วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

นิพนธ์ต้นฉบับ
ORIGINAL ARTICLE

# การตรวจคัดกรองฤทธิ์ต้านมะเร็งของแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีส

วิภาดา เงินถาวร[1], สุรพงษ์ คล้ายบุตร[1], สุไลมาน อาแว[1], ภูวดล บางรักษ์ [2,3],
วรางคณา จุ้งลก[1, 3] * มณฑล เลิศคณาวนิชกุล[1,3] *

## บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปาก (CLS-354 cell) ของชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อและจากตัวเชื้อของแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสโดยเปรียบเทียบกับยาต้านมะเร็ง 5-fluorouracil (5-FU) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้ง พบว่าไอโซเลท CO4 มีฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าไอโซเลท WU6 และ ไอโซเลท WU10 โดยไอโซเลท CO4 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 5 μg protein/ml หรือเท่ากับความเข้มข้น 5.88 mg/ml ส่วนไอโซเลท WU6 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 32 μg protein/ml หรือเท่ากับความเข้มข้น 34.83 mg/ml และไอโซเลท WU10 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 23 μg protein/ml หรือเท่ากับความเข้มข้น 25.62 mg/ml เมื่อนำชีวสารจากตัวเชื้อไปทดสอบกับเซลล์มะเร็งช่องปากพบว่าไอโซเลท CO4 มีฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าไอโซเลท WU6 และไอโซเลท WU10 เช่นเดียวกับฤทธิ์ของชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้ง โดยพบว่าไอโซเลท CO4 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 78 μg protein/ml ส่วนไอโซเลท WU6 และไอโซเลท WU10 ให้ค่า $IC_{50}$ มากกว่า 625 μg protein/ml ซึ่งชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปากได้ดีกว่าชีวสารที่อยู่ภายในตัวเชื้อ ส่วนยา 5-FU มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้ง โดยให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.75 mg/ml ทั้งนี้เนื่องจากชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งไม่ได้อยู่ในรูปที่มีความบริสุทธิ์เพียงพอซึ่งต่างจาก 5-FU ที่อยู่ในรูปบริสุทธิ์ ดังนั้นการค้นหาและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารรวมถึงการทำบริสุทธิ์สารจากเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิดนี้ จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาสารดังกล่าวเพื่อใช้เป็นสารต้นแบบสำหรับยารักษามะเร็งชนิดนี้ต่อไปในอนาคต

**คำสำคัญ:** แบคทีเรียสกุลสเตรปโตมัยซีส, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง

[1] สาขาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์
[2] สาขาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์
[3] หน่วยวิจัยการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161
* ผู้รับผิดชอบบทความ

วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

นิพนธ์ต้นฉบับ
ORIGINAL ARTICLE

# Screening of anticancer activity from *Streptomyces* spp.

Wipada Ngearnthaworn[1], Surapong Klybud[1], Sulaiman Awae[1], Phuwadol Bangrak[2,3], Warangkana Chunglok[3,4]*, Monthon Lertcanawanichakul[3,4]*

## Abstract

The study was aimed to evaluate anticancer activity from *Streptomyces* spp. Human mouth carcinoma cell line (CLS-354 cell) was used as a cell model for cytotoxicity testing. Culture broth and whole cell lysates obtained from three isolates of *Streptomyces* spp. (CO4, WU6 and WU10) were evaluated for anticancer activity in comparison with 5-fluorouracil (5-FU), known as anticancer drug. Anticancer activity was markedly observed from lyophilized culture broth obtained from CO4 > WU6 > WU10. The half maximal inhibitory concentration ($IC_{50}$) obtained from CO4, WU6, and WU10 was 5 μg protein/ml (5.88 mg/ml), 31 μg protein/ml (34.83 mg/ml), and 23 μg protein/ml (25.62 mg/ml), respectively. Whole cell lysates obtained from CO4 revealed $IC_{50}$ of 78 μg protein/ml. The lysates from WU6 or WU10 revealed $IC_{50}$ of more than 625 μg protein/ml. This was suggested that lyophilized culture broth obtained from *Streptomyces* spp. was more potent anticancer activity than did whole cell lysates. Anticancer drug, 5-FU was more efficient than lyophilized culture broth obtained from *Streptomyces* spp with $IC_{50}$ of 0.75 mg/ml. This may depend on the purity of bioactive compounds produced from Streptomyces spp. Thus, *Streptomyces* spp. may provide promising sources of anticancer bioactive agents which need to be further evaluated.

**Keywords:** *Streptomyces* spp., Bioactive agent, Anticancer activity

[1] Division of Medical Technology, School of Allied Health Sciences and Public Health,
[2] Division of Biology, School of Science,
[3] Utilization of Natural Product Unit, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80161
* Corresponding authors (e-mail: cwarang@wu.ac.th, lmonthon@wu.ac.th)

## บทนำ

โรคมะเร็งเกิดจากความผิดปกติของยีน ซึ่งยีนผิดปกติเหล่านั้นเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์และการมีชีวิตของเซลล์ทำให้เซลล์แบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างไม่หยุดยั้ง เซลล์มะเร็งยังไปเบียดบังการทำงานของเนื้อเยื่อข้างเคียงและแพร่กระจายไปทั่วร่างกายจนเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในที่สุด ปัจจุบันพบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับหนึ่งของคนไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งช่องปากซึ่งเป็นมะเร็งที่พบสูงในภาคใต้เมื่อเปรียบเทียบกับภาคอื่นๆ [1] และมีอัตราการแพร่กระจายไปยังอวัยวะที่สำคัญอื่นๆ ได้สูง เนื่องจากก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กและกว่าจะตรวจพบว่าเป็นมะเร็งก็เป็นระยะที่มีการแพร่กระจายไปแล้ว

แบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสมีลักษณะเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายสายราสามารถพบได้ทั่วไป เช่น ในดิน น้ำ อากาศ วัตถุเน่าเปื่อย ป่าชายเลนและใต้ทะเลเป็นต้น[2] จากการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสเป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส และพรีออน [3,4] รวมทั้งเชื้อปรสิต *Plasmodium falciparum* ที่เป็นสาเหตุของโรคมาลาเรีย[5] อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งนั้นพบว่ายังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก ตัวอย่างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งจากเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสได้แก่ สาร undecylprodigiosin (UP) ซึ่งเป็นสาร เมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์เลือกทำลายเฉพาะเซลล์มะเร็งเต้านมแต่ไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ[6] สาร angucycline landomycin E (LE) ซึ่งผลิตโดยเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีส พบว่ามีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งช่องปากที่ดื้อต่อยาเคมีบำบัด โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งแบบอะพอพโทซิส[7] อีกรายงานหนึ่ง พบว่าอนุพันธ์ของสาร geldanamycin จากแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่มีฤทธิ์ต้านทั้งเชื้อราและเซลล์มะเร็ง สามารถป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากการถูกเหนี่ยวนำด้วยยาต้านมะเร็งได้[8] การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปาก โดยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะเป็นเป็นอีกหนทางหนึ่งที่จะเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้เป็นสารต้นแบบสำหรับการรักษาโรคมะเร็งได้ในอนาคต

## วัสดุและวิธีการศึกษา

### 1. เชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีส

เชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งมีทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CO4, WU6 และ WU10ซึ่งทั้งหมดมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสแตปฟัยโลคอคคัสดื้อยาเมธิซิลลิน (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)[9] และก่อนที่จะนำมาใช้ในการเตรียมชีวสารได้ทำการทดสอบยืนยันกลุ่มเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทพร้อมทั้งสังเกตลักษณะโคโลนีและรูปร่างของกลุ่มจุลินทรีย์ทั้งหมดภายใต้กล้องจุลทรรศน์

### 2. การเตรียมชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่ผ่านการระเหิดแห้ง

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว yeast extract-malt extract (Y-M) (Pronadisa, Spain) ในปริมาตร 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้เลี้ยงเชื้อแบบเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4-7 วัน แล้วปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ออกจากน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิได้ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำน้ำเลี้ยงเชื้อไปทำให้เข้มข้นในรูปผงโดยใช้วิธีระเหิดแห้งและนำผงที่ได้ไปละลายด้วย PBS เพื่อเตรียมเป็นสารละลายเผื่อใช้ (stock solution) แล้วนำไปวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้ Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, USA) เพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก

### 3. การเตรียมชีวสารจากตัวเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีส

นำตะกอนเชื้อซึ่งมีเซลล์แบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสไปทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียง (sonication) ด้วยความถี่ 40 Hz เป็นเวลา 40 นาที โดยหล่อไว้บนน้ำแข็ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้ Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, USA) แล้วนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก

**4. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งช่องปาก**

เลี้ยงเซลล์มะเร็งช่องปาก human mouth carcinoma cell line (CLS-354 cells) (Cell Line Service, Germany) ที่ความหนาแน่นของเซลล์ 3 x$10^4$ เซลล์ ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 หลุม (Nunc, Denmark) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 (PAA, Austria) ซึ่งมีองค์ประกอบของ 10 % fetal bovine serum (Biochrome AG, Germany), 100 units/ml penicillin/ 100 μg/ml streptomycin (PAA, Austria) และ 2 mM glutamine (PAA, Austria) ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ $CO_2$ 5% และความชื้น 95 % เลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 48-72 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำมาทำการทดสอบความเป็นพิษของชีวสารทั้งที่เตรียมได้จากจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งและจากตัวเชื้อต่อเซลล์มะเร็ง

**5. การทดสอบคุณสมบัติของชีวสารในการต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก**

นำชีวสารที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่ผ่านการระเหิดแห้งและจากตัวเชื้อมาเจือจางแบบสองเท่า (two fold serial dilution) แล้วนำแต่ละความเข้มข้นมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งช่องปาก โดยเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุมคือเซลล์ที่เติมเพียงอาหารเลี้ยงเชื้อ Y-M ที่ผ่านการระเหิดแห้ง สำหรับยาต้านมะเร็ง 5-fluorouracil (5-FU) (Sigma-aldrich, Germany) เตรียมเป็นความเข้มข้นในช่วง 0.25-1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วนำมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งช่องปาก โดยเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุมคือเซลล์ที่เติม dimethyl sulfoxide (DMSO) หลังจากนั้นนำเซลล์ทดสอบทั้งหมดไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ $CO_2$ 5 % และ ความชื้น 95 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำอาหารเลี้ยงเซลล์ออกเพื่อนำมาศึกษาการมีชีวิตรอดของเซลล์โดยวิธี MTT assay ด้วยการเติมสารละลาย 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Sigma-aldrich, Germany) ที่ได้เตรียมเป็นความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในปริมาตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีองค์ประกอบต่างๆ ครบ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม แล้วนำไป บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ $CO_2$ 5% และความชื้น 95 % เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อที่จะให้ MTT ถูกแมทาบอไลซ์ เมื่อครบเวลาแล้วดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกไปจนหมด จากนั้นจึงเติม DMSO ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไปในแต่ละหลุมเพื่อไปละลาย formazan (MTT metabolic product) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรโดยทำการหักลบค่าที่ได้ออกจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 670 นาโนเมตร ซึ่งข้อมูลที่ได้มาจากการทดสอบ 3 ครั้งในแต่ละครั้งทำซ้ำ 2 การทดสอบ เพื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตรอด ดังนี้

$$\text{ร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตรอด} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้} \times 100}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ vehicle control}}$$

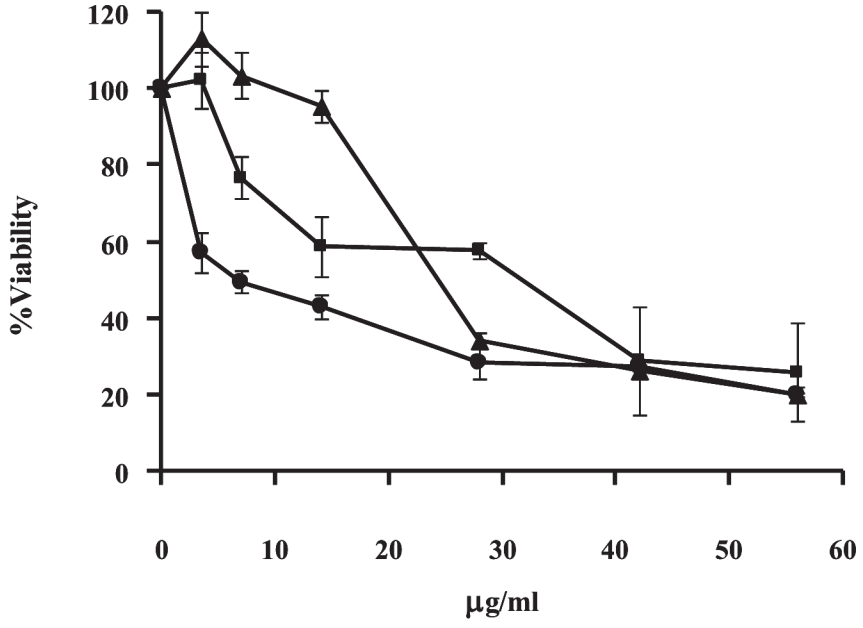
**6. การวิเคราะห์ข้อมูล**

หาค่าเฉลี่ยของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งโดยรายงานผลเป็นค่า mean ± SD และ หาค่าความเข้มข้นของชีวสารหรือยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ร้อยละ 50 ($IC_{50}$)

## ผลการศึกษา

แบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่คัดแยกได้จำนวน 3 ไอโซเลท คือ CO4, WU6 และ WU10 เมื่อเจริญบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Y-M ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จะให้โคโลนีลักษณะกลมขนาด 1.5-3 มิลลิเมตร

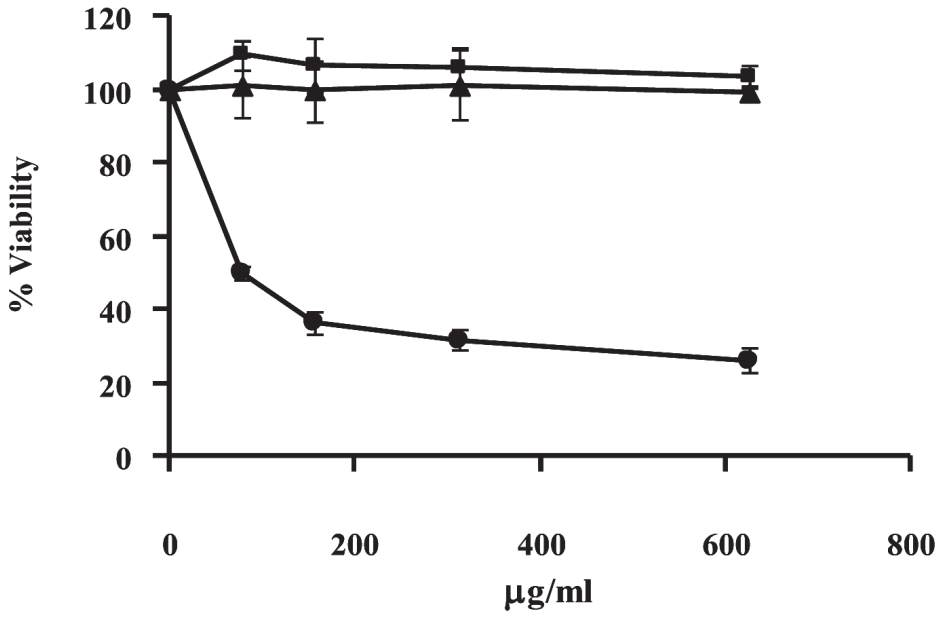
ฝังวุ้น ผิวหน้าเหี่ยว และสร้างสปอร์ เมื่อนำมาย้อมสีแกรมแล้วศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าติดสีแกรมบวกแตกกิ่งก้านคล้ายสายรา เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากพบว่าชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่ผ่านการระเหิดแห้งจากไอโซเลท CO4 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 5 μg protein/ml หรือเท่ากับ 5.88 mg/ml น้ำเลี้ยงเชื้อจากไอโซเลท WU6 ที่ผ่านการระเหิดแห้งให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 31 μg protein/ml หรือเท่ากับ 34.83 mg/ml ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อจากไอโซเลท WU10 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 23 μg protein/mL หรือเท่ากับ 25.62 mg/ml **(รูปที่ 1)** อาหารเลี้ยงเชื้อ Y-M เพียงอย่างเดียวที่ผ่านการระเหิดแห้งในช่วงความเข้มข้นเดียวกับที่ทดสอบด้วยชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งพบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากเพียงเล็กน้อย




**รูปที่ 1** ร้อยละของการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งช่องปากเมื่อทดสอบด้วยชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งจากไอโซเลท CO4 (●) ไอโซเลท WU6 (■) และไอโซเลท WU10 (▲)

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของชีวสารที่ผ่านการระเหิดแห้งจากแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ร้อยละ 50 ($IC_{50}$) กับยา 5-FU พบว่ายา 5-FU มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปากดีที่สุดโดยให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.75 mg/ml ส่วนชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร(w/v) จากไอโซเลท CO4 ไอโซเลท WU6 และไอโซเลท WU10 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 5.88 mg/ml, 34.83 mg/ml และ 25.62 mg/ml ตามลำดับ

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปากของชีวสารจากตัวเชื้อแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีส ไอโซเลท CO4 ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 78 μg protein/ml และสำหรับแบคทีเรียไอโซเลท WU6 และไอโซเลท WU10 ให้ค่า $IC_{50}$ มากกว่า 625 μg protein/ml **(รูปที่ 2)** ส่วน PBS ที่ใช้เป็นตัวทำละลายชีวสารจากตัวเชื้อพบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก




**รูปที่ 2** ร้อยละของการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งช่องปากเมื่อทดสอบด้วยชีวสารจากตัวเชื้อจากไอโซเลท CO4 (●) ไอโซเลท WU6 (■) และไอโซเลท WU10 (▲)

## วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

แบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสำคัญและหลายหลาย[3-5] สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถต้านมะเร็งจากแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวก็เป็นหนึ่งในเป้าหมายของการศึกษาค้นคว้าเพื่อให้ได้สารสำคัญที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคมะเร็งต่อไปในอนาคต งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาถึงความสำคัญของแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปาก โดยแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสที่ได้นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งในเบื้องต้นพบว่ามี 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CO4 ไอโซเลท WU10 และไอโซเลท WU6 และเมื่อจำแนกสายพันธุ์พบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces antibioticus* strain 1022-257, *Streptomyces flaveolus* strain NRRLB-13334 และ *Streptomyces* sp. b26 ตามลำดับ[9] ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากของชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งจากไอโซเลท CO4 พบว่าสามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าไอโซเลท WU10 และ WU6 ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ต้านมะเร็งของชีวสารจากตัวเชื้อของไอโซเลท CO4 ก็พบว่าสามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าไอโซเลท WU6 และ ไอโซเลท WU10 เช่นกัน จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าชีวสารจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการระเหิดแห้งให้ฤทธิ์ต้านมะเร็งดีกว่าชีวสารจากตัวเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทที่นำมาทดสอบ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแบคทีเรียแกรมบวกจะปลดปล่อยสารออกมานอกเซลล์ [10] ดังนั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่อาจถูกปลดปล่อยออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงให้ฤทธิ์ในการต้านมะเร็งดีกว่าภายในตัวเซลล์ ดังเช่นรายงานที่พบสาร mithramycin (MM) ที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ในอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. AA030098 [11]

งานวิจัยครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ที่พบว่าแบคทีเรียสกุลสเตร็ปโตมัยซีสสามารถผลิตชีวสารที่สามารถต้านเซลล์มะเร็งได้ ดังเช่นที่มีรายงานพบว่าเชื้อ *Streptomyces antibioticus* สามารถผลิตสาร pentostatin ซึ่งเป็น purine nucleoside analog ที่ได้จากกระบวนการหมักมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว แต่ในขณะนั้นยังไม่เคยมีการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิดอื่น[12] อีกรายงานหนึ่งพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถผลิตสาร oviedomycin ซึ่งเป็นสารประเภท anguclyclinone polyketide ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม เซลล์มะเร็งปอด และเซลล์มะเร็งลำไส้ได้[13] ส่วนเชื้อ *Streptomyces flaveolus*

พบว่ายังไม่เคยมีรายงานฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของเชื้อดังกล่าว อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อ *Streptomyces flaveolus* strain Tü 1240 สามารถสังเคราะห์สาร T=irandamycin A ที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลชีพต่างๆ[14] นอกจากนั้นมีการค้นพบสาร angucycline landomycin E (LE) และสาร guanine-7-oxide จากเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปากและเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว[7, 15] ได้ โดยที่กลไกการตายของเซลล์มะเร็งเกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส[7, 16] อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าฤทธิ์ต้านมะเร็งของชีวสารจากแบคทีเรียดังกล่าวยังต่ำกว่ายาต้านมะเร็ง 5-FU ทั้งนี้เนื่องมาจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยังไม่อยู่ในรูปที่บริสุทธิ์ ยา 5-FU ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งช่องปาก [17] และเป็นยาที่ถูกนำมาใช้ในการทดสอบกับเซลล์มะเร็งช่องปากเพาะเลี้ยง และในสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งช่องปาก [18]ดังนั้นการค้นหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง รวมทั้งการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร การทดสอบความเป็นพิษกับเซลล์ปกติและการศึกษากลไกการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสาร ทั้งหมดนี้เป็นสิ่งที่ต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อที่จะได้นำสารนั้นมาใช้พัฒนาเป็นสารต้นแบบในการยับยั้งเซลล์มะเร็งต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ (WU-51109) และทุนพัฒนานักวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (RSA5080008) ขอขอบคุณสำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และวัสดุอุปกรณ์บางอย่างในการทำงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

1. Thongsuksai P, Sriplung H, Phungrassami T, Prechavittayakul P. Cancer incidence in Songkhla, southern Thailand, 1990-1994. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1997; 28: 1-10.
2. ชนิกานต์ คุ้มนก, รจนา ทองโพธิ์เลน. การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีทที่สร้างสารปฏิชีวนะ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม. กรุงเทพมหานคร 2543.
3. Boruwa J, Kalita B, Barua NC, Borah JC, Mazumder S, Thakur D, et al. Synthesis, absolute stereochemistry and molecular design of the new antifungal and antibacterial antibiotic produced by *Streptomyces* sp. 201. Bioorg Med Chem Lett 2004; 14: 3571-4.
4. Caffrey P, Aparicio JF, Malpartida F, Zotchev SB. Biosynthetic engineering of polyene macrolides towards generation of improved antifungal and antiparasitic agents. Curr Top Med Chem 2008; 8: 639-53.
5. Castillo U, Harper JK, Strobel GA, Sears J, Alesi K, Ford E, et al. Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* spp. NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*. FEMS Microbiol Lett 2003; 224: 183-90.
6. Ho TF, Ma CJ, Lu CH, Tsai YT, Wei YH, Chang JS, et al. Undecylprodigiosin selectively induces apoptosis in human breast carcinoma cells independent of p53. Toxicol Appl Pharmacol 2007; 225: 318-28.
7. Korynevska A, Heffeter P, Matselyukh B, Elbling L, Micksche M, Stoika R, et al. Mechanisms underlying the anticancer activities of the angucycline landomycin E. Biochem Pharmacol 2007; 74: 1713-26.
8. Tadtong S, Meksuriyen D, Tanasupawat S, Isobe M, Suwanborirux K. Geldanamycin derivatives and neuroprotective effect on cultured P19-derived neurons. Bioorg Med Chem Lett 2007; 17: 2939-43.

9. สุเมธ เนาว์รุ่งโรจน์, มณฑล เลิศคณาวนิชกุล, วรางคณา จุ้งลก, ภูวดล บางรักษ์. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม Actinomycetes จากตัวอย่างดินที่ผลิตชีวสารต้านการเจริญของแบคทีเรีย methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์. การประชุมวิชาการ การนำเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 2 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร 23-24 เมษายน 2552: 3-10.
10. Lewis DL, Hodson RE, Freeman LF. Effect of microbial community interactions on transformation rate of xenobiotic chemical. Appl Environ Microbiol 1984; 43: 561-5.
11. Lee EM, Park HR, Hwang JH, Park DJ, Chang KS, Kim CJ. Mithramycin inhibits etoposide resistance in glucose-deprived HT-29 human colon carcinoma cells. J Microbiol Biotechnol 2007; 17: 1856-61.
12. Spiers AS. Deoxycoformycin (pentostatin): clinical pharmacology, role in the chemotherapy of cancer, and use in other diseases. Haematologia (Budap) 1996; 27: 55-84.
13. Lombó F, Abdelfattah MS, Braña AF, Salas JA, Rohr J, Méndez C. Elucidation of oxygenation steps during biosynthesis and generation of derivatives with increased antitumor activity. Chembiochem 2009; 10: 296-303.
14. Hagenmaier H, Jaschke KH, Santo L, Scheer M, Zähner H. Metabiolic products of microorganisms. Tirandamycin B(author's transl)]. Arch Microbiol 1976; 109: 65-74.
15. Kern DL, Hokanson GC, French JC, Dalley NK. Guanine 7-N-oxide, A novel antitumor antibiotic. J Antibiot 1985; 38: 572-4.
16. Kakeya H, Zhang HP, Kobinata K, Onose R, Onozawa C, Kudo T, et al. Cytotrienin A, a novel apoptosis inducer in human leukemia HL-60 cells. J Antibiot 1997; 50: 370-2.
17. Suzuki S, Ishikawa K. Safety and efficacy of S-1 chemotherapy in recurrent/metastatic head and neck cancer. J Infect Chemother 2009; 15: 335-9.
18. Sato H, Hatori M, Ando Y, Kurihara Y, Takayama S, Shirota T, et al. S-1 mediates the inhibition of lymph node metastasis in oral cancer cells. Oncol Rep 2009; 22: 719-24.