

ANTI-LEUKEMIC EFFECTS OF *RICEBERRY* BRAN EXTRACTS

SOMSUDA SOMINTARA 5337223 SCAN/D

Ph.D. (ANATOMY AND STRUCTURAL BIOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: VIJITTRA LEARDKAMOLKARN, Ph.D.,  
CHAREONSRI THONABULSOMBAT, Ph.D., PERMPHAN DHARMARAROJA,  
M.D., Ph.D., SUPEECHA KUMKATE, Ph.D.

## ABSTRACT

Leukemia is a blood disease that has a poor prognosis even with choices of anti-cancer drug treatments and blood transfusion availability. Previously, we found that the dichloromethane (DCM) extract of black rice bran (*Riceberry* cultivar) has a profound effect on suppression of cell growth and induction of apoptosis in human leukemic HL-60 cells. In this study, we used an unsaponified fraction of the rice bran DCM extract, the RBDS, to evaluate the anti-tumor activities in an induced-leukemic mouse model and to assess for RBDS bioactive compounds action in mouse myelomonocytic leukemic (WEHI-3) cells. Male BALB/c mice were daily fed with RBDS in olive oil before and after receiving an intraperitoneal injection of WEHI-3 cells. The control groups included: olive oil-treated and -untreated leukemic mice. The blood, spleen and liver of mice were measured for cytokine levels and pathological changes. The immune responses were demonstrated by the activation of macrophage phagocytosis, increase of specific cell surface markers, such as CD3, CD19 and CD11b, and an increase in serum cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-12 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and IL-2). Obviously, RBDS administration improved the mice general leukemic conditions: by increases in body weight, survival rates and the mature blood cells. The histopathology of the spleen and liver was dramatically amended. The results were complemented with *in vitro* anti-cell proliferation, sub-G1 phase cell cycle arrest, and apoptosis induction actions of RBDS on WEHI-3 cells. This medicinal property of RBDS was considered to be potentiate because of the two major constituents; phytosterol and triterpenoid, which are found in the black rice bran RBDS fractions.

KEY WORDS: WEHI-3 CELL / LEUKEMIA / RICE BRAN / *RICEBERRY*

82 pages

ฤทธิ์ของสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ในการต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาว

ANTI-LEUKEMIC EFFECTS OF RICEBERRY BRAN EXTRACTS

สมสุดา โสมอินทร์ 5337223 SCAN/D

ปร.ค. (กายวิภาคศาสตร์และชีววิทยาโครงสร้าง)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: วิจิตรา เลิศกมลกาญจน์, Ph.D., เจริญศรี ชนบุญสมบัติ, Ph.D.,  
เพิ่มพันธุ์ ธรรมสโรช, พ.บ., Ph.D., สุพีชา คุ่มเกตุ, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นโรคมะเร็งที่มีการพยากรณ์โรคไม่ค่อยดีนัก แม้ว่าปัจจุบันจะมีทางเลือกในการรักษาทั้งการให้ยาฆ่ามะเร็งและการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) ก็ตาม มีการค้นพบก่อนหน้านี้ว่าสารสกัดหยาบชั้น ไคคอลลอโรมีเทนจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาผลของสารสกัดหยาบ ไคคอลลอโรมีเทนจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านขบวนการ saponification (RBDS) ในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งด้วยเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด murine myelomonocytic leukemia cell line (WEHI-3) และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดในการต่อต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยหนู BALB/c เพศผู้ถูกป้อนด้วย RBDS และน้ำมันมะกอก ก่อนและหลังถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งโดยการฉีด WEHI-3 เข้าทางช่องท้อง กลุ่มควบคุมประกอบด้วยหนูมะเร็งกลุ่มที่ได้รับน้ำมันมะกอกและกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เลือด ม้ามและตับ ของหนู ถูกเก็บเพื่อนำไปวิเคราะห์ระดับ cytokine เพื่อดูผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา พบว่า สารสกัด RBDS กระตุ้นการทำงานของ macrophage และเพิ่ม marker ที่ผิวเซลล์ของเม็ดเลือดขาว เช่น CD3, CD19, CD11b และเพิ่มระดับ cytokine ในซีรัม ได้แก่ IFN-gamma, IL-12 beta, TNF-alpha, and IL-2 นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัด RBDS ช่วยทำให้สภาวะการเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยหนูมะเร็งมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว อัตราการรอดชีวิตและเซลล์เม็ดเลือดที่เจริญเติบโตเต็มที่ พยาธิวิทยาของม้ามและตับดีขึ้น ผลการศึกษาจากสัตว์ทดลองสอดคล้องกับผลจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ซึ่งพบว่า RBDS มีฤทธิ์ต้านการเจริญแบ่งตัวของ WEHI-3 โดยยับยั้ง cell cycle ที่ระยะ sub-G1 และเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ผลการศึกษาสรุปได้ว่าสารสกัด RBDS สามารถต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวและกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในหนูทดลองได้โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ของสารชีวภาพที่ค้นพบว่าจัดอยู่ในกลุ่ม phytosterol และ triterpenoid