

Effect of Quercetin on Inhibition of Acute Myeloid Leukemia (AML) Cells

Alisa Yoosabai¹, Maethawee Hannarong¹, Usana Teravichitchainan¹,
Ponlapat Rojnuckarin² and Supantitra Chanprasert^{1*}

¹*Department of Clinical Microscopy, Faculty of Allied Health Sciences,
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand*

²*Division of Hematology, Department of Medicine, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand*

Abstract

Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant disorder of hematopoietic cells common in the elderly. The treatment options of AML are chemotherapy and bone marrow transplantation. However, these treatments have brought worse side effects to some patients. For this reason, natural compounds are being considered as alternative medicine to be used in leukemia treatment. This research was aimed to study the effect of quercetin, a natural flavonoid of many plants, vegetables and fruits, on the inhibition of acute myeloid leukemia (AML) cells. The study revealed that quercetin significantly decreased the percentage of cell viability of U937-treated cells ($p < 0.001$). Furthermore, pretreatment of U937 cells with autophagy inhibitor, 3-methyladenine (3-MA), enhanced quercetin-reduced cell viability in AML cell line. In conclusion, the results demonstrated a quercetin-mediated leukemic cell death and quercetin in combination with autophagy inhibitor could be considered as a potent supplementary for AML treatment.

Keywords: Quercetin, AML, Inhibition

*Corresponding author E-mail address: Supantitra.C@chula.ac.th

ผลของสารเคอร์เซตินต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์

อลิสา อยู่สบาย¹ เมธาวิ หาญณรงค์¹ อุศนา ชีระวิชิตชัยนันท์¹
พลภัทร โรจน์นครินทร์² และ สุพันธุ์ตรา ชาญประเสริฐ^{1*}

¹ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

²หน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์เป็นโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาที่พบได้บ่อยในผู้สูงอายุ วิธีการรักษาในปัจจุบัน คือ การใช้ยาเคมีบำบัดและการปลูกถ่ายไขกระดูก ซึ่งทั้งสองวิธีก่อให้เกิดผลข้างเคียงสูงต่อผู้ป่วย ด้วยเหตุนี้ การใช้สารสกัดจากธรรมชาติจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของเคอร์เซตินซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ในพืชและผลไม้หลายชนิด โดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์ชนิด U937 ร่วมกับสารเคอร์เซตินเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสารเคอร์เซตินมีฤทธิ์ลดร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) และพบว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด U937 ร่วมกับ 3-methyladenine (3-MA) ซึ่งเป็นสารยับยั้งกระบวนการออกโตฟาจี ก่อนบ่มเพาะกับสารเคอร์เซติน สามารถเสริมฤทธิ์ของเคอร์เซตินในการลดร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ โดยสรุป งานวิจัยนี้ได้พบองค์ความรู้เพิ่มเติมด้านฤทธิ์ของสารเคอร์เซตินที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และชี้ให้เห็นว่าเคอร์เซตินอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการร่วมรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์ โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับสารยับยั้งกระบวนการออกโตฟาจี

คำสำคัญ: เคอร์เซติน มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์ การยับยั้ง

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: Supantitra.C@chula.ac.th

บทนำ

มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์ (AML) เป็นโรคมะเร็งที่มีความผิดปกติในการเจริญและการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดในสายมัยอีลอยด์ ซึ่งมีสาเหตุหลักจากความผิดปกติของโครโมโซม สารพันธุกรรม และปัจจัยเหนือสารพันธุกรรม (epigenetic) ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ทำให้จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดมัยอีลอยด์เพิ่มสูงขึ้นมากในไขกระดูก โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันมัยอีลอยด์มีการดำเนินโรคที่เร็วและผลจากการที่มีเซลล์ตัวอ่อนในไขกระดูกเป็นจำนวนมากจึงเกิดการเบียดบังพื้นที่สำหรับการสร้างเซลล์เม็ดเลือดปกติ ทำให้ผู้ป่วยแสดงอาการทางคลินิกได้แก่ อ่อนเพลีย ชีต มีเลือดออกง่าย ติดเชื้อ และมีไข้ นอกจากนี้ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดยังสามารถแพร่กระจายแทรกไปตามอวัยวะอื่น เช่น ตับ ม้าม ต่อมน้ำเหลือง เหนือกและระบบประสาท โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด AML พบได้บ่อยในผู้สูงอายุและมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ โดยอุบัติการณ์ของ AML ในประชากรทั่วไปเท่ากับ 2-4 รายต่อประชากร 100,000 คนต่อปี

การรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวในปัจจุบันคือ การให้เคมีบำบัด การปลูกถ่ายไขกระดูกและการรักษาพร้อมอื่นที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและลดผลข้างเคียงของการรักษาด้วยเคมีบำบัด โดยการเลือกวิธีการในการรักษาจะพิจารณาจากชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาว รูปแบบของความผิดปกติ อายุผู้ป่วยและการตอบสนองต่อการรักษา อย่างไรก็ตาม การรักษาโดยให้เคมีบำบัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเซลล์มะเร็งก่อให้เกิดผลข้างเคียงสูงต่อผู้ป่วย⁽¹⁻³⁾ อีกทั้งยังมีราคาสูง ส่วนการรักษาด้วยวิธีปลูกถ่ายไขกระดูกมีข้อจำกัดในการหาไขกระดูกของผู้บริจาคที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย ซึ่งมีโอกาสค่อนข้างน้อย อีกทั้งยังอาจมีภาวะแทรกซ้อนหลังการปลูกถ่าย

ไขกระดูกได้ ดังนั้นการใช้สมุนไพรหรือสารสกัดจากธรรมชาติในการร่วมรักษาจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากมีผลข้างเคียงน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด

เคอร์เซติน (quercetin) ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิด อาทิ บร็อกโคลี (*Brassica oleracea*) กะหล่ำดอก (*Brassica oleracea*) พริก (*Capsicum annum*) ใบหอม (*Allium fistulosum*) ฝรั่ง (*Psidium guajava*) อ้อยหวาน (*Calamus scipronum*)⁽⁴⁾ และพลูคว (*Houttuynia cordata* Thunb.)⁽⁵⁾ เป็นสารที่มีสมบัติทางชีวภาพหลากหลาย ได้แก่ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเซลล์มะเร็ง^(6, 7) อย่างไรก็ตาม บทบาทของเคอร์เซตินในการชักนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์ยังไม่เป็นที่แน่ชัด ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ของเคอร์เซตินในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบมัยอีลอยด์ อันเป็นองค์ความรู้ที่จะสามารถนำไปพัฒนาปรับใช้เคอร์เซตินเป็นอีกทางเลือกสำหรับการร่วมรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเพื่อลดผลข้างเคียงจากการรักษาด้วยวิธีเคมีบำบัดและยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับสมุนไพรหรือสารสกัดจากธรรมชาติอีกด้วย

วัสดุและวิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงสายมัยอีลอยด์

เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงสายมัยอีลอยด์ชนิด U937 (human leukemic monocyte lymphoma cells) ในอาหารเพาะเลี้ยงชนิด RPMI-1640 ที่เติม 10% heat inactivated fetal bovine serum (FBS), penicillin 100 U/mL และ streptomycin 100 ug/mL บ่มในตู้เพาะเลี้ยง

เซลล์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 3 วัน

2. การทดสอบหาร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ ด้วยวิธี trypan blue exclusion assay

เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด U937 ให้มีความหนาแน่นของเซลล์ (cell density) เท่ากับ 5×10^5 cells/mL เพาะเลี้ยงใน 96 well-plate จากนั้นเติมสารเคอร์เซตินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มีและไม่มี 3-methyladenine (3-MA) ซึ่งเป็นสารยับยั้งกระบวนการออกโทฟาจี้ แล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำเซลล์ที่ได้ไปย้อมด้วยสารละลาย 0.4% trypan blue แล้วนำไปตรวจนับจำนวนเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายด้วย hemocytometer ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์ค่าที่ได้นำไปคำนวณหาร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์จากสูตร

$$\% \text{ cell viability} = \frac{\text{The number of viable cells}}{\text{The number of total cells}}$$

3. การทดสอบหาร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Muse® Count & Viability Assay Kit

เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด U937 ให้มีความหนาแน่นของเซลล์ เท่ากับ 5×10^5 cells/mL นำไปเพาะเลี้ยงใน 96 well-plate จากนั้นเติมสารเคอร์เซตินที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำเซลล์ที่ได้ไปย้อมด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Muse® Count & Viability Assay Kit ในอัตราส่วนเซลล์ต่อน้ำยา 1:10 โดยปริมาตร บ่มเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปตรวจวัดค่าร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ด้วยเครื่อง Muse™ Cell Analyzer (Merck Millipore)

4. การทดสอบความเป็นพิษของสารเคอร์เซตินต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงสายมัยอีลอยด์ด้วยวิธี MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay

เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด U937 ให้มีความหนาแน่นของเซลล์ เท่ากับ 5×10^5 cells/mL เพาะเลี้ยงใน 96 well-plate จากนั้นเติมสารเคอร์เซตินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะที่มีและไม่มี 3-methyladenine (3-MA) นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา เติม MTT working solution (MTT 5 mg/mL ในสารละลาย phosphate-buffered saline (PBS) pH 7.4) ลงในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ละลายตะกอน formazan ด้วยสารละลาย 10% SDS-HCl แล้วนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm⁽⁸⁾ และคำนวณหาค่า % growth inhibition จากสูตร

$$\% \text{ growth inhibition} = \frac{(\text{OD negative control} - \text{OD max})}{\text{The number of total cells}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard deviation) จากผลการทดลอง 3 ครั้ง วิเคราะห์ความแตกต่างกันระหว่างเซลล์ในกลุ่มควบคุมที่มี 0.1% dimethyl sulfoxide (DMSO) และกลุ่มเซลล์ทดลองที่บ่มด้วยสารเคอร์เซติน ด้วยสถิติ one-way ANOVA และ Tukey's post hoc test ด้วยโปรแกรม SPSS โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

1. เคอร์เซตินมีฤทธิ์ลดร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937

การทดสอบผลของเคอร์เซตินต่อร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด

U937 ด้วยวิธี trypan blue exclusion assay หลังบ่มเพาะเซลล์ร่วมกับเคอร์เซตินเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เคอร์เซตินที่ความเข้มข้น 25, 37.5, 50, 75, 100, 150 และ 200 μM มีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับผลการทดลองในกลุ่มควบคุม (0.1% DMSO) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 66.46 μM (Fig. 1)

นอกจากนี้ การทดสอบผลของเคอร์เซตินต่อร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Muse® Count & Viability Assay Kit หลังบ่มเพาะเซลล์ร่วมกับเคอร์เซตินเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง Muse™ Cell Analyzer พบว่า เคอร์เซตินมีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตของ

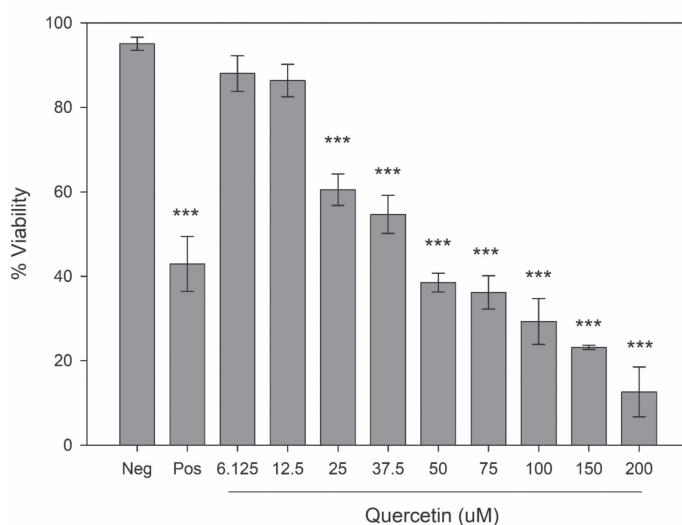


Fig. 1 The percentage of cell viability of U937 cells after treatment with quercetin. U937 cells were incubated with quercetin at different concentrations for 24 h and cell viability assay performed using trypan blue exclusion assay to determine the reduction of cell viability in quercetin-treated U937 cells.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ compared with negative control group (0.1 % DMSO). Cytarabine 200 $\mu\text{g/mL}$ was used as positive control.

ของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 (0.1%DMSO) ในลักษณะแปรผันตามปริมาณ เมื่อเทียบกับผลการทดลองในกลุ่มควบคุมลบ สารเคอร์เซติน (dose-dependent manner) (Fig. 2)

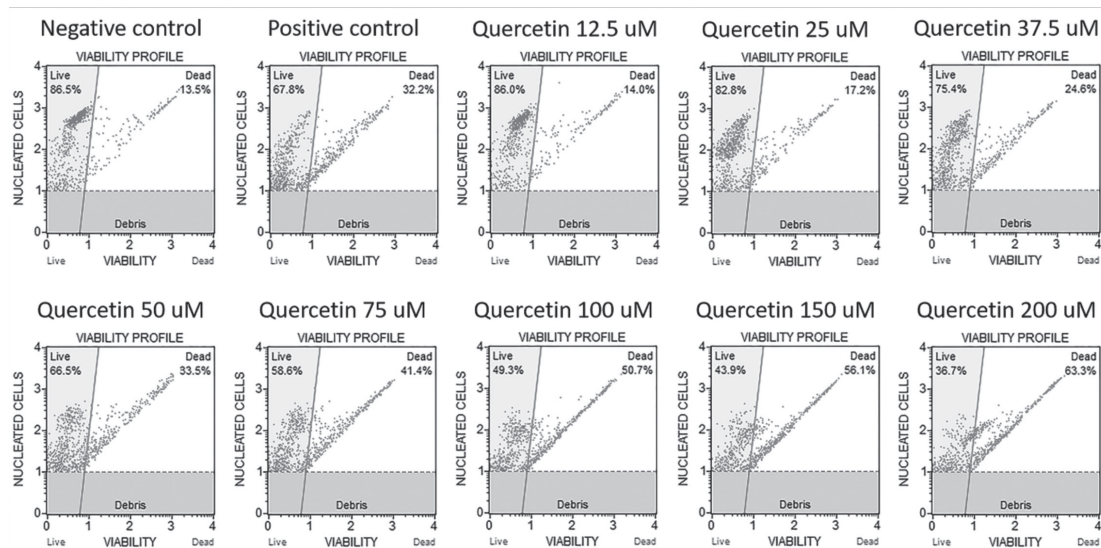


Fig. 2 Quercetin-treated U937 viability profile by Muse™ Cell Analyzer. U937 cells were treated with different concentrations of quercetin for 24 h and cell viability assay performed by Muse® Count & Viability reagent. The percentage of cell viability was calculated by Muse™ Cell Analyzer. 0.1% DMSO treated cells were used as negative control. Cytarabine 200 ug/mL was used as positive control.

2. เคอร์เซตินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937

ผลการทดสอบความเป็นพิษของเคอร์เซตินต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 ด้วยวิธี MTT based assay หลังการบ่มเพาะเซลล์ร่วมกับเคอร์เซตินเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเคอร์เซตินที่ความเข้มข้น 25 และ 50 uM ทั้งในภาวะที่มีและไม่มี 3-MA มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 โดยพบว่าเคอร์เซตินทั้งในภาวะที่มีและไม่มี 3-MA มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับผลการทดลองในกลุ่มควบคุมลบ (0.1% DMSO) ในภาวะที่ไม่มี 3-MA (Fig. 3) อย่างไรก็ตาม พบว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด U937 ร่วมกับการยับยั้งกระบวนการออกโทฟาจี คือ 3-methyladenine (3-MA) ก่อนบ่มเพาะกับสารเคอร์เซติน ไม่ทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับผลการทดลองในกลุ่มที่บ่มเพาะกับเคอร์เซตินในภาวะที่ไม่มี 3-MA (Fig. 3)

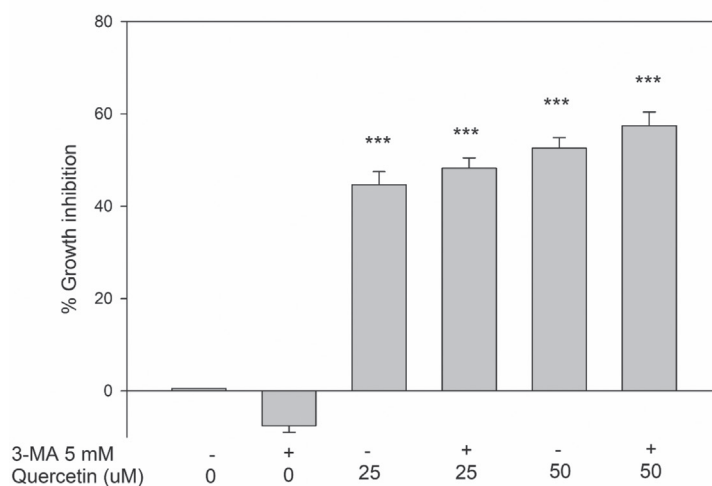


Fig. 3 Cytotoxic effect of quercetin in combination with 3-MA. U937 cells were incubated with 25 uM and 50 uM quercetin in the presence or absence of 3-MA, autophagy inhibitor, for 24 h and MTT assay was performed to determine growth inhibitory effect of quercetin in combination with 3-MA on U937 cells.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ compared with negative control group (0.1% DMSO).

3. สารยับยั้งกระบวนการออโตฟาจีเสริมฤทธิ์ให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ U937

จากการทดสอบผลของเคอร์เซตินร่วมกับ 3-MA ต่อร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาเอเลียชนิด U937 ด้วยวิธี trypan blue exclusion assay หลังการบ่มเพาะเซลล์ร่วมกับ เคอร์เซตินในภาวะที่มีและไม่มี 3-MA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เคอร์เซตินที่ความเข้มข้น 25 และ 50 uM ทั้งในภาวะที่มีและไม่มี 3-MA มีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์

มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาเอเลียชนิด U937 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับผลการทดลองในกลุ่มควบคุม (0.1% DMSO) ในภาวะที่ไม่มี 3-MA

นอกจากนี้ยังพบว่า การเพาเอเลียเซลล์ชนิด U937 ร่วมกับสารยับยั้งกระบวนการออโตฟาจี (3-MA) ก่อนบ่มเพาะกับสารเคอร์เซติน ทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์ในการชักนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาเอเลียชนิด U937 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับผลการทดลองในกลุ่มที่บ่มเพาะกับการเคอร์เซตินในภาวะที่ไม่มี 3-MA (Fig. 4)

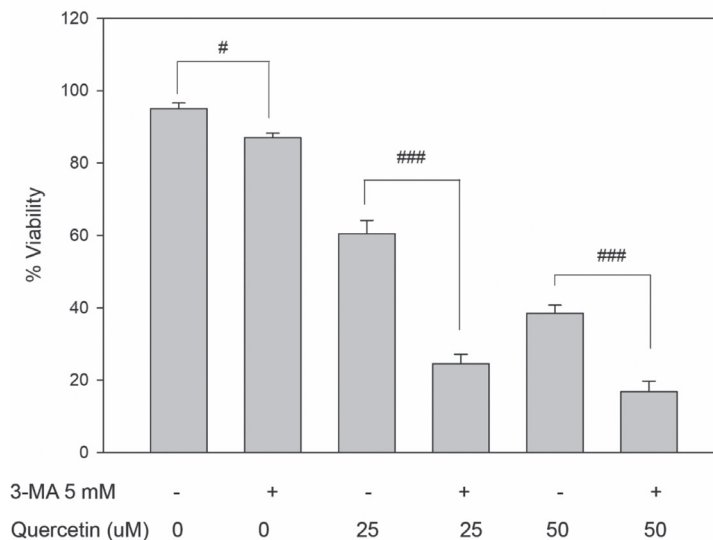


Fig. 4 Cell viability effect of quercetin in combination with 3-MA. U937 cells were incubated with 25 uM and 50 uM quercetin in the presence or absence of 3-MA, autophagy inhibitor, for 24 h and trypan blue exclusion assay was performed to determine effect of quercetin in combination with 3-MA on cell viability.

$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ compared with quercetin-treated group ($n=3$).

วิจารณ์

การรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันมัยอีลอยด์ (AML) ในปัจจุบัน คือ การให้ยาเคมีบำบัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเซลล์มะเร็ง ซึ่งสูตรยาที่นิยมใช้ คือ ให้ยา cytarabine 7 วัน และยาในกลุ่ม anthracycline 3 วัน โดย cytarabine จะออกฤทธิ์ในเซลล์ระยะ S phase โดยจะไปรบกวนการสังเคราะห์ DNA ส่วนยาในกลุ่ม anthracycline จะออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase II ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่ในการคลายปม DNA ก่อนจะสร้าง DNA สายใหม่⁽²⁾

อย่างไรก็ตาม การใช้เคมีบำบัดซึ่งเป็นวิธีการรักษา AML ที่นิยมใช้มากที่สุดนั้นพบว่าก่อให้เกิดผลข้างเคียงสูงต่อผู้ป่วยหลายประการ เช่น การเกิดแผลในลำไส้ ท้องร่วง เป็นแผลในปาก ปริมาณเม็ดเลือดขาว

ปกติลดต่ำลง ทำให้เสี่ยงต่อการติดเชื้อในกระแสเลือดเป็นไข้ ผื่นร่วง อ่อนเพลีย และมีระดับเอนไซม์ในตับสูงขึ้น⁽⁹⁾ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การรักษาทางเลือกได้แก่ การใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการร่วมรักษาได้รับความนิยมมากขึ้นเนื่องจากอาจลดผลข้างเคียงเมื่อเทียบกับการรักษาด้วยเคมีบำบัด สารสกัดจากธรรมชาติที่นำมาศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้ คือ เคอร์เซติน ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากในผักและผลไม้หลายชนิด โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าเคอร์เซตินมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ด้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ ด้านไวรัส ป้องกันการทำลายระบบประสาท และต้านมะเร็งบางชนิด⁽¹⁰⁾ นอกจากนี้ยังพบว่า เคอร์เซตินไม่มีผลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติอีกด้วย⁽¹¹⁾

ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าบทบาทของเคอร์เซตินในการต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันมัยอีลอยด์ (AML) ในงานวิจัยครั้งนี้พบว่า เคอร์เซตินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 และมีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่า เคอร์เซตินมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งตับอ่อน (pancreatic cancer) โดยพบว่า การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับอ่อนชนิด MIA PaCa-2 และ BxPC-3 กับสารเคอร์เซตินที่ความเข้มข้น 10-75 μM เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับอ่อน⁽¹²⁾ ส่วนในมะเร็งลำไส้ใหญ่ (colon cancer) มีรายงานว่า เคอร์เซตินสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งลำไส้ชนิด HT-29 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $81.65 \pm 0.49 \mu\text{M}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง⁽¹³⁾ นอกจากนี้ยังพบว่า เคอร์เซตินสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric cancer) ชนิด AGS โดยมีค่า IC_{50} ประมาณ 50 μM ที่เวลา 48 ชั่วโมง⁽¹⁴⁾ และยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม (breast cancer) ชนิด MDA-MB468 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 7 $\mu\text{g/mL}$ ที่เวลา 72 ชั่วโมง⁽¹⁵⁾

นอกจากนี้ยังพบว่า การเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด U937 ด้วยเคอร์เซตินร่วมกับ 3-MA ซึ่งเป็นสารยับยั้งกระบวนการออกโตฟาจี โดยออกฤทธิ์ผ่านทางการยับยั้ง class III phosphatidylinositol 3-kinases (class III PI3K) ซึ่งเป็นโมเลกุลสำคัญในการเกิดกระบวนการออกโตฟาจี⁽¹⁶⁾ ส่งผลเสริมฤทธิ์ในการชักนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับ

ผลการทดลองในกลุ่มที่บ่มเพาะกับสารเคอร์เซตินในภาวะที่ไม่มี 3-MA แสดงว่าการยับยั้งกระบวนการออกโตฟาจีอาจเป็นกลไกทางเลือกใหม่ในการเพิ่มประสิทธิภาพการต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่า การยับยั้งกระบวนการออกโตฟาจีส่งผลให้เกิดการเสริมฤทธิ์ในการชักนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งบางชนิดได้ เช่น มะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer⁽¹⁷⁾ และมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก (colorectal cancer)⁽¹⁸⁾ อย่างไรก็ตาม กลไกการเสริมฤทธิ์ในการชักนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยเคอร์เซติน ยังไม่เป็นที่แน่ชัด จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับกลไกการชักนำให้เกิดการตายของเซลล์ ซึ่งเป็นองค์ความรู้ที่จะสามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้เคอร์เซตินเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการร่วมรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวได้

สรุป

เคอร์เซตินมีบทบาทในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการลดลงของร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด U937 ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อบ่มเพาะร่วมกับสารยับยั้งกระบวนการออกโตฟาจี ซึ่งผลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้เป็นองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับบทบาทของเคอร์เซตินซึ่งอาจพัฒนาและนำไปใช้ร่วมรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาจากทางกรมมหาวิทยาลัยเพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุนอุดหนุนการวิจัย “ทุน 90 ปีจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

เอกสารอ้างอิง

1. Liesveld JL, Lichtman MA. Acute Myelogenous Leukemia. In: Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ, *et al.*, editors. Williams Hematology. New York: McGraw-Hill Education; 2015. p. 1373-415.
2. Ashkan E, Maria RB. Acute Myeloid Leukemia in Adults. In: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT, Paraskevas F, *et al.*, editors. Wintrobe's Clinical Hematology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2013. p. 1577-613.
3. Randhawa JK, Khoury J, Ravandi-Kashani F. Adult Acute Myeloid Leukemia. In: Kantarjian HM, Wolff RA, editors. The MD Anderson Manual of Medical Oncology. New York: McGraw-Hill Medical; 2016. p. 1-131.
4. Miesan KH, Mohamed S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. J Agric Food Chem 2001; 49: 3106-12.
5. Kim SK, Ryu SY, No J, *et al.* Cytotoxic alkaloids from *Houttuynia cordata*. Arch Pharm Res 2001; 24: 518-21.
6. Sung MT, Chen YC, Chi CW. Chapter 22 - Quercetin's potential to prevent and inhibit oxidative stress-induced liver cancer. In: Preedy V, editor. Cancer. San Diego: Academic Press; 2014. p. 231-9.
7. Cirillo G, Vittorio O, Hampel S, *et al.* Quercetin nanocomposite as novel anticancer therapeutic: Improved efficiency and reduced toxicity. Eur J Pharm Sci 2013; 49: 359-65.
8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983; 65: 55-63.
9. Stentoft J. The Toxicity of Cytarabine. Drug Saf 1990; 5: 7-27.
10. Maalik A, Khan FA, Mumtaz A, *et al.* Pharmacological applications of quercetin and its derivatives: a short review. Trop J Pharm Res 2014; 13: 1561-6.
11. Lugli E, Ferraresi R, Roat E, *et al.* Quercetin inhibits lymphocyte activation and proliferation without inducing apoptosis in peripheral mononuclear cells. Leuk Res 2009; 33: 140-50.
12. Angst E, Park JL, Moro A, *et al.* The flavonoid quercetin inhibits pancreatic cancer growth *in vitro* and *in vivo*. Pancreas. 2013; 42: 223-9.
13. Yang L, Liu Y, Wang M, *et al.* Quercetin-induced apoptosis of HT-29 colon cancer cells via inhibition of the Akt-CSN6-Myc signaling axis. Mol Med Rep 2016; 14: 4559-66.
14. Lei CS, Hou YC, Pai MH, *et al.* Effects of quercetin combined with anticancer drugs on metastasis-associated factors of gastric cancer cells: *in vitro* and *in vivo* studies. J Nutr Biochem 2018; 51: 105-13.

15. Avila MA, Velasco JA, Cansado J, *et al.* Quercetin mediates the down-regulation of mutant p53 in the human breast cancer cell line MDA-MB468. *Cancer Res.* 1994; 54: 2424-8.
16. Wu YT, Tan HL, Shui G, *et al.* Dual role of 3-methyladenine in modulation of autophagy via different temporal patterns of inhibition on class I and III phosphoinositide 3-kinase. *J Biol Chem* 2010; 285: 10850-61.
17. Mei H, Lin Z, Wang Y, *et al.* Autophagy inhibition enhances pan-Bcl-2 inhibitor AT-101-induced apoptosis in non-small cell lung cancer. *Neoplasma* 2014; 61: 186-92.
18. Yang X, Niu B, Wang L, *et al.* Autophagy inhibition enhances colorectal cancer apoptosis induced by dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235. *Oncol Lett* 2016; 12: 102-6.