

บทที่ 1

บทนำและวัตถุประสงค์

การค้นหาสารออกฤทธิ์เพื่อการรักษาโรคต่างๆ นั้นปัจจุบันนี้มีกระแสความนิยมที่จะใช้สารสกัดจากธรรมชาติมากขึ้น เนื่องจากเชื่อกันว่าเป็นสารที่มีความปลอดภัยซึ่งมีผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน และประเทศไทยก็จัดเป็นประเทศหนึ่งที่มีความหลากหลายของพันธุ์พืชและสัตว์สูงมาก ดังนั้นจึงน่าจะเป็นแหล่งของสมุนไพรไทยหลายชนิด ซึ่งยังมีสมุนไพรไทยและยารักษาอีกเป็นจำนวนมากที่ไม่มีการศึกษาอย่างจริงจัง อย่างไรก็ตามปัจจุบันวิธีการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรและยาที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นหรือยับยั้งการแสดงออกของยีนต่างๆ ที่สนใจ ต้องใช้ระยะเวลาอันยาวนาน ขั้นตอนค่อนข้างซับซ้อน และต้องใช้ทุนในการศึกษาค่อนข้างสูง อย่างเช่น วิธี real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) และ semi-quantitative PCR ดังนั้นในงานวิจัยนี้เราจึงเลือกใช้เทคโนโลยีที่เรียกว่า reporter gene technology เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการค้นหาสมุนไพรที่มีจำนวนมากหลายชนิดให้มีความง่าย รวดเร็วและลดต้นทุนในการศึกษา หลักการของ reporter gene technology คือ การนำส่วน response element ของยีนที่สนใจมาเชื่อมต่อกับ reporter gene เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมการทำงานของ reporter gene นั้นแสดงให้เห็นว่าเกิดกิจกรรมการทำงานที่ส่งผลต่อ response element ซึ่ง response element จะตอบสนองต่อการกระตุ้นจากสิ่งเร้าต่างๆ ภายนอกเซลล์ ทำให้สามารถติดตามวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signaling pathway) ที่จะส่งผลต่อการแสดงออกของยีน รวมถึงกลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนนั้นๆ ซึ่งจะทำให้เกิดการแสดงออกของ reporter gene แล้วจึงตรวจวัดจากกิจกรรมการทำงานของ reporter protein

ยีนที่จะเลือกใช้สำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี reporter gene technology ในงานวิจัยนี้ คือ ยีน matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) ซึ่งยีน MMP-3 จะมีเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายสารชีวโมเลกุลใน extracellular matrix เช่น collagen, aggrecan, fibronectin, elastin และอื่นๆ (Chakraborti *et al.*, 2003) ของเนื้อเยื่อต่างๆ เช่น ผิวหนัง หลอดเลือด รวมถึงกระดูกอ่อนด้วย ระดับการแสดงออกของยีน MMP-3 ที่มีผลมาจากความผันแปรของดีเอ็นเอในส่วนของควบคุมการแสดงออกของยีน MMP-3 นั้นมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดเสื่อมของเนื้อเยื่อ และโรคหลายชนิดที่สำคัญ เช่น โรคมะเร็งต่างๆ (Ghilardi *et al.*, 2002 และ Hinoda *et al.*, 2002) โรคหลอดเลือดโป่งพอง (aneurysm) (Yoon *et al.*, 1999) โรคหลอดเลือด (atherosclerosis) โรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน (acute myocardial infarction) (Terashima *et al.*, 1999 และ Yamada *et al.*, 2002)

การเกิดริ้วรอยของผิวหนัง (Brenneisen, 1998) และโรคข้อเสื่อม

จากการรายงานการวิจัยหลายฉบับพบว่า ในสภาวะข้อเสื่อนั้นยีน MMP-3 จะมีการแสดงออกที่สูงกว่าปกติ เนื่องมาจากการกระตุ้นจากสารอักเสบที่สำคัญ 2 ตัว คือ interleukin-1 β (IL-1 β) และ tumor necrosis factor α (TNF- α) ส่งผลให้เกิดการสูญเสียสมดุลของการสร้างและเสื่อมสลายของผิวข้อกระดูกอ่อน (Goldring, 2006) และนำไปสู่การเกิดโรคข้อเสื่อม

ดังนั้นในการศึกษารุ่นนี้ ยีน MMP-3 จึงถูกนำมาสร้างเวกเตอร์รายงานผล เพื่อนำไปศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดต่อการแสดงออกของยีน MMP-3 ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยสารอักเสบ interleukin-1 β (IL-1 β) เพื่อพัฒนาระบบที่สามารถนำไปตรวจสอบการแสดงออกของยีน MMP-3 ในระดับ mass scale ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสร้างเวกเตอร์สำหรับระบบเซลล์รายงานผลของการแสดงออกของยีน MMP-3 เซลล์เพาะเลี้ยง
2. ทดสอบสมุนไพรบางชนิดเบื้องต้นต่อการแสดงออกของยีน MMP-3 ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β ด้วยระบบเซลล์รายงานผล