

ประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารสกัดกัญชาต่อเซลล์มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่ และทวารหนัก มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ และมะเร็งปากมดลูก

นันทนา มีศิริพันธุ์¹ศิริวรรณ สาครินทร์¹เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล²สุภาภรณ์ สีทะหา²ศิริลักษณ์ รัตนบรรยงค์²ฤชา ทับทิมใหม่²กัณฑ์กนิษฐ์ สุริยะจันทร์³อิสระ เจียวิริยบุญญา⁴สมชาย ธนะสิทธิชัย⁴

บทคัดย่อ โรคมะเร็งจัดเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญอย่างหนึ่ง ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการรักษาหรือยาที่สามารถรักษาโรคมะเร็งให้หายขาดได้ การคิดค้นหาวิธีการรักษาที่จำเพาะ การพัฒนายารักษาแบบมุ่งเป้า และสิ่งที่น่าสนใจใช้บรรเทาโรค เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็ง เช่น ลดหรือบรรเทาอาการข้างเคียงจากยาเคมีและรังสีรักษา การเสริมสุขภาพผู้ป่วยให้อยากอาหาร พักผ่อนเพียงพอ หรือบรรเทาอาการปวด จึงเป็นสิ่งสำคัญ ปัจจุบันได้มีการนำกัญชาในรูปแบบต่าง ๆ มาใช้ในทางการแพทย์มากขึ้น กัญชาสายพันธุ์อัสระ01 (*Cannabis sativa* L.) ก็เป็นอีกสายพันธุ์หนึ่งที่จะถูกนำมาใช้ โดยสกัดจากช่อดอกและตรวจพบสารสำคัญ คือ Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) Tetrahydrocannabinolic acid (THCA) Cannabigerol (CBG) และ Cannabidiol (CBD) ที่ความเข้มข้น 77.57 ± 1.80 $\mu\text{g/mL}$ 35.84 ± 0.71 $\mu\text{g/mL}$ 0.75 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$ และ 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษหรือฤทธิ์ของสารสกัดกัญชาต่อเซลล์มะเร็งด้วยเทคนิคการทดสอบการออกฤทธิ์ของสารสกัดกัญชาในการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบจำลองเซลล์สองมิติ โดยทำการทดสอบในเซลล์มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ และมะเร็งปากมดลูก ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกัญชาสามารถ ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงได้มากที่สุด ใน มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ HCC 1937 และมะเร็งปอด สายพันธุ์ NCI-H2170 ที่ความเข้มข้น 11.0 ± 1.0 $\mu\text{g/mL}$ และ 16.45 ± 3.39 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ การทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าแม้ว่ากัญชาสายพันธุ์อัสระ01 จะประกอบด้วยสาร THC ที่สูง และสาร CBD ที่ต่ำมาก แต่ก็ยังสามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งเจริญหรือเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้ ดังนั้นจึงอาจนำไปใช้เพื่อพัฒนาเป็นกัญชาทางการแพทย์ต่อไป (วารสารโรคมะเร็ง 2565;42:146-155)

คำสำคัญ: กัญชา มะเร็ง เซลล์เพาะเลี้ยง THC CBD กัญชาสายพันธุ์อัสระ01 เลี้ยงเซลล์แบบจำลองเซลล์สองมิติ

¹ กลุ่มงานวิจัย ถ่ายทอดและสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

² ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

³ สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์

⁴ โรงพยาบาลมะเร็งอุดรธานี จังหวัดอุดรธานี

วันที่รับบทความ 24/08/2565, วันที่แก้ไข 09/11/2565, วันที่ตอบรับบทความ 13/12/2565

ผู้รับผิดชอบบทความ : je_nus@yahoo.com

Efficiency and safety of cannabis extract in cancer cell cultures

by Nuntana Meesiripan¹, Siriwan Sakarin¹, Kiattawee Choowongkomon², Supaphorn Seetaha², Siriluk Rattanabunyong², Leaucha Tabtimmai², Kankanit Suriyajan³, Issara Chiawiriyabunya⁴, Somchai Thanasitthichai⁴

¹Division of research and academic support, National Cancer Institute, Bangkok, Thailand

²Department of Biochemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, Thailand

³Institute of Medical Research and Technology Assessment, Nonthaburi, Thailand

⁴Udonthani Cancer Hospital, Udonthani, Thailand

Corresponding Author: je_nus@yahoo.com

Abstract Cancer is one of the most public health problems. Currently, no treatment or drug are available to completely cure the cancer. Finding a specific treatment, targeted therapy and techniques to alleviate symptoms to increase the quality of life of cancer patients, such as reducing or alleviating adverse reactions from chemotherapy and radiotherapy, enhancing appetite, increasing sleep quality or reducing pain are important. Nowadays, several strains of cannabis had been used in medical practices including Issara 01 strain (*Cannabis sativa* L.). The cannabis extract prepared from the inflorescences of Issara 01 strain composted of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), Tetrahydrocannabinolic acid (THCA), Cannabigerol (CBG) and Cannabidiol (CBD) at concentration of 77.57 ± 1.80 $\mu\text{g/mL}$, 35.84 ± 0.71 $\mu\text{g/mL}$, 0.75 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$, and 0.05 $\mu\text{g/mg}$, respectively. This study aimed to investigate the toxicity effect of this cannabis extract at different concentrations on cancer cells by using in vitro assay of cultivated two-dimensional cell cultures including lung cancer cells, colorectal cancer, breast cancer, liver cancer and cervical cancer. The results found that the inhibition or cytotoxicity of cannabis extract was mainly presented in breast cancer HCC 1937 and lung cancer NCI-H2170 at concentrations of 11.0 ± 1.0 $\mu\text{g/mL}$ and 16.45 ± 3.39 $\mu\text{g/mL}$, respectively. This study concluded that although, Issara 01 strain composed of high THC and low CBD, it can inhibit cancer cells growth or be toxic to cancer cells. Therefore, this cannabis extract could be used as an optional medicine in cancer patients. (*Thai Cancer J* 2022;42:146-155)

Keyword: cannabis, cancer, cell culture, THC, CBD, cannabis strain Issara 01, cultivated two-dimensional cell model

บทนำ

ปัจจุบันประชากรไทยมีความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งสูงขึ้นกว่าในอดีต ในปี ค.ศ 2013-2015 อัตราผู้ป่วยโรคมะเร็งในช่วงอายุ 30-70 ปี สูงถึง 64,866,002 คน โดยโรคมะเร็งที่พบบ่อยได้แก่ มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มะเร็งตับและท่อน้ำดี มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูก เป็นต้น¹ สาเหตุการเกิดโรคมะเร็งนั้นเกิดจากพฤติกรรมกรรมการรับประทานอาหาร การดำเนินชีวิตที่เปลี่ยนแปลงไป รวมถึงสารเคมีที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม จึงเป็นที่มาที่การสาธารณสุขและการแพทย์ให้ความสำคัญกับการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง ทำให้มีการป้องกันและการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งขึ้นอย่างแพร่หลาย สำหรับการรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันนี้ ทั้งการใช้สารเคมีและพืชสมุนไพรต่าง ๆ ซึ่งสารที่ใช้มีกลไกการยับยั้งหรือป้องกันการเกิดมะเร็งอยู่หลายวิธี ได้แก่ การยับยั้งการกระตุ้นของสารก่อมะเร็ง การกระตุ้นเอนไซม์ที่ใช้ในการทำลายสารก่อมะเร็ง การกระตุ้นกระบวนการซ่อมแซมตัวเอง และการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ เป็นต้น

กัญชาเป็นพืชในวงศ์ Cannabidaceae มีหลายสายพันธุ์ ในประเทศไทยสายพันธุ์ที่พบบ่อยคือ สายพันธุ์ *Cannabis sativa* ซึ่งพบว่ามีส่วนประกอบของสารเคมีมากกว่า 450 ชนิด โดยมากกว่า 60 ชนิดเป็นสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ (cannabinoids) ที่มีองค์ประกอบหลักคือ Delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) และสารชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกัน เช่น Cannabinol (CBN), Cannabidiol (CBD), Cannabichrome (CBC) และ Cannabigerol (CBG) เป็นต้น²⁻⁴ นอกจากสารธรรมชาติเหล่านี้แล้วปัจจุบันยังได้มีการสังเคราะห์สารที่เป็นอนุพันธ์ของสาร THC ขึ้นมาใหม่อีกหลายชนิด รวมถึงมีการค้นพบกลไกการออกฤทธิ์ของสารในกลุ่มนี้อีกด้วย THC เป็น psychoactive compound ซึ่งส่วนใหญ่จะจับกับ cannabinoid receptors ซึ่งพบอยู่ 2 กลุ่มหลักคือ CB1 และ CB2 โดย CB1 receptors จะพบมากที่ระบบประสาทส่วนกลาง (Central nerve system) โดยเฉพาะในส่วน basal ganglia, hippocampus, cerebellum และ cortex ซึ่งสะท้อนกลไกการเกิด psychotropic effect ของ THC ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในสารสกัดกัญชา และพบที่ระบบประสาทส่วนปลาย (Peripheral nerve system) ในขณะที่ CB2 receptors จะพบที่เนื้อเยื่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Immune system)⁴⁻⁵ ดังนั้นจึงมีผลต่อ ความอยากอาหาร การย่อยอาหาร อารมณ์ ความรู้สึก ความจำ การเรียนรู้ และพฤติกรรม นอกจากนี้ยังมีการค้นพบว่าอาจมี receptors อื่น ๆ ที่อาจมาทำหน้าที่เช่นเดียวกับ cannabinoids receptor ในทางกลับกัน CBD มีความสามารถในการจับกับ CB1 และ CB2 receptors แบบโดยตรงได้เพียงเล็กน้อย แต่มีลักษณะเป็น negative allosteric modulator กับ CB1 receptor ซึ่งส่งผลกับการทำงานกับ receptors อื่นๆ ทำให้สามารถลดอาการปวด อาการอักเสบ และลดความกังวลได้ การค้นพบกลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้ รวมถึงการค้นพบ endocannabinoids ซึ่งเป็น endogenous agonists ของ cannabinoids receptors เช่น N-arachidonoyl-ethanolamine (AEA; anandamide) และ 2-arachidonoylglycerol (2-AG)⁵ ทำให้มีความเข้าใจในกลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้ รวมถึงผลข้างเคียงมากยิ่งขึ้น และมีการนำมาวิจัยเพื่อประโยชน์ในการรักษาอาการหรือโรคต่าง ๆ²

แม้ว่ากัญชายังถูกจัดให้อยู่ในรายการยาเสพติด ประเภทที่ 5 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 แต่หากนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ให้ยกเว้นจากการเป็นยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 รวมถึงสารสกัดกัญชาที่มีปริมาณสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (tetrahydrocannabinol, THC) ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก เฉพาะที่ได้รับอนุญาตให้สกัดจากพืชกัญชาหรือกัญชงที่ปลูกภายในประเทศ และสารสกัดจากเมล็ดของพืช

กัญชาหรือกัญชง ที่ได้จากการปลูกภายในประเทศ ตามประกาศในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 โดยรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข⁶ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการทดสอบคุณสมบัติการออกฤทธิ์ของสารสกัดกัญชาต่อเซลล์มะเร็งเฉพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ ในแบบจำลองเซลล์สองมิติที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยใช้สารสกัดจากกัญชาสายพันธุ์อิสระ 01 ซึ่งเป็นกัญชาสายพันธุ์ไทยสายพันธุ์แรกที่ผ่านเกณฑ์พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนของไทย โดยกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์⁷

วัสดุและวิธีการ

สายพันธุ์ของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญจากสารสกัดกัญชา

1. เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก สายพันธุ์ HT-29 (ATCC® HTB-38™)
2. เซลล์มะเร็งปอด สายพันธุ์ NCI-H2170 (ATCC® CRL-5928™)
3. เซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ HCC1937 (ATCC® CRL-2336™)
4. เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa (ATCC® CCL-2™)
5. เซลล์มะเร็งตับ สายพันธุ์ HepG2 (ATCC® HB-8065™)
6. เซลล์ปกติ สายพันธุ์ Vero (ATCC® CCL-81™)

การเตรียมสารละลายสารสกัดกัญชาเพื่อใช้ทดสอบ

สารสกัดกัญชาที่ใช้เป็นสารสกัดที่ได้จากการสกัดกัญชา สายพันธุ์อิสระ 01 ปลูกที่มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ และได้รับจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้ตัวอย่างสารสกัดแบบหยาบ (Crude Extracts) ละลายในตัวทำละลาย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) และเตรียมให้สารสกัดมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร Vortex สารละลายดังกล่าวให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนนำไปผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร สารละลายที่ผ่านการกรองจะถูกไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

การเพิ่มจำนวนเซลล์เพาะเลี้ยงเพื่อเตรียมทดสอบ

เซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ จะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ตามที่ระบุไว้ใน American Type Culture collection (ATCC) (รายละเอียดดังตารางที่ 1) เซลล์ถูกเลี้ยงในขวดเลี้ยงเซลล์ปราศจากเชื้อขนาด 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร (T25 cm²) บ่มในตู้บ่มเซลล์ที่มี 5% คาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก ๆ 3 วัน เมื่อเซลล์เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณจนเต็มพื้นที่จึงทำการแยกเซลล์โดยใช้สารละลาย ทำการ Passage โดยใช้สารละลาย 0.25% Trypsin-EDTA ในการย่อยเซลล์ออกจากพื้นผิวของขวดเลี้ยงเซลล์ปราศจากเชื้อ บั่นเซลล์เพื่อกำจัด 0.25% Trypsin-EDTA ออกจากเซลล์ หลังจากนั้นละลายตะกอนเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่จำเพาะต่อชนิดของเซลล์ไว้ในขวดเลี้ยงเซลล์ปราศจากเชื้อขนาด 75 ลูกบาศก์เซนติเมตร (T75 cm²) และบ่มในตู้บ่มเซลล์ที่มี 5% คาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเซลล์เจริญเติบโตจนถึง 80% ของพื้นที่ขวดเลี้ยงเซลล์ปราศจากเชื้อขนาด 75 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำการ Passage โดยใช้สารละลาย 0.25% Trypsin-EDTA ในการย่อยเซลล์ออกจากพื้นผิวของขวดเลี้ยงเซลล์ปราศจากเชื้อ บั่นเซลล์เพื่อกำจัด 0.25% Trypsin-EDTA ออกจากเซลล์ หลังจากนั้นละลายตะกอนเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่จำเพาะต่อชนิดของเซลล์ และนำสารละลายเซลล์ดังกล่าวมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ในอัตราส่วน 1:10 สำหรับการ Passage

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงและอาหารเลี้ยงเซลล์ที่จำเพาะสำหรับการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกัญชา

ชนิดเซลล์มะเร็ง	สายพันธุ์	อาหารเลี้ยงเซลล์
มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก	HT-29	McCoy's 5a Medium Modified (Catalog No. 30-2007) +10% FBS
มะเร็งปอด	NCI-H2170	RPMI-1640 Medium (Catalog No. 30-2001) +10% FBS
มะเร็งเต้านม	HCC 1937	RPMI-1640 Medium, ATCC 30-2001 +10% FBS
มะเร็งปากมดลูก	HeLa	Eagle's Minimum Essential Medium (Catalog No. 30-2003) +10% FBS
มะเร็งตับ	HepG2	Eagle's Minimum Essential Medium, Catalog No. 30-2003 30-2001 +10% FBS
เซลล์ปกติ	Vero	Eagle's Minimum Essential Medium (Catalog No. 30-2003) +10% FBS

การทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาส่วนดอกที่เป็นพิษและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ด้วยเทคนิค MTT Assay

การทดสอบความเป็นพิษจะใช้วิธี MTT assay ซึ่งเป็นการวัดการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ทดสอบได้จะแปรผันตรงกับจำนวนเซลล์ ก่อนเริ่มการทดลองทำการย้ายเซลล์จากขวดเลี้ยงเซลล์ T75 ไปยัง 96-well plate โดยในแต่ละหลุมจะใส่เซลล์จำนวน 1,000-6,000 เซลล์ ขึ้นอยู่กับชนิดเซลล์ (ตารางที่ 2) เซลล์ที่ใช้ในการทำการทดลองควรมีอัตราการรอดชีวิตมาก 85% โดยพิจารณาจากการย้อม Trypan Blue exclusion assay หลังจากบ่มเซลล์นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์ยึดเกาะกับ plate ให้ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลุมออกให้มากที่สุด พร้อมทั้งเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ที่มีสารสกัดกัญชาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันปริมาณ 200 ไมโครลิตร เพื่อทดสอบค่าความเป็นพิษ ทำการบ่มสารสกัดดังกล่าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดกัญชา โดยทำการเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ หลังจากนั้นเติมลงในหลุมที่มีสารสกัดกัญชา และหลุมที่เป็นชุดควบคุม (ที่ไม่ได้บ่มกับสารสกัด) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 5% คาร์บอนไดออกไซด์ นาน 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูดสารละลายในหลุมออก และเติม dimethylsulfoxide (DMSO) 50 ไมโครลิตร เขย่าให้ผลึก formazan ละลาย และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (Tecan, Switzerland) ร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ (% Viability) คำนวณจาก ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่บ่มกับสารสกัด/ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่ไม่ได้บ่มกับสารสกัด

ตารางที่ 2 ตารางแสดงจำนวนเซลล์ของเซลล์แต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลองสำหรับการทดสอบหาความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาส่วนดอกที่เป็นพิษและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (IC₅₀)

ชนิดเซลล์มะเร็ง	สายพันธุ์	จำนวนเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง (เซลล์ ต่อ หลุม)
มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก	HT-29	5,000
มะเร็งปอด	NCI-H2170	7,000
เซลล์มะเร็งเต้านม	HCC 1937	7,000
เซลล์มะเร็งปากมดลูก	HeLa	1,000
เซลล์มะเร็งตับ	HepG2	6,000
เซลล์ปกติ	Vero	2,000

ผลการทดลอง

สารประกอบในสารสกัดจากช่อดอกกัญชาสายพันธุ์อิสระ01

สารสกัดกัญชาที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นสารสกัดที่ได้จากการสกัดช่อดอกของกัญชาสายพันธุ์อิสระ01 ที่ปลูกที่มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ และได้รับจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดกัญชาที่ได้จากการสกัดช่อดอกของกัญชาสายพันธุ์อิสระ01 ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC), Tetrahydrocannabinolic acid (THCA), Cannabigerol (CBG) และ Cannabidiol (CBD) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ตารางที่ 3) โดยอัตราส่วนของสาร THC:CBD อยู่ที่ 155:1

ตารางที่ 3 แสดงสัดส่วนของสารประกอบในสารสกัดจากช่อดอกกัญชา

Cannabinoid content	$\mu\text{g}/\text{mg}$
Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC)	77.57 ± 1.80
Tetrahydrocannabinolic acid (THCA)	35.84 ± 0.71
Cannabigerol (CBG)	0.75 ± 0.05
Cannabidiol (CBD)	0.05
Cannabinol (CBN)	ND

*ND = not detect

สารสกัดกัญชาต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง

ฤทธิ์ของสารสกัดกัญชาในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในเซลล์เพาะเลี้ยงประเมินจากการทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธี MTT assay ซึ่งเป็นการวัดการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตริ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ทดสอบได้จะแปรผันตรงกับจำนวนเซลล์ ทำการสร้างกราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ของอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ (% survival rate) เทียบกับความเข้มข้นของสารทดสอบหน่วยเป็น $\mu\text{g}/\text{mL}$ และแสดงผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงได้ร้อยละ 50 หรือค่า IC₅₀

(50% Inhibition concentration) US National Cancer Institute ได้กำหนดเกณฑ์ระดับการออกฤทธิ์ของสารในการยับยั้งการเจริญของเซลล์ คือ ต้องมีความเข้มข้นของสารสกัดไม่เกิน 20 $\mu\text{g/mL}$ ⁸

จากผลการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกัญชาสายพันธุ์อิสระ 01 กับการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง 5 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก สายพันธุ์ HT-29 เซลล์มะเร็งปอด สายพันธุ์ NCI-H2170 เซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ HCC1937 เซลล์มะเร็งปากมดลูก สายพันธุ์ HeLa และเซลล์มะเร็งตับ สายพันธุ์ HepG2 พบว่า สารสกัดกัญชาสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงได้ดีใน เซลล์มะเร็งปอด สายพันธุ์ NCI-H2170 และเซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ HCC1937 โดยมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงได้ร้อยละ 50 หรือ IC_{50} อยู่ที่ $16.45 \pm 3.39 \mu\text{g/mL}$ และ $11.0 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดลองการความทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกัญชาต่อเซลล์มะเร็ง

ชนิดเซลล์มะเร็งและสายพันธุ์		ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)
มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก	HT-29	403.67 ± 84.85
มะเร็งปอด	NCI-H2170	16.45 ± 3.39
มะเร็งเต้านม	HCC1937	11.0 ± 1.0
มะเร็งปากมดลูก	Hela	165.77 ± 33.85
มะเร็งตับ	HepG2	71.49 ± 37.33
เซลล์ปกติ	Vero	52.6 ± 14.06

สรุปและวิจารณ์

กัญชามีการใช้กันอย่างแพร่หลายในหลายภูมิภาคทั่วโลก มีส่วนประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพกว่า 400 ชนิด ซึ่งรวมถึงไฟโตแคนนาบินอยด์มากกว่า 100 ชนิด สารประกอบที่มีอยู่ใน *Cannabis sativa* L. เช่น Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) และ cannabidiol (CBD)⁹⁻¹⁰ มีผลต่อการอักเสบและลดความเจ็บปวดที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็งได้ การใช้ *C. sativa* ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพในการบรรเทาอาการต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็ง รวมถึงอาการปวด เบื่ออาหาร คลื่นไส้และอาเจียน และวิตกกังวล⁹ งานวิจัยหลายชิ้นได้อธิบายว่า CBD เป็นโมเลกุลที่มีหลายเป้าหมาย ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวดัดแปลงในรูปแบบต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับชนิดและตำแหน่งทั้งในสมองและในร่างกาย โดยส่วนใหญ่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนตัวรับเฉพาะ CB1 และ CB2 ซึ่ง CBD ที่มีอยู่ทั้งในพืชสมุนไพรและพืช *C. sativa* แตกต่างจาก Δ^9 -THC ตรงที่ไม่ออกฤทธิ์ทางจิต *C. sativa* (กัญชา) แตกต่างจาก *C. sativa* ตรงที่มีระดับ Δ^9 -THC เพียงเล็กน้อยและมี CBD ในระดับสูงและมีสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ดังนั้นจึงมีงานวิจัยพรีคลินิกจำนวนหนึ่งที่มุ่งเน้นไปที่บทบาทของ CBD ในการต้านมะเร็ง โดยพบว่า CBD มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีความเป็นไปได้ในการป้องกันทั้งโรคทางระบบประสาทและโรคหัวใจและหลอดเลือด อีกทั้งในแบบจำลองสัตว์ทดลองพบว่า CBD สามารถยับยั้งการลุกลามของเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งไกลโอบลาสโตมา และมะเร็งเต้านม ลำไส้ใหญ่และทวารหนัก ตับอ่อน ปากมดลูก และต่อมลูกหมาก⁹⁻¹⁰ กัญชาและองค์ประกอบของกัญชาสามารถปรับขบวนการที่

เกี่ยวข้องกับมะเร็งได้หลายทาง เช่น PKB, AMPK, CAMKK- β , mTOR, PDHK, HIF-1 α และ PPAR- γ สารแคนนาบินอยด์สามารถขัดขวางการเจริญเติบโตของเซลล์ การลุกลามของวัฏจักรเซลล์ และชักนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง และยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษามะเร็งได้อีกด้วย⁹⁻¹⁰

การพัฒนาชนิดใหม่เพื่อต้านเนื้องอกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่เซลล์ขนาดเล็ก (NSCLC) ที่มีกลไกเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของเยื่อผิว epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) เช่น ตัวรับแคนนาบินอยด์ (CB1 และ CB2) ซึ่งรวมถึง tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) นั้น พบว่าการใช้ THC และ CBD ร่วมกันทำให้เกิดประโยชน์มากขึ้น เนื่องจาก CBD ช่วยเพิ่มผลของ THC และลดภาวะทางจิต การศึกษาการออกฤทธิ์ทั้งแบบเดี่ยวและร่วมกัน (อัตราส่วน 1:1) ของสาร THC และ CBD (ที่ความเข้มข้น 10-100 μ m) ต่อระดับการแสดงออกของยีน cannabinoid receptors CB1 และ CB2 ถูกประเมินโดยวิธี RT PCR เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของ CB1 และ CB2 กับลักษณะทางคลินิกของกลุ่มผู้ป่วย NSCLC และการเพิ่มจำนวน EMT และการเคลื่อนที่ในหลอดทดลองของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง A549, H460 และ H1792 พบว่า ระดับการแสดงออกของ CB1 และ CB2 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.035$ และ 0.025 ตามลำดับ) จึงสามารถสรุปได้ว่า cannabinoid receptors มีศักยภาพใช้เป็นตัวตรวจจับของการรอดชีวิตในผู้ป่วย NSCLC ได้ และสาร THC และ CBD ยังสามารถยับยั้งการแพร่กระจายและการแสดงออกของ EGFR ในเซลล์มะเร็งปอดที่ทำการศึกษาอีกด้วย¹¹

ในมะเร็งเต้านม Cannabinoids จาก Cannabis sativa ช่วยบรรเทาอาการคลื่นไส้ อาการเบื่ออาหาร และอาการปวดตามเส้นประสาท ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งแบบประคับประคอง และยังสามารถลดการลุกลามของเนื้องอกได้อีกด้วย จากแบบการทดลองในสัตว์ทดลองมะเร็งเต้านม สาร Cannabinoids ออกฤทธิ์โดยส่งสัญญาณผ่านตัวรับ Cannabinoids ส่งผลไปยังขบวนการต่าง ๆ ทำให้ลดการสร้างเส้นเลือดใหม่และการแพร่กระจายของเนื้องอก¹²

จากข้อมูลทั้งหมดพบว่าสารสกัดกัญชาที่มีประโยชน์ทางด้านการแพทย์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งชนิดต่าง ๆ ได้ทั้งในระดับหลอดทดลอง และสัตว์ทดลอง อย่างไรก็ตามปัจจุบันได้มีการพัฒนากัญชาสายพันธุ์อิสระ01 ซึ่งเป็นกัญชาสายพันธุ์ไทยสายพันธุ์แรกที่ผ่านมาเกณฑ์พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนของไทย และมีการนำช่อดอกมาสกัดเป็นสารสกัดกัญชา แต่ยังไม่มีความรู้ข้อมูลการศึกษาคุณสมบัติการออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ ดังนั้นการศึกษานี้จึงทำการทดสอบความเป็นพิษหรือฤทธิ์ของสารสกัดกัญชาต่อเซลล์มะเร็งด้วยเทคนิคการทดสอบการออกฤทธิ์ของสารสกัดกัญชาในการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบจำลองเซลล์สองมิติ โดยทำการทดสอบในเซลล์มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ และมะเร็งปากมดลูก ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และพบว่า สารสกัดส่วนดอกของกัญชาสายพันธุ์อิสระ01 มีอัตราส่วนของสาร THC:CBD อยู่ที่ 155:1 สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงได้ดีใน เซลล์มะเร็งปอด สายพันธุ์ NCI-H2170 และเซลล์มะเร็งเต้านม สายพันธุ์ HCC1937 โดยมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงได้ร้อยละ 50 หรือ IC50 อยู่ที่ $16.45 \pm 3.39 \mu\text{g/mL}$ และ $11.0 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งผลจากการศึกษานี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นสำหรับใช้เป็นแนวทางเพื่อคัดเลือกคุณสมบัติของสารสกัดกัญชา อาจจะต้องทำการตรวจสอบคุณสมบัติเพิ่มเติมทางปรีคลินิกหรือในสัตว์ทดลอง และทางด้านศักยภาพในการออกฤทธิ์ด้านเภสัชวิทยาอื่น ๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำไปพัฒนาใช้เป็นยา อาหารเสริม หรือแนวทางด้านคลินิกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Imsamran W., Pattatang A., Supaattagorn P., Chiawiriyabunya I., Namthaisong K., Wongsena M., et al. 2018. Cancer in Thailand Vol.IX, 2013-2015. Cancer Registry Unit, National Cancer Institute Thailand.
2. ผกาทิพย์ รื่นระเรงศักดิ์. บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน กัญชากับการรักษาโรค. เข้าถึงเมื่อ 3 กุมภาพันธ์ 2565. เข้าถึงได้จาก: <https://www.pharmacy.mahidol.ac.th>.
3. Mechoulam, R., Hanuš L.O., Pertwee R., Howlett A.C. 2014. Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. Nat. Rev. Neurol. 15: 757-64.
4. Velasco G., Sánchez C., Guzmán M. 2012. Towards the use of cannabinoids as antitumour agents. Nat. Rev. Cancer 12: 436-44.
5. Chalos F., Rocha M., Guilherme J., Stefano S., Silveira D. 2014. Systematic review of literature on clinical and experimental trials on the antitumor effect of cannabinoids in gliomas. J Neurooncol. 116: 11-24.
6. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ พ.ศ. ๒๕๖๕. เข้าถึงเมื่อ 3 กุมภาพันธ์ 2565. เข้าถึงได้จาก: http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2565/E/035/T_0008.PDF.
7. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เข้าถึงเมื่อ 3 กุมภาพันธ์ 2565. เข้าถึงได้จาก: <https://www.doa.go.th/th/?p=26673>
8. Mahavorasirikul W., Viyanant V., Chaijaroenkul W., Itharat A., NaBangchang K. Cytotoxic activity of Thai medicinal plants against human cholangiocarcinoma, laryngeal and hepatocarcinoma cells in vitro. BMC Complement Altern Med 2010; 10:55. doi: 10.1186/1472-6882-10-55.
9. Pellati F., Borgonetti V., Brighenti V., Biagi M., Benvenuti S., Corsi L. *Cannabis sativa* L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. Biomed Res Int. 2018;1691428. doi: 10.1155/2018/1691428. PMID: 30627539; PMCID: PMC6304621.
10. Lal S., Shekher A., Puneet , Narula AS., Abrahamse H., Gupta SC. Cannabis and its constituents for cancer: History, biogenesis, chemistry and pharmacological activities. Pharmacol Res. 2021;163:105302. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105302. Epub 2020 Nov 24. PMID: 33246167.
11. Milian L., Mata M., Alcacer J., Oliver M., Sancho-Tello M., Martín de Llano JJ., et al. Cannabinoid receptor expression in non-small cell lung cancer. Effectiveness of tetrahydrocannabinol and cannabidiol inhibiting cell proliferation and epithelial-

- mesenchymal transition in vitro. PLoS One. 2020 Feb 12;15(2):e0228909. doi: 10.1371/journal.pone.0228909. PMID: 32049991; PMCID: PMC7015420.
12. Kisková T., Mungenast F., Suváková M., Jäger W., Thalhammer T. Future Aspects for Cannabinoids in Breast Cancer Therapy. Int J Mol Sci. 2019 Apr 3;20(7):1673. doi: 10.3390/ijms20071673. PMID: 30987191; PMCID: PMC6479799.