บทฟื้นฟูวิชาการ • Review Article

ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์

วิภพ สุทธนะ
แขนงวิชาเคมีคลินิค สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

Anticancer Activities of Flavonoids: Mechanisms of Actions

Wipob Suttana
Department of Medical Technology, School of Allied Health Sciences, University of Phayao
E-mail: wipobs@hotmail.com

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบจากธรรมชาติที่สามารถออกฤทธิ์ต้านมะเร็งซึ่งได้แก่ การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ การหยุดวงวัฏจักรของเซลล์และชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส รวมถึงการยับยั้งการอักเสบที่เกี่ยวกับโรคมะเร็ง การสร้างหลอดเลือดใหม่ การแพร่กระจาย และการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง โดยกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการส่งสัญญาณภายในเซลล์และการแสดงออกของยีนที่ขึ้นอยู่กับทรานสคริปชันแฟคเตอร์ NFκB รวมถึงการทำให้เกิดความเสียหายที่ระดับไมโทคอนเดรียของซึ่งส่งผลต่อสถานะเชิงพลังงานของเซลล์มะเร็ง นอกจากการออกฤทธิ์โดยตรงต่อเซลล์มะเร็งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ยังสามารถยับยั้งการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันซึ่งจะส่งผลในการยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากโรคมะเร็ง และสามารถยับยั้งการหลั่ง VEGF ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดซึ่งส่งผลไปขัดขวางการสร้างหลอดเลือดใหม่ในก้อนมะเร็ง ดังนั้นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์จึงมีศักยภาพในการรักษาโรคมะเร็งโดยการชักนำให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบอะพอพโตซิส การยับยั้งความรุนแรงและการพัฒนาของโรคมะเร็ง รวมถึงการเอาชนะปัญหาการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวมีความสำคัญในการพัฒนาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์เพื่อเป็นยารักษาโรคมะเร็งที่มีประสิทธิภาพต่อไป

Flavonoids are natural compounds which exhibit anticancer activities including antiproliferation, cell cycle arrest and apoptosis induction. Furthermore, flavonoids can inhibit cancer-related inflammation, angiogenesis, metastasis and multidrug resistance. The molecular mechanisms of these actions are associated with the blockage of cell signaling transduction and NFκB-dependent gene expression. The mitochondrial damage affecting cellular energetic state also plays an important role in the anticancer mechanisms of flavonoids. In addition to direct actions on cancer cells, flavonoids can suppress immune response and VEGF release of vascular smooth muscle cells resulting in the inhibition of cancer-related inflammation and angiogenesis, respectively. Therefore, flavonoids are potential compounds for cancer treatment through apoptotic induction, inhibition of cancer progress and overcoming multidrug resistance. This information is important for the development of anticancer drug derived from flavonoids.

Keywords: f lavonoids, anticancer activity, apoptosis, multidrug resistance, NFκB

ศรีนครินทร์เวชสาร 2556;28(4): 567-582 • Srinagarind Med J 2013; 28(4): 567-582

บทนำ

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) จัดเป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในธรรมชาติมีมากกว่า 4,000 ชนิด โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrone) ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมีได้ 7 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) และแอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) ฟลาโวนอยด์สามารถพบได้ในพืช เช่น ผัก ผลไม้ และเครื่องดื่มบางชนิดเช่น ไวน์ ชา เป็นต้น ดังนั้น ฟลาโวนอยด์จึงเป็นส่วนประกอบซึ่งอยู่ในอาหารที่เรารับประทานในชีวิตประจำวัน รวมถึงพืชสมุนไพรที่ใช้ในตำราแพทย์แผนโบราณ[1-4] งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ต้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) ยับยั้งการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ต้านการอักเสบ (antiinflammation) ต้านโรคเบาหวาน (antidiabetes) ลดระดับของคลอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (cholesterol and triglyceride lowering effects) ต้านจุลชีพ (antimicrobial) ฤทธิ์ปรับการทำงานระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) เป็นต้น[5-11]

ฤทธิ์ต้านมะเร็งนั้นฟลาโวนอยด์ไม่เพียงมีแต่การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเท่านั้น แต่ยังมีการชักนำการเจริญเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (differentiation)[12] รวมถึงการยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็ง เช่น การแพร่กระจาย (metastasis)[11, 13] การสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis)[11, 14] การอักเสบที่เกี่ยวกับโรคมะเร็ง (cancer-related inflammation)[11, 15, 16] และการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง (multidrug resistance)[7, 11, 17] นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์ยังสามารถออกฤทธิ์ต้านมะเร็งในสัตว์ทดลองได้เป็นอย่างดีด้วย[18, 19] โดยจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งนี้เกิดจากการชักนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิส (apoptotic induction)[5, 7, 11] การหยุดวงวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle arrest)[20-22] และการยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ควบคุมโดยทรานสคริปชันแฟคเตอร์นิวเคลียร์แฟคเตอร์ แคปปา บี (nuclear factor kappa B หรือ NFκB)[11, 23, 24] จะเห็นได้ว่าฟลาโวนอยด์นับเป็นโมเลกุลจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นโมเลกุลต้านมะเร็งที่มีศักยภาพสูงที่จะพัฒนาเป็นยารักษามะเร็งได้ บทความนี้จะอธิบายถึงการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์โดยจะมุ่งเน้นถึงกลไกระดับโมเลกุลในการชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส การหยุดวงวัฏจักรของเซลล์ การยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ควบคุมโดย NFκB และการเอาชนะการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง

ฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว (C_6 - C_3 – C_6) เป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง (A and B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (C)[8] (รูปที่ 1) โดยสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐาน (ตารางที่ 1) ได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่

1. ฟลาโวนอล (flavonols) เช่น เคอร์ซิติน (quercetin) แคมป์เฟอรอล (kaempferol) ไมริซิติน (myricetin)

2. ฟลาโวน (flavones) เช่น ลูติโอลิน (luteolin), อาพิจินิน (apigenin) ไครซิน (chrysin)

3.ฟลาวาโนน (flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin) นารินจินิน (naringenin) อีริโอดิคทิออล (eriodictyol)

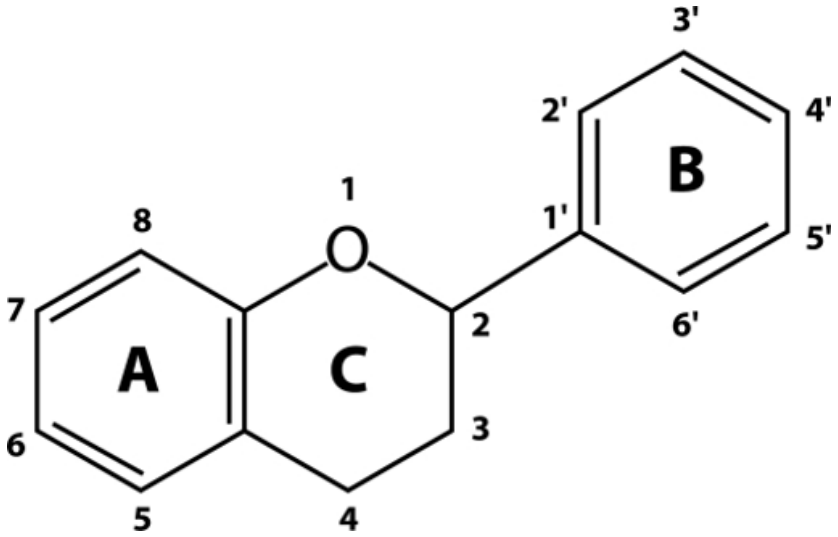
4. ฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคทิชิน (catechin), แกลโลแคทิชิน (gallocatechin) อีพิแคทิชิน (epicatechin) อีพิแกลโลแคทิชิน (epigallocatechin) อีพิแคทิชิน-3-แกลเลต (epicatechin-3-gallate) อิพิแกลโลแคทิชิน-3-แกลเลต (epigallocatechin-3-gallate)

5. ฟลาวาโนนอล (flavanonols) เช่น แทกซิโฟลิน (taxifolin)

6. ไอโซฟลาโวน (isoflavones) เช่น เดดซีน (daidzein), จีนิสตีน (genistein) ไกลซิตีน (glycitein) ฟอร์โมโนเนติน (formononetin)

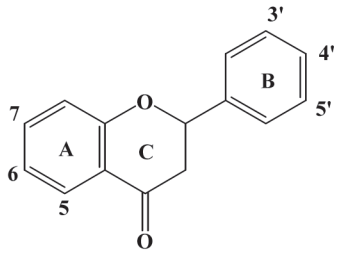
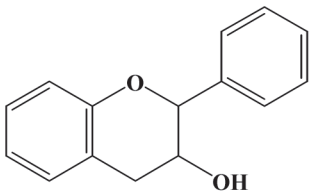
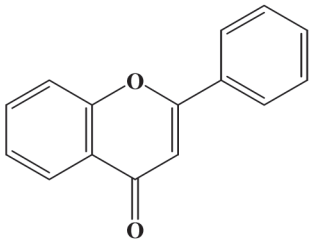
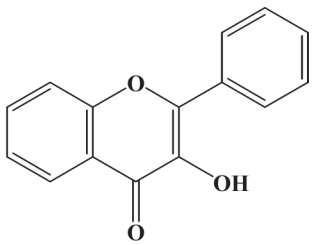
7. แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) เช่น ไซยานิดิน (cyanidin), เดลฟินิดิน (delphinidin) มาลวิดิน (malvidin) พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) พีโอนิดิน (peonidin) พีทูนิดิน (petunidin)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารเมแทบอไลท์ขั้นทุติยภูมิในพืชสร้างจากกรดอะมิโนที่มีวงแหวน (aromatic amino acids) ได้แก่ phenylalanine, tyrosine และ malonate โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวเลต และการช่วยตรึงไนโตรเจน ฟลาโวนอยด์พบได้ใน ผัก ผลไม้ ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว เครื่องเทศ สมุนไพร ลำต้น กิ่งก้าน ดอก และเมล็ด รวมถึงเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา โกโก้ เบียร์ และไวน์ เป็นต้น[2, 4] ฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่จับอยู่กับน้ำตาลในรูปเบต้าไกลโคไซด์ (β-glycosides) ในระบบทางเดินอาหารฟลาโวนอยด์จะถูกย่อยโดยน้ำย่อยและถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กเป็นส่วนใหญ่ ส่วนฟลาโวนอยด์ที่ไม่ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กและฟลาโวนอยด์ที่ถูกดูดซึมแล้วถูกขับออกทางน้ำดีจะเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกสลายโดยจุลชีพบางชนิดทำให้ได้กรดฟีนอลิคซึ่งจะถูกดูดซึมกลับเข้ากระแสเลือดอีกครั้ง โดยฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในกระแสเลือดก็จะไปยังเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย และสามารถถูกกำจัดได้ทางไต โดยที่เซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ ฟลาโวนอยด์อาจผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ซึ่งอาจทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพเปลี่ยนแปลงไปได้[25]

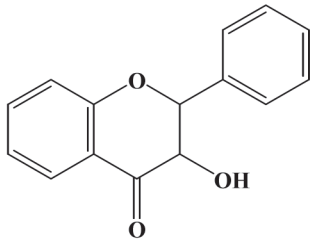
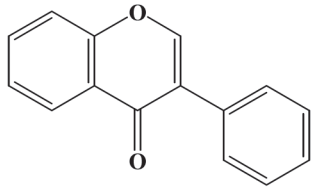
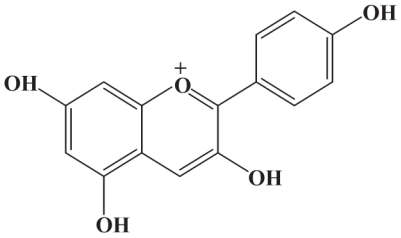


รูปที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)[8]

ตารางที่ 1 การจำแนกชนิดของฟลาโวนอยด์โดยขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหมู่แทนที่[8]

สูตรโครงสร้าง	ตัวอย่างฟลาโวนอยด์	หมู่แทนที่					
		5	6	7	3’	4’	5’
 ฟลาวาโนน	อีริโอดิคทิออล	OH	H	OH	OH	OH	H
	เฮสเพอริติน	OH	H	OH	OH	OCH	H
	นารินจินิน	OH	H	OH	H	OH	H
 ฟลาวานอล	แคทิชิน	H	H	H	H	H	H
	แกลโลแคทิชิน	H	H	H	OH	OH	OH
 ฟลาโวน	อาพิจินิน	OH	H	OH	H	OH	H
	ไครซิน	OH	H	OH	H	H	H
	ลูติโอลิน	OH	H	OH	OH	OH	H
 ฟลาโวนอล	แคมป์เฟอรอล	OH	H	OH	H	OH	H
	ไมริซิติน	OH	H	OH	OH	OH	OH
	เคอร์ซิติน	OH	H	OH	OH	OH	H

ตารางที่ 1 การจำแนกชนิดของฟลาโวนอยด์โดยขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหมู่แทนที่[8](ต่อ)

สูตรโครงสร้าง	ตัวอย่างฟลาโวนอยด์	หมู่แทนที่					
		5	6	7	3'	4'	5'
 **ฟลาวาโนนอล**	แทกซิโฟลิน	OH	H	OH	OH	OH	H
 **ไอโซฟลาโวน**	เดดซีน	H	H	OH	H	OH	H
	จีนิสตีน	OH	H	OH	H	OH	H
	ไกลซิตีน	OH	OCH	OH	H	OH	H
	ฟอร์โมโนเนติน	H	H	OH	H	OCH	H
 **แอนโธไซยานิดิน**	เดลฟินิดิน	OH	H	OH	OH	OH	OH
	ไซยานิดิน	OH	H	OH	OH	OH	H
	มาลวิดิน	OH	H	OH	OCH	OH	OCH_3
	พีโอนิดิน	OH	H	OH	OCH	OH	H
	พีลาร์โกนิดิน	OH	H	OH	H	OH	H
	พีทูนิดิน	OH	H	OH	OH	OH	OCH_3

ตารางที่ 2 สรุปกลไกการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์

ตัวอย่างฟลาโวนอยด์	กลไกการออกฤทธิ์ต้านมะเร็ง
เคอร์ซิติน[7, 11, 16, 22, 29, 30, 42]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยผ่านทางวิถีไมโทคอนเดรีย หยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M และ S ยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการดื้อยาแบบหลายขนาน ยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มาโครเฟจที่ถูกกระตุ้น

ตารางที่ 2 สรุปกลไกการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์ (ต่อ)

ตัวอย่างฟลาโวนอยด์	กลไกการออกฤทธิ์ต้านมะเร็ง
แคมป์เฟอรอล[11, 16, 22, 30, 31]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยผ่านทางวิถีไมโทคอนเดรีย ลดการแสดงออกของ antiapoptotic proteins เพิ่มการแสดงออกของ p53 และ proapoptotic proteins หยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M ยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการดื้อยาแบบหลายขนาน ยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มาโครเฟจที่ถูกกระตุ้น
ไมริซิติน[22, 30, 34]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยผ่านทางวิถีไมโทคอนเดรียและวิถีภายนอก ลดการแสดงออกของ antiapoptotic proteins เพิ่มการแสดงออกของ proapoptotic proteins หยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M
อาพิจินิน[20, 22, 30, 40]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยผ่านทางวิถีไมโทคอนเดรีย หยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G1 และ G2/M
ลูติโอลิน[22, 41]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส หยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M และ S
ไครซิน[22]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส หยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M
อีริโอดิคทิออล[11]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส ยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการดื้อยาแบบหลายขนาน
อีพิแกลโลแคทิชิน-3-แกลเลต[14,15, 21, 32, 35-37, 46]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยผ่านทางวิถีภายนอก ลดการแสดงออกของ antiapoptotic proteins เพิ่มการแสดงออกของ proapoptotic proteins หยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G1 ยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากเซลล์มะเร็ง
จีนิสตีน[16, 20, 23, 24]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยผ่านทางวิถีภายนอก ลดการแสดงออกของ antiapoptotic proteins เพิ่มการแสดงออกของ proapoptotic proteins ยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มาโครเฟจที่ถูกกระตุ้น
เดดซีน[16, 24, 33]	ชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยผ่านทางวิถีภายนอก ลดการแสดงออกของ antiapoptotic proteins เพิ่มการแสดงออกของ proapoptotic proteins ยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มาโครเฟจที่ถูกกระตุ้น
เดลฟินิดิน[48]	ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่โดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด
ไซยานิดิน[48]	ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่โดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด

การชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส

อะพอพโตซิส (apoptosis) เป็นการตายของเซลล์ที่มีแบบแผน (programmed cell death) ซึ่งเป็นการตายตามปกติของเซลล์ และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการพัฒนาและรักษาสมดุลย์ของเซลล์ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ดังนั้นความผิดปกติของการควบคุมการการตายแบบอะพอพโตซิสจึงอาจทำให้เกิดโรคหรือพยาธิสภาพได้หลายชนิด ได้แก่ ความบกพร่องในการชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสของเซลล์อาจทำให้เกิดโรคมะเร็ง โรคภูมิคุ้มกันต่อตัวเอง (autoimmune diseases) เป็นต้น ส่วนการชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดโรคเนื่องจากการเสื่อมของระบบประสาท (neurodegenerative disorders) โรคเนื่องจากการขาดเลือดไปเลี้ยง (ischemic diseases) เป็นต้น โดยในระหว่างที่เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา (morphology) ได้แก่ ไซโทพลาซึมและออร์แกเนลล์จะมีลักษณะหนาแน่นขึ้น เซลล์เหี่ยว เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการหดแฟบ (membrane blebbing) โครมาตินจับกันแน่น (chromatin condensation) ดีเอ็นเอและนิวเคลียสเกิดการแตกหัก (DNA and nuclear fragmentation) สุดท้ายแล้วเซลล์มีการแยกออกเป็นถุงเล็ก ๆ (apoptotic bodies) ซึ่งเก็บองค์ประกอบของเซลล์ไว้ภายใน และจะถูกจับกินโดยมาโครเฟจ (macrophage) โดยจะไม่เกิดการกระตุ้นกระบวนการอักเสบ ซึ่งแตกต่างจากการตายแบบเนโครซิส (necrosis) ที่เซลล์มีการบวม การรั่วของเยื่อหุ้มเซลล์ และสุดท้ายเซลล์มีการแตกทำลาย ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ถูกปล่อยออกมายังเนื้อเยื่อข้างเคียง และส่งผลให้เกิดการอักเสบ (รูปที่ 2) ดังนั้นความเข้าใจในกระบวนการและกลไกการตายแบบอะพอพโตซิสจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการป้องกันและรักษาโรคมะเร็ง รวมทั้งโรคอื่นๆ ที่เกิดจากการเสื่อมของร่างกาย[26]

วิถีการตายแบบอะพอพโตซิส (apoptotic pathways) แบ่งเป็น 2 วิถี ได้แก่ วิถีภายนอก หรือวิถีตัวรับการตาย (extrinsic pathways หรือ death receptor pathway) ซึ่งเกิดจากการจับของลิแกนด์ (death ligands) จากภายนอกเซลล์ เช่น tumor necrosis factor (TNF)-α, Fas ligand, TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) กับตัวรับ (death receptors) ที่ผิวเซลล์ เช่น tumor necrosis factor receptor (TNFR)-1, Fas, DR5 ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของ death domians ของตัวรับกับ adaptor molecules เช่น FADD, TRADD ส่งผลให้กิด death inducing signaling complex (DISC) ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-8 และ caspase-8 ที่ถูกกระตุ้นนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspases-3, -6, และ -7 ซึ่งเอนไซม์ caspase เหล่านี้จะไปย่อยสารตั้งต้นของมันและส่งผลให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโตซิส

ส่วนอีกวิถีหนึ่งคือ วิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรีย (intrinsic pathway หรือ mitochondrial pathway) ซึ่งเกิดจากการที่ไมโทคอนเดรียเกิดความเสียหายทำให้มีการปลดปล่อยของโปรตีน cytochrome c ออกมาสู่ไซโตพลาซึมและจะไปรวมตัวกับโปรตีน Apaf-1 ทำให้เกิดเป็น apoptosome ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-9 และ caspase-9 ที่ถูกกระตุ้นนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspases-3, -6, และ -7 ซึ่งก็จะส่งผลให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสเช่นกัน และโปรตีนที่หลั่งออกมาจากไมโทคอนเดรียบางชนิด เช่น Smac จะไปยับยั้งโปรตีนที่ยับยั้งการตายแบบอะพอพโตซิส (inhibitors of apoptosis proteins; IAPs) ทำให้ IAPs ไม่สามารถไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ caspase ได้ซึ่งก็จะส่งผลให้เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสอีกเช่นกัน ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าการกระตุ้นด้วยสัญญาณการรอดชีวิตของเซลล์ (survival signals) ทำให้มีการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนที่ต้านการตายแบบอะพอพโตซิส (antiapoptotic proteins) เช่น Bcl-2, Bcl-xL โดยการ กระตุ้นการทำงานของ transcription factor ที่ชื่อ NFκB ซึ่งโปรตีนที่ต้านการตายแบบอะพอพโตซิสเหล่านี้จะไปยับยั้งการทำงานของโปรตีนที่ส่งเสริมการตายแบบอะพอพโตซิส (proapoptotic proteins) เช่น Bid, Bax, Bak ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสโดยวิถีไมโทคอนเดรีย ซึ่งสุดท้ายแล้วจะส่งผลให้มีการยับยั้งการตายแบบอะพอพโตซิส นอกจากนี้ยังพบว่าสัญญาณการตายแบบอะพอพโตซิส (apoptotic signals) ที่มาจากความเสียหายของดีเอ็นเอ (DNA damage) สามารถกระตุ้นการทำงานของโปรตีน p53 ซึ่งเป็นทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่ทำให้เกิดการแสดงออกของ proapoptotic proteins และ p53 ยังสามารถกดการแสดงออกของ antiapoptotic

proteins[28] (รูปที่ 3) และจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเซลล์มะเร็งดื้อต่อยาจะมีการกระตุ้นการทำงานของ NFκB ที่มากกว่าปกติซึ่งส่งผลให้มีการแสดงออกของโปรตีนที่ต้านการตายแบบอะพอพโตซิสเพิ่มขึ้นจึงทำให้เซลล์มะเร็งที่ดื้อต่อยาเหล่านี้สามารถต้านการตายแบบอะพอพโตซิสได้[11]

จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น apigenin, quercetin, myricetin และ kaempferol สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง โดยการชักนำให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโตซิสผ่านทางวิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรียโดยการลดลงของค่าความต่างศักย์เมมเบรนไมโทคอนเดรีย (Mitochondrial membrane potential; $\Delta\Psi_m$) ซึ่งทำให้มีการปลดปล่อยของ cytochrome c จากไมโทคอนเดรีย และไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-9 และ caspase-3[7, 29, 30] และยังมีการศึกษาบ่งชี้ว่า kaempferol สามารถชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสโดยการลดการแสดงออกของ antiapoptotic proteins เช่น Bcl-xL เพิ่มการแสดงออกของ p53 และ proapoptotic proteins เช่น Bad และ Bax ร่วมกับการกระตุ้นการทำงานของ caspase-9 และ caspase-3[31] นอกจากนี้มีรายงานว่า epigallocatechin-3-gallate (EGCG), myricetin, daidzein และ genistein ออกฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยการชักนำการตายของเซลล์มะเร็งแบบอะพอพโตซิสผ่านทางวิถีภายนอกโดยอาศัย TNFR, Fas/CD95 และ TRAIL ร่วมกับ FADD ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-8 และ caspase-3 รวมถึงมีการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 และ survivin ลดลง และการแสดงออกของโปรตีน Bax เพิ่มขึ้น[32-37]

การยับยั้งวงวัฏจักรของเซลล์

วงวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในเซลล์ยูคาริโอต (eukaryotic cells) ระหว่างที่มีการเจริญและเพิ่มจำนวนของเซลล์ ซึ่งประกอบด้วยระยะต่างๆ ได้แก่ ระยะ G1 (G1 phase) เป็นระยะที่เซลล์มีขบวนการเมแทบอลิซึมปกติเพื่อเตรียมสำหรับการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ระยะ S (S phase) เป็นระยะที่เซลล์มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอเพิ่มเป็นสองเท่า ระยะ G2 (G2 phase) เป็นระยะที่เซลล์มีการเจริญอย่างต่อเนื่องและมีขบวนการเมแทบอลิซึมปกติเพื่อเตรียมสำหรับการแบ่งเซลล์ ซึ่งตั้งแต่ระยะ G1, S และ G2 เรียกรวมว่า Interphase ส่วนระยะ M (M phase) เป็นระยะที่เซลล์มีการแบ่งเซลล์โดยการแยกโครโมโซมจนได้จำนวนชุดโครโมโซมเป็นแบบ 2N และเรียกขั้นตอนการแบ่งเซลล์นี้ว่าไมโตซิส (mitosis) โดยประกอบด้วยขั้นตอนย่อยอีก 4 ขั้นตอน คือ โปรเฟส (prophase) เมตาเฟส (metaphase) แอนาเฟส (anaphase) และ เทโลเฟส (telophase) เซลล์อาจหยุดการแบ่งเซลล์แบบชั่วคราว (quiescence) หรือเรียกว่าอยู่ในระยะ G0 (G0 phase) แต่ถ้าเซลล์หยุดการแบ่งเซลล์แบบถาวร (senescence) จะเกิดจากการที่เซลล์แก่หรือเกิดความเสียหายของดีเอ็นเอซึ่งจะทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่จะนำไปสู่การตายแบบอะพอพโตซิส[38]

การดำเนินไปของวงวัฏจักรของเซลล์ถูกควบคุมโดยโปรตีนกลุ่ม cyclins และเอนไซม์กลุ่ม cyclin-dependent kinases (CDKs) โดย cyclins จะจับกับ CDKs ได้เป็น heterodimer (cyclin-CDK complexes) ที่พร้อมทำงานโดย cyclin D เป็นโปรตีนตัวแรกที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างที่มีการดำเนินไปของวงวัฏจักรของเซลล์โดยการกระตุ้นโดยสัญญาณจากภายนอก (extracellular signals) เช่น growth factors จากนั้น cyclin D จะไปจับกับ CDK4 ที่มีอยู่ก่อนหน้านี้แล้วทำให้ได้ cyclin D-CDK4 complex ซึ่งจะไปเติมหมู่ฟอสเฟตให้ retinoblastoma susceptibility protein (Rb) ซึ่งทำให้ Rb หลุดออกมาจาก E2F/DP1/Rb complex ส่งผลให้ E2F สามารถทำงานได้ การกระตุ้นการทำงานของ E2F ซึ่งเป็น transcription factors ทำให้มีการถอดรหัส (transcription) ของยีนต่างๆ เช่น cyclin E, cyclin A, DNA polymerase, thymidine kinase เป็นต้น และ cyclin E ที่ถูกสร้างขึ้นจะไปจับกับ CDK2 ทำให้ได้ cyclin E-CDK2 complex ซึ่งจะทำให้เซลล์ที่อยู่ในระยะ G1 เปลี่ยนไปอยู่ในระยะ S (G1/S transition) นอกจากนี้ยังพบว่า cyclin A-CDK2 complex อาจจะมีบทบาทในการเปลี่ยนจากระยะ G1 ไปเป็นระยะ S ของวงวัฏจักรของเซลล์ด้วย ที่ระยะ S เซลล์จะมีการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ (DNA replication) ในระยะนี้ cyclin A ซึ่งมีระดับต่ำในระยะ G1 จะเพิ่มสูงขึ้นไปจนเซลล์เข้าสู่ระยะ G2 และ cyclin A จะถูกสลายไปในระยะ M ดังนั้นการทำงานของ cyclin A จึงมีบทบาททำให้เซลล์เปลี่ยนจากระยะ G1 ไปอยู่ในระยะ S ต่อเนื่องไปถึงการดำเนินไปของระยะ S และการเปลี่ยนจากระยะ G2 ไปอยู่ในระยะ

M (G2/M transition) โดยปกติแล้ว cyclin A จะจับได้กับทั้ง CDK2 และ CDK1 โดยการทำงานของ cylin A-CDK2 complex จะมีบทบาทในการดำเนินไปของระยะ S ในขณะที่การทำงานของ cyclin A-CDK1 complex จะมีบทบาทในการเปลี่ยนจากระยะ G2 ไปอยู่ในระยะ M แม้ว่าการทำงานของ cyclin A-CDK2 complex จะพบได้ทั้งในระยะ S และ G_2 ด้วย แต่การทำงานของ cyclin A-CDK1 complex จะพบได้ในระยะ G_2 เท่านั้น การเปลี่ยนจากระยะ G2 ไปอยู่ในระยะ M และการดำเนินไปของระยะ M ถูกควบคุมโดยการทำงานของ cyclin B-CDK1 complex ซึ่งระดับของ cyclin B จะขึ้นลงอยู่ตลอดในระหว่างการดำเนินไปของวงวัฏจักรของเซลล์โดยพบได้ครั้งแรกในระยะ S และเพิ่มสูงขึ้นในระยะ G_2 จากนั้นจะสลายไปในการแบ่งเซลล์ขั้น anaphase ของระยะ M โดยการทำงานของ cyclin B จะมากที่สุดในช่วงที่มีการเปลี่ยนจากระยะ G2 ไประยะ M และคงอยู่ต่อไปจนกระทั่ง cyclin B ถูกสลายไป[39] โดยการดำเนินไปของวงวัฏจักรของเซลล์สามารถถูกยับยั้งโดยโปรตีน p21/Waf1 เนื่องจาก p21/Waf1 เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ cyclin/CDK2 complexes หรือ cyclin/CDK1 complexes โดยการแสดงออกของโปรตีน p21/Waf1 ถูกควบคุมโดยโปรตีน p53 ซึ่งถือเป็น tumor suppressor protein[39]

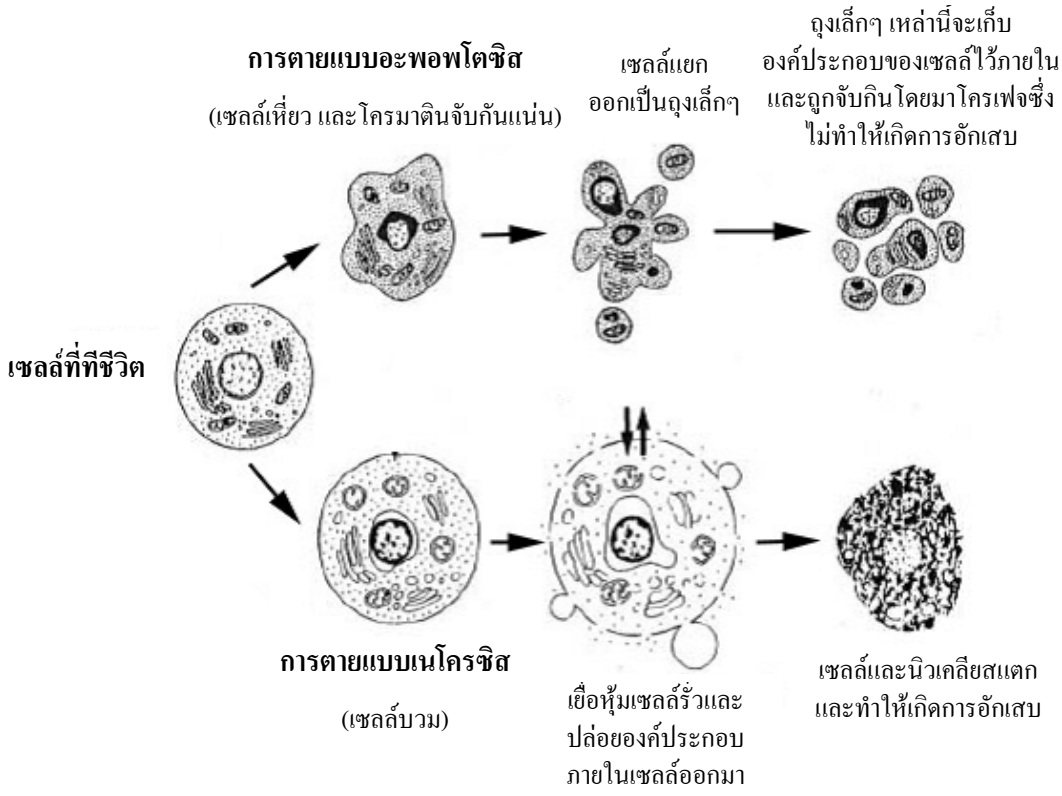
ข้อมูลจากการศึกษาก่อนหน้านี้บ่งชี้ว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิด เช่น apiginin และ EGCG สามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งโดยการหยุดวงวัฏจักรของเซลล์มะเร็ง (cell cycle arrest) ที่ระยะ G1 ซึ่งเป็นผลมาจากการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่ควบคุมการดำเนินไปของวงวัฏจักรของเซลล์ ได้แก่ cyclin D, cyclin E, CDK4, CDK1 ร่วมกับการกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน p21/Waf1และ p53 ส่งผลให้เกิดการชักนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิส[20, 21, 40] นอกจากนี้ flavones ซึ่งได้แก่ apigenin, luteolin, chrysin และ flavonols ซึ่งได้แก่ quercetin, kaempferol, myricetin สามารถชักนำการหยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ G2/M ซึ่งส่งผลให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบอะพอพโตซิส โดยผ่านกลไกการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน p21/Waf1 และลดการแสดงออกของโปรตีน cyclin B โดยไม่ขึ้นอยู่กับการแสดงออกของโปรตีน p53[22] และยังพบว่า quercetin และ luteolin สามารถชักนำการตายของเซลล์มะเร็งแบบอะพอพโตซิส โดยทำให้เกิดการหยุดวงวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะ S ผ่านทางกลไกการลดการแสดงออกของ CDK2, cyclin A และ cyclin B ร่วมกับการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน p53[41, 42]

การยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับนิวเคลียร์แฟคเตอร์ แคปปา บี

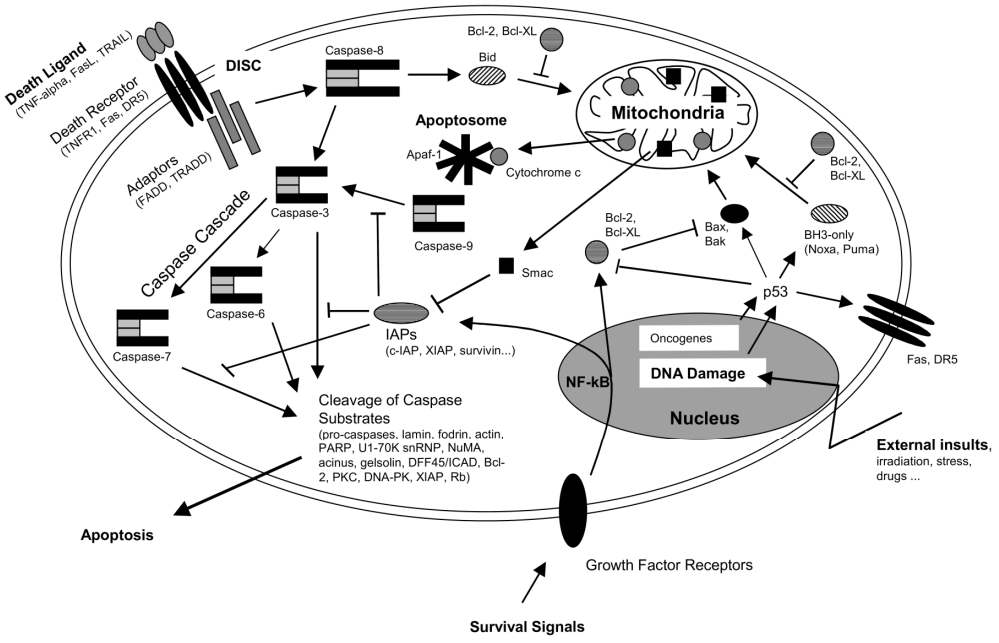
นิวเคลียร์แฟคเตอร์ แคปปา บี (NFκB) เป็นกลุ่มของโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นทรานสคริปชันแฟคเตอร์ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน การเจริญเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และการยับยั้งการตายแบบอะพอพโตซิสของเซลล์ในสตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยโปรตีนที่จัดอยู่ในกลุ่ม NFκB ได้แก่ RelA (p65), RelB, c-Rel, p105/p50 (NFκB1) และ p100/p52 (NFκB2) ซึ่งในเซลล์ส่วนใหญ่ NFκB จะอยู่ในรูปของ heterodimer ซึ่งประกอบด้วย p65 และ p50 โดย p65 ทำหน้าที่ในการกระตุ้นการแสดงออกของยีน (transactivation) ในกรณีที่เซลล์ไม่ถูกกระตุ้น NFκB จะอยู่ในไซโตพลาซึมในรูป inactive complex ที่จับอยู่กับ IκBα และเมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วยสิ่งเร้า เช่น TNF-α, IL-1, phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA), lipopolysaccharide, การฉายรังสี และยาบางชนิด IκBα จะถูกเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) และถูกสลายโดยกระบวนการที่อาศัยยูบิควิติน (ubiquitin-dependent proteolysis) ซึ่งจะทำให้ NFκB สามารถเข้าไปอยู่ในนิวเคลียสและกระตุ้นกระบวนการทรานสคริปชันหรือการแสดงออกของยีน[43] จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า NFκB มีบทบาทในการเกิดมะเร็ง การแบ่งตัวเพิ่มจำนวน การแพร่กระจาย และการดื้อยาของเซลล์มะเร็ง โดย NFκB ไปกระตุ้นยีนที่ไปยับยั้งการตายแบบอะพอพโตซิส (เช่น *bcl-2, bcl-xL, A1/Bfl1*) การอักเสบและการแพร่กระจาย (*เช่น IL6, IL8, MCP1, A20*) วงวัฏจักรของเซลล์ (เช่น *cyclinD1*), การสร้างหลอดเลือดใหม่ (เช่น *VEGF*) การดื้อยาแบบหลายขนาน (เช่น *mdr1*)[11, 44, 45] การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีเคมีบำบัดทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการดื้อยา ดังนั้นจึงมีการนำสารประกอบจากพืชมาศึกษาการ

ออกฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยผ่านกลไกการยับยั้งการทำงานของ NFκB ในเซลล์มะเร็งเพื่อใช้เป็นกลยุทธ์ในการรักษามะเร็ง โดยการชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส การยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็ง รวมถึงการเอาชนะการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม isoflavones ซึ่งมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนและพบได้ในพืช (phytoestrogen) โดยเฉพาะอย่างยิ่งถั่วเหลืองสามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ถูกกระตุ้นด้วย NFκB ในเซลล์มะเร็งเต้านมที่มีความสามารถแพร่กระจายสูงโดยไม่ขึ้นอยู่กับฤทธิ์เอสโตรเจน[24] และยังพบอีกว่าการกระตุ้นการทำงานของ NFκB และการส่งสัญญาณผ่านทาง Akt kinase pathway ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการตายแบบอะพอพโตซิส การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการสร้างหลอดเลือดใหม่ ถูกยับยั้งได้ด้วย genistein ซึ่งก็เป็นสารในกลุ่ม isoflavones เช่นกัน[23] นอกจากนี้ยังพบว่า EGCG ที่พบในชาเขียวสามารถไปลดการทำงานของเอนไซม์ IκB kinase และยับยั้งการเข้าสู่นิวเคลียสของ NFκB ทำให้ส่งผลต่อการควบคุมการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน การมีชีวิต และการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยผลดังกล่าวนี้เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่สำคัญ [เช่น mitogen-activated protein kinases (MAPKs), protein kinase C (PKC) matrix metalloproteinases (MMPs)] การลดปริมาณโปรตีนที่ควบคุมวงวัฏจักรของเซลล์ (เช่น cyclins) การลดปริมาณโปรตีนที่ควบคุมการสร้างโดย oncogenes (เช่น โปรตีนในกลุ่ม bcl-2) และการเพิ่มปริมาณโปรตีนปริมาณโปรตีนที่ควบคุมการสร้างโดย tumor suppressor genes (เช่น โปรตีน p53) รวมถึงการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่โดยการลดการสร้างโปรตีน VEGF[14] และพบว่า EGCG ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสของเซลล์มะเร็ง โดยการยับยั้งการส่งสัญญาณผ่านทางเอนไซม์ kinases เช่น extracellular signal-regulated protein kinase 1/2 (ERK1/2), c-Jun N-terminal protein kinase (JNK), and p38 MAPK[46] และยิ่งไปกว่านั้น EGCG ยังสามารถยับยั้งการจับกับ DNA ของ NFκB และ cAMP response element-binding (CREB) รวมถึงการยับยั้งการเติมหมู่ฟอสเฟตและการสลาย IκBα ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเข้าสู่นิวเคลียสของ p65 และกลไกของการออกฤทธิ์ดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase (COX)-2 และลดการอักเสบที่เกิดจากเซลล์มะเร็งในหนูเมาส์ที่ถูกชักนำให้เป็นมะเร็งผิวหนัง[15] แต่อย่างไรก็ตามการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์อาจจะไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อเซลล์มะเร็ง โดยอาจส่งผลต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันต่อเซลล์มะเร็งซึ่งทำให้เกิดการอักเสบ โดยมีรายงานว่า procyanidins, genistein, kaempferol, quercetin และ daidzein ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการทำงานของมาโครเฟจที่ถูกกระตุ้นซึ่งเกิดจากผลของการยับยั้งการส่งสัญญาณของ NFκB[16, 47] หรืออาจส่งผลต่อเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ในก้อนมะเร็ง โดยมีรายงานอีกว่า delphinidin และ cyanidin ที่พบในไวน์แดงสามารถยับยั้งการหลั่ง VEGF ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดที่ถูกชักนำด้วย platelet derived growth factor-AB (PDGF-AB) โดยการยับยั้งการทำงานของ NFκB ซึ่งเป็นผลมาจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ p38 MAPK และ JNK[48] จากการศึกษาที่ผ่านมาโดยกลุ่มวิจัยของเราพบว่า quercetin, kaempferol, eriodictyol and 5,3'-dihydroxy-3,6,7,8,4'-pentamethoxyflavone ไปรบกวนกระบวนการกระตุ้นการทำงานของ NFκB ส่งผลให้มีการชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส และยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการอักเสบ การสร้างหลอดเลือดใหม่ วงวัฏจักรของเซลล์ การแพร่กระจายและการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง[11]



รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ที่ตายแบบอะพอพโตซิส[27]

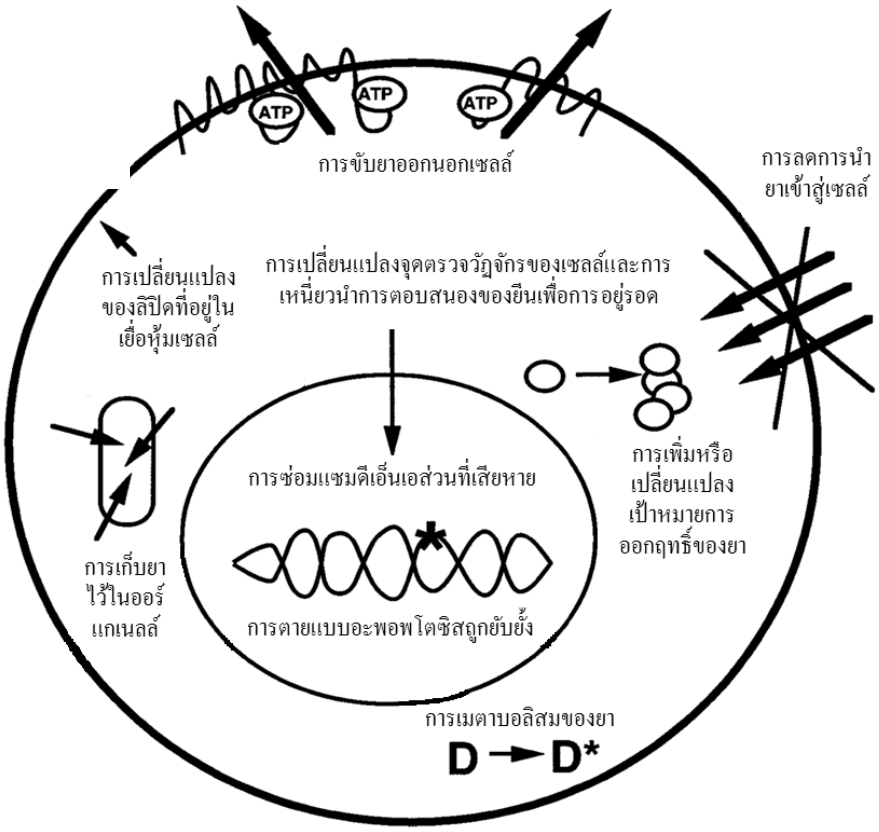


รูปที่ 3 วิถีการตายแบบอะพอพโตซิส[27]

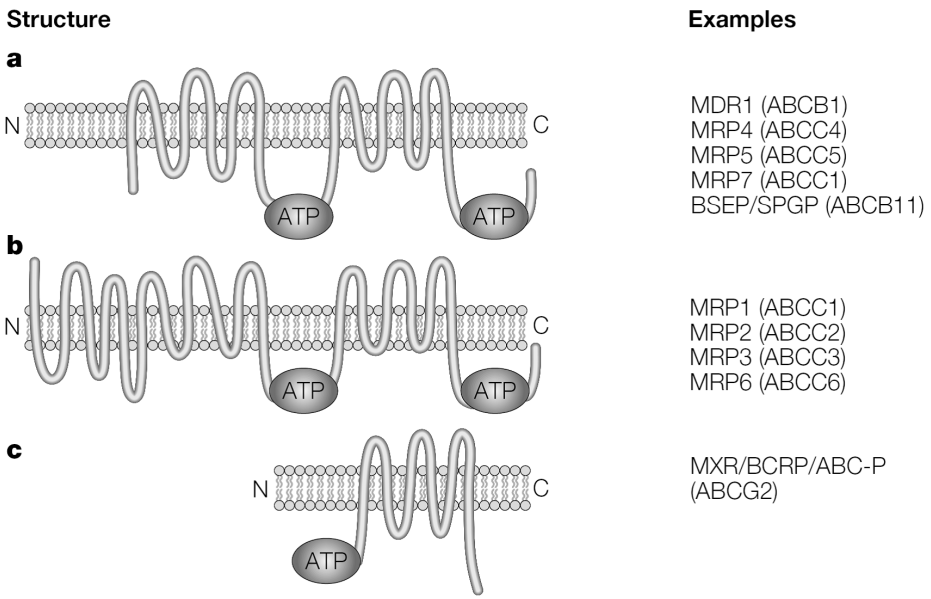
การเอาชนะการดื้อยาแบบหลายขนานที่เกี่ยวกับ ATP-binding cassette transporters

การดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง คือการที่เซลล์มะเร็งได้รับยารักษามะเร็งชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียวแต่ทำให้เซลล์มะเร็งนั้นเกิดการดื้อต่อยารักษามะเร็งชนิดอื่นๆ ซึ่งมีโครงสร้างแตกต่างกันได้หลายชนิด ซึ่งทำให้การรักษาโรคมะเร็งด้วยยาเคมีบำบัดไม่ได้ผลแม้ว่าจะรักษาด้วยยาหลายตัวก็ตาม จึงทำให้การดื้อยาแบบหลายขนานเป็นอุปสรรคสำคัญที่ทำให้การรักษาโรคมะเร็งไม่ประสบผลสำเร็จ การดื้อยาแบบหลายขนานเกิดจากปัจจัยของเซลล์ (รูปที่ 4) ได้แก่ การขับยาออกนอกเซลล์ การลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ การเปลี่ยนแปลงของลิปิดที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ การเก็บยาไว้ในออร์แกเนลล์บางชนิด การเปลี่ยนแปลงจุดตรวจวงวัฏจักรของเซลล์ การเพิ่มหรือเปลี่ยนแปลงเป้าหมายของยา การเมแทบอลิซึมของยา การชักนำการตอบสนองของยีนเพื่อการอยู่รอด ซึ่งทำให้มีการซ่อมแซมส่วนที่เสียหายและยับยั้งการตายแบบอะพอพโตซิสของเซลล์ เช่น การยับยั้งโปรตีน p53[49] สำหรับการแสดงออกของโปรตีนที่อาศัยเอทีพีในการขับยาออกนอกเซลล์ (ATP-dependent efflux pumps) ซึ่งโปรตีนหนึ่งตัวมีความจำเพาะกับยาได้หลายชนิด โปรตีนเหล่านี้จัดอยู่ในกลุ่ม ATP-binding cassette (ABC) transporters ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างและลำดับกรดอะมิโนที่คล้ายกันได้ 7 กลุ่ม คือ ABCA ถึง ABCG โดยโครงสร้างของ ABC transporters สามารถจำแนกออกเป็นอีก 3 แบบ (รูปที่ 5) ได้แก่ แบบที่ 1 มี 12 transmembrane domains และ 2 ATP-binding sites เช่น Multidrug resistance 1 (MDR1) หรือ P-glycoprotein (P-gp) และ multidrug resistance-associated protein 4, 5, 7 (MRP4, 5, 7) (รูปที่ 4a) แบบที่ 2 มี 17 transmembrane domains และ 2 ATP-binding sites เช่น MRP1, 2, 3 และ 6 (รูปที่ 4b) และแบบที่ 3 เรียกว่า “half-transporter” มี 6 transmembrane domains และ 1 ATP-binding sites เช่น breast cancer resistant protein (BCRP) (รูปที่ 4c) การดื้อยาแบบนี้เกิดจากการขนส่งยาออกนอกเซลล์โดยโปรตีนเหล่านี้ทำให้ความเข้มข้นของยาภายในเซลล์ต่ำลง โดยยาที่เป็นซับสเตรตหรือถูกขนส่งโดยโปรตีนเหล่านี้ ได้แก่ ยาในกลุ่มวินกาอัลคาลอยด์ (vinca alkaloids) เช่น วินบลาสติน (vinblastine) วินคริสติน (vincristine) ยาในกลุ่มแอนทราไซคลิน (anthracyclines) เช่น ดอกโซรูบิซิน (doxorubicin) ดอนโนรูบิซิน (daunorubicin) ยาในกลุ่มที่เป็นตัวยับยั้งการทรานสคริปชัน (RNA transcription inhibitor) เช่น แอคติโนมัยซิน ดี (actinomycin-D) และยาในกลุ่มที่ทำให้ไมโครทูบูลมีความเสถียร (microtubule-stabilizing drug) เช่น พาคลิแท็กเซล (paclitaxel) นอกจากนี้โปรตีน ABC transporters ยังอาจถูกยับยั้งด้วยสารที่เรียกว่า “MDR inhibitor”[45]

จากการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ต่อเซลล์มะเร็งที่มีการดื้อยาแบบหลายขนานพบว่าสารกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการทำงานของโปรตีนในกลุ่ม ABC transporters เช่น P-gp, MRP1, BCRP[17, 50, 51] จากการศึกษาที่ผ่านมายังพบอีกว่าเซลล์มะเร็งที่มีการดื้อยาจะต้องการพลังงานในรูปของ ATP มากกว่าเซลล์มะเร็งที่ไวต่อยาเนื่องจากเซลล์ที่ดื้อต่อยาต้องอาศัย ATP ในการขนส่งยาออกนอกเซลล์โดยโปรตีนขนส่ง และการสร้าง ATP จะเกี่ยวข้องกับการทำงานของไมโทคอนเดรียและบ่งชี้ถึงสถานะเชิงพลังงานของเซลล์ โดยพบว่าความต่างศักย์เมมเบรนไมโทคอนเดรีย ($\Delta\Psi_m$) จะเป็นตัวบ่งชี้การทำงานของไมโทคอนเดรีย และสถานะเชิงพลังงานของเซลล์ ซึ่งการทำให้ค่า $\Delta\Psi_m$ ลดลงจะไปชักนำให้เซลล์เข้าสู่การตายแบบอะพอพโตซิส เนื่องจากไมโทคอนเดรียเป็นศูนย์กลางของวิถีภายในเซลล์ของกลไกการตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิส (intrinsic pathway of apoptosis) ดังนั้นการทำให้เซลล์มะเร็งที่ดื้อยาสูญเสียความต่างศักย์เมมเบรนไมโทคอนเดรียจึงเป็นกลยุทธที่ดีสำหรับการเอาชนะปัญหาการดื้อยาแบบหลายขนาน จากรายงานวิจัยแสดงให้เห็นว่า quercetin สามารถลดค่า $\Delta\Psi_m$ และส่งผลให้เกิดการชักนำการตายแบบอะพอพโตซิสในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยาแบบหลายขนานซึ่งมีการแสดงออกของ P-gp มากกว่าปกติ[7] นอกจากนี้พบว่าสารกลุ่ม isoflavones และอนุพันธ์ของ quercetin สามารถเอาชนะการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกที่มากกว่าปกติของโปรตีน ABC transporters โดยอาศัยกลไกการยับยั้งเอนไซม์ 17β-hydroxysteroid dehydrogenase (17β-HSD), PIM-1 kinase, CDKs และยับยั้งการส่งสัญญาณภายในเซลล์ผ่านทาง PI3K/Akt pathway และพบอีกว่าการใช้สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ร่วมกับ TRAIL หรือยาเคมีบำบัดที่ใช้ในปัจจุบันจะทำให้การรักษามะเร็งที่มีการดื้อต่อยาแบบหลายขนานมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น[50, 51]



รูปที่ 4 ปัจจัยของเซลล์ที่ทำให้เกิดการดื้อยาแบบหลายขนาน[45]



รูปที่ 5 โครงสร้างของโปรตีน ABC[45]

สรุป

กลยุทธ์ในการรักษาโรคมะเร็งคือการหาสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์และชักนำการตายของเซลล์มะเร็งโดยไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติ และสามารถยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็ง เช่น การอักเสบ การสร้างหลอดเลือดใหม่ การแพร่กระจาย รวมถึงการเอาชนะปัญหาการดื้อยาของเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาเป็นจำนวนมากรายงานว่าสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ในธรรมชาติซึ่งเป็นสารที่พบมากในพืชสามารถออกฤทธิ์ต้านมะเร็งได้ และข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลบ่งชี้ว่าการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์ ได้แก่ การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งซึ่งเป็นผลมาจากการหยุดวงวัฏจักรของเซลล์และชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส รวมถึงการยับยั้งการอักเสบที่เกี่ยวกับโรคมะเร็ง การสร้างหลอดเลือดใหม่ การแพร่กระจาย และการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็งด้วย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการส่งสัญญาณภายในเซลล์และการแสดงออกของยีนที่ขึ้นอยู่กับทรานสคริปชันแฟคเตอร์ NFκB รวมถึงการทำให้เกิดความเสียหายที่ระดับไมโทคอนเดรียของซึ่งส่งผลต่อสถานะเชิงพลังงานของเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์อาจจะไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อเซลล์มะเร็ง แต่อาจออกฤทธิ์กับเซลล์อื่นๆ เช่น การยับยั้งการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันต่อเซลล์มะเร็งซึ่งจะส่งผลในการต้านการอักเสบที่เกิดจากโรคมะเร็ง หรือการยับยั้งการหลั่ง VEGF ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดซึ่งส่งผลไปขัดขวางการสร้างหลอดเลือดใหม่ในก้อนมะเร็ง (ตารางที่ 2) ดังนั้นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์จึงมีศักยภาพในการรักษาโรคมะเร็งโดยการชักนำให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบอะพอพโตซิส การยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็ง รวมถึงการเอาชนะปัญหาการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็งได้ อย่างไรก็ตามข้อมูลส่วนใหญ่ได้มาจากการศึกษาในหลอดทดลอง จึงยังมีความต้องการข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลองและการศึกษาทางคลินิคซึ่งมีความซับซ้อนและใกล้กับการใช้งานจริงมากกว่า เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนยิ่งขึ้นสำหรับการพัฒนาสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ไปเป็นยารักษาโรคมะเร็งที่มีประสิทธิภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สำรี มั่นเขตต์กรน์ ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาอ่านและให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ต่อเนื้อหาในบทความ

เอกสารอ้างอิง

1. Crozier A, Burns J, Aziz AA, Stewart AJ, Rabiasz HS, Jenkins GI, et al. Antioxidant flavonols from fruits, vegetables and beverages: measurements and bioavailability. Biol Res 2000;33:79-88.
2. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 2000;55:481-504.
3. Kuhnau J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. World Rev Nutr Diet 1976;24:117-91.
4. Pierpoint WS. Flavonoids in the human diet. Prog Clin Biol Res 1986;213:125-40.
5. Dechsupa S, Kothan S, Vergote J, Leger G, Martineau A, Berangeo S, et al. Quercetin, Siamois 1 and Siamois 2 induce apoptosis in human breast cancer MDA-mB-435 cells xenograft in vivo. Cancer Biol Ther 2007;6:56-61.
6. Galati G, O'Brien PJ. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. Free Radic Biol Med 2004;37:287-303.
7. Kothan S, Dechsupa S, Leger G, Moretti JL, Vergote J, Mankhetkorn S. Spontaneous mitochondrial membrane potential change during apoptotic induction by quercetin in K562 and K562/adr cells. Can J Physiol Pharmacol 2004;82:1084-90.
8. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod 2000;63:1035-42.
9. Rosen GM, Pou S, Ramos CL, Cohen MS, Britigan BE. Free radicals and phagocytic cells. FASEB J 1995;9:200-9.
10. Sun AY, Chen YM. Oxidative stress and neurodegenerative disorders. J Biomed Sci 1998;5:401-14.
11. Suttana W, Mankhetkorn S, Poompimon W, Palagani A, Zhokhov S, Gerlo S, et al. Differential chemosensitization of P-glycoprotein overexpressing K562/Adr cells by withaferin A and Siamois polyphenols. Molecular cancer 2010;9:99.

12. Constantinou A, Kiguchi K, Huberman E. Induction of differentiation and DNA strand breakage in human HL-60 and K-562 leukemia cells by genistein. Cancer Res 1990;50:2618-24.
13. Huang YT, Hwang JJ, Lee PP, Ke FC, Huang JH, Huang CJ, et al. Effects of luteolin and quercetin, inhibitors of tyrosine kinase, on cell growth and metastasis-associated properties in A431 cells overexpressing epidermal growth factor receptor. Br J Pharmacol 1999;128:999-1010.
14. Beltz LA, Bayer DK, Moss AL, Simet IM. Mechanisms of cancer prevention by green and black tea polyphenols. Anticancer Agents Med Chem 2006;6:389-406.
15. Kundu JK, Surh YJ. Epigallocatechin gallate inhibits phorbol ester-induced activation of NF-kappa B and CREB in mouse skin: role of p38 MAPK. Ann N Y Acad Sci 2007;1095:504-12.
16. Hamalainen M, Nieminen R, Vuorela P, Heinonen M, Moilanen E. Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kappaB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kappaB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. Mediators Inflamm 2007;2007:45673.
17. Michalak K, Wesolowska O. Polyphenols counteract tumor cell chemoresistance conferred by multidrug resistance proteins. Anticancer Agents Med Chem 2012;12:880-90.
18. Edwards JM, Raffauf RF, Le Quesne PW. Antineoplastic activity and cytotoxicity of flavones, isoflavones, and flavanones. J Nat Prod 1979;42:85-91.
19. Molnar J, Beladi I, Domonkos K, Foldeak S, Boda K, Veckenstedt A. Antitumor activity of flavonoids on NK/Ly ascites tumor cells. Neoplasma 1981;28:11-8.
20. Kobayashi T, Nakata T, Kuzumaki T. Effect of flavonoids on cell cycle progression in prostate cancer cells. Cancer Lett 2002;176:17-23.
21. Thangapazham RL, Singh AK, Sharma A, Warren J, Gaddipati JP, Maheshwari RK. Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells in vitro and in vivo. Cancer Lett 2007;245:232-41.
22. Zhang Q, Zhao XH, Wang ZJ. Cytotoxicity of flavones and flavonols to a human esophageal squamous cell carcinoma cell line (KYSE-510) by induction of G2/M arrest and apoptosis. Toxicol In Vitro 2009;23:797-807.
23. Gong L, Li Y, Nedeljkovic-Kurepa A, Sarkar FH. Inactivation of NF-kappaB by genistein is mediated via Akt signaling pathway in breast cancer cells. Oncogene 2003;22:4702-9.
24. Vanden Berghe W, Dijsselbloem N, Vermeulen L, Ndlovu MN, Boone E, Haegeman G. Attenuation of mitogen- and stress-activated protein kinase-1-driven nuclear factor-kappaB gene expression by soy isoflavones does not require estrogenic activity. Cancer Res 2006;66:4852-62.
25. Hollman PCH. Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoids. Pharm Biol 2004;42:74–83.
26. Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. Cardiovasc Res 2000;45:528-37.
27. Gewies A. Introduction to Apoptosis. Aporeview 2003; 1: 1-26.
28. Denault JB, Salvesen GS. Caspases: keys in the ignition of cell death. Chem Rev 2002;102:4489-500.
29. Yin J, Xie X, Jia Q, Wang J, Huang G, Zou C, et al. [Effect and mechanism of quercetin on proliferation and apoptosis of human osteosarcoma cell U-2OS/MTX300]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2012;37:611-4.
30. Wang IK, Lin-Shiau SY, Lin JK. Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells. Eur J Cancer 1999;35:1517-25.
31. Luo H, Rankin GO, Li Z, Depriest L, Chen YC. Kaempferol induces apoptosis in ovarian cancer cells through activating p53 in the intrinsic pathway. Food Chem 2011;128:513-9.
32. Basu A, Haldar S. Combinatorial effect of epigallocatechin-3-gallate and TRAIL on pancreatic cancer cell death. Int J Oncol 2009;34:281-6.
33. Siegelin MD, Gaiser T, Habel A, Siegelin Y. Daidzein overcomes TRAIL-resistance in malignant glioma cells by modulating the expression of the intrinsic apoptotic inhibitor, bcl-2. Neurosci Lett 2009;454:223-8.
34. Siegelin MD, Gaiser T, Habel A, Siegelin Y. Myricetin sensitizes malignant glioma cells to TRAIL-mediated apoptosis by down-regulation of the short isoform of FLIP and bcl-2. Cancer Lett 2009;283(2):230-8.

35. Onoda C, Kuribayashi K, Nirasawa S, Tsuji N, Tanaka M, Kobayashi D, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis in gastric cancer cell lines by down-regulating survivin expression. Int J Oncol 2011;38:1403-8.
36. Lin HY, Hou SC, Chen SC, Kao MC, Yu CC, Funayama S, et al. (-)-Epigallocatechin gallate induces Fas/CD95-mediated apoptosis through inhibiting constitutive and IL-6-induced JAK/STAT3 signaling in head and neck squamous cell carcinoma cells. J Agric Food Chem 2012;60:2480-9.
37. Berindan-Neagoe I, Braicu C, Tudoran O, Balacescu O, Irimie A. Early apoptosis signals induced by a low dose of epigallocatechin 3-gallate interfere with apoptotic and cell death pathways. J Nanosci Nanotechnol 2012;12:2113-9.
38. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, et al. Molecular Biology of the Cell. 5th ed. New York: WH Freeman; 2004.
39. Gartel AL, Radhakrishnan SK. Lost in transcription: p21 repression, mechanisms, and consequences. Cancer Res 2005;65:3980-5.
40. Zheng PW, Chiang LC, Lin CC. Apigenin induced apoptosis through p53-dependent pathway in human cervical carcinoma cells. Life Sci 2005;76:1367-79.
41. Chen Q, Liu S, Chen J, Zhang Q, Lin S, Chen Z, et al. Luteolin induces mitochondria-dependent apoptosis in human lung adenocarcinoma cell. Nat Prod Commun 2012;7:29-32.
42. Chou CC, Yang JS, Lu HF, Ip SW, Lo C, Wu CC, et al. Quercetin-mediated cell cycle arrest and apoptosis involving activation of a caspase cascade through the mitochondrial pathway in human breast cancer MCF-7 cells. Arch Pharm Res 2010;33:1181-91.
43. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. Genes Dev 2004;18:2195-224.
44. Barkett M, Gilmore TD. Control of apoptosis by Rel/NF-kappaB transcription factors. Oncogene 1999;18:6910-24.
45. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. Nat Rev Cancer 2002;2:48-58.
46. Lim YC, Cha YY. Epigallocatechin-3-gallate induces growth inhibition and apoptosis of human anaplastic thyroid carcinoma cells through suppression of EGFR/ERK pathway and cyclin B1/CDK1 complex. J Surg Oncol 2011;104:776-80.
47. Terra X, Valls J, Vitrac X, Merrillon JM, Arola L, Ardevol A, et al. Grape-seed procyanidins act as antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFkB signaling pathway. J Agric Food Chem 2007;55:4357-65.
48. Oak MH, Bedoui JE, Madeira SV, Chalupsky K, Schini-Kerth VB. Delphinidin and cyanidin inhibit PDGF(AB)-induced VEGF release in vascular smooth muscle cells by preventing activation of p38 MAPK and JNK. Br J Pharmacol 2006;149:283-90.
49. Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance. Annu Rev Med. 2002;53:615-27.
50. Imai Y, Yoshimori M, Fukuda K, Yamagishi H, Ueda Y. The PI3K/Akt inhibitor LY294002 reverses BCRP-mediated drug resistance without affecting BCRP translocation. Oncol Rep 2012 ;27:1703-9.
51. Mercader AG, Pomilio AB. (Iso)Flav(an)ones, Chalcones, Catechins, and Theaflavins as Anticarcinogens: Mechanisms, Anti-Multidrug Resistance and QSAR Studies. Curr Med Chem 2012;19:4324-47.