

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

1. เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัยมากกว่าที่ระยะเวลาทุนได้กำหนดไว้ ซึ่งปัญหาที่พบคือ วิธีทำการทดลองค่อนข้างยากและบางวิธีการทดลองเป็นเรื่องใหม่สำหรับผู้วิจัย ทำให้ผลการทดลองในช่วงแรกไม่ได้ตามวัตถุประสงค์ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษา หรือทดลองปฏิบัติวิธีการทดลองนั้นๆก่อนดำเนินการจริง
2. เมื่อมีปัญหาในข้อที่ 1 ที่กล่าวมาแล้วทำให้สิ้นเปลืองงบประมาณ จำนวนเงินทุนที่ได้รับมาจึงไม่เพียงพอต่อการดำเนินงานวิจัย

ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

ใบชา (tea) จัดเป็นหนึ่งในสมุนไพรไทยที่มีการใช้กันอย่างกว้างขวางในชีวิตประจำวัน โดยใช้เป็นเครื่องดื่ม สารที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของใบชา คือ flavonoids ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม polyphenolic compounds ซึ่งพบว่ามีปริมาณมากที่สุดและมีความสำคัญมากที่สุด จากผลการศึกษาวิจัยพบว่า epigallocatechin-3-gallate (EGCG) เป็นสาร flavonoid หลัก ที่พบในใบชา จากการศึกษาฤทธิ์ของ EGCG พบว่า มีผลต่อการทำงานของร่างกายส่วนต่างๆมากมาย และที่สำคัญ คือ EGCG สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต รวมทั้งทำให้ก่อเกิดการตายของเซลล์มะเร็งหลายๆชนิด เนื่องจากเซลล์มะเร็งมีอัตราของขบวนการ glycolysis และมีการสร้าง ATP ที่ mitochondria สูงกว่าเซลล์ปกติ (DeBerardinis RJ et al., 2008, Meadows AL et al., 2008, (DeBerardinis RJ et al., 2007, Fukuda H et al., 2002) โดยพบว่า เซลล์มะเร็งจะมีอัตราของ lipogenesis สูงมาก มากกว่าเซลล์ปกติซึ่งมีค่อนข้างต่ำ (Meadows AL et al., 2008, DeBerardinis RJ et al., 2007) การที่เซลล์มะเร็งมี lipogenesis ที่สูง ก็เพื่อใช้ในการสร้าง cell membrane และส่วนประกอบต่างๆของ cell membrane ซึ่งได้แก่ phospholipids, cholesterol, sphingolipids และ lipid rafts ส่วนประกอบต่างๆเหล่านี้รวมเรียกว่า microdomains ซึ่งมีความสำคัญ คือเกี่ยวข้องกับขบวนการ signal transduction, intracellular trafficking, cell polarization และ cell migration เป็นต้น (Bagnat M and Simons K, 2002, Manes S et al., 1999, Ikonen E and Simons K, 1998) งานวิจัยที่ยับยั้ง enzymes ที่ใช้ในขบวนการ lipid biosynthesis รายงานถึงการลดลงของการ accumulation ของ fatty acid ภายในเซลล์มะเร็ง ซึ่งส่งผลลด cell proliferation การสูญเสีย cell viability และลด tumor size (Brusselmans K et al., 2005, Hatzivassillou G et al., 2005, Pizer ES et al., 1996) ซึ่งในขณะที่การยับยั้ง lipid biosynthesis นี้ไม่ส่งผลกระทบต่อทั้ง cell proliferation และ viability ของเซลล์ปกติ เช่นเซลล์ fibroblast (Chajes V et al., 2006, Brusselmans K et al., 2005, Pizer ES et al., 1996, Kuhajda FP et al., 1994) เป็นต้น Substrate ที่จำเป็นและใช้ในขบวนการ lipogenesis คือ citrate ซึ่งมีแหล่งที่มาทั้งในเซลล์เองและนอกเซลล์ แหล่งที่มาภายในเซลล์มาจากการที่ citrate ถูก transport โดย citrate carrier ที่ mitochondrial membrane (Kaplan RS et al., 1990) ส่วนแหล่งภายนอกเซลล์นั้น citrate จะถูก uptake เข้ามาในเซลล์โดย sodium-dependent citrate

transporter เป็นหลัก (Inoue K et al., 2002, 2003, Fei YJ et al., 2004) citrate ที่อยู่ภายใน cytosol จะถูก enzyme ATP citrate lyase (ACL) เปลี่ยนให้เป็น Acetyl CoA และ oxaloacetate ซึ่ง acetyl CoA เป็นสารตั้งต้นของขบวนการสร้าง fatty acid, cholesterol และ isoprenoids ภายในเซลล์

แนวโน้มของอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งและการเสียชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งจะมากขึ้นเรื่อยๆ การวิจัยและค้นคว้าเพื่อพัฒนาและหาวิธีที่เฉพาะ ที่จะจัดการทำลายเซลล์มะเร็ง หรือยับยั้งการ proliferation, differentiation และ growth ของเซลล์มะเร็ง โดยที่พยายามจะให้เกิดผลกระทบกับเซลล์ปกติให้น้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ และเป็นไปอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ในอดีตจนปัจจุบัน วิธีหนึ่งในปัจจุบันนี้ได้รับความสนใจศึกษามาก คือ ความพยายามลด nutrients ซึ่ง supply การ growth และ differentiation ของเซลล์มะเร็ง วิธีการหนึ่ง คือการยับยั้งหรือทำลายการเกิดเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) ที่ไปเลี้ยงกลุ่มเซลล์มะเร็ง (Ribatti D, 2008, He T et al., 2007, Zhong H and Bowen JP, 2006) แต่อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ก็ยังไม่ประสบความสำเร็จดังที่ตั้งจุดประสงค์ไว้ เนื่องมาจากการที่ขบวนการ angiogenesis เป็น physiological process ซึ่งถูกควบคุมด้วยขบวนการและปัจจัยต่างๆที่ซับซ้อน เนื่องจาก angiogenesis จะเกิดเมื่อเกิดความไม่สมดุลกันระหว่าง the proangiogenic factors และ angiogenic inhibitors กลไกการทำงานรวมทั้งการควบคุม angiogenesis ของ proangiogenic factors และ angiogenesis factors ก็ยังมีขบวนการ signaling pathway ที่ค่อนข้างซับซ้อน และยังไม่มีความรู้ที่เพียงพอที่จะอธิบายได้อย่างชัดเจน (Mousa SA et al., 2006) ดังนั้นงานวิจัยที่สามารถยับยั้ง ขบวนการ cellular lipid biosynthesis ในเซลล์มะเร็งจึงเป็นอีกแนวทางที่ทั่วโลกมุ่งเน้นและให้ความสำคัญ โดยการยับยั้งการทำงานของ enzyme ที่สำคัญในขบวนการนี้ภายในเซลล์มะเร็ง จะส่งผลลด cell proliferation การสูญเสีย cell viability และลด tumor size (Brusselmans K et al., 2005, Hatzivassillou G et al., 2005, Pizer ES et al., 1996) ซึ่งมีความจำเพาะสำหรับเซลล์มะเร็ง ในขณะที่การยับยั้ง lipid biosynthesis นี้ไม่ส่งผลกระทบต่อทั้ง cell proliferation และ viability ของเซลล์ปกติ

จากผลการศึกษาวิจัย พบว่า EGCG สามารถยับยั้งหน้าที่ของ fatty acid synthase enzyme (FAS) และยับยั้งขบวนการ lipogenesis ในเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (prostate cancer cell) ซึ่งผลของ EGCG นี้ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งตามมา (Brusselmans K et al., 2003, Zhang SY et al., 2008) FAS เป็น enzyme ที่สำคัญในการสร้าง long chain fatty acid พบว่าในเซลล์มะเร็งของมนุษย์ เช่น prostate, breast, colon, lung และ ovary FAS เกิด overexpression ขึ้น ซึ่งแตกต่างจากเซลล์ปกติทั่วไปซึ่ง FAS จะเกิด low expression (Wakil SJ., 1989) ส่วนการศึกษาผลของ EGCG ต่อการทำงานของ enzyme ตัวอื่นในการสร้าง cellular fatty acids โดยเฉพาะในเซลล์มะเร็งนั้น ยังไม่มีรายงานปรากฏเลย โดยเฉพาะ enzyme ATP citrate lyase เป็นอีก enzyme หนึ่งที่มีบทบาทสำคัญ การศึกษาในเซลล์มะเร็งของ breast และ bladder พบการเพิ่มหน้าที่การทำงานของ ATPcitrate lyase

ประมาณ 160 เท่า เปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ ซึ่งเพิ่มขึ้นเพียง 7 เท่า (Turyn J. et al., 2003) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ATP citrate lyase enzyme มีความสำคัญต่อการ growth และ differentiation ของเซลล์มะเร็ง ผลการศึกษาวิจัยต่อมาให้ข้อมูลสนับสนุนและยืนยันถึงความสำคัญของ enzyme นี้ พบว่าการยับยั้งการทำงานของ ATP citrate lyase enzyme ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ปกติ (Hatzivassillou G. et al., 2005)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงให้ความสำคัญกับวิธีหนึ่ง ที่มีความเป็นไปได้มากที่สุดที่จะเป็นวิธีที่สามารถลดการ growth และ differentiation ของเซลล์มะเร็งได้ และมีข้อได้เปรียบมากกว่าวิธีอื่นๆ คือการลดการ growth และ differentiation ที่จำเพาะที่ตัวเซลล์มะเร็ง โดยการลดการทำงานของ ATP citrate lyase enzyme ซึ่งเป็น enzyme ที่มีบทบาทสำคัญในการเพิ่ม acetyl CoA ภายในเซลล์ ซึ่งเป็น substrate เริ่มต้นของขบวนการสร้าง cellular fatty acid ของเซลล์มะเร็ง ผลของการยับยั้งการสร้าง cellular fatty acid จะส่งผลต่อการ growth และ differentiation ของเซลล์มะเร็ง ทำให้เกิดการสูญเสีย cell viability และลด tumor size (Brusselmans K et al., 2005, Hatzivassillou G et al., 2005, Pizer ES et al., 1996) โดยที่ไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติอื่นๆของร่างกาย (Chajes V et al., 2006, Brusselmans K et al., 2005, Pizer ES et al., 1996, Kuhajda FP et al., 1994)

งานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งวิจัยศึกษาบทบาทของ EGCG ในการลดหรือสามารถยับยั้ง cellular lipogenesis โดยในขั้นต้นนี้ จะมุ่งเน้นการลดลงของการทำงานของ ATP citrate lyase enzyme เป็นหลัก ซึ่งจะมีผลทำให้ citrate ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นสารตั้งต้นในการสร้าง fatty acid คือ acetyl CoA ทำให้ลดระดับของ acetyl CoA ภายในเซลล์มะเร็ง ทำให้การสร้าง fatty acid ลดลงตามมา ซึ่งจะส่งผลลด cell proliferation และ cell viability ของเซลล์มะเร็งได้ และน่าจะมี ความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งสูงเช่นเดียวกัน ซึ่งในขณะที่การยับยั้ง lipid biosynthesis นี้ไม่ส่งผลกระทบต่อทั้ง cell proliferation และ viability ของเซลล์ปกติ ตามที่ได้กล่าวถึงข้างต้น และ ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะสามารถนำไปสู่การสนับสนุนการบริโภคสมุนไพรเพื่อเป็นอีกแนวทางในการรักษาโรคมะเร็งต่อไป รวมทั้งงานวิจัยนี้จะสามารถนำไปพัฒนาและปรับปรุงวิธีการรักษามะเร็งในมนุษย์ที่มีประสิทธิภาพมาก และมีความจำเพาะต่อเฉพาะเซลล์มะเร็งต่อไปในอนาคตได้

สมมุติฐานของการวิจัยในครั้งนี้ คือ EGCG สามารถลด cytosolic fatty acid synthesis โดยการยับยั้ง การทำงานของ ATP citrate lyase enzyme ซึ่งจะส่งผลต่อการ growth และ proliferation ของเซลล์มะเร็ง HepG2