

บทที่ 5

อภิปรายผล

โรคมะเร็ง เกิดจากเซลล์ร่างกายมีการแบ่งตัวไม่เป็นไปตามแบบแผนอยู่นอกเหนืออำนาจการควบคุม สามารถทำลายเนื้อเยื่อใกล้เคียงและแพร่กระจายไปยังบริเวณอื่นของร่างกายได้ สาเหตุที่แท้จริงของโรคมะเร็งนั้นยังไม่สามารถบอกได้แน่ชัด คาดว่ามาจากสาเหตุหลายๆอย่างร่วมกัน เช่น พันธุกรรม พฤติกรรม หรือได้รับสารก่อมะเร็งจากสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาประชากรในประเทศต่างๆ พบว่า ประชากรในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งเต้านม และมะเร็งอื่นๆ คำกว่าประชากรในประเทศตะวันตก ซึ่งนำมีสาเหตุมาจากส่วนประกอบในอาหารที่ประชากรเหล่านั้นบริโภค เช่น กระทียม จิง ถั่วเหลือง หัวหอมใหญ่ มะเขือเทศ ขมิ้นชัน และชาเขียว ที่มีบทบาทสำคัญในการต้านมะเร็ง (Dorai and Aggarwal, 2004)

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) เป็นพืชล้มลุกในตระกูลเดียวกับขิง ข่า ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรที่มีประวัติการใช้งานมาอย่างยาวนานและมีสรรพคุณเป็นที่ยอมรับจนเป็นสมุนไพรที่อยู่ในตำรายาของหลายประเทศในทวีปเอเชีย เช่น ตำรายาอายุรเวทประเทศอินเดีย สารสำคัญที่พบในขมิ้นชันได้แก่ เคอร์คิวมิน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านการอักเสบ และสารต้านมะเร็ง

ในการศึกษานี้ พบว่า สารสกัดขมิ้นชันมีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์มะเร็งลำไส้ SW480 และเซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Flowers และคณะ ในปี 2005 ถึงฤทธิ์ของสารเคอร์คิวมินในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์มะเร็ง HeLa และการรายงานของ Wei และคณะ ในปี 2004 ถึงฤทธิ์ของสารเคอร์คิวมินในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง SW480 ที่เป็นไปตามความเข้มข้นและเวลา นอกจากนี้ ยังมีรายงานฤทธิ์ด้านการเจริญ/การเพิ่มจำนวนเซลล์ของสารเคอร์คิวมินในเซลล์มะเร็งอื่นๆ เช่น เซลล์มะเร็งในช่องปาก (Elattar and Virji, 2000) เซลล์มะเร็งตับ (Li et al., 2002) มะเร็งเต้านม (Di et al., 2003) เซลล์มะเร็งปอด (Zhang et al., 2004) เซลล์มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (Sun et al., 2004) เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิดต่างๆ เช่น เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิด Burkitt's lymphoma (Sun et al., 2004; Wu et al., 2002) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิด human chronic myelogenous leukemia K562 (Wu et al., 2003) เซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด melanoma (Siwak et al., 2005) และเซลล์มะเร็งรังไข่ (Shi et al., 2006) เป็นต้น และเมื่อทำการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากและให้เคอร์คิวมินแก่

หนูทดลอง พบว่า การเจริญ/การเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์มะเร็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Dorai et al., 2001) นอกจากนี้ เมื่อให้เคอร์คิวมินร่วมกับยารักษามะเร็ง 5-FU แก่เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (Koo et al., 2004) และเซลล์มะเร็งลำไส้ (Kim et al., 2005) พบว่า ช่วยเสริมฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ได้รับเคอร์คิวมินหรือยารักษามะเร็ง 5-FU อย่างเดียว

ในเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอ เคอร์คิวมินออกฤทธิ์ยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการมีชีวิตรอดและการเพิ่มจำนวนเซลล์ ได้แก่ Bcl-2, cyclin D1, IL-6, COX-2 และ MMP-9 ถูกยับยั้งส่งผลให้การเพิ่มจำนวนเซลล์ลดลง (Aggarwal et al., 2004a, 2004b; LoTempio et al., 2005) และจากการรายงานของ Weir และคณะ (2007) ในเซลล์มะเร็งรังไข่ที่ไวต่อยารักษามะเร็ง cisplatin พบว่า เคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์ทั้งสองกลุ่มเกือบเท่ากัน โดยเหนี่ยวนำการสร้าง superoxide หยุดเซลล์ที่ระยะ G2/M ผ่านทางการกระตุ้นฟอสโฟรีเลชัน p53 และเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายผ่านการกระตุ้น caspase-3

ในการศึกษานี้ พบว่า เมื่อทดสอบมะเร็ง HeLa และเซลล์มะเร็ง SW480 กับสารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้นต่ำ (0-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ในช่วงระยะเวลาต่างๆ กัน (12, 24 และ 48 ชั่วโมง) แล้วนับเซลล์ด้วยการย้อมสี trypan blue เพื่อหาเปอร์เซ็นต์เซลล์มีชีวิต พบว่า เปอร์เซ็นต์เซลล์มีชีวิตของเซลล์มะเร็งทั้งสองที่ได้รับการทดสอบกับสารสกัดขมิ้นชันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่า สารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่ก่อให้เกิดพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสอง

เมื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันต่อการลุกลามของเซลล์มะเร็งด้วยเทคนิค matrigel invasion assay พบว่า สารสกัดขมิ้นชันสามารถยับยั้งการลุกลามของเซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa และมะเร็งลำไส้ SW480 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับ Lin และคณะ (1998) ที่รายงานฤทธิ์ของเคอร์คิวมินในการยับยั้งการเคลื่อนที่และการลุกลามของเซลล์มะเร็งตับที่มีความสามารถในการลุกลามสูง นอกจากนี้ ยังมีรายงานฤทธิ์ของเคอร์คิวมินด้านการลุกลามในเซลล์มะเร็งสมองชนิด glioma (Kim et al., 2005) เซลล์มะเร็งลำไส้ (Su et al., 2006) เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (Hong et al., 2006) และเซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด melanoma (Menon et al., 1999) ผ่านทางการลดการแสดงออกของเอนไซม์ในกลุ่ม MMP เช่น MMP-2 และ/หรือ MMP-9 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในสิ่งมีชีวิต พบว่า เคอร์คิวมินช่วยลดอุบัติการณ์การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด melanoma (Menon et al., 1999) และเซลล์มะเร็งเต้านม (Aggarwal et al., 2005) ไปที่ปอด นอกจากเคอร์คิวมินจะออกฤทธิ์ด้านการลุกลามผ่านการลดการแสดงออกของ

MMP แล้ว เคอร์คิวมินยังช่วยเพิ่มการแสดงออกของ TIMP- 1 จากการศึกษาในเซลล์มะเร็งเต้านม (Shao et al., 2002)

RAGE เป็นตัวรับที่อยู่ในกลุ่มของ immunoglobulin superfamily ของโมเลกุลบนผิวเซลล์ RAGE มีคุณสมบัติเป็น multiligand receptor ซึ่งสามารถจับกับลิแกนด์ได้มากกว่าหนึ่งชนิด ลิแกนด์เหล่านั้น ได้แก่ AGEs, S100/calgranulin และ amphoterlin เป็นต้น การแสดงออกของตัวรับ RAGE พบว่ามีอยู่บนผิวของเซลล์เกือบทุกชนิด ได้แก่ เซลล์บุผนังหลอดเลือด เซลล์เยื่อบุโกลเมอรูลาร์ เซลล์ไมโนไซท์/เซลล์แมโครฟาจ เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ และเซลล์ประสาท (Brett et al., 1993) ในสภาวะปกติ เซลล์จะมีการแสดงออกของตัวรับ RAGE ในปริมาณที่ไม่มีนัยสำคัญ แต่เมื่อมีการสะสมของลิแกนด์ของ RAGE และ/หรือ transcription factor ที่ควบคุม RAGE เช่น NF- κ B และ AP-1 ถูกกระตุ้น จะเกิดการเหนี่ยวนำให้ตัวรับ RAGE มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น (Bierhaus et al., 2005) RAGE นอกจากจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนในกระบวนการอักเสบหรือก่อให้เกิดพยาธิสภาพแทรกซ้อนในโรคต่างๆ เช่น โรคเบาหวานและโรคอัลไซเมอร์ (Bucciarelli et al., 2002) ยังมีการรายงานถึงความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของตัวรับ RAGE กับความสามารถในการดูดกลืน/การแพร่กระจายของเซลล์ในเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (Kuniyasu et al., 2001) มะเร็งตับอ่อน (Takada et al., 2001) เซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (Hirata et al., 2003) และเซลล์มะเร็งในช่องปาก (Bhawal et al., 2005) และเมื่อทำการกีดกัน RAGE ด้วย sRAGE หรือ anti-RAGE พบว่าลดการดูดกลืนและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งในสิ่งมีชีวิต (Taguchi et al., 2000) ในทางตรงข้ามกัน จากการศึกษาในเซลล์มะเร็งปอด พบว่า มีการแสดงออกของ RAGE ลดลงหรือไม่พบการแสดงออกเลย ทั้งในระดับ mRNA และโปรตีน ตรงกันข้ามกับในเนื้อเยื่อปกติซึ่งพบว่าการแสดงออกของ RAGE ในระดับสูง (Schraml et al., 1997) และเมื่อทำการถ่ายยีนให้เซลล์มะเร็งปอด non-small cell lung carcinoma ที่มีการแสดงออกของ RAGE มากเกินพอ จะส่งผลให้มีการเจริญ/การเพิ่มจำนวนเซลล์ของเนื้องอกลดลงจากการทดสอบทั้งในหลอดทดลองและในสิ่งมีชีวิต (Bartling et al., 2005)

เมื่อเกิดการกระตุ้น RAGE จะก่อให้เกิดการส่งสัญญาณภายในเซลล์ซึ่งนำไปสู่การกระตุ้น NF- κ B และในทางกลับกัน เมื่อเกิดการกระตุ้น NF- κ B NF- κ B ซึ่งปกติอยู่ในรูปที่ไม่ทำงานจะผ่านกระบวนการที่ซับซ้อนจนอยู่ในรูปที่ทำงาน แล้วเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสและเข้าจับในตำแหน่งโปรโมเตอร์ของยีน (Barnes and Karin, 1997; Shimizu and Weinstein, 2005) ก่อให้เกิดการกระตุ้นการถอดรหัสของยีนเป้าหมายที่ถูกควบคุมด้วย NF- κ B ซึ่งได้แก่ ยีน RAGE นั้นเอง (Li and Schmidt, 1997) จะเห็นว่า การกระตุ้น RAGE สามารถก่อให้เกิดการกระตุ้น NF- κ B และ NF- κ B สามารถกระตุ้นการแสดงออกของ RAGE ได้ด้วย ก่อให้เกิดการกระตุ้นกันเป็นวงจร ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะอย่าง

หนึ่งของการกระตุ้น NF-kB ผ่านทาง RAGE คือ มีช่วงเวลาที่ยาวนานที่เอาชนะวงจรยับยั้งแบบย้อนกลับอัตโนมัติได้ (autoregulatory feedback inhibition loops) (Bierhaus et al., 2001)

แม้ว่าการถอดรหัสขึ้น RAGE จะถูกควบคุมด้วย transcription factor หลายชนิด (Li and Schmidt, 1997) แต่โดยส่วนใหญ่จะอยู่ภายใต้การควบคุมของ NF-kB มีบางการศึกษาเสนอว่าการลดลงของ transcription factor ไม่น่าเป็นสาเหตุทำให้การแสดงออกของ RAGE mRNA ลดลงในเซลล์มะเร็ง การแสดงออกของโปรตีน RAGE ที่ลดลงชัดเจนกว่าการลดลงของ RAGE mRNA ในเซลล์มะเร็งปกติ บ่งว่าน่าจะเป็นผลจากการควบคุมภายหลังการถอดรหัส (post-transcriptional regulation) (Bartling et al., 2005) ดังนั้น การแสดงออกของ RAGE ที่ลดลงเนื่องจากการลดระดับ NF-kB และ Sp-1 จึงไม่น่าเป็นไปได้ในเซลล์มะเร็ง (Li and Schmidt, 1997) กลไกที่เกิดขึ้นภายหลังการถอดรหัสมีความเกี่ยวข้องมากกว่า (Bartling et al., 2005) แต่การรายงานของ Marx และคณะ (2002) พบว่า ยาในกลุ่ม thiazolidinediones มีฤทธิ์ลดการแสดงออกของโปรตีน RAGE และ RAGE mRNA ซึ่งการแสดงออกที่ลดลงนี้เป็นผลมาจากการยับยั้งการกระตุ้น NF-kB ที่ด้าน proximal NF-kB ของโปรโมเตอร์ของ RAGE จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การลดการแสดงออกของ RAGE เป็นผลมาจากการยับยั้งการกระตุ้น NF-kB ก็ได้

ตามที่กล่าวมาข้างต้น เคอร์คิวมินเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง มีรายงานที่แสดงว่าออกฤทธิ์ต้านมะเร็งผ่านทางกรยับยั้ง NF-kB ซึ่ง NF-kB นี้อยู่ในรูปที่ทำงานตลอดเวลาในเซลล์หลายชนิด (Demell, 2002) จากการศึกษาของ Aggarwal และคณะ (2006) พบว่าเคอร์คิวมินยับยั้งการกระตุ้น NF-kB โดยเคอร์คิวมินยับยั้งการทำงานของ IKK ยับยั้งการฟอสโฟรีเลชันและการสลายตัวของ I κ B α และยับยั้งการเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสของ p65 ส่งผลให้การแสดงออกของยีนที่อยู่ภายใต้การควบคุมของ NF-kB ลดลง ยีนเหล่านั้นได้แก่ ยีนเพิ่มจำนวนเซลล์ (COX-2, cyclin D1 และ c-myc) ยีนต้านตายของเซลล์โดยอัตโนมัติ (inhibitor of apoptosis protein1 (IAP1), IAP2, X-chromosome-linked IAP, Bcl-2, Bcl-x(L), Bfl-1/A1 ฯลฯ) และยีนการแพร่กระจายของเซลล์ (VEGF, MMP-9, ICAM-1) เป็นต้น ดังนั้น มีรายงานฤทธิ์ต้านมะเร็งของเคอร์คิวมินในเซลล์มะเร็งศีรษะและคอ (Aggarwal et al., 2004) เซลล์มะเร็งตับอ่อน (Li et al., 2004) เซลล์มะเร็งสมอง (Nagai et al., 2005) เซลล์มะเร็งเต้านม (Aggarwal et al., 2005) เซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด melanoma cell (Siwak et al., 2005) และเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด (Kwon et al., 2005) นอกจากนี้ เคอร์คิวมินยังสามารถยับยั้ง transcription factor ตัวอื่นอีกด้วย เช่น AP-1 โดยลดการจับกับดีเอ็นเอในตำแหน่งโปรโมเตอร์แต่เคอร์คิวมินไม่ส่งผลต่อ transcription factor Sp1 (Singh and Aggarwal, 1995)

ผู้วิจัยจึงได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันต่อการแสดงออกของยีน RAGE ในระดับ mRNA ในเซลล์มะเร็งปากมดลูก HeLa และเซลล์มะเร็ง SW480 พบว่า สารสกัดขมิ้นชัน

สามารถลดการแสดงของยีน RAGE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเซลล์มะเร็ง HeLa แต่ในเซลล์มะเร็ง SW480 กลับพบว่า การแสดงออกของยีน RAGE ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากผลการทดสอบทั้งหมด จะเห็นว่า สารสกัดขมิ้นชันสามารถลดการแสดงออกของยีน RAGE ในระดับ mRNA ในเซลล์มะเร็ง HeLa ซึ่งมีแนวโน้มเป็นในทางเดียวกันกับฤทธิ์ด้านการเพิ่มจำนวนเซลล์และการลุกลามของสารสกัด อาจมีความเป็นไปได้ที่การแสดงออกของยีน RAGE มีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการเพิ่มจำนวนเซลล์และการลุกลามของเซลล์มะเร็ง HeLa การแสดงออกของยีน RAGE ที่ลดลงนั้นอาจเป็นผลมาจากการยับยั้งการกระตุ้น NF- κ B เช่นเดียวกับฤทธิ์ยับยั้งการกระตุ้นของ NF- κ B ของสารเคอร์คิวมิน ดังที่กล่าวมาข้างต้น หรือในอีกทางหนึ่ง ฤทธิ์ยับยั้งการแสดงออกของยีน RAGE และฤทธิ์ด้านการเพิ่มจำนวนและการลุกลามของเซลล์มะเร็ง อาจเป็นเหตุการณ์ที่เกิดร่วมกันซึ่งเป็นผลมาจากสารสกัดขมิ้นชัน ซึ่งกลไกที่แน่ชัดนั้นยังไม่เป็นที่ทราบ ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาในระดับกลไกต่อไป สำหรับเซลล์มะเร็ง SW480 แม้ว่าสารสกัดขมิ้นชันจะสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนและการลุกลามของเซลล์ได้ แต่สารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 10 และ 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีน RAGE บ่งว่า ฤทธิ์ด้านการเพิ่มจำนวนและการลุกลามของเซลล์อาจไม่มีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีน RAGE ในเซลล์มะเร็ง SW480 แต่อาจมีความเกี่ยวข้องกับยีนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ (ได้แก่ COX-2 และ cyclin D1) และยีนการแพร่กระจายของเซลล์ (ได้แก่ VEGF, MMP-9 และ ICAM-1) ซึ่งมียีนบางยีนเช่น MMP-2 นอกจากจะอยู่ภายใต้การควบคุมของ NF- κ B แล้ว ยังอยู่ภายใต้การควบคุมของวิถีอื่นๆ เช่น AP-1 ดังนั้น การเพิ่มจำนวนเซลล์และการลุกลามที่ลดลงของเซลล์มะเร็ง SW480 อาจเป็นผลมาจากยีนหรือปัจจัยอื่นนอกเหนือจากยีน RAGE ซึ่งกลไกที่แน่ชัดนั้นยังไม่เป็นที่ทราบ จึงควรมีการศึกษาในระดับกลไกต่อไปเช่นกัน