

## บทที่ 1

### บทนำ

มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก (colorectal cancer) เป็นมะเร็งที่พบบ่อยและเป็นสาเหตุของการตายด้วยโรคมะเร็งในอันดับต้นๆ ของทั่วโลก (Labianca, et al., 2004) โดยพบบ่อยเป็นอันดับที่ 3 รองจากมะเร็งต่อมลูกหมากและมะเร็งปอดในเพศชาย และมะเร็งเต้านมและมะเร็งปอดในเพศหญิง (Jemal, et al., 2008) ในประเทศไทยพบว่า อัตราการเกิดของมะเร็งลำไส้ใหญ่ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับประเทศอื่นๆ ในทวีปเอเชีย โดยกรุงเทพมหานครเป็นพื้นที่ที่มีอัตราการเกิดและมีความเสี่ยงของโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่มากที่สุด (Khuaprema and Srivatanakul, 2008) ทั้งนี้เป็นผลมาจากการใช้ชีวิตตามแบบของชาวตะวันตกที่เพิ่มขึ้น โดยสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่นั้นเป็นผลมาจากหลายปัจจัย เช่น ทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ซึ่งปัจจัยหลักที่สำคัญของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่เกี่ยวข้องกับอาหารที่รับประทาน เช่น การรับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์และไขมันในปริมาณสูง หรืออาหารที่มีเส้นใยน้อย พฤติกรรมในการดำรงชีวิตอื่นๆ ที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ ได้แก่ การไม่ออกกำลังกาย การสูบบุหรี่ ดื่มสุรา และการขาดสารอาหารบางชนิด เช่น folate และ methionine (Rogers, et al., 1993; Giovannucci, et al., 1995; van Breda, et al., 2007) ในประเทศที่กำลังพัฒนา อัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่จะสูงขึ้นในกลุ่มคนเมืองเมื่อเปรียบเทียบกับคนในชนบท ซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างของลักษณะของอาหาร ซึ่งเป็นกลุ่มคนที่รับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์มาก อาหารที่มีเส้นใยต่ำ และการรับประทานอาหารที่มีปริมาณไขมันหรือน้ำตาลสูง (Harris and Ferguson, 1999) เนื่องจากมะเร็งลำไส้ใหญ่เกิดมาจากปัจจัยของการรับประทานอาหารเป็นสำคัญ จึงเชื่อกันว่าการเกิดมะเร็งชนิดนี้สามารถป้องกันได้ (preventive cancer) โดยการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการรับประทานอาหาร หรือทานอาหารเสริมที่สามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ (DeMarini, 1998; Johnson, 2004)

จากรายงานวิจัยต่างๆ เชื่อว่าการรับประทานอาหารที่มีเส้นใยสูง (dietary fiber) สามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ แต่จากผลการวิจัยจากที่ต่างๆ พบว่า ยังมีความขัดแย้งกันและยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดถึงบทบาทการป้องกันมะเร็งลำไส้ของอาหารที่มีเส้นใยสูง (Ferguson, 2005) นอกจากอาหารเส้นใยแล้ว ได้มีการศึกษาจำนวนมากที่พยายามค้นหาวิธีการป้องกันมะเร็งลำไส้จากการรับประทานอาหารเสริมชนิดต่างๆ เช่น การศึกษากรดไขมันไม่อิ่มตัว (n-3 polyunsaturated fatty acids) ในน้ำมันปลาพบว่า สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ได้ในสัตว์ทดลอง (Roynette et al., 2004) การรับประทานอาหารเสริมจากวิตามินดีและแคลเซียมสามารถช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (Harris and Go, 2004; Gross, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่า วิตามินอีช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ได้เช่นกัน ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (free radicals) ภายในลำไส้ (Bostick, et al., 1993) ในปัจจุบันยังได้มีความพยายามอย่างต่อเนื่องในการศึกษาวิจัยสารจากธรรมชาติ เพื่อค้นหาสารที่สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ได้โดยเฉพาะสารจากธรรมชาติที่ใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ และนอกจาก

อาหารในกลุ่มของผักและผลไม้ ยังพบว่า การรับประทานอาหารประเภทโปรตีนบางชนิดยังช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ เช่น wheat bran, soy bean, buckwheat และ whey protein (Compher, et al., 1999; Takahashi, et al., 1999; Hakkak, et al., 2001a, 2001b; Liu, et al., 2001; Belobrajdic, et al., 2003) นอกจากนี้มีการศึกษาจากนักวิจัยชาวญี่ปุ่น พบว่า สัตว์ทดลองที่กินอาหารที่มีซีรีซิน สามารถลดการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ลงได้ เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ทดลองกลุ่มควบคุม (Zhaorigetu, et al., 2001; Zhaorigetu, et al., 2007) โครงการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักของซีรีซินที่สกัดขึ้นในประเทศไทย เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมต่อไป

โปรตีนจากหนอนไหมสายพันธุ์ *Bombyx mori* มีส่วนประกอบหลักเป็นโปรตีน 2 ชนิด คือ ไฟโบรอิน (fibroin) และซีรีซิน (sericin) ไฟโบรอินเป็น fibrous protein ที่ถูกสร้างจากต่อมบริเวณหลังของตัวไหม (posterior gland) ซึ่งเป็นส่วนที่นำมาทอผ้าไหม ส่วนซีรีซินเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติเหนียวคล้ายกาวเคลือบอยู่รอบๆ เส้นไหม ทำหน้าที่เชื่อมเส้นไหมเข้าด้วยกันและปกป้องเส้นไหมจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยสร้างมาจากต่อมบริเวณกลางของตัวไหม (middle gland) ซึ่งจะถูกกำจัดออกโดยกระบวนการดัดรังไหมและฟอกเส้นไหม และถูกทิ้งไปโดยไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ (Kundu, et al. 2008) ซีรีซินเป็นสายโปรตีนที่เป็น polymer ที่มีขนาดที่แตกต่างกันไป โดยมีน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) ตั้งแต่ 20 -มากกว่า 400 kDa ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน serine, glycine และ aspartic acid โดยมีกรดอะมิโน serine เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ประมาณ 30-35% (Tokutake, 1980; Zhaorigetu, et al., 2001; Takasu, et al., 2002) จากการศึกษาวิจัยของนักวิทยาศาสตร์ญี่ปุ่นพบว่า ซีรีซินมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และสามารถยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase ได้ (Kato, et al. 1998) จึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเครื่องสำอางอย่างกว้างขวาง ได้มีรายงานการศึกษาหาฤทธิ์ต่างๆ ของซีรีซิน เช่น anticoagulant activity (Tamada, et al., 2004), cryoprotective effect (Tsujiimoto, et al., 2001) และ การป้องกันเซลล์เพาะเลี้ยงตายจากการขาดซีรั่ม (Takahashi, et al., 2003) แต่อย่างไรก็ตามฤทธิ์ที่กล่าวมาทั้งหมดนี้มาจากการทดลองในหลอดทดลอง (*in vitro*) เนื่องจากซีรีซินเป็นโปรตีนที่มีความคงทน และสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ protease ได้ (Sasaki, et al., 2000) จึงมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ประโยชน์ด้วยการรับประทานเป็นอาหารเสริม ณ ปัจจุบันนี้ การทดลองโดยให้สัตว์ทดลองกินซีรีซินนั้นมีจำนวนน้อยมาก ในการศึกษาของนักวิจัยชาวญี่ปุ่น พบว่า ซีรีซินสามารถลดการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ของสัตว์ทดลองได้ โดยพบว่าซีรีซินสามารถลดการแบ่งตัวของเซลล์และลดการเกิด oxidative stress ของเซลล์ลำไส้ใหญ่ (Zhaorigetu, et al., 2001; Zhaorigetu, et al., 2007) นอกจากนี้สัตว์ทดลองที่กินซีรีซินส่งผลให้ลำไส้มีการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดเพิ่มขึ้นได้ด้วย (Sasaki, et al., 2000) ดังนั้นจากรายงานวิจัยที่อ้างมาแล้วแสดงให้เห็นว่า โปรตีนซีรีซินจากไหมอาจมีคุณสมบัติเฉพาะที่มีศักยภาพเพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันหรือลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้

นอกจากนี้การศึกษาที่ผ่านมาได้มีการรายงานไว้ว่า โปรตีนบางชนิดที่ได้จากอาหาร (Dietary proteins) มีผลลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดได้ (Zhang and Beynen, 1995; Nagaoka, et al., 2001) ซึ่งโปรตีนที่มีการศึกษาฤทธิ์นี้กันมากได้มาจากถั่วเหลืองและนม Anderson และคณะ (1995) รายงานว่า การรับประทาน

โปรตีนจากถั่วเหลืองวันละ 25 กรัม สามารถลด low – density lipoprotein (LDL), โคลเลสเตอรอล (Cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) ได้ร้อยละ 9.2, 12.9 และ 10.5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า โปรตีนสายสั้นๆ จากถั่วเหลือง (Soy protein peptide hydrolysate, SPH) มีฤทธิ์ในการลด โคลเลสเตอรอลได้มากกว่าโปรตีนโมเลกุลใหญ่ (Whole soy protein) (Sugano, et al., 1990; Anderson, et al., 1995; Nagaoka, et al., 1999) ซึ่งเป็นผลมาจากการยับยั้งการดูดซึมและการละลายของโคเลสเตอรอลในทางเดินอาหาร (Nagaoka, et al., 1999) โปรตีนจากอาหารอื่นๆ ที่มีรายงานถึงฤทธิ์ลดโคเลสเตอรอล ได้แก่ โปรตีนที่สกัดจากข้าว เมล็ดทานตะวัน มันฝรั่ง และ buckweath (Kayashita, et al., 1997; Morita, et al., 1997; Liyanage, et al., 2008; Megías, et al., 2009) นอกจากนี้ อาหารประเภทโปรตีนหรือซีรีซิน ก็อาจมีประโยชน์ต่อการป้องกันโรคทางระบบหลอดเลือดและหัวใจได้ มีรายงานว่า นักวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจกับการศึกษา peptides ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ angiotensin converting enzyme (ACE) และต้านอนุมูลอิสระ ปัจจุบันนี้มีรายงานถึง peptide ชนิดที่มีฤทธิ์ลดโคเลสเตอรอล คือ peptides จากนม tryptic hydrolysate ที่มีลำดับ amino acid; IIAEK (Nagaoka, et al., 2001) และ tetrapeptide จาก soy glycinin ที่มีลำดับ amino acid; LPYP (Kwon, et al., 2002) ซึ่งนอกจาก peptides ทั้งสองชนิดนี้แล้วยังอาจมีโปรตีนจากธรรมชาติอื่นๆ อีกที่มีฤทธิ์ลดโคเลสเตอรอลได้ สำหรับโปรตีนซีรีซินจากรังไหมเป็นโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และลดโคเลสเตอรอล ซึ่งโปรตีนซีรีซินอาจมีฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์หลายอย่างที่ช่วยการกินพบ

โครงการวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายในการศึกษาค้นคว้าฤทธิ์ของซีรีซินที่ทำการสกัดแยกจากรังไหมในประเทศไทย ในการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยได้ดำเนินการทดลองในสัตว์ทดลองและยังทำการศึกษาดังกล่าวถึงการออกฤทธิ์ของซีรีซิน โดยประเมินจากการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีน Ki67 proliferation marker และ Bcl-2 anti-apoptotic marker ที่มีผลต่อกระบวนการเพิ่มจำนวนและยับยั้งการตายของเซลล์และเกี่ยวข้องกับปัจจัยในกระบวนการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ลดโคเลสเตอรอลทั้งในเซลล์เพาะเลี้ยง (*in vitro* model) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo* model) ซึ่งจะมีผลส่งเสริมการพัฒนาซีรีซินเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ โรคหลอดเลือดและหัวใจได้

### วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่จากการกินซีรีซิน ในสัตว์ทดลองที่ถูกทำให้เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ด้วยสารเคมี
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ของซีรีซินในการยับยั้งการดูดซึมโคเลสเตอรอลในเซลล์เพาะเลี้ยงและในสัตว์ทดลอง เพื่อประเมินการลดอัตราการเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ
3. เพื่อศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังของซีรีซิน
4. เพื่อพัฒนาคำรับอาหารเสริมซีรีซิน