



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การวิเคราะห์กลไกระดับโมเลกุลและรูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในการยับยั้ง
การเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร จากฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยพืชกลุ่ม
Ocimum sp. (กะเพรา โหระพา และแมงลัก) และการประยุกต์ใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัด

เลขที่สัญญา กทท 18/2562

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วงศ์วรุตม์ บุญยานุโกมล

โครงการจัดตั้งวิทยาเขตอำนาจเจริญ มหาวิทยาลัยมหิดล

หัวหน้าโครงการวิจัย

ทุนสนับสนุนจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก

บทคัดย่อ

มะเร็งกระเพาะอาหารเป็นโรคที่พบได้ทั่วโลกและจัดเป็นโรคมะเร็งลำดับที่ 3 ที่เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก การรักษาโดยทั่วไปคือการผ่าตัด หรือการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดแต่โดยทั่วไปอาจมีผลข้างเคียงกับผู้ป่วย ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าหาสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความน่าสนใจ ผู้วิจัยได้มีความสนใจเกี่ยวกับพืชในกลุ่ม *Ocimum* sp. ได้แก่ กะเพรา โหระพา และแมงลัก ซึ่งเป็นพืชที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทยและเป็นพืชที่ใช้ในการปรุงอาหารมาแต่ช้านาน รวมถึงมีสรรพคุณทางยา และฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์และกลไกระดับโมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา โหระพา และแมงลัก ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งกระเพาะอาหาร (AGS) และฤทธิ์ต้านการอักเสบจากภาวะการติดเชื้อ *H. pylori* จากข้อมูลการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา โหระพา และแมงลัก มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยมีค่า IC₅₀ ประมาณ 163.42 µg/ml, 40.67 µg/ml และ 22.51 µg/ml ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ combination index ผู้วิจัยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเสริมฤทธิ์การทำงานร่วมกับยาเคมีบำบัด คือ cisplatin และ 5-Fluorouracil (5-FU) ขณะเดียวกันน้ำมันหอมระเหยจากพืช 3 ชนิด สามารถยับยั้งกระบวนการเคลื่อนย้ายและการบุกรุกของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา โหระพา และแมงลัก สามารถชักนำให้เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งกระเพาะอาหารเกิดการตายโดยกระบวนการ apoptosis โดยเซลล์ที่ตายแสดงลักษณะเหยี่ยว่น มีปมยื่น บริเวณเซลล์เมมเบรน พบการแตกหักของดีเอ็นเอ อีกทั้งโมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยยังมีผลระดับการแสดงออกของยีน *BCL-2* และเพิ่มระดับการแสดงออกของยีน *BAX* และ *caspase-3* ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดการตายแบบ apoptosis จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค LC-MS/MS พบว่ากลไกของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา โหระพา และแมงลัก อาจชักนำให้เซลล์เกิดสภาวะเครียดอันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระ เกิดความเสียหายของดีเอ็นเอและไมโทคอนเดรียรวมถึงรบกวนกระบวนการสร้างพลังงานชีวภาพ (ATP) อีกทั้งอาจรบกวนกระบวนการสร้างโปรตีนต่างๆ ภายในเซลล์ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เซลล์เกิดการตายในที่สุด นอกจากนี้ผู้วิจัยพบว่าสารสกัดจากน้ำมันหอมระเหยกะเพรา โหระพา และแมงลัก มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ *H. pylori* ในระดับหลอดทดลอง โดยมีผลในการลดระดับการแสดงออกของไซโตไคน์ IL-8 รวมถึงเอนไซม์ iNOS และ COX-2 ในเซลล์ที่ติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา โหระพา และแมงลัก มีศักยภาพที่จะสามารถพัฒนาต่อยอดได้ต่อไปในอนาคต เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่เป็นประโยชน์สำหรับผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารและลำไส้

Abstract

Gastric cancer is one of the most common cancers worldwide, and was the third leading cause of cancer-related mortalities. The gold standard for gastric cancer treatment remains surgical resection or chemotherapy. However, undesirable adverse effects have been documented in gastric cancer patients due to treatment with several chemotherapeutic drugs. Therefore, investigation of agents derived from medicinal plants that exhibit effective anti-cancer activity, are inexpensive, and are safe or have minimal side effects is an interesting option that may lead to further improvement of gastric cancer treatment regimens. Hence, in the present study, we aimed to determine the effect of three essential oils derived from *Ocimum* sp. (*O. sanctum*, *O. basilicum* and *O. citriodorum*) with respect to its anti-cancer activity against a human gastric cancer cell line (AGS) and then elucidated the associated mechanisms. Also, their effects on anti-inflammation induced by *H. pylori* were examined. In the present study, the essential oils from *O. sanctum*, *O. basilicum* and *O. citriodorum* significantly decreased AGS cell viability in a dose-dependent manner with the IC₅₀ of 163.42 µg/ml, 40.67 µg/ml and 22.51 µg/ml, respectively, and effectively inhibited AGS cell migration and invasion. Our data provided evidence that three essential oils from *O. sanctum*, *O. basilicum* and *O. citriodorum* combined with cisplatin or 5-Fluorouracil (5-FU) synergistically induced AGS cell death as determined by CompuSyn software. Morphological examination demonstrated that the essential oils induced cell shrinkage, chromatin condensation, and fragmentation, which are considered typical morphologies of apoptotic cell death. Pro-apoptotic genes (*BAX*) was significantly increase, while anti-apoptotic (*BCL-2*) gene was significantly decreased after treatment with the essential oils. Significantly increased gene expression was detected for *caspase-3* in AGS cells exposed to the essential oils. Using high-throughput technique of LC-MS/MS revealed that these three essential oils may modulate several signalings that lead to apoptotic cell death in AGS cells, including induction of cellular stress via ROS and other free radicals, disturbing mitochondrial function associated ATP production defect, induction of DNA strand breaking, induction of unfolded proteins and inhibition of cellular protein translation, stimulation of apoptotic-associated proteins. We also found that these three essential oils showed anti-inflammatory properties in gastric cell infected with *H. pylori* by significant decreasing the expression of IL-8, *iNOS*, and COX-2. Taken together, this *in vitro* study demonstrates for the first time that the essential oils from *O. sanctum*, *O. basilicum* and *O. citriodorum* show several biological properties such as anti-gastric cancer activity, synergism with chemotherapeutic drugs, anti-gastric cancer migration and invasion, induction of apoptosis in AGS, and anti-inflammation caused by *H. pylori*. Based on our findings, further investigation and development of these essential oils might be beneficial for therapy of gastrointestinal patients.