

248105

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



248105



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

สารประกอบจากพืชเพื่อส่งเสริมความไวต่อยาเคมีบำบัด

Phytochemicals enhance chemosensitivity

คณะผู้วิจัย

ดร. เอี่ยมเดือน ประวาฬ ภาควิชาเภสัชวิทยา

รศ.วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์ ภาควิชาเภสัชวิทยา

นางสาวอรอนงค์ ทศธร ภาควิชาเภสัชวิทยา

รศ.บุพา คู่คงวิริยพันธุ์ ภาควิชาสรีรวิทยา

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

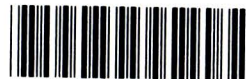
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

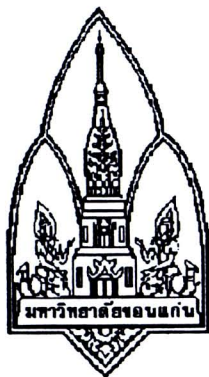
600252-701

248105

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



248105



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
เรื่อง

สารประกอบจากพืชเพื่อส่งเสริมความไวต่อยาเคมีบำบัด

Phytochemicals enhance chemosensitivity

คณะผู้วิจัย



ดร. เอี่ยมเดือน ประวาท

ภาควิชาเภสัชวิทยา

รศ.วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์

ภาควิชาเภสัชวิทยา

นางสาวอรอนงค์ ทศธร

ภาควิชาเภสัชวิทยา

รศ.ยุพา คู่คงวิริยพันธุ์

ภาควิชาสรีรวิทยา

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

กิตติกรรมประกาศ

รายงานนี้เป็นผลการศึกษาของโครงการ “ สารประกอบจากพืชเพื่อส่งเสริมความไวต่อยาเคมีบำบัด ” ซึ่งเป็นโครงการวิจัยต่อเนื่อง 2 ปี ระหว่างปี 2552-2553 โดยโครงการได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552-2553 และ นางสาวอรอนงค์ ทศกร นักศึกษาระดับปริญญาเอก สาขาเภสัชวิทยา ได้รับทุนภายใต้โครงการเครือข่ายเชิงกลยุทธ์เพื่อการผลิตและพัฒนาอาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษา ประจำปี 2551

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ : สารประกอบจากพืชเพื่อส่งเสริมความไวต่อยาเคมีบำบัด

ชื่อนักวิจัย : ดร. เอี่ยมเดือน ประวาฬ รศ.วีรพล กุ่องวิริยพันธุ์ นางสาวอรอนงค์ ทศกร และ รศ.ยุพา กุ่องวิริยพันธุ์ ภาควิชาเภสัชวิทยา และภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ศูนย์พยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

คำสำคัญ : ไอโซไซโอไซยานเนต, มะเร็งท่อน้ำดี, ความไวต่อยาเคมีบำบัด, สารประกอบจากพืช

248105

เฟนเนทิลไอโซไซโอไซยานเนต หรือ สาร PEITC (phenethylisothiocyanate, PEITC) เป็นสารประกอบธรรมชาติในกลุ่มไอโซไซโอไซยานเนตที่ถูกสร้างและสังเคราะห์มากในพืชตระกูลกะหล่ำ (cruciferous) เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ คะน้า เป็นต้น รายงานก่อนหน้านี้พบว่าสารนี้มีฤทธิ์ปรับเปลี่ยนสถานะของระบบต่อต้านออกซิเด้นซ์ของเซลล์และมีฤทธิ์ป้องกันการเกิดมะเร็งหลายชนิด อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานถึงบทบาทของ PEITC ในมะเร็งท่อน้ำดี ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ เพื่อศึกษาฤทธิ์ฆ่าเซลล์ (cytotoxicity) ของสาร PEITC ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี และรูปแบบการตายของเซลล์เบื้องต้น รวมทั้งศึกษากลไกที่อาจเกี่ยวข้องกับการตายแบบ apoptosis ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีจากการกระตุ้นด้วยสาร PEITC

การศึกษานี้ทำในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 และเซลล์เพาะเลี้ยง Liver Chang ซึ่งผลจากการศึกษาพบว่าสาร PEITC มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์เพาะเลี้ยงทั้งสองชนิด และสามารถชักนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis โดยการตายจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นและเวลาที่ได้รับสาร PEITC การศึกษาผลของสาร PEITC ต่อระบบต่อต้านออกซิเด้นซ์ของเซลล์ พบว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 จะมีระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์ลดลงเมื่อได้รับสาร PEITC โดยมีระดับกลูตาไธโอนลดต่ำสุดที่ 24 ชั่วโมง ขณะที่สาร PEITC มีแนวโน้มที่จะเพิ่มระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์เพาะเลี้ยง Liver Chang ที่สำคัญคือ สาร PEITC มีผลให้เซลล์ KKU-100 เกิดการเปลี่ยนแปลงของ mitochondrial transmembrane potential อย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจเป็นกลไกหนึ่งในการเหนี่ยวนำการตายแบบ apoptosis ของสาร PEITC นอกจากนี้ สาร PEITC ยังมีผลเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน Bax (เป็นโปรตีนที่เกี่ยวกับการตายแบบ apoptosis) ด้วย ในขณะเดียวกันกลับพบว่าเซลล์มีการปรับตัวด้วยเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน Nrf2 และ Trx (เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอด)

โดยสรุป สาร PEITC สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี และเหนี่ยวนำการตายแบบ apoptosis โดยไปมีผลเปลี่ยนแปลง mitochondrial transmembrane potential ลดระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์ เพิ่มการแสดงออกของโปรตีน Bax ดังนั้น การศึกษาต่อไปถึงฤทธิ์ส่งเสริมความไวต่อยาเคมีบำบัดของสาร PEITC อาจจะเป็นกลยุทธ์หนึ่งที่จะพัฒนาการรักษา มะเร็งท่อน้ำดีให้ดียิ่งขึ้น

Abstract

Project Title : Phytochemicals enhance chemosensitivity**248105****Investigators :** Auemduen Prawan, Veerapol Kukongviriyapan, Ornanong Tussekorn and Upa Kukongviriyapan Department of Pharmacology and Department of Physiology, Faculty of Medicine, Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Khon Kaen University**Keyword :** isothiocyanates, cholangiocarcinoma, chemosensitivity, phytochemicals

Phenethylisothiocyanate (PEITC), a natural compound found abundantly in cruciferous and other vegetables, possesses cancer chemopreventive activity in many reports. Previously, the ability of PEITC to modulate antioxidant enzymes / redox status and protect against tumor development has been suggested in several models. However, the role of PEITC in prevention and treatment of cholangiocarcinoma (CCA) has not been shown. This study was aimed to investigate the antiproliferative effect of PEITC and mechanisms underlying its effects.

Cholangiocarcinoma KKU-100 and human liver Chang cells were used for comparison in the study. Our results showed that PEITC inhibited cell proliferation and induced apoptotic cell death in both cell lines. Induction of apoptotic cell death observed in KKU-100 was concentration- and time-dependent. In addition, PEITC treatment induced depletion of intracellular antioxidant glutathione (GSH) in KKU-100 with maximum response at 24 hours after treatment. In contrast, PEITC tended to increase the intracellular GSH level in Liver Chang cell. Interestingly, a rapid collapse of the mitochondrial transmembrane potential was observed concurrently with an apparent apoptosis. Moreover, PEITC increased level of proapoptotic protein Bax, as measured by Western blot analysis. Furthermore, up-regulated Nrf2 and Trx protein expression was observed which suggesting the adaptive survival responses of KKU-100.

In conclusion, PEITC inhibited cell proliferation and induced apoptosis in CCA cells by mechanism probably relating to activation of the mitochondrial apoptotic pathway via depletion of cellular GSH. An investigation of the PEITC use in combination with anticancer agents needs further consideration over optimizing the strategy to enhance cytotoxic effect for the chemotherapy of CCA.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ข
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
คำสำคัญ (Keyword)	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฉ
บทนำ	1
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	2
วิธีดำเนินการวิจัย	3
ผลการวิจัย	5
อภิปรายผล/วิจารณ์	11
สรุปผลการวิจัย/ข้อเสนอแนะ	12
บรรณานุกรม	13
ภาคผนวก	
ก. ประวัติผู้วิจัย	14
ข. การเผยแพร่ผลงานวิจัย	16

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสาร PEITC	2
ภาพที่ 2 อุดมคติของการเจริญของเซลล์ และการชักนำให้เซลล์ตาย แบบ apoptosis ของสาร PEITC (ที่ความเข้มข้น 1, 3, 10, 30 μM และระยะเวลา 3, 12, 24, 48 ชั่วโมง) ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี K KU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang	6
ภาพที่ 3 ผลของสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 10 μM และระยะเวลา 3, 6, 12, 24, 48 ชั่วโมง ต่อระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์ (total GSH) และระดับ รีดอกซ์ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี K KU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang	7
ภาพที่ 4 ผลของสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 3, 10, 30 μM และระยะเวลา 3 ชั่วโมง ต่อระดับ mitochondrial transmembrane potential และสัดส่วนของ J aggregates ต่อ monomer ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี K KU-100 และ เซลล์ตับปกติ Liver Chang	9
ภาพที่ 5 ผลของสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 1, 3, 10 μM และระยะเวลา 48 ชั่วโมง ต่อการแสดงออกของโปรตีน Nrf2, cyclin D1, Bcl-xl, Bax และ Trx ของ เซลล์มะเร็งท่อน้ำดี K KU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang	10

คำสำคัญ (Keyword)

คำสำคัญ : ไอโซไธโอไซยาเนต, มะเร็งท่อน้ำดี, ความไวต่อยาเคมีบำบัด, สารประกอบจากพืช

Keyword : isothiocyanates, cholangiocarcinoma, chemosensitivity, phytochemicals

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

GSH = glutathione

GSSG = glutathione disulfide

h = hour

IC₅₀ = inhibitory concentration at 50%

μM = micromolar

S.E. = standard error of the mean