

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคมะเร็งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขอันดับต้นๆ ของประเทศไทย จากรายงานของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2554 ระบุว่ามะเร็งที่พบบ่อย 3 อันดับแรกในชายไทย คือ มะเร็งลำไส้ (16.2%), มะเร็งปอดและหลอดลม (15.5%) และมะเร็งตับและถุงน้ำดี (15.3%) ในขณะที่มะเร็งที่พบบ่อยในหญิงไทย คือ มะเร็งเต้านม (37.5%), มะเร็งปากมดลูก (14.4%) และมะเร็งลำไส้ (9.6%)⁽¹⁾ จะเห็นได้ว่า มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบบ่อยที่สุด ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ นอกจากนี้ มะเร็งเต้านมยังถูกจัดเป็นมะเร็งที่ทำให้เกิดอัตราการตายสูงและพบได้ทั้งในผู้หญิงและผู้ชาย^(2,3) ในปัจจุบันแม้ว่าจะสามารถรักษาได้ด้วยการผ่าตัดร่วมกับการให้เคมีบำบัดและฉายรังสี แต่ผลข้างเคียงจากการรักษาส่งผลกระทบต่อสภาพร่างกายและจิตใจของผู้ป่วยเป็นอย่างมาก ผู้ป่วยจำนวนมากทุกข์ทรมานจากผลข้างเคียงดังกล่าว นำไปสู่การรักษาที่ล้มเหลว ปัจจุบันจึงมีการนำสมุนไพรมาใช้เป็นทางเลือกในการรักษา เพื่อลดผลข้างเคียงและเพื่อเสริมการรักษาร่วมกับยาแผนปัจจุบัน

ในช่วงที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยได้ดำเนินงานวิจัยด้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้านการก่อกลายพันธุ์ ด้านจุลชีพ และฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน ของพืชในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ ซึ่งได้ทำการสำรวจพบพืชสมุนไพรหลายวงศ์⁽⁴⁻⁷⁾ จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าส่วนสกัดจากพืชสมุนไพรมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้านการก่อกลายพันธุ์ และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งฤทธิ์ข้างต้นนี้ มีความสำคัญในกระบวนการต้านการเกิดมะเร็งและโรคที่เกิดจากการถูกทำลายอย่างต่อเนื่อง เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และ Alzheimer's disease เป็นต้น Machana et al.⁽⁸⁾ ได้รายงานฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว MOLT-4 ของสารสกัดจาก *Rhus javanica*, *R. succedanea* และ *Lannea coromandelica* ซึ่งพืชทั้ง 3 ชนิด อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae แสดงว่าพืชเหล่านี้มีศักยภาพต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ทดสอบได้ แต่ยังไม่มียางานเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมของพืชเหล่านี้

สำหรับการรักษามะเร็งเต้านม นิยมใช้ยา tamoxifen ที่ฆ่าเซลล์มะเร็งเต้านมได้ทั้งชนิดที่มีและไม่มี estrogen receptor (ER) โดยชักนำให้เกิด apoptosis^(9, 10) คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมของพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดในวงศ์ Anacardiaceae และผลจากการศึกษานี้จะช่วยทำให้ข้อมูลด้านฤทธิ์ชีวภาพของพืชสมุนไพรในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ให้สมบูรณ์ขึ้น และเป็นแนวทางกำหนดการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากพืชท้องถิ่นให้มีมูลค่าเพิ่มขึ้นได้ ตลอดจนจะได้ช่วยพัฒนาอนุรักษ์พืชสมุนไพรให้คงอยู่ต่อไปด้วย

สมมติฐานทางการศึกษา

สมมติฐานทางการศึกษาของการวิจัยครั้งนี้ คือ สารสกัดจากพืชที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์ในการฆ่าหรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านมที่ทดสอบได้โดยการชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมของพืชสมุนไพรในวงศ์ Anacardiaceae ในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ เพื่อสนองโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชใน พระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

ขอบเขตของการศึกษา

การศึกษานี้ ได้ทำการศึกษาพืชในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ โดยเลือกพืช 3 ชนิดในวงศ์ Anacardiaceae ที่มีฤทธิ์น่าสนใจจากการศึกษาก่อนหน้านี้ การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาในหลอดทดลอง สารสกัดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นสารสกัดที่ได้รับจากโครงการวิจัยย่อยเรื่องการศึกษาหามาตรฐานของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ โดยมี ศาสตราจารย์ ดร. บังอร ศรีพานิชกุลชัย เป็นหัวหน้าโครงการ

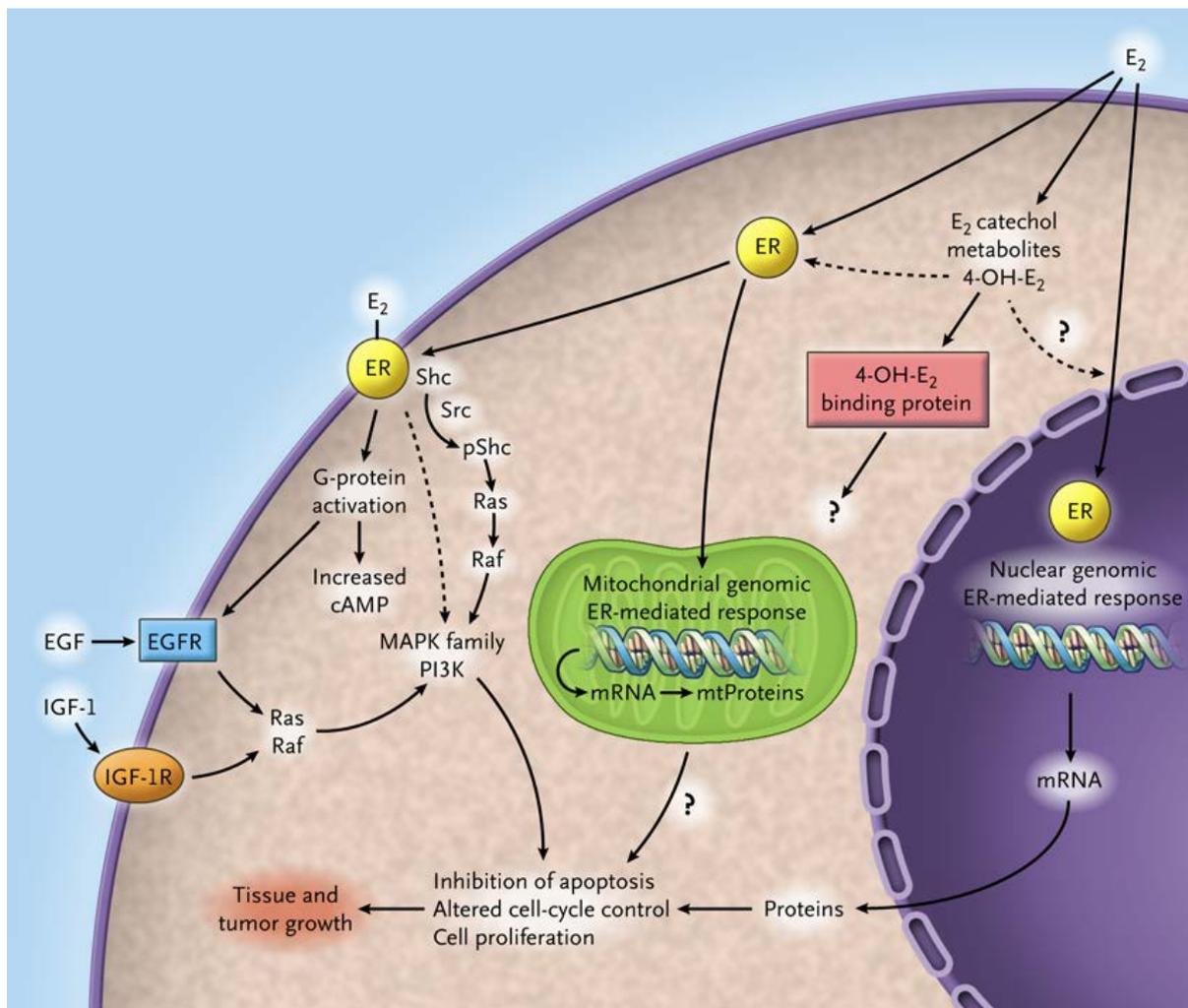
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบได้ทั้งในผู้ชายและผู้หญิง แต่พบมากในผู้หญิง โดยในประเทศไทยมะเร็งเต้านมพบร้อยละ 37.5 ของมะเร็งที่พบในผู้หญิงไทย⁽¹⁻³⁾ ปัจจัยเสี่ยงที่เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งเต้านม ได้แก่ อายุที่เพิ่มสูงขึ้น การได้รับฮอร์โมนรักษาอาการของวัยหมดประจำเดือน การไม่มีบุตร การมีบุตรช้า คนในครอบครัวมีประวัติการเป็นมะเร็งเต้านม ผู้ที่มีความผิดปกติของยีน BRCA1 หรือ BRCA2 ผู้มีประวัติเป็นมะเร็งรังไข่ การได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนเป็นระยะเวลานานๆ เช่น การใช้ยาคุมกำเนิด นอกจากนี้ ปัจจัยการดำเนินชีวิตก็มีส่วนเกี่ยวข้องด้วย เช่น ภาวะอ้วนในหญิงวัยหมดประจำเดือน การไม่ออกกำลังกาย การดื่มสุรา เป็นต้น⁽¹¹⁾

การรักษามะเร็งเต้านม ส่วนใหญ่แพทย์มักใช้วิธีผ่าตัด อาจร่วมกับการทำเคมีบำบัด ยา tamoxifen เป็นหนึ่งในยาแผนปัจจุบันที่ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านมได้ผลดี โดย tamoxifen เป็นยาชนิด selective estrogen receptor modulator (SERM) เนื่องจาก tamoxifen สามารถมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนอย่างอ่อนในเนื้อเยื่อบางชนิด เช่น กระดูก ขณะเดียวกันก็สามารถเป็น antagonist อย่างแรงต่อฤทธิ์ของเอสโตรเจนในเนื้อเยื่อเต้านม tamoxifen สามารถยับยั้งหรือฆ่าเซลล์มะเร็งเต้านมชนิดที่มี estrogen receptor (ER+) ได้ดีกว่าชนิดที่ไม่มี estrogen receptor (ER-) แต่อย่างไรก็ตาม tamoxifen ที่ความเข้มข้นสูงจะสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งได้ทั้งสองชนิด⁽¹²⁾ โดย tamoxifen จะชักนำให้เซลล์มะเร็งเข้าสู่ program cell death หรือเรียกว่า apoptosis ผ่านกระบวนการ mitochondrial dependent และ nitric oxide dependent pathways ตลอดจนผ่านยีนที่เกี่ยวข้องกับการชักนำไปสู่ apoptosis⁽¹³⁻¹⁴⁾ ในที่สุด

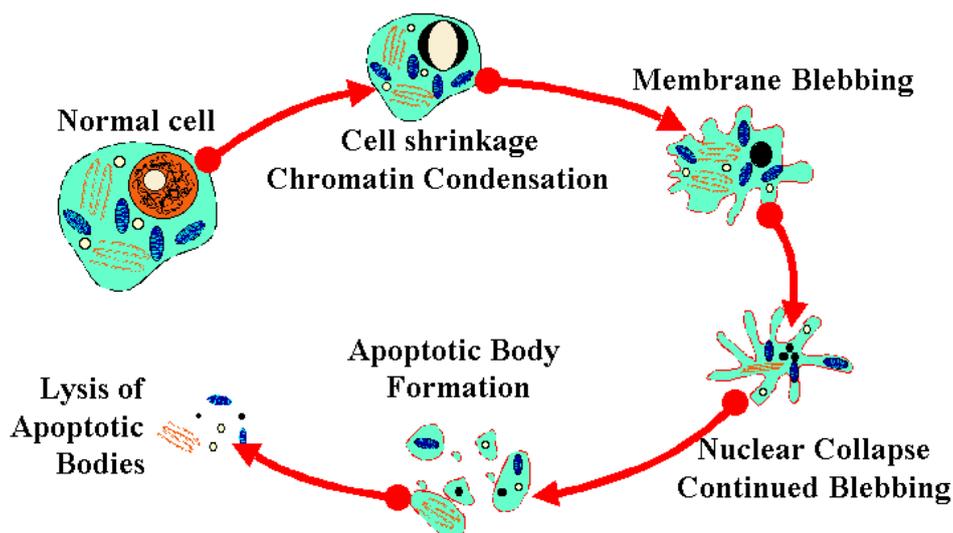
เอสโตรเจน เป็นหนึ่งในปัจจัยเสี่ยงหลักที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งเต้านม พบว่าเมทาบอลิซึมของเอสโตรเจนเป็นพิษต่อยีน (genotoxic) โดยสามารถไปจับทำลาย DNA และ lipid ของเซลล์ แล้วหากความเสียหายดังกล่าวไม่ได้รับการซ่อมแซม อาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในบริเวณนั้น และนำไปสู่การเกิดมะเร็งได้ (รูปที่ 1)⁽¹⁵⁾ นอกจากนี้ เอสโตรเจนสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ผ่านทาง receptor ทำให้เกิด estrogen receptor signaling pathway หลายแบบ แล้วส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์และยังยับยั้งการเกิด apoptosis ใน classical pathway เอสโตรเจนสามารถจับได้โดยตรงกับ estrogen receptor แล้วจับกันเป็น dimer เพื่อเข้าไปจับที่ estrogen response element ที่นิวเคลียสทำให้เกิดการแสดงออกของ estrogen response genes ซึ่งเกี่ยวข้องกับ transcription factors, coactivators, corepressors ส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วของเซลล์และเอสโตรเจนชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเกิด apoptosis เช่น *bcl-2*⁽¹⁶⁾ หรือยับยั้งการแสดงออกของยีนหรือการทำงานของ tumor suppressor เช่น *p53*⁽¹⁷⁾ เป็นต้น เอสโตรเจนสามารถจับกับ coactivator proteins เช่น AP-1 เพื่อกระตุ้นการทำงานของ transcription factor ตัวอื่นๆ ได้ เอสโตรเจนสามารถจับกับ protein kinase หลายชนิด เช่น mitogen-activated protein kinases และเพิ่มระดับของ secondary messenger เช่น cAMP ขึ้น นอกจากนี้ การ cross-talk ระหว่าง membrane estrogen-receptor signaling process และ signal-transduction pathway อื่นๆ เช่น epidermal growth factor receptor (EGFR) และ insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R)-signaling pathways ได้ (รูปที่ 1) pathways และการ cross-talk ต่างๆ เหล่านี้นำไปสู่การเพิ่มจำนวนของเซลล์และการยับยั้งการเกิด apoptosis ที่ถูกควบคุมโดยเอสโตรเจน⁽¹⁵⁾



รูปที่ 1 กลไกในการก่อให้เกิดมะเร็งเต้านมที่ชักนำโดยเอสโตรเจน⁽¹⁵⁾

การตายแบบ apoptosis

Apoptosis หรือ Program cell death เป็นรูปแบบหนึ่งของการตายของเซลล์ซึ่งเป็นรูปแบบการตายโดยปกติของเซลล์ เพื่อกำจัดเซลล์ที่ผิดปกติ เซลล์ที่มีอายุมาก และเซลล์ที่มีมากเกินไป นอกจากนี้ การเกิด apoptosis มีความสำคัญในการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและการกำจัดเซลล์ที่เสียหายจากการติดเชื้อ เมื่อเซลล์ถูกชักนำให้เข้าสู่การตายแบบ apoptosis จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เกิดขึ้น โดยในระยะ early apoptosis เซลล์จะเกิดการหดตัว มีขนาดเล็ก กลม cytoplasm และ organelles จะหดตัวรวมกันแน่น ซึ่งสามารถมองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และเกิด chromatin condensation ขึ้น เมื่อเข้าสู่ระยะ late apoptosis โครมาตินในนิวเคลียสของเซลล์ที่บีบอัดรวมกันแน่น จะเกิดการแตกหัก (DNA fragmentation) แล้วเยื่อหุ้มเซลล์จะเข้ามาล้อมรอบ organelle และ DNA fragments เหล่านั้น แล้วแยกตัวออกเป็น apoptotic bodies เล็กๆ (รูปที่ 2) รอให้เซลล์ phagocytes ในระบบภูมิคุ้มกันมาจับกินและทำลายในที่สุด โดยไม่ก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบ⁽¹⁸⁾



รูปที่ 2 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่เกิด apoptosis (<http://dcashop.eu>)

การวิเคราะห์การเกิด apoptosis

การตรวจสอบลักษณะการตายแบบ apoptosis สามารถทำได้หลายวิธี⁽¹⁹⁾ ได้แก่

1) การดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ phase contrast ซึ่งวิธีนี้จะป็นวิธีง่ายๆ ที่ช่วยในการตัดสินใจเบื้องต้น แต่เป็นวิธีที่ให้ผลไม่ชัดเจนและต้องอาศัยความชำนาญของผู้วิเคราะห์ ในการบอกลักษณะของเซลล์ที่เกิด apoptosis จึงเป็นวิธีที่ไม่นิยม

2) การย้อมเซลล์ด้วยสารเรืองแสง เช่น DAPI, Hoechst, PI, Annexin V เป็นต้น ซึ่งสารเรืองแสงเหล่านี้ การย้อมเซลล์แล้วส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มี fluorescent filter เป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ให้ความถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือได้ในระดับหนึ่ง และยังต้องอาศัยความชำนาญของผู้วิเคราะห์ในการตัดสินใจ นอกจากนี้ การย้อมเซลล์ด้วยสารเรืองแสงยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการวัดปริมาณเซลล์ด้วยวิธี flow cytometry ได้อีกด้วย ซึ่งจะเพิ่มความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น เนื่องจากสามารถวัดเซลล์ในปริมาณมากได้ และเครื่องมือสามารถแยกระยะต่างๆ ของการเกิด apoptosis ได้และมีความรวดเร็ว แต่วิธีการนี้มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง

3) การใช้เทคนิค PCR และ electrophoresis เพื่อดูการแสดงออกของยีนหรือโปรตีนที่เกี่ยวข้องหรือลักษณะของ DNA ได้แก่ เทคนิค RT-PCR หรือ Real Time PCR เพื่อดูการแสดงออกของยีน เช่น *bcl-2*, *bcl-xl*, *bax* เป็นต้น เทคนิค Western Blot Analysis เพื่อดูการแสดงออกของโปรตีน เช่น p53, Caspase-3 เป็นต้น เทคนิค DNA laddering assay เพื่อดูการเกิด DNA fragmentation วิธีการเหล่านี้ เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง แต่ให้ความน่าเชื่อถือมากขึ้น

4) การใช้เทคนิค ELISA เพื่อวัดปริมาณการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้อง เช่น Caspase-3, Factor related apoptosis (FAS) เป็นต้น เป็นวิธีที่ให้ความน่าเชื่อถือมากขึ้นแต่มีค่าใช้จ่ายสูง

พืชสมุนไพร

กอกกั้น (*Lansea coromandelica* (Houtt.) Merr.)

กอกกัน หรือ กูก เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae พบทั่วไปในประเทศอินเดีย จีน พม่า ไทย อินโดจีน สำหรับประเทศไทยสามารถพบกอกกันได้ในพื้นที่ป่าผลัดใบ ป่าเต็งรังทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

กอกกันเป็นไม้ต้น สูง 10-20 เมตร เปลือกสีน้ำตาลปนเทาแตกเป็นสะเก็ดรูปสี่เหลี่ยม ใบ ใบประกอบแบบขนนก ปลายคี่เรียงแบบสลับเวียน ใบย่อย 5-11 ใบ เรียงแบบตรงข้าม รูปรีหรือรูปใบหอก กว้าง 4-5 เซนติเมตร ยาว 5-8 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ฐานใบมนเบี้ยว ขอบใบเรียบ ผิวใบทั้งสองด้านมีขนนุ่ม ใบอ่อนสีน้ำตาลแดง (รูปที่ 3) ก่อนออกดอกใบจะร่วงทั้งต้น ดอก ดอกช่อแบบกระจุกออกตามซอกใบที่ปลายกิ่ง ช่อดอกจะห้อยลงจากกิ่ง ดอกแยกเพศ ดอกเพศผู้ใหญ่กว่าดอกเพศเมีย กลีบเลี้ยง 4 กลีบ กลีบดอก 4-5 กลีบ สีเหลืองอ่อน เกสรเพศผู้มี 5-10 อัน รังไข่เป็นหมันมี 4 พู เกสรเพศผู้เป็นหมัน ผล ผลขนาดเล็ก ผลสุกสีเหลือง ผลแก่จัดสีแดง

เปลือกและรากของกอกกันสามารถนำมารับประทานสดเพื่อปรุงรสคล้ายส้มตำ ช่วยเจริญอาหาร บำรุงร่างกายหลังจากการเจ็บป่วย ผลสุกกินเป็นผลไม้สดหรือใช้ปรุงรสอาหารให้รสเปรี้ยวผาด นอกจากนี้ มีรายงานทางวิทยาศาสตร์ว่ากอกกันมีสารกลุ่ม flavonoids⁽²⁰⁾ และยังมีฤทธิ์ทำให้ผลหายได้⁽²¹⁾



รูปที่ 3 ลักษณะทางกายภาพของลำต้น (A) เนื้อไม้ (B) และใบ (C) ของกอกกัน

แลนง้อ (*Rhus succedanea* L.)

แลนง้อ หรือเรียกว่า กะตอลิง, สะเดาข้าง (เลย), แคนมอ (เพชรบูรณ์), มะกอกเกี่ยม (ประจวบคีรีขันธ์), มั๊กกั๊กเขา (ตราด), ฮักโก้ (เชียงใหม่) เป็นพืชในวงศ์ Anacardiaceae ที่จัดเป็นต้นไม้หายาก ส่วนใหญ่จะพบในป่าดิบแล้ง พบการกระจายพันธุ์จากอินเดีย, พม่า, ประเทศไทย, จีน, ไต้หวัน และญี่ปุ่น ที่ระดับ 900-2200 เมตร จากระดับน้ำทะเล

แลนง้อ เป็นไม้ต้นเนื้อแข็งสามารถสูงได้ถึง 15-20 เมตร ลำต้นเปลือกนอกสีน้ำตาล ผิวขรุขระ เนื้อไม้เป็นสีขาว น้ำยางสีขาว ต้นแก่ลักษณะเปลือกของต้นแลนง้อจะเปิด กางออก ชี้ลงดิน ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ มีใบย่อย 9-15 ใบ, ใบย่อยยาว 4-10 เซนติเมตร กว้าง 2-3 เซนติเมตร บริเวณผิวใบด้านบนมีขี้ผึ้งเคลือบ ก้านใบย่อยที่ออกจากแกนกลางยาว 8-27 เซนติเมตร, ก้านใบยาว 4-6 เซนติเมตร ปลายใบเรียวแหลม โคนใบเบี้ยว ขอบใบเรียบ (รูปที่ 4) ดอก สีขาวปนเหลืองจนถึงสีเหลือง ออกเป็นช่อขนาดใหญ่ (ยาว 8-15 เซนติเมตร) ดอกสมบูรณ์เพศ กลีบดอกเป็นรูปไข่หรือค่อนข้างรี ขนาด 1-1.5 x 0.7 มิลลิเมตร เกสรตัวผู้ยาว 1.5-2.5 มิลลิเมตร ไม่มีขน ผล รูปร่างค่อนข้างกลม ผลสุกเนื้อสีเหลืองหรือสีน้ำตาลอ่อน เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-11 มิลลิเมตร เมื่อผลสุกชั้น exocarp จะแยกออกจากชั้น mesocarp น้ำยางขาวมีความเป็นพิษก่อให้เกิดการ

ระคายเคืองได้ โดยส่วนมากใช้ประโยชน์จากน้ำยางในการผลิตน้ำยาเคลือบเงาไม้ ไม้ขีดไฟ เป็นต้น นอกจากนี้ นักวิทยาศาสตร์สามารถแยกสกัดสารที่มีกลิ่นหอมได้หลายชนิดอีกด้วย⁽²²⁾



รูปที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของลำต้น (A) เนื้อไม้ (B) และใบ (C) ของแลนง้อ

อด (*Rhus javanica* L.)

อด หรือเรียกว่า กอกกัน (เลย), มะผด, มะเหลียมหิน, ส้มผด (เชียงใหม่) เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae ที่พบการกระจายพันธุ์ในเขตกึ่งร้อน และเขตอบอุ่นของทวีปเอเชีย เช่น อินเดีย พม่า จีน ลาว กัมพูชา เวียดนาม ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี ประเทศไทยพบในพื้นที่เปิดในป่าดิบ ที่ระดับ 900-1200 เมตรจากระดับน้ำทะเล

อด มีลักษณะเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก เปลือกนอกสีน้ำตาลปนขาว เมื่อแก่มีรูอากาศใหญ่ เปลือกในสีขาวหม่น มีน้ำยางสีขาว ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ ช่อใบยาว 25-40 เซนติเมตร เรียงสลับระหว่างช่อเวียนรอบกิ่งหรือต้น ก้านช่อใบยาว 8-11 เซนติเมตร แกนใบรวมแบนข้างเล็กน้อย แผ่นเป็นสันคล้ายปีก ปลายใบแหลม เรียวแหลมหรือเป็นติ่งแหลม โคนใบโค้งมนหรือสอบแคบ สองข้างไม่สมมาตร ขอบใบหยักคล้ายฟันเล็กๆ ผิวสาก (รูปที่ 5) ดอก ดอกย่อยสมบูรณ์เพศหรืออาจแยกเพศแยกช่ออยู่บนต้นเดียวกันหรือต่างต้นกัน ช่อดอกเพศผู้ยาว 30-40 เซนติเมตร ช่อดอกเพศเมียยาว 15-20 เซนติเมตร แขนงช่อดอกยาวได้ถึง 25 เซนติเมตร สีขาวหรือเหลืองอ่อนอมเขียวอ่อน เกสรเพศผู้ 5 อัน มีขนละเอียดปกคลุมหนาแน่น ผลรูปร่างเกือบกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-6 มิลลิเมตร มีกลีบเลี้ยงรองรับ เมื่ออ่อนสีเขียวอมเขียว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีชมพูถึงสีแดงจัดแล้วเปลี่ยนเป็นสีขาว ผิวมียางเหนียวและมีขนละเอียดปกคลุมหนาแน่นเมล็ดมีชั้นหุ้มแข็ง

ผลของอดช่วยรักษาโรคริดสีดวง, แก้อาการหวัด, แก้อาการไอ, แก้อาการเสีย ไข้ต่ำเป็นยาพอกสำหรับห้ามเลือด สมานแผล ต้มน้ำอาบแก้อาการผื่นคัน ตุ่มพองและโรคผิวหนังตามร่างกาย ราก ต้มน้ำดื่มเป็นยาแก้ไอ ปวดท้อง อาหารไม่ย่อยอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ มีรายงานทางวิทยาศาสตร์ว่า สารสำคัญในอดสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ในหนูที่ทดสอบได้⁽²³⁾ และต้านไวรัสได้ดี⁽²⁴⁾ และอดมีสารสำคัญที่อยู่ในกลุ่ม lactone⁽²⁵⁾ และ flavonoids⁽²⁶⁾ อีกด้วย



รูปที่ 5 ลักษณะทางกายภาพของลำต้น (A) เนื้อไม้ (B) และใบ (C) ของอด

วิธีดำเนินการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัย

ทำการเก็บตัวอย่างพืช 3 ชนิด ในวงศ์ Anacardiaceae ในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ คือ กอกกัน (*L. coromandelica*) แลนง้อ (*R. succedanea*) และอด (*R. javanica*) นำตัวอย่างส่วนลำต้นของพืชที่เก็บได้มาสกัดด้วย 50% ethanol และนำสารสกัดมาทำการศึกษา ซึ่งสารสกัดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นสารสกัดที่ได้รับจากโครงการวิจัยย่อยเรื่องการศึกษาหามาตรฐานของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ โดยมี % yield เท่ากับ 5.71 7.26 และ 4.16 ตามลำดับ

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม

เตรียมสารละลายของสารสกัดสมุนไพร (100 mg/ml) และสารมาตรฐานคือ tamoxifen ซึ่งเป็นยาต้านมะเร็งเต้านม (10 mg/ml) ด้วย DMSO ส่วน estrogen หรือ estradiol (E2) (100 μ M) ละลายด้วย EtOH

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง 2 ชนิด คือ MCF-7 (ER+) และ MDA-MB-231 cells (ER-) ลงใน 96-well plate (1×10^4 cells/well) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี 10% fetal bovine serum และ 1% penicillin-Streptomycin แล้วบ่มที่ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชม. ทำการเจือจางสาร

สกัดและสารมาตรฐานที่ความเจือจางต่างๆ ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ แล้วเติมลงในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้ แล้วบ่มที่ 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 48 ชม. แล้วทำการวิเคราะห์ cell viability ด้วยวิธี MTT assay แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ A570 แล้วจึงนำมาคำนวณค่า % inhibition และแสดงเป็นค่า 50% inhibitory concentration (IC₅₀) ส่วนกรณีทดสอบด้วย E2 แสดงเป็นค่า % proliferation ดังแสดงในสมการ

$$\% \text{ inhibition} = (A570_{\text{control}} - A570_{\text{extract}}) / (A570_{\text{control}}) \times 100$$

$$\% \text{ proliferation} = (A570_{E2}) / (A570_{\text{control}}) \times 100$$

2. การทดสอบ apoptotic induction

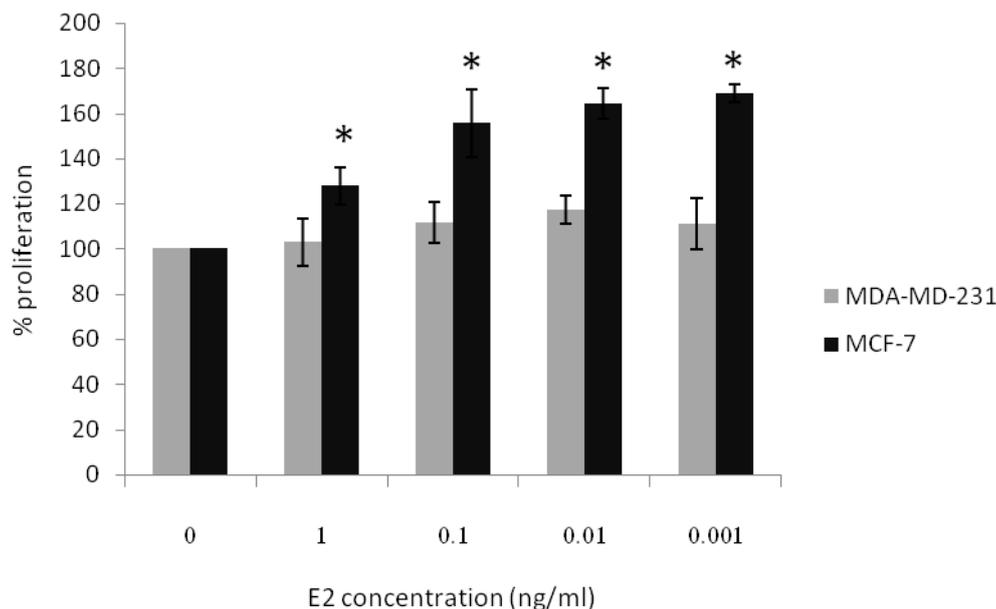
ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ MCF-7 และ MDA-MB-231 (5×10^5 cells/well) ลงใน 24-well plate ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี 10% fetal bovine serum และ 1% penicillin-Streptomycin แล้วบ่ม 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชม. แล้วทำการเจือจางสารสกัดและ tamoxifen ให้ได้ความเจือจางที่ต้องการด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ แล้วเติมลงในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้ แล้วบ่ม 37°C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นทำการดูดส่วนอาหารเลี้ยงเซลล์ออกแล้วเติมด้วย methanol (200 μ l/well) ที่แช่เย็น เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูด methanol ออก เติมด้วย 2 μ g/ml DAPI (200 μ l/well) เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการส่องเซลล์ภายใต้กล้อง fluorescent และถ่ายรูปเซลล์ที่เกิด apoptotic bodies

3. การแสดงผลและการวิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าที่แสดงในผลการทดสอบ เป็นค่าเฉลี่ยจากผลการทดสอบ 3 ครั้ง และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation หรือ S.D.) และจากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-Way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS version 15.0 software เมื่อค่า $p < 0.05$ จะแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการวิจัย

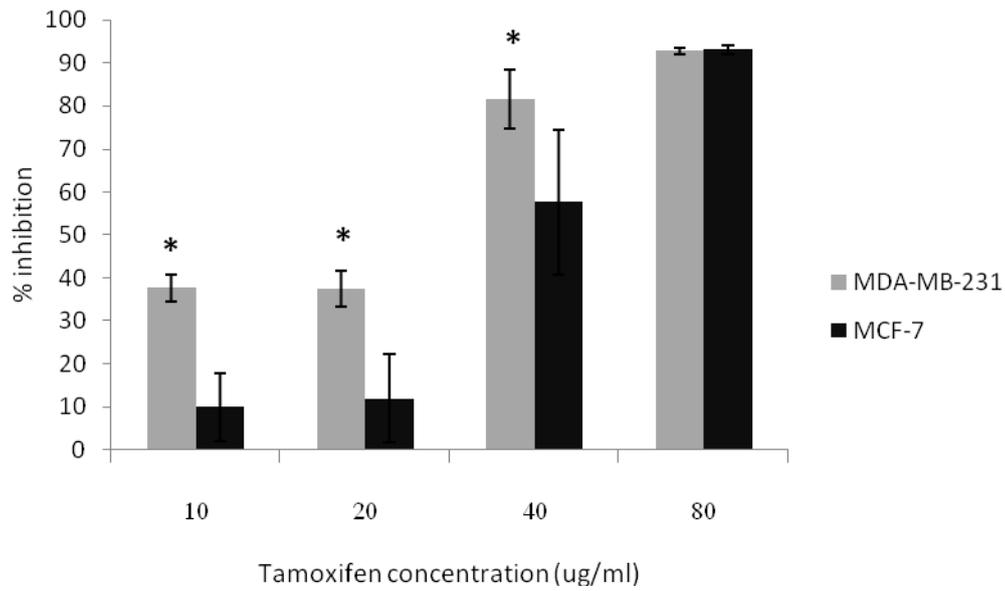
จากการทดสอบ cytotoxicity ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบกับ estradiol และ tamoxifen พบว่า estradiol สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 ได้มากกว่าเซลล์ MDA-MB-231 อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง E2 ที่ความเข้มข้นต่ำ (≤ 0.1 ng/ml E2) สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนได้ดีกว่า E2 ที่ความเข้มข้นสูง (≥ 0.1 ng/ml E2) (รูปที่ 6)



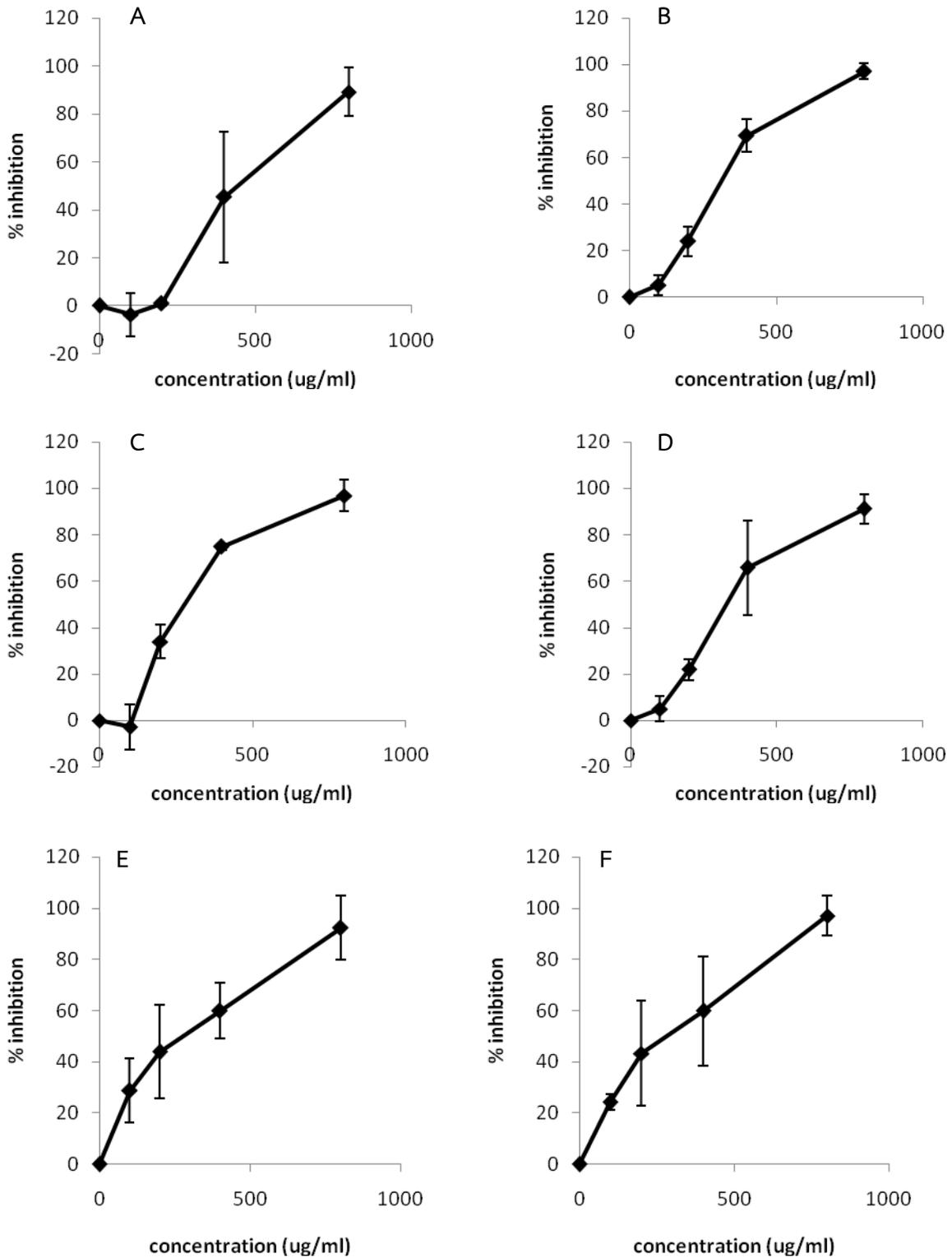
รูปที่ 6 ผลของ E2 ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 และ MDA-MB-231 ($n = 3, P < 0.05$)

ส่วน tamoxifen สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดได้ดี โดยเซลล์ MDA-MB-231 มีความไวต่อ tamoxifen มากกว่า MCF-7 อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น 10 - 40 $\mu\text{g/ml}$ ส่วน tamoxifen เข้มข้น 80 $\mu\text{g/ml}$ สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งทั้งสองได้ไม่แตกต่างกัน ซึ่ง tamoxifen มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างเซลล์ โดยเซลล์จะหดกลมและหลุดออกจากพื้นผิวที่ยึดเกาะ (รูปที่ 7, รูปที่ 9B และรูปที่ 10B)

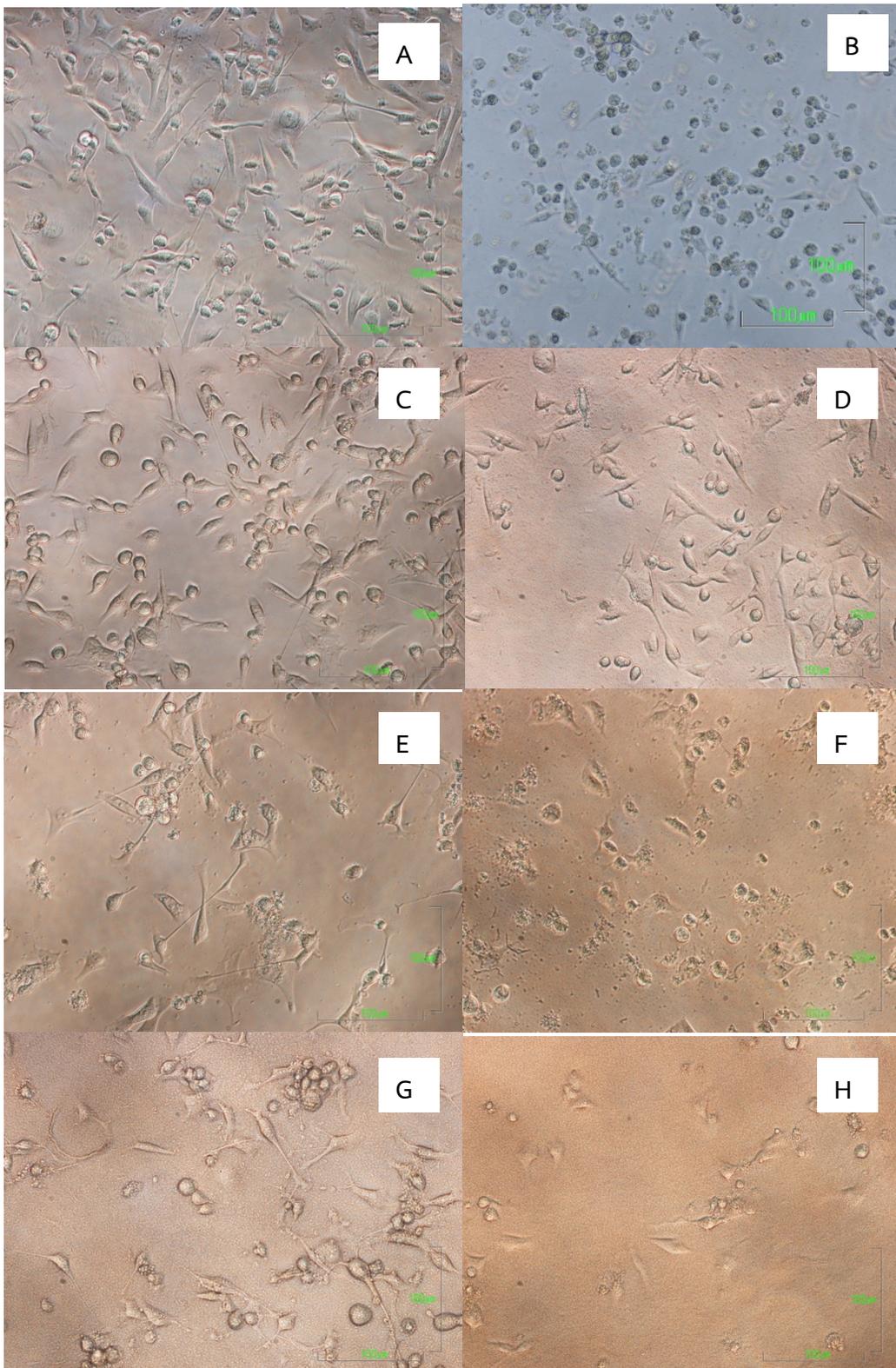
สำหรับสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ทดสอบ คือ กอกกัน แลนง้อ และอด มีฤทธิ์ในการต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดได้ใกล้เคียงกัน โดยสารสกัดอดมีฤทธิ์ในการต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 และ MCF-7 ($IC_{50} = 374.96 \pm 22.13$ และ 384.96 ± 58.5 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) ได้ดีกว่า สารสกัดแลนง้อ ($IC_{50} = 384.76 \pm 7.75$ และ 397.26 ± 65.09 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) และกอกกัน ($IC_{50} = 493.25 \pm 114.15$ และ 414.05 ± 50.21 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) ในขณะที่ tamoxifen มีฤทธิ์ต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านมทั้งสองชนิดได้ดี โดยต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์ MDA-MB-231 ได้ดีกว่า MCF-7 ($IC_{50} = 35.31 \pm 1.16$ และ 42.40 ± 5.60 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ) (รูปที่ 8 และตารางที่ 1) สารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ทดสอบทั้ง 2 ชนิดที่คล้ายกัน คือ ทำให้เซลล์เกิดการหดตัว รูปร่างกลม และหลุดออกจากพื้นผิวที่ยึดเกาะ (รูปที่ 9 และรูปที่ 10)



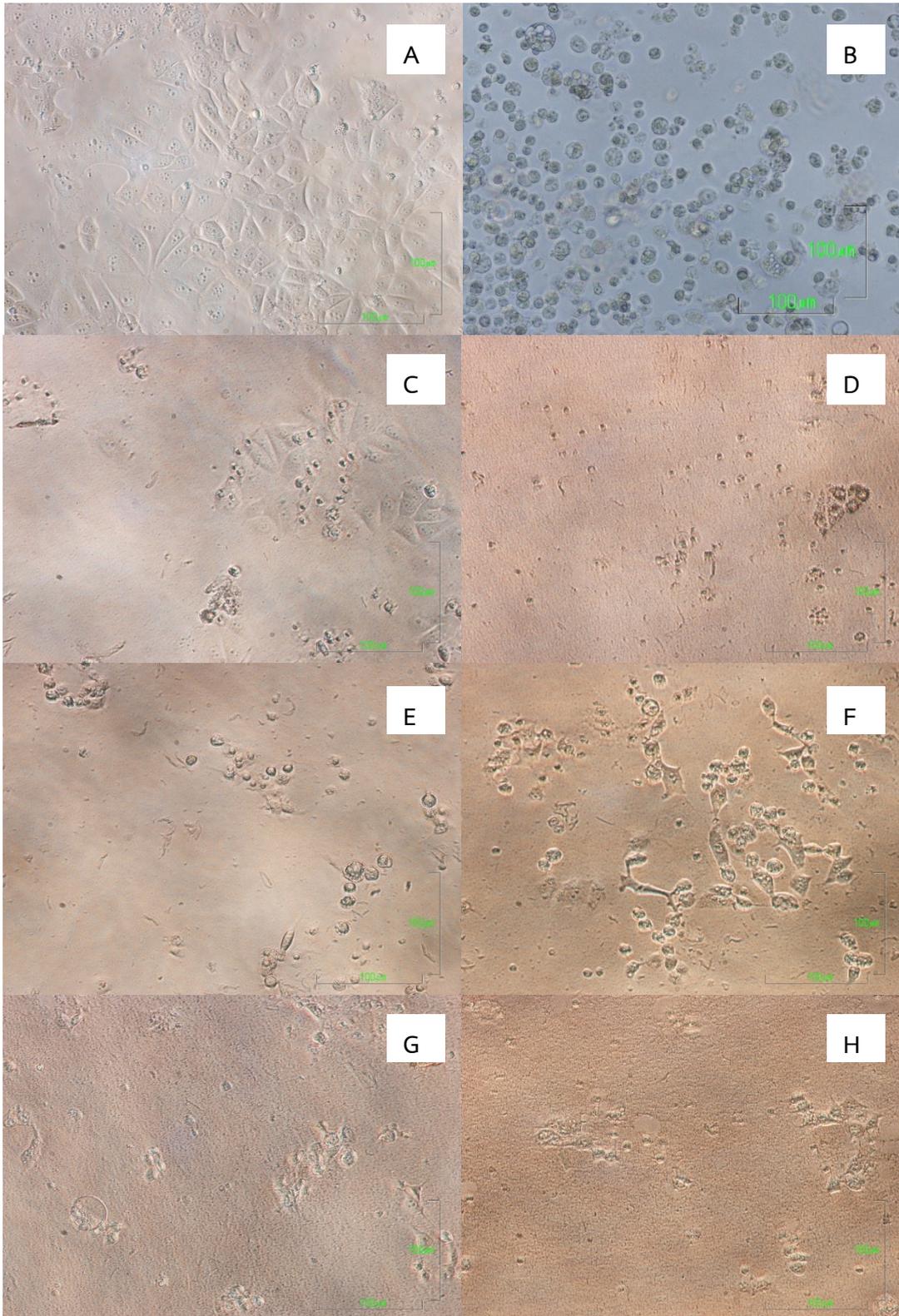
รูปที่ 7 ผลของtamoxifen ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 และ MDA-MB-231(n = 3, $P < 0.05$)



รูปที่ 8 ผลของสารสกัดที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 (A-C) และ MCF-7 (D-F) โดย A และ D เป็นผลของสารสกัดดอกกักัน, B และ E เป็นผลของสารสกัดแลนง้อ และ C และ F เป็นผลของสารสกัดดอด



รูปที่ 9 ผลของสารสกัดที่มีต่อเซลล์ MDA-MB-231 โดย A คือ control, B คือ 80 $\mu\text{g/ml}$ tamoxifen, C คือ กอกกั้น 400 $\mu\text{g/ml}$, D คือ กอกกั้น 800 $\mu\text{g/ml}$, E คือ แลนง้อ 400 $\mu\text{g/ml}$, F คือ แลนง้อ 800 $\mu\text{g/ml}$, G คือ อุด 400 $\mu\text{g/ml}$ และ H คือ อุด 800 $\mu\text{g/ml}$

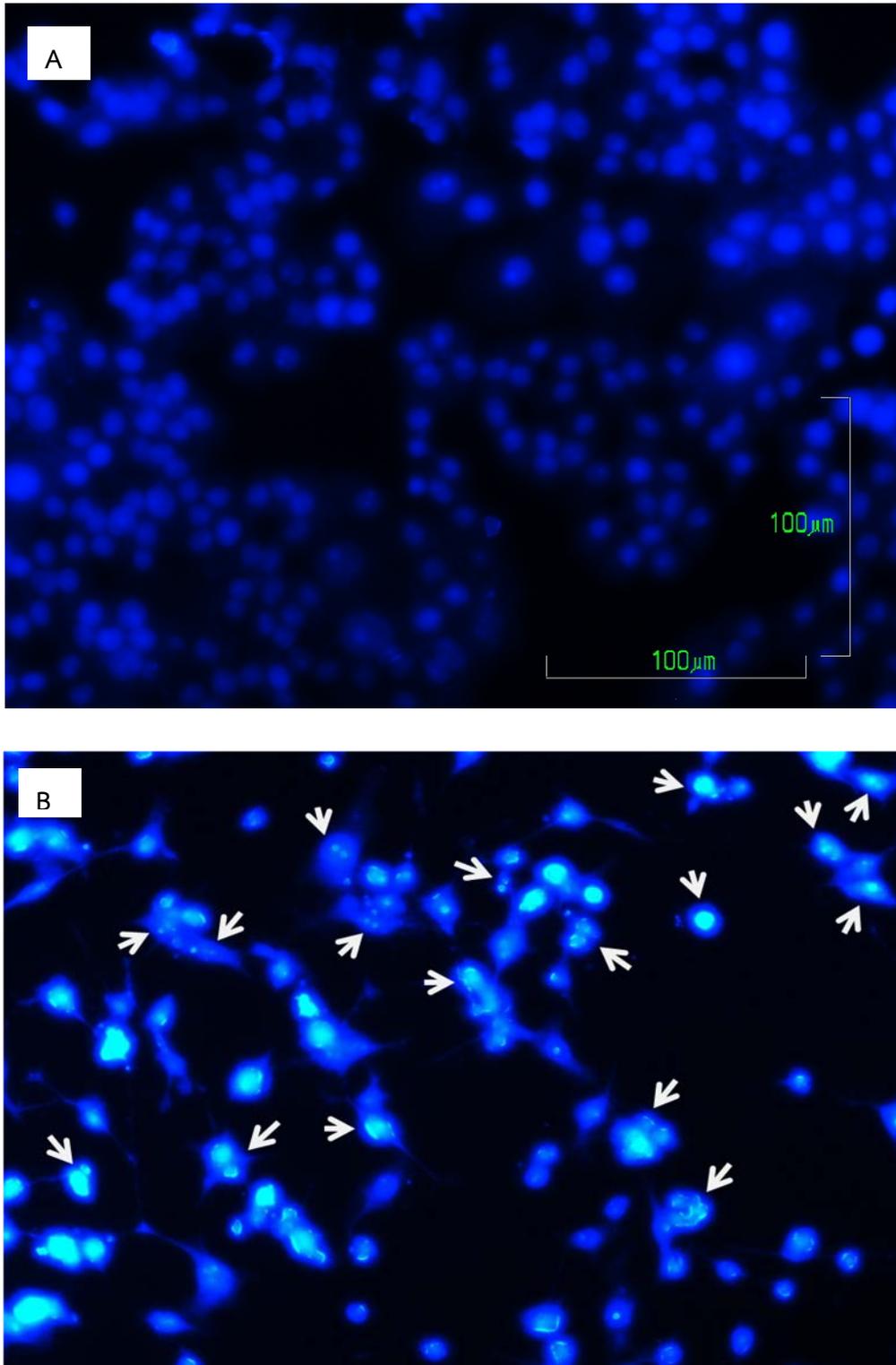


รูปที่ 10 ผลของสารสกัดที่มีต่อเซลล์ MCF-7 โดย A คือ control, B คือ 80 $\mu\text{g/ml}$ tamoxifen, C คือ กอกกััน 400 $\mu\text{g/ml}$, D คือ กอกกััน 800 $\mu\text{g/ml}$, E คือ แลนง้อ 400 $\mu\text{g/ml}$, F คือ แลนง้อ 800 $\mu\text{g/ml}$, G คือ อด 400 $\mu\text{g/ml}$ และ H คือ อด 800 $\mu\text{g/ml}$

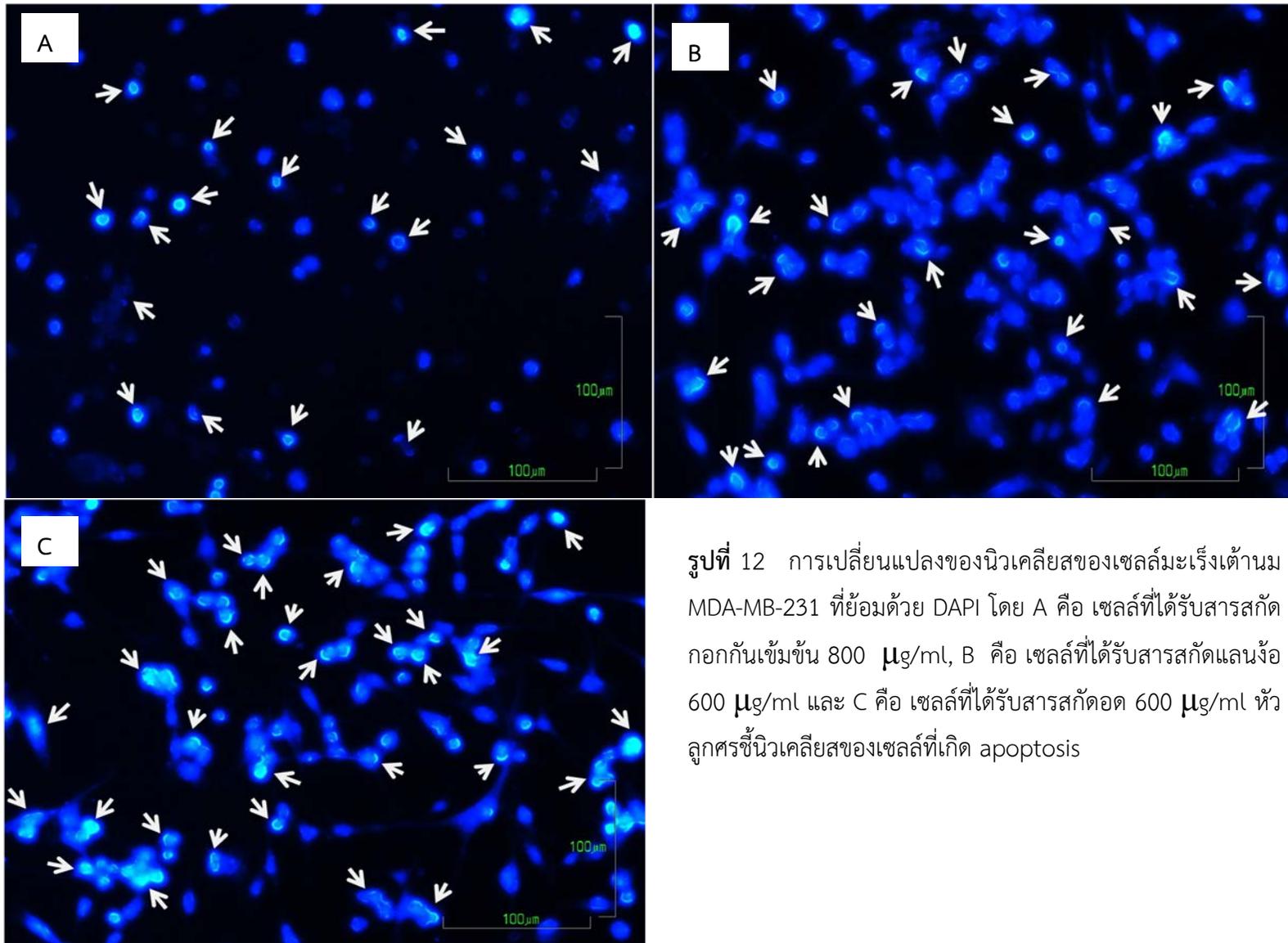
ตารางที่ 1 แสดงค่า IC₅₀ ของสารสกัดที่มีต่อเซลล์ MDA-MB-231 และ MCF-7

สารสกัด	IC ₅₀ (µg/ml)	
	MDA-MB-231	MCF-7
Tamoxifen	35.31 ± 1.16	42.40 ± 5.60
กอกกั้น	493.25 ± 114.15	414.05 ± 50.21
แลนง้อ	384.76 ± 7.75	397.26 ± 65.09
อด	374.96 ± 22.13	384.96 ± 58.5

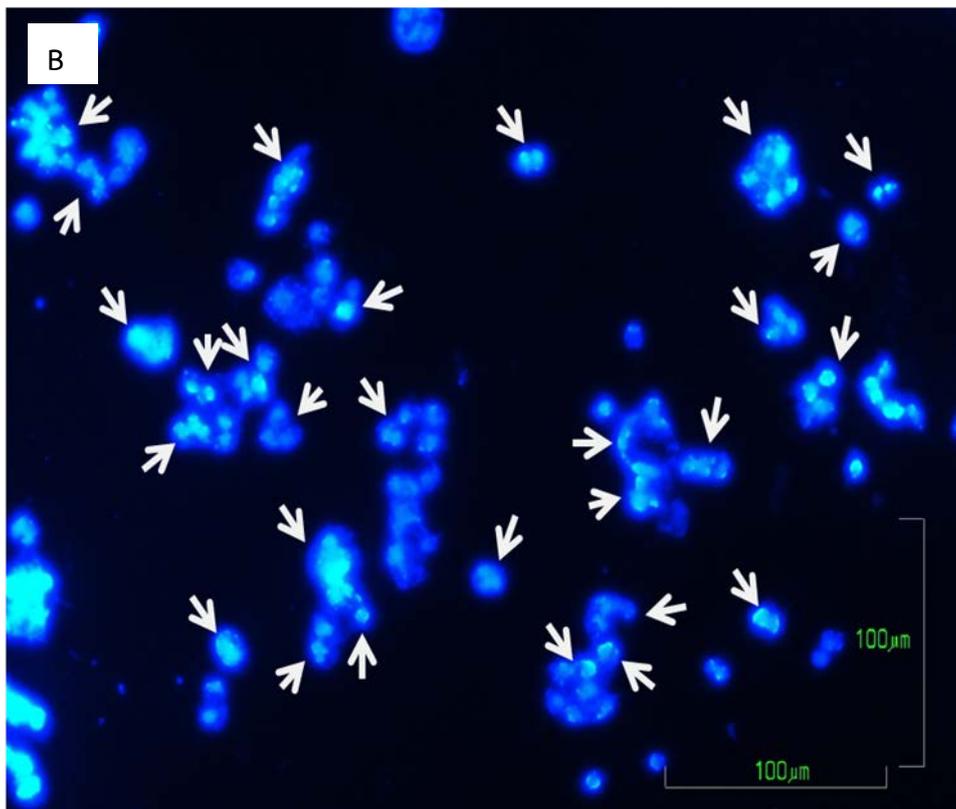
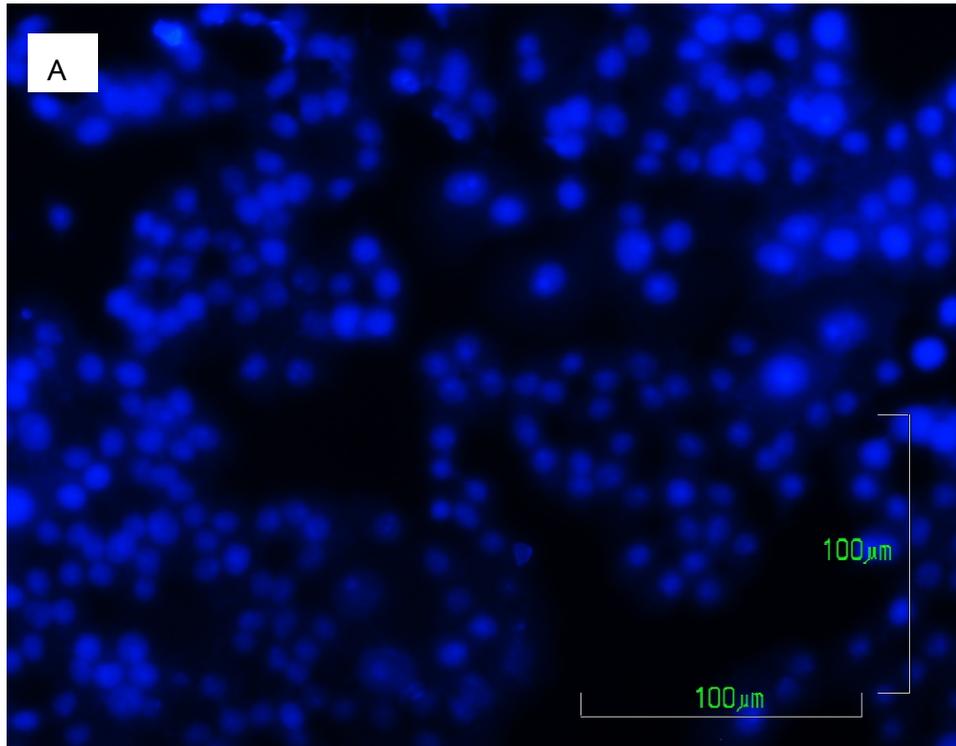
การย้อมนิวเคลียสของเซลล์ด้วย DAPI เป็นคุณลักษณะการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์ซึ่งสามารถบอถึงการเกิด apoptosis เบื้องต้นได้ จากการทดสอบฤทธิ์ apoptotic induction ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 และ MCF-7 พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชนิด สามารถฆ่าเซลล์โดยกระตุ้นให้เกิดการตายแบบ apoptosis ได้ ซึ่งจากการทดสอบและส่องใต้กล้องฟลูออเรสเซนซ์จะพบการหดตัวและจับกันเป็นก้อนของนิวเคลียสซึ่งเป็นลักษณะของการเกิด early apoptosis และการเกิดการแตกตัวเป็นก้อนเล็กๆ ของนิวเคลียส แสดงถึงลักษณะของการเกิด apoptotic bodies (รูปที่ 11-14) และเมื่อทำการนับจำนวนเซลล์ที่เกิด apoptosis พบว่า ในเซลล์ MDA-MB-231 สารสกัดกอกกั้นสามารถกระตุ้นได้ 70.46 ± 6.33 % ส่วนสารสกัดแลนง้อ (600 µg/ml) กระตุ้นได้ 75.40 ± 6.11 % และสารสกัดอด (600 µg/ml) สามารถกระตุ้นการเกิด apoptosis ได้ 82.57 ± 4.67 % ขณะที่ 40 µg/ml tamoxifen สามารถกระตุ้นการเกิด apoptosis ได้ดี คือ 93.10 ± 1.86 % (ตารางที่ 2) สำหรับการทดสอบในเซลล์ MCF-7 พบว่า สารสกัดกอกกั้นสามารถกระตุ้นได้ 98.54 ± 1.06 % ส่วนสารสกัดแลนง้อ (600 µg/ml) กระตุ้นได้ 97.46 ± 2.57 % และสารสกัดอด (600 µg/ml) สามารถกระตุ้นการเกิด apoptosis ได้ 97.09 ± 0.56 % ขณะที่ 40 µg/ml tamoxifen สามารถกระตุ้นการเกิด apoptosis ได้ดี คือ 97.93 ± 1.95 % (ตารางที่ 2) ดังนั้น สารสกัดทั้ง 3 ชนิด สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งเต้านมทั้งสองชนิดได้โดยชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis



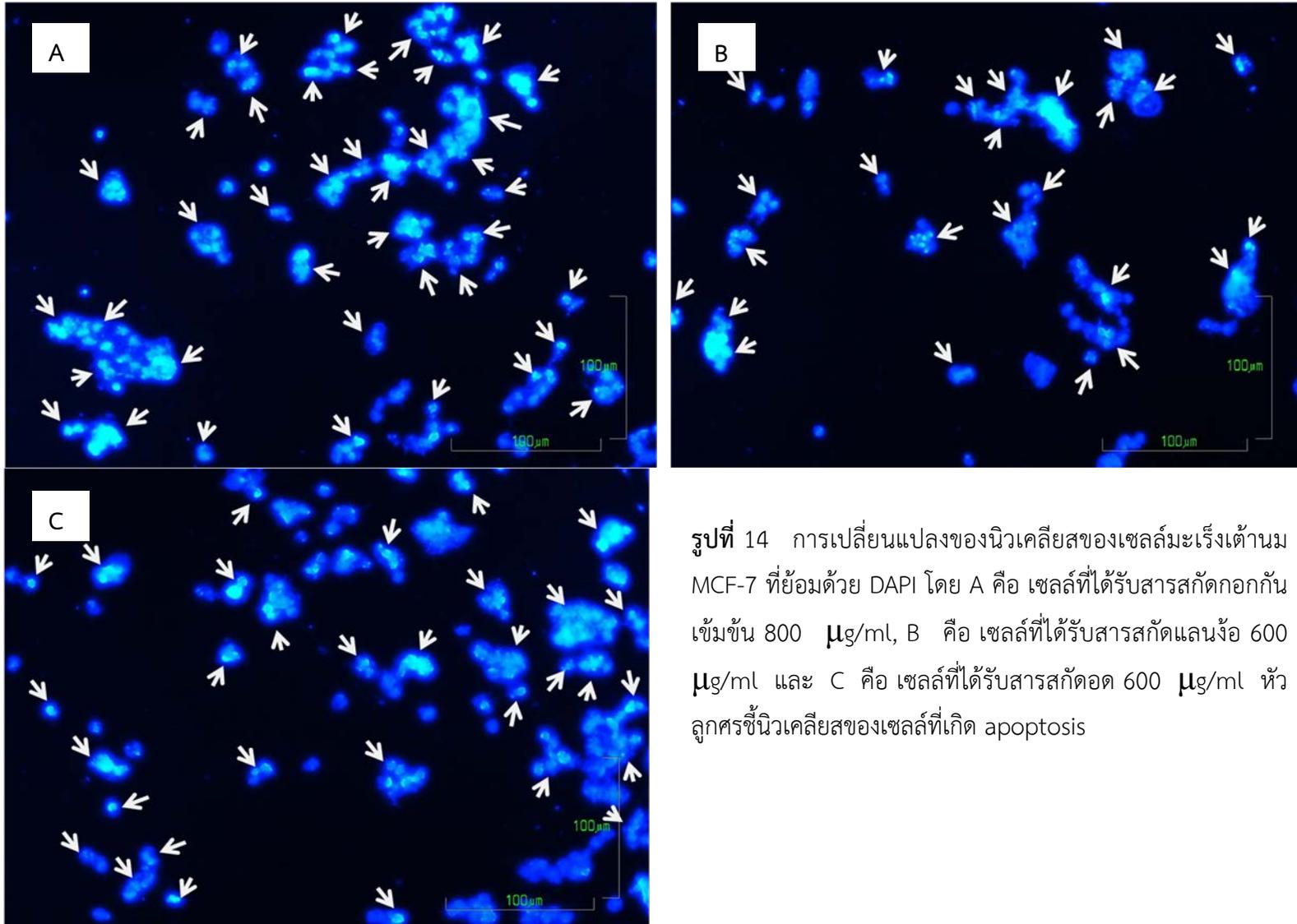
รูปที่ 11 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 ที่ย้อมด้วย DAPI โดย A คือ เซลล์ชุดควบคุม และ B คือ เซลล์ที่ได้รับ 40 $\mu\text{g/ml}$ tamoxifen หัวลูกศรชี้นิวเคลียสของเซลล์ที่เกิด apoptosis



รูปที่ 12 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 ที่ย้อมด้วย DAPI โดย A คือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดกอกกันเข้มข้น 800 $\mu\text{g/ml}$, B คือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดแลนจ้อ 600 $\mu\text{g/ml}$ และ C คือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดอด 600 $\mu\text{g/ml}$ หัวลูกศรชี้นิวเคลียสของเซลล์ที่เกิด apoptosis



รูปที่ 13 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ย้อมด้วย DAPI โดย A คือ เซลล์ชุดควบคุม และ B คือ เซลล์ที่ได้รับ 40 $\mu\text{g/ml}$ tamoxifen หัวลูกศรชี้นิวเคลียสของเซลล์ที่เกิด apoptosis



รูปที่ 14 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ย้อมด้วย DAPI โดย A คือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดกอกกั้นเข้มข้น 800 $\mu\text{g/ml}$, B คือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดแลนง้อ 600 $\mu\text{g/ml}$ และ C คือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดอด 600 $\mu\text{g/ml}$ หัวลูกศรชี้ นิวเคลียสของเซลล์ที่เกิด apoptosis

ตารางที่ 2 การเกิด apoptosis ของเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-231 และ MCF-7 เมื่อทดสอบด้วย tamoxifen และสารสกัด 3 ชนิด

สภาวะ	% apoptosis	
	MDA-MB-231	MCF-7
ชุดควบคุม	1.48 ± 0.84	0.16 ± 0.35
40 µg/ml tamoxifen	93.10 ± 1.86	97.93 ± 1.95
800 µg/ml กอกกั้น	70.46 ± 6.33	98.54 ± 1.06
600 µg/ml แลนจ้อ	75.40 ± 6.11	97.46 ± 2.57
600 µg/ml อด	82.57 ± 4.67	97.09 ± 0.56

วิจารณ์ สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ เซลล์มะเร็งเต้านมที่ใช้ในการทดสอบ MDA-MB-231 ซึ่งเป็นเซลล์ชนิด estrogen receptor negative และเซลล์ MCF-7 ซึ่งเป็นเซลล์ชนิด estrogen receptor positive เมื่อนำมาทดสอบการตอบสนองต่อ estrogen หรือ estradiol พบว่า เซลล์ที่ทดสอบ MCF-7 ซึ่งมี estrogen receptor มีการเพิ่มจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้ estradiol ที่ความเข้มข้นต่ำ โดยที่ estradiol ที่ความเข้มข้นต่ำนี้มีผลเพียงเล็กน้อยต่อเซลล์ MDA-MB-231 ที่ไม่มี estrogen receptor estradiol กระตุ้นการแสดงออกของโปรตีนหลายชนิดที่ควบคุมการแบ่งเซลล์ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ขึ้นอย่างรวดเร็ว^(27,28) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ estradiol การเพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 จะลดลง แต่มีผลเล็กน้อยต่อเซลล์ MDA-MB-231 ซึ่ง estradiol ที่ความเข้มข้นสูงจะมีผลให้เซลล์เกิดการชะลอการแบ่งตัวโดยระยะของ cell cycle จะหยุดอยู่ที่ระยะ S และ G₂+M และลดเซลล์ในระยะ G₀-G₁ ลง ทำให้ลดการเพิ่มจำนวนเซลล์ลง⁽²⁹⁾ หากเพิ่มความเข้มข้นของ estradiol เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จะทำให้เซลล์ตายแบบ apoptosis ได้⁽³⁰⁾ สำหรับ tamoxifen ซึ่งเป็นยามาตรฐานที่ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านม สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ด้วยการกระตุ้นการตายแบบ apoptosis โดย tamoxifen ที่ความเข้มข้นต่ำ (0.1-1 μM) จะฆ่าเซลล์มะเร็งได้อย่างจำเพาะต่อเซลล์ที่มี estrogen receptor แต่ tamoxifen ที่ความเข้มข้นสูง (>5 μM) จะสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งได้อย่างไม่จำเพาะ⁽¹²⁾ และจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า tamoxifen ฆ่าเซลล์ MDA-MB-231 ได้ดีกว่าเซลล์ MCF-7 ซึ่งผลการศึกษานี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบมีความเข้มข้นสูง (10-80 $\mu\text{g/ml}$)

จากการศึกษาผลของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านมทั้ง 2 ชนิด พบว่า สารสกัดแต่ละชนิดสามารถฆ่าเซลล์ทั้ง 2 ชนิดได้ไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่ทดสอบสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งเต้านมได้โดยไม่มี ความจำเพาะต่อ estrogen receptor นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดดอกสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่าสารสกัดแก่นง้อและกอกัน และเมื่อทำการศึกษการตายของเซลล์มะเร็งเต้านมที่ทดสอบ พบว่า tamoxifen สามารถฆ่าเซลล์โดยการชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis เช่นเดียวกับกับสารสกัด 3 ชนิดที่ทดสอบ โดยสารสกัดแต่ละชนิดชักนำการตายแบบ apoptosis ในเซลล์ MCF-7 ได้ดีกว่าเซลล์ MDA-MB-231 แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจสอบการตายแบบ apoptosis ด้วยการย้อม DAPI เป็นการตรวจสอบเบื้องต้น เพื่อยืนยันผลการทดสอบนี้ ควรต้องมีการทดสอบอย่างอื่นเพิ่มเติม เช่น DNA ladder assay, cell cycle analysis, Cyclin และ Caspase เป็นต้น แต่อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า สารสกัดกอกัน แล่นง้อและอดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านมทั้งชนิดที่มีและไม่มี estrogen receptor ได้โดยการชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถที่จะนำมาศึกษาและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Attasara P, Buasom R. 2011. Hospital-based cancer registry. National Cancer Institute. Union Ultraviolet Co. Ltd. 55p.
2. American Cancer Society. Breast cancer facts & figures. 2008. American Cancer Society, Inc. Atlanta. p. 4-11.

3. Sriplung H, Wiangnon S, Sontipong S, Sumitsawan Y, Martin N. 2006. Research communication: Cancer incidence trends in Thailand, 1989-2000. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 7: 239-244.
4. บังอร ศรีพานิชกุลชัย จินตนา จุลทัศน์ ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์ 2552. รายงานการวิจัยเรื่องการศึกษามาตรฐานและสารสำคัญจากพืชสมุนไพรในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ปีงบประมาณ 2551.
5. กิตติศักดิ์ ศรีพานิชกุลชัย บังอร ศรีพานิชกุลชัย นิรามัย ผางกระโทก 2552. รายงานการวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์และฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันของพืชสมุนไพรในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ปีงบประมาณ 2551.
6. นาถิตา วีระปริยากร บังอร ศรีพานิชกุลชัย 2552. รายงานการวิจัยเรื่องการศึกษาคุณค่าของสารสกัดสมุนไพรจากพืชในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ต่อการป้องกันโรคมะเร็งในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยขอนแก่น พื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ ปีงบประมาณ 2551.
7. อัญชลี ตัดตะวะศาสตร์ บังอร ศรีพานิชกุลชัย รายงานการวิจัยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อโรคติดเชื้อจากพืชในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยขอนแก่น พื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ ปีงบประมาณ 2551.
8. Machana S, Weerapreeyakul N, Thitimetharoch T, Sripanidkulchai B. 2010. Anticancer activity screening of Thai medicinal plant in human leukemic cell line MOLT-4. *Eu J Cancer Suppl.* 8: 150.
9. Parihar A, Parihar MS, Ghafourifar P. 2008. Significance of mitochondrial calcium and nitric oxide for apoptosis of human breast cancer cells induced by tamoxifen and etoposide. *Int J Mol Med.* 21: 317-324.
10. Nazarewicz RR, Zenebe WJ, Parihar A, Larson SK, Alidema E, Choi J, Ghafourifar P. 2007. Tamoxifen induces oxidative stress and mitochondrial apoptosis via stimulating mitochondrial nitric oxide synthase. *Cancer Res.* 67: 1282-1290.
11. American Cancer Society. 2012. Facts & Figures 2012. *Am Cancer Soc.* 9-11.
12. Zheng A, Kallio A, Harkonen P. 2007. Tamoxifen-induced rapid death of MCF-7 breast cancer cells is mediated via extracellularly signal-regulated kinase signaling and can be abrogated by estrogen. *Endocrinology.* 148: 2764-2677.
13. Nazarewicz RR, Zenebe WJ, Parihar A, Larson SK, Alidema E, Choi J, Ghafourifar P. 2007. Tamoxifen induces oxidative stress and mitochondrial apoptosis via stimulating mitochondrial nitric oxide synthase. *Cancer Res.* 67: 1282-1290.
14. Zhang GJ, Kimijima I, Onda M, Kanno M, Sato H, Watanabe T, Tsuchiya A, Abe R, Takenoshita S. 1999. Tamoxifen-induced apoptosis in breast cancer cells relates to down-regulation of bcl-2, but not bax and bcl-X_L, without alteration of p53 protein levels. *Clin Cancer Res.* 5: 2971-2977.

15. Yager JD, Davidson NE. 2006. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *New Eng J Med.* 354: 270-282.
16. Perillo B, Sasso A, Abbondanza C, Palumbo G. 2000. 17β -estradiol inhibits apoptosis in MCF-7 cells, inducing *bcl-2* expression via two estrogen-responsive elements present in the coding sequence. *Mol Cell Biol.* 20: 2890-2901.
17. Bailey ST, Shin H, Westerling T, Liu XZ, Brown M. 2012. Estrogen receptor prevents p53-dependent apoptosis in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 109: 18060-18065.
18. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. 2007. *Toxicol Pathol.* 35: 495-516.
19. Willingham MC. 1999. Cytochemical methods for the detection of apoptosis. *J Histochem Cytochem.* 47: 1101-1109.
20. Islam MT, Tahara S. 2000. Dihydroflavonols from *Lannea coromandelica*. *Phytochemistry.* 54: 901-907.
21. Sathish R, Ahmed M, Natarajan K, Lalitha KG. 2010. Evaluation of wound healing and antimicrobial activity of *Lannea coromandelica* (Houtt) Merr. *J Pharm Res.* 3: 1225-1228.
22. Shimoda M, Wu Y, Osajima. 1996. Aroma compounds from aqueous solution of haze (*Rhus succedanea*) honey determined by adsorptive column chromatography. *J Agri Food Chem.* 44: 3913-3918.
23. Tangpu V, Yadav AK. 2004. Antidiarrhoeal activity of *Rhus javanica* ripen fruit extract in albino mice. *Fitoterapia.* 75: 39-44.
24. Kurokawa M, Basnet P, Ohsugi M, Hozumi T, Kadota S, Namba T, Kawana T, Shiraki K. 2009. Anti-herpes simplex virus activity of moronic acid purified from *Rhus javanica* *in vitro* and *in vivo*. *J Pharmacol Exp Ther.* 289: 72-78.
25. Lee IS, Oh SR, Ahn KS, Lee HK. 2001. Semialactone, isofouquierone peroxide and fouquierone, three new dammarane triterpenes from *Rhus Javanica*. *Chem Pharm Bull.* 49: 1024-1026.
26. Lin CN, Chaen HL, Yen CM. 2008. Flavonoids with DNA strand-scission activity from *Rhus javanica* var. *roxburghiana*. *Fitoterapia.* 79: 32-36.
27. Musgrove EA, Lee CS, Buckley MF, Sutherland RL. 1997. Cyclin D1 induction in breast cancer cells shortens G1 and is sufficient for cells arrested in G1 to complete the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91: 8022-8026.
28. Weisz A, Bresciani F. 1993. Estrogen regulation of proto-oncogenes coding for nuclear proteins. *Crit Rev Onco.* 4: 361-388.
29. Reddel RR, Sutherland RL. 1987. Effects of pharmacological concentrations of estrogens on proliferation and cell cycle kinetics of human breast cancer cell line *in vitro*. *Cancer Res.* 47: 5323-5329.

30. Tesarik J, Garrigosa L, Mendosa C. 1999. Estradiol modulates breast cancer cell apoptosis: a novel nongenomic steroid action relevant to carcinogenesis. *Steroids*. 64: 22-27.

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. นายกิตติศักดิ์ ศรีพานิชกุลชัย สัดส่วนของงานที่ทำ 35 %
ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
หน่วยงานที่สังกัดและที่อยู่ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่นโทรศัพท์ 043- 363064, 043-348381
โทรสาร 043-348375 E-mail skitti@kku.ac.th

ผู้ร่วมวิจัย

1. นางบังอร ศรีพานิชกุลชัย สัดส่วนของงานที่ทำ 35 %
ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์
หน่วยงานที่สังกัดและที่อยู่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
โทร 0-4320-2378, 0-4320-2521
โทรสาร 0-4320-2521 Email bungorn@kku.ac.th
2. นางนिरามัย ผางกระโทก สัดส่วนของงานที่ทำ 30 %
ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
หน่วยงานที่สังกัดและที่อยู่ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ม. บุรพา วิทยาเขตสระแก้ว
ต. วัฒนานคร อ. วัฒนานคร จ. สระแก้ว 27160
เบอร์มือถือ 083-1477567 Email: niramai@buu.ac.th