

บทคัดย่อ

มะเร็งปากมดลูกเป็นมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับสองของผู้หญิงทั่วโลก มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ human papillomavirus (HPV) ทางการมีเพศสัมพันธ์ และพบว่าการติดเชื้อ HPV16 บ่อยที่สุดปัจจัยที่ทำให้เซลล์ที่ติดเชื้อ HPV พัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งปากมดลูก มีทั้งปัจจัยจากผู้ติดเชื้อ เช่น อายุ และ ภูมิคุ้มกัน และจากตัวเชื้อ HPV เอง

ปัจจุบันมียาที่ใช้รักษาการติดเชื้อ HPV น้อยมาก และมีราคาแพง เนื่องจากไม่สามารถเพาะเลี้ยงไวรัสได้ จึงมีข้อจำกัดในการศึกษาพัฒนาการรักษาโรค ดังนั้นกลุ่มผู้วิจัยจึงให้ความสนใจในการค้นคว้าหาสารสกัดจากสมุนไพรไทย เพื่อนำมาพัฒนาตัวยาใหม่ที่จะสามารถรักษาและ/หรือป้องกันการติดเชื้อ HPV รวมทั้งเพื่อเป็นพัฒนางานทางด้านพิษสมุนไพร หรือสารในกลุ่ม natural product ต่างๆ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรและพญายอ ต่อการป้องกันการติดเชื้อ HPV รวมถึงศึกษาผลการกระตุ้น innate immunity โดยดูการเพิ่มการแสดงออกของยีน TLR แต่เนื่องจากยังไม่สามารถเพาะเลี้ยง HPV ในห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยในปีที่ 1 จึงต้องการผลิต HPV16 pseudovirus เพื่อใช้เป็นต้นแบบไวรัสในการศึกษาฤทธิ์ต้านไวรัสของสารสกัดสมุนไพร เตรียมสารสกัดสมุนไพร และหาความเข้มข้นของสารที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์

HPV16 pseudovirus ถูกสร้างขึ้นใน 293FT cell line ที่ถูก transfect ด้วยพลาสมิด p16sheLL ซึ่งสามารถสร้าง viral protein L1 และ L2 สำหรับประกอบเป็น capsid ของ HPV16 pseudovirus และ พลาสมิด pfwB ซึ่งสามารถสร้าง green fluorescent protein ได้ HPV16 pseudovirus ถูกประกอบขึ้นโดย พลาสมิด pfwB ถูกห่อหุ้มด้วยโปรตีน HPV16 L1 และ L2 ส่วนความเข้มข้นของสารที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ทดสอบใน 293FT cell line

ผลการทดลองสามารถเตรียมสารสกัดสมุนไพรจากฟ้าทะลายโจรและพญายอได้สารบริสุทธิ์สำหรับการวิจัยนี้ จากฟ้าทะลายโจร 3 ชนิดคือ Andrographolide (SS1), 14-deoxy-11,12-didehydro-andrographolide (SS2) และ 3, 19- isopropylidene andrographolide (SS3) และสารบริสุทธิ์จากพญายอ 3 ชนิดคือ $C_{55}H_{74}N_4O_5$ (136B), $C_{55}H_{72}N_4O_7$ (136C) และ $C_{53}H_{70}N_4O_5$ (136D) แต่ละชนิดมีความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ 293FT cell line เท่ากับ 4.73, 1.13, 11.29, 3.79, 7.60 และ 19.41 ug/mL ตามลำดับ และสามารถผลิต HPV16 pseudovirus ได้ titer 4.6×10^6 transducing units/mL

การดำเนินโครงการวิจัยเป็นไปตามวัตถุประสงค์คือสามารถเตรียมสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรและพญายอ และสามารถผลิต HPV16 pseudovirus สำหรับใช้ในโครงการวิจัยต่อไป