

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 รวมทั้งเพื่อเป็นพัฒนางานทางด้านพืชสมุนไพร หรือสารในกลุ่ม natural product ต่างๆ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจร และพญายอ ต่อการป้องกันการติดเชื้อ HPV รวมถึงศึกษาผลการกระตุ้น innate immunity โดยดูการเพิ่มการแสดงออกของยีน TLR แต่เนื่องจากยังไม่สามารถเพาะเลี้ยง HPV ในห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นจึงต้องทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกับ HPV16 pseudovirus ที่ได้จากการดำเนินการวิจัยในปีแรก วัตถุประสงค์ในปีที่ 2 คือเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการติดเชื้อ HPV16 pseudovirus ของสารสกัดจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจร และพญายอ ได้แก่ ฤทธิ์ด้านการยับยั้ง binding ของ pseudovirus ฤทธิ์การยับยั้ง internalization ของ HPV16 pseudovirus และฤทธิ์ neutralization of HPV16 pseudovirus

สารสกัดที่ใช้ในการวิจัยนี้ ประกอบด้วยสารบริสุทธิ์จากฟ้าทะลายโจร 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 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ และใช้ HPV16 pseudovirus ปริมาณ 1×10^6 fluorescence cells/mL

การ screen ฤทธิ์ antiviral activity ของสารสกัดทั้ง 6 ชนิด โดยนำสารสกัดบ่มกับ pseudovirus ก่อน แล้วจึง adsorb บนเซลล์ 293FT หลังจากนั้นจึงเลี้ยงเซลล์ต่อในอาหารที่ผสมกับสารสกัดแต่ละชนิด พบว่าสารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้ง pseudovirus infection ได้ โดยสารสกัด 136D มีฤทธิ์มากที่สุด รองลงมาคือ SS2 จากนั้นจึงทำการทดสอบการยับยั้งในขั้นตอนการเข้าสู่เซลล์ internalization ผลการทดลองพบว่าสารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้ง internalization ของ pseudovirus ได้ โดยสารสกัด SS2 มีฤทธิ์มากที่สุด (93%) รองลงมาคือ 136C (86%) จากนั้นจึงทำการทดสอบการยับยั้งในขั้นตอน binding ทั้งจับกับอนุภาค pseudovirus โดยตรง และจับกับ host receptor พบว่า 136D

สามารถจับกับอนุภาค pseudovirus โดยตรง และจับกับ host receptor ได้ดีที่สุด และจากการทดสอบฤทธิ์ neutralization พบว่าเป็นแบบ dose dependent manner โดย 136C มีฤทธิ์มากที่สุด (83%) รองลงมาคือ SS2 (79%)

แม้ว่าสารสกัดทุกชนิดจะมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อ pseudovirus ได้ แต่มีความแรงไม่เท่ากัน และมีความสามารถในการยับยั้งในแต่ละขั้นตอนแตกต่างกัน น่าจะเป็นเรื่องของโครงสร้างที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามสารสกัดเหล่านี้สามารถนำไปพัฒนาสำหรับการป้องกันการติดเชื้อ HPV ได้ในอนาคต