42.40 ± 5.60)

μg/ml ตามลำดับ) ในขณะที่ estradiol สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 ได้มากกว่าเซลล์ MDA-MB-231 อย่างมีนัยสำคัญ และจากการศึกษาผลของสารสกัดและ tamoxifen ต่อการชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ด้วยการย้อมสารเรืองแสง DAPI พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด สามารถฆ่าเซลล์โดยการชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ได้เช่นเดียวกับกับผลของ tamoxifen ซึ่งในเซลล์ MDA-MB-231 สารสกัดกอกกั้น ทำให้เกิด apoptosis ได้ 70.46 ± 6.33 % ซึ่งต่ำกว่าของสารสกัดแลนง้อ (75.40 ± 6.11 %) และสารสกัดอด (82.57 ± 4.67 %) ขณะที่ 40 μg/ml tamoxifen สามารถทำให้เกิด apoptosis ได้ดี คือ 93.10 ± 1.86 % ส่วนเซลล์ MCF-7 พบว่า สารสกัดกอกกั้นสามารถทำให้เกิด apoptosis 98.54 ± 1.06 % รองลงมา คือ สารสกัดแลนง้อ (97.46 ± 2.57 %) และสารสกัดอด (97.09 ± 0.56 %) ขณะที่ 40 μg/ml tamoxifen สามารถทำให้เกิด apoptosis ได้ดี คือ 97.93 ± 1.95 % จึงสรุปได้ว่า สารสกัดพืชในวงศ์อะนาคาร์เดียซีทั้ง 3 ชนิด สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งเต้านมทั้งสองชนิดได้โดยชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis คล้ายกันกับการออกฤทธิ์ของยามาตรฐาน tamoxifen แต่อย่างไรก็ตาม การเกิด apoptosis มีความจำเป็นต้องยืนยันด้วยวิธีอื่นๆ เพิ่มเติม ดังนั้นควรได้มีการศึกษากลไกในการชักนำให้เกิด apoptosis และสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์ของพืชแต่ละชนิดต่อไป

คำสำคัญ: มะเร็งเต้านม อะนาคาร์เดียซี apoptosis induction

Abstract

The aim of this study is to investigate an anti-cancer potential against breast cancer cells of 3 plants in Anacardiaceae, *Lannea coromandelica*, *Rhus succedanea* and *Rhus javanica*, collected from Chulaporn Dam under the Plant Genetic Conservation Project as the Royal Initiation of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn. The 50% ethanolic extracts of plant stems inhibited the proliferation of breast cancer cell lines MDA-MB-231, (estrogen receptor negative) and MCF-7 (estrogen receptor positive) within 48 h. Among these plants, the crude extract of *R. javanica* was the most effective in the proliferative inhibition of these cells (IC_{50} of 374.96 ± 22.13 and 384.96 ± 58.5 μg/ml respectively) following with *R. succedanea* (IC_{50} of 384.76 ± 7.75 and 397.26 ± 65.09 μg/ml, respectively) and *L. coromandelica* (IC_{50} of 493.25 ± 114.15 and 414.05 ± 50.21 μg/ml, respectively). These results indicated that all crude extracts affected cancer cells without specificity for estrogen receptor. Tamoxifen, a standard drug for breast cancer treatment, inhibited the proliferation of these cells (IC_{50} of 35.31 ± 1.16 and 42.40 ± 5.60 μg/ml, respectively). Whereas estradiol induced the proliferations of both cell lines but it significantly showed higher proliferative effect on MCF-7 cells than MDA-MB-231 cells. For apoptotic induction using DAPI staining, the plant extracts and tamoxifen induced the apoptosis in both cell lines. In MDA-MB-231 cells, *R. succedanea*, *R. succedanea* and *R. javanica* induced apoptosis at 70.46 ± 6.33 %, 75.40 ± 6.11 % and 82.57 ± 4.67 %, respectively, whereas 40 μg/ml tamoxifen induced apoptosis at 93.10 ± 1.86 %. Conversely, in MCF-7 cells, *R. succedanea*, *R. succedanea* and *R. javanica* induced apoptosis at 98.54 ± 1.06 %, 97.46 ± 2.57 % and 97.09 ± 0.56 %, respectively, while 40 μg/ml tamoxifen induced apoptosis for 97.93 ± 1.95 %. These results may indicate that plants in Anacardiaceae have

efficacy in the inhibition of proliferations in both breast cancer cells via the induction of apoptosis similar to tamoxifen. However, the apoptotic induction needs to be additionally confirmed. Therefore, the mechanism of apoptotic induction by these plant extracts and their bioactive constituents should be further studied

Keywords: Breast cancer, Anacardiaceae, apoptosis

สารบัญ
(Table of contents)

กิตติกรรมประกาศ.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
Abstract.....	iii
สารบัญ.....	iv
สารบัญตาราง.....	v
สารบัญภาพ.....	vi
บทนำ.....	1
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	3
วิธีดำเนินการวิจัย.....	9
ผลการวิจัย.....	11
วิจารณ์ สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	22
เอกสารอ้างอิง.....	23
ประวัตินักวิจัย.....	26

สารบัญตาราง
(List of Tables)

ตารางที่ 1 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดที่มีต่อเซลล์ MDA-MB-231 และ MCF-7.....	1
ตารางที่ 2 การเกิด apoptosis ของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 และ MCF-7 เมื่อทดสอบด้วย tamoxifen และสารสกัด 3 ชนิด.....	21

สารบัญภาพ (List of Illustrations)

รูปที่ 1 กลไกในการก่อให้เกิดมะเร็งเต้านมที่ชักนำโดยเอสโตรเจน.....	4
รูปที่ 2 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่เกิด apoptosis.....	5
รูปที่ 3 ลักษณะทางกายภาพของลำต้น เนื้อไม้ และใบของกอกก้น.....	6
รูปที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของลำต้น เนื้อไม้ และใบของแลนง้อ.....	7
รูปที่ 5 ลักษณะทางกายภาพของลำต้น เนื้อไม้ และใบของอด.....	8
รูปที่ 6 ผลของ E2 ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 และ MDA-MB-231.....	11
รูปที่ 7 ผลของ tamoxifen ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 และ MDA-MB-231.....	12
รูปที่ 8 ผลของสารสกัดที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231และ MCF-7.....	13
รูปที่ 9 ผลของสารสกัดที่มีต่อเซลล์ MDA-MB-231.....	14
รูปที่ 10 ผลของสารสกัดที่มีต่อเซลล์ MCF-7.....	15
รูปที่ 11 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 ที่ย้อมด้วย DAPI.....	17
รูปที่ 12 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 ที่ย้อมด้วย DAPI.....	18
รูปที่ 13 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ย้อมด้วย DAPI.....	19
รูปที่ 14 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ย้อมด้วย DAPI.....	20