นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและยับยั้งการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน (*WT1*) ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว[@]

สุวรรณา เสมศรี[1]
ชฎารัตน์ อัมพะเศวต[2]
ศิริพร โอโกโนกิ[2]
มงคล ศรีคำชุม[1]
ทรงยศ อนุชปรีดา[1]

Effect of Mangosteen peel fraction extracts on *WT1* gene and WT1 protein expression in leukemic cell lines

Semsri S[1], Ampasavate C[2], Okonogi S[2], Srikamchum M[1], Anuchapreeda S[1].
[1]Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences,
[2]Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy,
Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

Songkla Med J 2009;27(5):389-403

[@]งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2549-2551 และสำนักงานคณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ (วช)

[1]ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ [2]ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

รับต้นฉบับวันที่ 20 เมษายน 2552 รับลงตีพิมพ์วันที่ 4 กันยายน 2552

Abstract:

This study aimed to investigate the effects of mangosteen peel fractional extracts on the cytotoxicity, Wilms' tumor 1 (WT1) mRNA and WT1 protein levels of four leukemic cell lines (K562, U937, Molt4, and HL60) using MTT assay, reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and quantitative RT-PCR (real time RT-PCR) techniques, and Western blot analysis in those four leukemic cell lines. The results showed that ethyl acetate fraction of mangosteen peel extract gave the best cytotoxicity to leukemic cells and also decreased rate of cell proliferation in K562 cells. However, the ethanolic fraction extract showed the best result in Molt4 and U937 cells, and the butanol fraction extract showed the best result in HL60 cells when compared to vehicle control. The WT1 gene expression inhibit in all mangosteen active fractions at non-toxic dose (Inhibitory concentration at 20% growth; IC_{20}) in four cell lines and showed that all the active fractions decreased WT1 mRNA levels in a dose and time dependent manner.

Key words: *leukemia, Mangosteen peel fraction extract, Wilms' tumor 1 gene, Wilms' tumor 1 protein*

บทคัดย่อ:

การศึกษาสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุด ต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและยับยั้งการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว 4 ชนิด (K562, Molt4, U937 และ HL60) โดยวิธี 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT), reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) และ quantitative RT-PCR (Real time RT-PCR) และ Western blot ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดจากเอทธิลอะซิเตตสามารถทำลายเซลล์มะเร็ง และลดอัตราการแบ่งตัวของเซลล์ K562 ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดที่ได้จากเอทธานอล พบว่าให้ผลต่อเซลล์ Molt4 และ U937 ได้ดีที่สุด และสารสกัดจากบิวทานอล ให้ผลต่อเซลล์ HL60 ได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดที่ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์กับการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดที่สกัดได้จากตัวทำละลายที่ให้ผลที่ดีจากการลดอัตราการแบ่งตัวของเซลล์ สามารถลดการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดนั้นได้ และยังมีฤทธิ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นด้วย

คำสำคัญ: *เปลือกมังคุดสกัดแยกส่วน, โปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน, มะเร็งเม็ดเลือดขาว, ยีนวิล์มทูเมอร์วัน*

บทนำ

การแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน[1] (*Wilms' tumor 1 gene* หรือ *WT1* gene) ที่เพิ่มสูงขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดตัวอ่อนของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวแทบทุกชนิด ยีนวิล์มทูเมอร์วัน เป็นยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเจริญเติบโต และพัฒนาการของเซลล์ชนิดต่างๆ[2-3] โดยมีปริมาณการแสดงออกเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว[4] จากการศึกษาพบว่าการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในการตรวจสอบการดำเนินของโรคได้

ได้พยายามนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเพื่อลดผลข้างเคียง ซึ่งหนึ่งในสารสกัดธรรมชาติที่น่าสนใจคือ มังคุด มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* Linn. ในส่วนของเปลือกถูกนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านหรือยาแผนโบราณในการรักษาอาการปวดท้อง โรคกระเพาะเรื้อรัง และโกโนเรีย เป็นต้น[5-7] นอกจากนั้นยังพบว่าสามารถใช้ในการต่อต้านการอักเสบได้[8] และจากการศึกษาของ Williams และคณะ[9] พบว่าเปลือกของมังคุดมีคุณสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนท์ มีสารประกอบต่างๆ หลายชนิดได้แก่ แทนนิน (tannins) สารในกลุ่มแซนโทน (xanthones) เช่น การ์ซิโนน (garcinone) การ์ทานิน (gartanin) แมงโกสติน (mangostin) เป็นต้น นอกจากนี้ก็มีสารในกลุ่มอื่นอีกหลายชนิด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว 4 ชนิด คือ human erythroid leukemia (K562), human promyeloid leukemia (HL60), human monocytic leukemia (U937) และ human lymphoblastic leukemia (Molt4) และยับยั้งการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว 4 ชนิด โดยวิธี RT-PCR, quantitative RT-PCR (real time RT-PCR) และ Western blot

วัสดุและวิธีการ

การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562, Molt4, U937 และ HL60

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.ฉายสุรีย์ ศุภวิไล Molt4, U937 และ HL-60 ได้รับความอนุเคราะห์จาก ศาสตราจารย์ ดร.วัชระ กสิณฤกษ์ เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ complete RPMI1640 (GIBCO BRL, UK)

สารสกัดแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่ใช้ในการทดสอบ

นำเปลือกมังคุดมาอบแห้ง โดยใช้อุณหภูมิ 50 °ซ นาน 3 วัน ทำการแบ่งเปลือกมังคุดอบแห้งมา 400 กรัม สกัดด้วยร้อยละ 95 เอทธานอล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 3 ครั้ง จากนั้นนำมากรองเพื่อแยกเอากากออก แล้วนำสารละลายที่ได้มาทำให้เข้มข้นขึ้น โดยการระเหยด้วยเครื่อง evaporator จะได้ส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบเป็นส่วนที่ 1 ออกมา หลังจากนั้นทำการสกัดแบบแยกส่วน โดยการเพิ่มขั้วของสารสกัด โดยแบ่งเปลือกมังคุดแห้งมาปริมาณ 600 กรัม สกัดด้วยเฮกเซน (hexane) ซึ่งจะได้สารสกัดที่ไม่มีขั้ว (relative polarity เท่ากับ 0.009) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 3 ครั้ง จากนั้นนำมากรองเพื่อแยกเอากากออกแล้วนำสารละลายที่ได้มาทำการระเหยด้วยเครื่อง evaporator โดยให้เหลือส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบ หลังจากนั้นส่วนที่เป็นกากให้ทำการอบแห้งแล้วนำมาสกัดต่อด้วยสารละลายเอทธิลอะซิเตต (relative polarity เท่ากับ 0.228) เป็นส่วนที่ 3, บิวธานอล (relative polarity เท่ากับ 0.602) เป็นส่วน 4 และเมทธานอล (relative polarity เท่ากับ 0.762) เป็นส่วนที่ 5 ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง 3 ครั้ง

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดแยกส่วนเปลือกมังคุดและสารสกัดแมงโกสตินบริสุทธิ์ ชนิด แอลฟา (α) และเบต้า (β) แมงโกสตินรวมกัน (Indofine Chemical, New Jersey, USA) ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยวิธี MTT ใช้เซลล์เริ่มต้นเท่ากับ $1x10^5$ เซลล์/มล. ตามวิธีการของ Anuchapreeda และคณะ[10]

การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวร่วมกับสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดเพื่อศึกษาการยับยั้งการแสดงออกของยีนวิล์ม-ทูเมอร์วันและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน

การทดลองใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2.0x10^5 เซลล์/มล. สำหรับเซลล์ K562, Molt 4, HL60 และ 3.0x10^5 เซลล์/มล. สำหรับเซลล์ U937 โดยกลุ่มทดสอบจะเติมสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดโดยใช้ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (Inhibitory concentration at 20%; IC_{20}) ในขณะที่กลุ่มควบคุมจะเติมเฉพาะ Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในตู้บ่มคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อทำการทดสอบหาระดับการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน ต่อไป

การศึกษาระดับการแสดงออกของวิล์ม-ทูเมอร์วันเอ็มอาร์เอ็นเอ (WT1 mRNA) ในเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ

- **วิธี** RT-PCR

ศึกษาการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน โดยการวัดระดับของ WT1 mRNA ทำการทดลองตามวิธีการของสิงห์คำ ธิมา และคณะ[11]

- **วิธี** Real time RT-PCR

นำอาร์เอ็นเอที่สกัดจากชุดน้ำยาสำเร็จรูป High Pure Isolation RNA Kit (Roche, Germany) มาเปลี่ยนให้เป็น complementary deoxynucleic acid (cDNA) โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป Reverse transcription reagent Kit (Qiagen, USA) ใช้ primers และ probes ดังนี้ WT1 primers และ probe ประกอบด้วย WT1 forward primer: 5'-GATAACCACACAACGCCCATC-3', WT1 reverse primer: 5'-CACACGTCGCACATCCTGAAT-3' และ WT1 probe: 5'FAM-ACACCGTGCGTGTGTATTCTGTATTGG-TAMRA3' ส่วน β-actin primers และ probe ประกอบด้วย β-actin forward primer: 5'-CCCAGCACAATGAAGA TCAAGATCAT-3', β-actin reverse primer: 5'-ATCTGCT GGAAGGTGGACAGCGA-3' และ β-actin probe: 5'FAM-TGAGCGCAAGTACTCCGTGTGGAT CGGCG-TAMRA3' ทำปฏิกิริยาโดยใช้น้ำยา Quantitect™ probe PCR (Qiagen, USA) ใช้เครื่อง Chromo4 Real-Time PCR และวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Optical monitor 3 ทำการปรับเปรียบค่ากับยีน β-actin และคำนวณค่าการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันจากค่า $2^{-\ CT}$ (Normalized fold difference)

การศึกษาระดับการแสดงออกของโปรตีนวิลม์ทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ด้วยวิธี Western blot

นำเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ที่ผ่านการทดสอบมาทำการสกัดโปรตีนจากนิวเคลียส และศึกษาโปรตีนด้วยวิธี Western blot ตามวิธีการของ สิงห์คำ ธิมา และคณะ[11] โดยใช้แอนติบอดีชนิด rabbit polyclonal anti-WT1 clone C-19 (Santa Cruz, CA, USA)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ One-way ANOVA

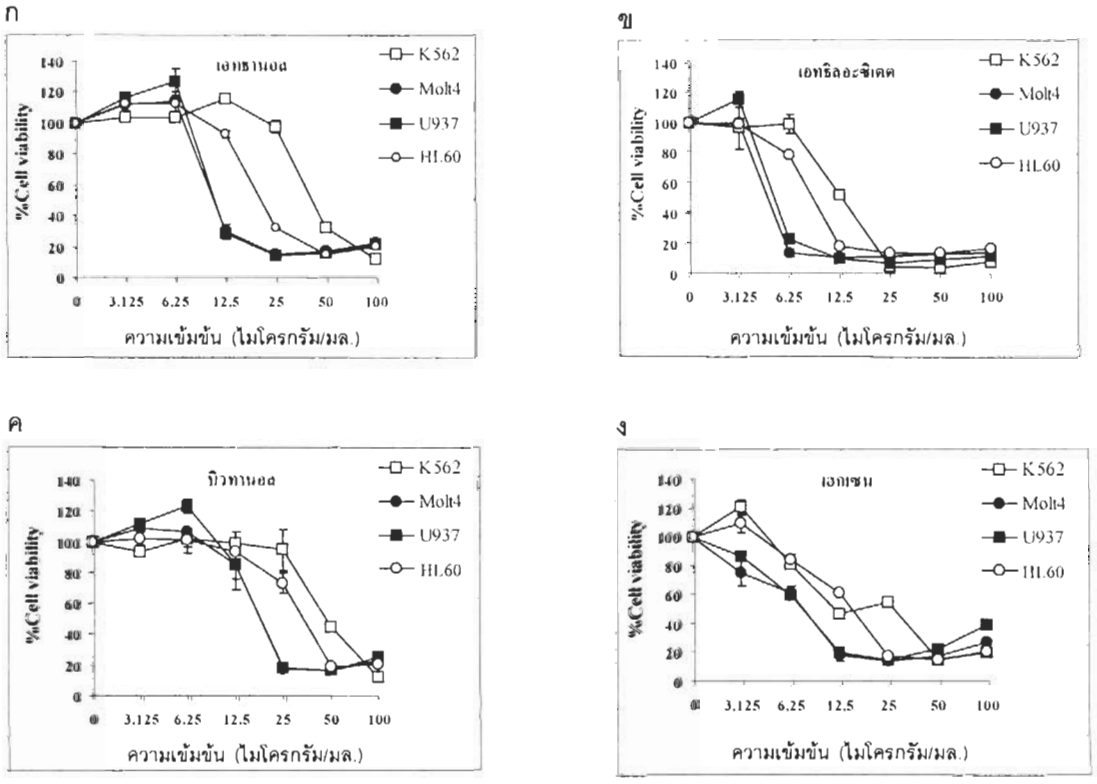
ผลการศึกษา

ปริมาณของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ได้หลังจากสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความแรงขั้วที่แตกต่างกัน

การศึกษาผลของการสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลาย ประกอบด้วย เมทธานอล เอทธานอล บิวทานอล เอทธิลอะซิเตต และเฮกเซน ซึ่งมีความแรงของขั้ว (relative polarity ซึ่งเปรียบเทียบกับน้ำที่มี polarity เท่ากับ 1.000) คือ 0.762, 0.654, 0.602, 0.228 และ 0.009 ตามลำดับ พบว่าร้อยละของผลได้ (%yield) คือ 5.1, 12.3, 4.0, 4.1 และ 4.1 ตามลำดับ

ผลความเป็นพิษของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดที่สกัดได้จากบิวทานอล เอทธานอล เอทธิลอะซิเตต และเฮกเซน สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิดได้ โดยทำการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารสกัดในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวลดลงครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) โดยสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดจากเอทธานอลสามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562, Molt4, U937 และ HL60 ที่ระดับความเข้มข้น 43.6 ± 0.6, 11.1 ± 0.2, 11.1 ± 0.2 และ 21.1 ± 0.4 มคก./มล. ตามลำดับ (รูปที่ 1ก) ส่วนที่สกัดจากเอทธิลอะซิเตตสามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 ± 0.7, 4.6 ± 0.1, 5.2 ± 0.1 และ 8.9 ± 0.2 มคก./มล. ตามลำดับ (รูปที่ 1ข) ส่วนที่สกัดจากบิวทานอลใช้ระดับความเข้มข้น 46.7 ± 0.6, 19.0 ± 1.8, 19.3 ± 0.7 และ 35.8 ± 2.4 มคก./มล. ตามลำดับ (รูปที่ 1ค) และส่วนที่สกัดได้จากเฮกเซนสามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 11.9 ± 0.2, 8.1 ± 0.6, 8.9 ± 0.9 และ 15.2 ± 0.3 มคก./มล. ตามลำดับ (รูปที่ 1ง) นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาสารสกัดบริสุทธิ์แมงโกสตินบริสุทธิ์ ชนิดแอลฟาและเบต้าแมงโกสตินรวมต่อความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.6 ± 0.1, 5.7 ± 1.9, 8.9 ± 0.6, และ 5.8 ± 0.2 มคก./มล. ตามลำดับ ส่วน 9-oxo-xanthene ให้ค่า IC_{50} ที่มากกว่า 100 มคก./มล. ตามลำดับ



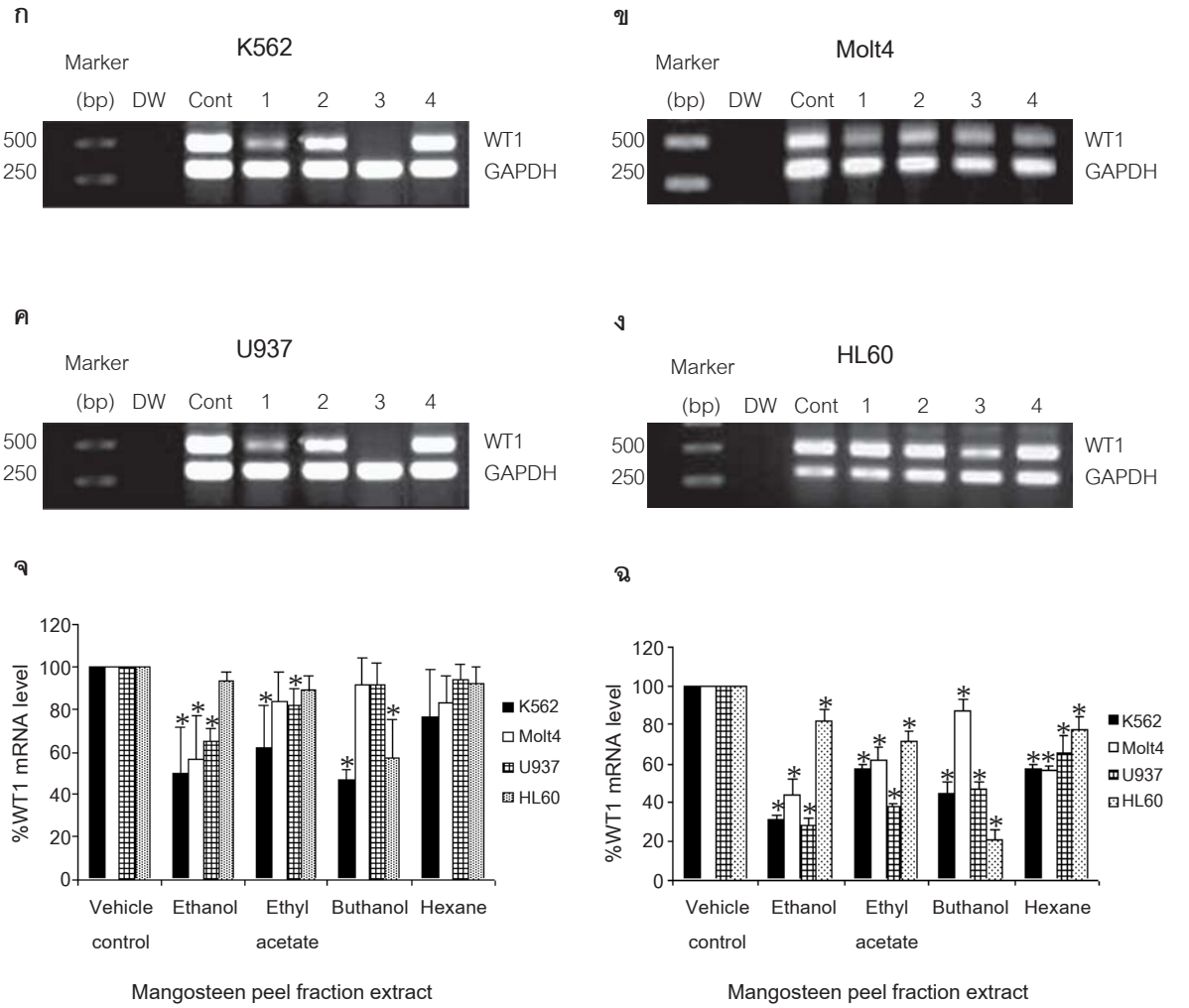
รูปที่ 1 ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว K562, Molt4, U937 และ HL60 โดยวิธี MTT assay (ก) สารสกัดแยกส่วนจากเอทธานอล (ข) สารสกัดแยกส่วนจากเอทธิอะซิเตต (ค) สารสกัดแยกส่วนจากบิวทานอล (ง) สารสกัดแยกส่วนจากเฮกเซน

ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดต่อระดับของวิล์มทูเมอร์วันเอ็มอาร์เอ็นเอในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

การศึกษาสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากบิวทานอล เอทธานอล เอทธิลอะซิเตต และเฮกเซน ที่ความเข้มข้น 32.6, 31.5, 8.6 และ 6.5 มคก./มล. ตามลำดับ โดยเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 พบว่าสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากบิวทานอล และเอทธานอลมีผลต่อการยับยั้งการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เอทธิลอะซิเตต และเฮกเซน คือ ร้อยละ 53, 50, 38 และ 24 ตามลำดับ (รูปที่ 2ก และ 2จ) สำหรับเซลล์ Molt4 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 13.3, 8.9, 3.2 และ 2.7 มคก./มล. ในการทดสอบตามลำดับ พบว่าส่วนที่สกัดจากเอทธานอลสามารถลดระดับการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันให้ผลดีที่สุด คือ ร้อยละ 44 รองลงมาคือ เฮกเซน เอทธิลอะซิเตต และบิวทานอล ร้อยละ 17, 16 และ 9 ตามลำดับ (รูปที่ 2ข และ 2จ) ส่วนในเซลล์ U937 ใช้ความเข้มข้น 13.6, 9.1, 4.3 และ 1.5 มคก./มล. พบว่าส่วนที่สกัดจากเอทธานอลสามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันได้ดีที่สุด คือ ร้อยละ 35 รองลงมา คือ เอทธิลอะซิเตต บิวทานอล และเฮกเซน ร้อยละ 18, 9 และ 6 ตามลำดับ (รูปที่ 2ค และ 2จ) และเซลล์ HL60 ใช้ความเข้มข้น 20.1, 15.7, 5.8 และ 7.3 มคก./มล. พบว่าส่วนที่สกัดได้จากบิวธานอล สามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันได้ดีที่สุด ร้อยละ 43 รองลงมาคือ เอทธิลอะซิเตต เฮกเซน และเอทธานอล ร้อยละ 11, 8 และ 7 ตามลำดับ (รูปที่ 2ง และ 2จ) และยังทำการตรวจยืนยันผลดังกล่าวด้วยวิธี real time RT-PCR พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกัน (รูปที่ 2ฉ)

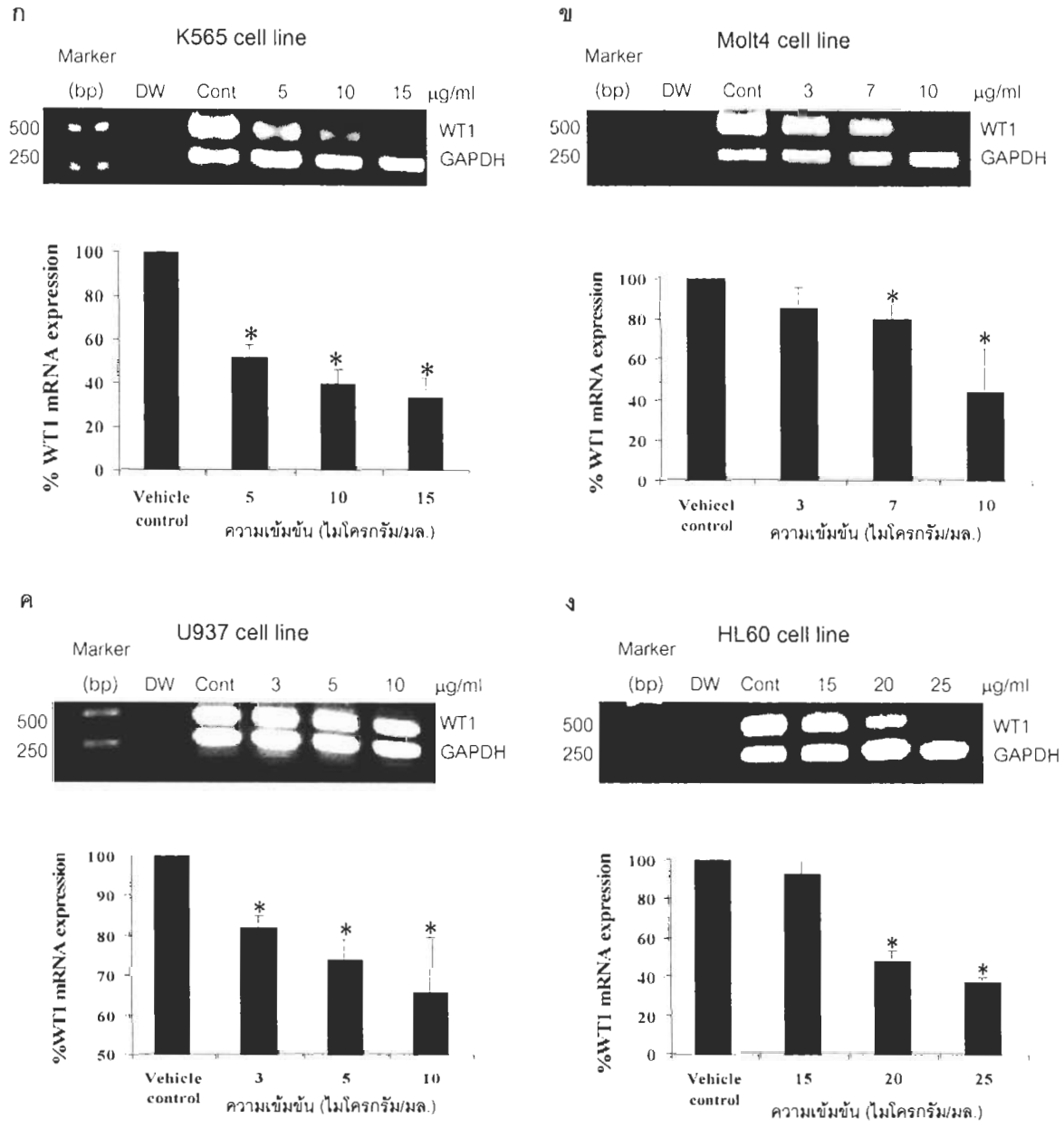
ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ ต่อระดับของวิล์มทูเมอร์วันเอ็มอาร์เอ็นเอในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

จากการศึกษาในเซลล์ K562 ถึงแม้ว่าสารสกัดจากบิวธานอล และเอทธานอล จะให้ผลในการยับยั้งที่ดี อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเอทธิลอะซิเตต ซึ่งใช้ในปริมาณน้อยกว่ามาก แต่ให้ผลในการยับยั้งที่ดี ดังนั้นจึงได้นำสารสกัดจากเอทธิลอะซิเตตมาใช้ในการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดต่อการแสดงออกของยีน WT1 โดยใช้ความเข้มข้น คือ 5, 10 และ 15 มคก./มล. เป็นระยะเวลา 2 วัน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดสามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มมากขึ้น คือ ร้อยละ 48, 60 และ 66 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p<0.05$) (รูปที่ 3ก) นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของระยะเวลาต่อการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน โดยใช้ความเข้มข้น 10 มคก./มล. เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 วัน พบว่าสามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันตามเวลาที่เพิ่มมากขึ้น คือ ร้อยละ 5, 8 และ 17 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 4ก) ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด Molt4 ใช้สารสกัดจากเอทธานอลที่ความเข้มข้น 3, 7 และ 10 มคก./มล. เป็นระยะเวลา 2 วัน พบว่าสามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น คือ ร้อยละ 15, 20 และ 66 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 3ข) นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของระยะเวลาต่อการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน โดยใช้ความเข้มข้น 7 มคก./มล. พบว่ามีผลทำให้การแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันลดลงตามเวลาที่เพิ่มมากขึ้น คือร้อยละ 8, 14 และ 28 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 4ข) สำหรับในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด U937 ใช้สารสกัดจากเอทธานอลที่ความเข้มข้น คือ 3, 5 และ 10 มคก./มล. เป็นระยะเวลา 2 วัน พบว่าสามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มมากขึ้น คือ ร้อยละ 18, 26 และ 34 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 3ค) นอกจากนี้ยังพบว่าที่ความเข้มข้น 5 มคก./มล. เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 วัน พบว่า



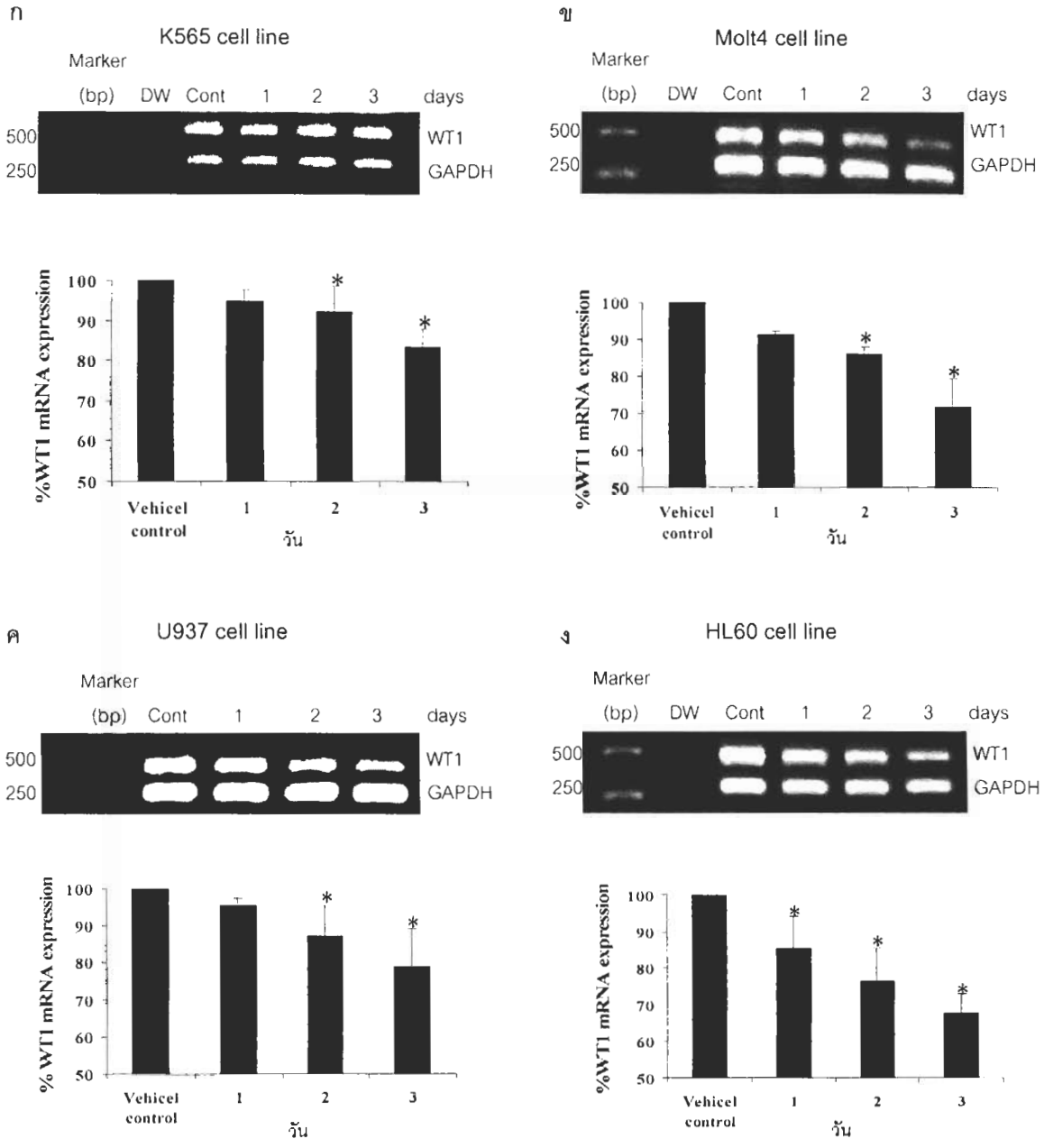
หมายเหตุ: Cont = กลุ่มควบคุม, Deionized distilled water (DW) = น้ำกลั่น (internal control), Cont = Vehicle control, 1 = สารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทธานอล, 2 = สารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทธิลอะซิเตต, 3 = สารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยบิวทานอล, 4 = สารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเฮกเซน และ * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

รูปที่ 2 ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดจากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการแสดงออกยีนวิล์มทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวด้วยวิธี RT-PCR **(ก) K562 (ข) Molt4 (ค) U937 (ง) HL60 (จ) กราฟแท่งแสดงระดับของยีนวิล์มทูเมอร์วันหลังการปรับเทียบค่าด้วยยีน** GAPDH **ซึ่งถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี** RT-PCR **(ฉ) กราฟแท่งแสดงระดับของยีนวิล์มทูเมอร์วันหลังการปรับเทียบค่าด้วยยีน** β-actin **ซึ่งถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี** Real time RT-PCR **(*) แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจาก** Vehicle control **อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ** ($p<0.05$)



หมายเหตุ: (ก) การศึกษาสารสกัดจากเอทธิลอะซีเตต ต่อการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน ในเซลล์ K562 (ข) การศึกษาสารสกัดจากเอทธานอลในเซลล์ Molt4 (ค) ศึกษาสารสกัดจากเอทธานอลในเซลล์ U937 (ง) การศึกษาสารสกัดจากบิวทานอลในเซลล์ HL60, Control (Cont) = กลุ่มควบคุม, Deionized distilled water (DW) = น้ำกลั่น (internal control), และ * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

รูปที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบต่อระดับของวิล์มทูเมอร์วันเอ็มอาร์เอ็นเอในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ



หมายเหตุ: (ก) การศึกษาสารสกัดจากเอทธิลอะซิเตตต่อการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์ K562 (ข) การศึกษาสารสกัดจากเอทธานอลในเซลล์ Molt4 (ค) ศึกษาสารสกัดจากเอทธานอลในเซลล์ U937 (ง) การศึกษาสารสกัดจากบิวทานอล ในเซลล์ HL60, Control (Cont) = กลุ่มควบคุม, Deionized distilled water (DW) = น้ำกลั่น (internal control), และ * แสดงถึงผลการทดลองที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

รูปที่ 4 ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดสอบต่อระดับของวิล์มทูเมอร์วันเอ็มอาร์เอ็นเอในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ

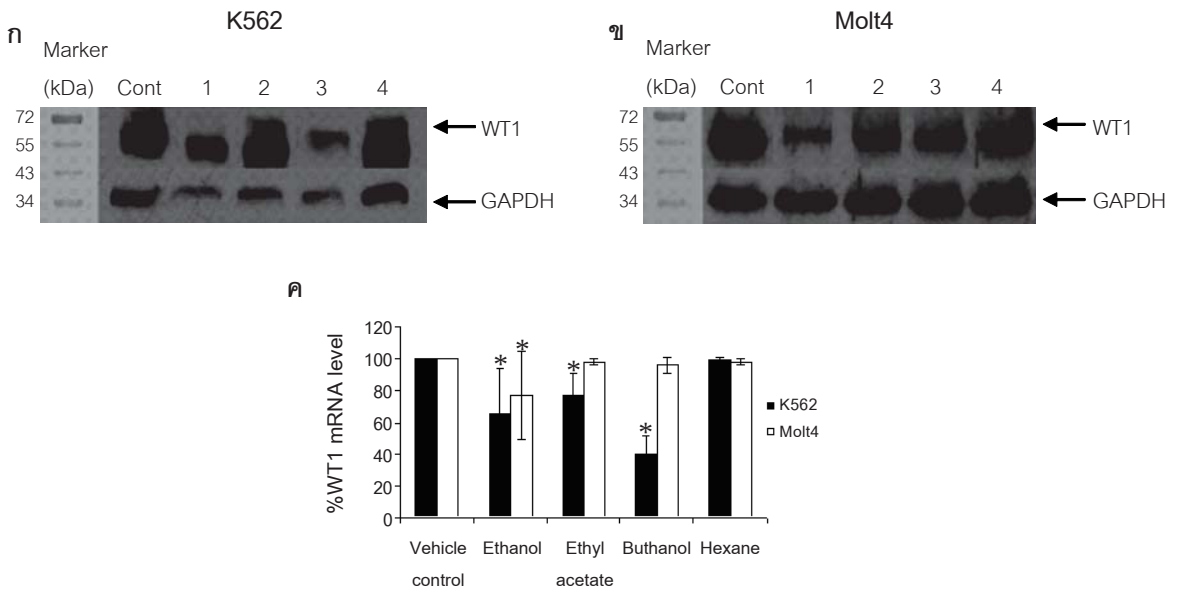
สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันได้ตามเวลาที่เพิ่มมากขึ้น คือ ร้อยละ 4, 13 และ 21 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 4ค) ส่วนในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด HL60 โดยใช้สารสกัดจากบิวทานอลที่ความเข้มข้น คือ 15, 20 และ 25 มคก./มล. เป็นระยะเวลา 2 วัน พบว่ามีผลทำให้ลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มมากขึ้น คือ ร้อยละ 7, 51 และ 62 (รูปที่ 3ง) และยังศึกษาว่าที่ความเข้มข้น 20 มคก./มล. เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 วัน สามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันตามเวลาที่เพิ่มมากขึ้น คือ ร้อยละ 15, 24 และ 32 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) (รูปที่ 4ง)

ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อระดับของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

จากการศึกษาของสิงห์คำ ธิมา และคณะ[11] ได้รายงานระดับของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว พบว่ามีเพียงเซลล์ K562 และ Molt4 ที่มีระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน และสามารถตรวจวัดด้วยวิธี Western blot ได้ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงใช้เซลล์ K562 และ Molt4 มาเป็นเซลล์ต้นแบบในการศึกษาผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันโดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากบิวทานอล เอทธานอล เอทธิลอะซิเตต และเฮกเซน คือ 32.6, 31.5, 8.6 และ 6.5 มคก./มล. ตามลำดับ ซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์ K562 พบว่า สารสกัดที่ได้จากบิวทานอล สามารถลดการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เอทธานอล เอทธิลอะซิเตต และเฮกเซน ตามลำดับ โดยสามารถยับยั้งการแสดงออกได้ร้อยละ 59, 34, 23 และ 1 ตามลำดับ (รูปที่ 5ก และ 5ค) ส่วนเซลล์ Molt4 ใช้ความเข้มข้น คือ 13.3, 8.9, 3.2 และ 2.7 มคก./มล. ตามลำดับ พบว่าสารสกัดที่สกัดได้จากเอทธานอลสามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันได้ดีที่สุด รองลงมา คือ บิวทานอล เอทธิลอะซิเตต และเฮกเซน ซึ่งสามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูวันได้ร้อยละ 23, 4, 2 และ 2 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p<0.05$) (รูปที่ 5ข และ 5ค)

ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ ต่อระดับของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากเอทธิลอะซิเตตสำหรับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 โดยทำการกระจายความเข้มข้นเป็น 5, 10 และ 15 มคก./มล. และสารสกัดจากเอทธานอล สำหรับเซลล์ Molt4 ใช้ความเข้มข้น คือ 3, 7 และ 10 มคก./มล. พบว่าสามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันได้ เป็นแบบเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 6ก และ 6ค) ทั้งนี้ยังได้ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 ร่วมกับสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากเอทธิลอะซิเตตที่ความเข้มข้น 10 มคก./มล. เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน และสารสกัดจากเอทธานอล ที่ความเข้มข้น 7 มคก./มล. สำหรับเซลล์ Mot4 พบว่าสามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ได้เป็นแบบตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p<0.05$) (รูปที่ 6ข และ 6ง)



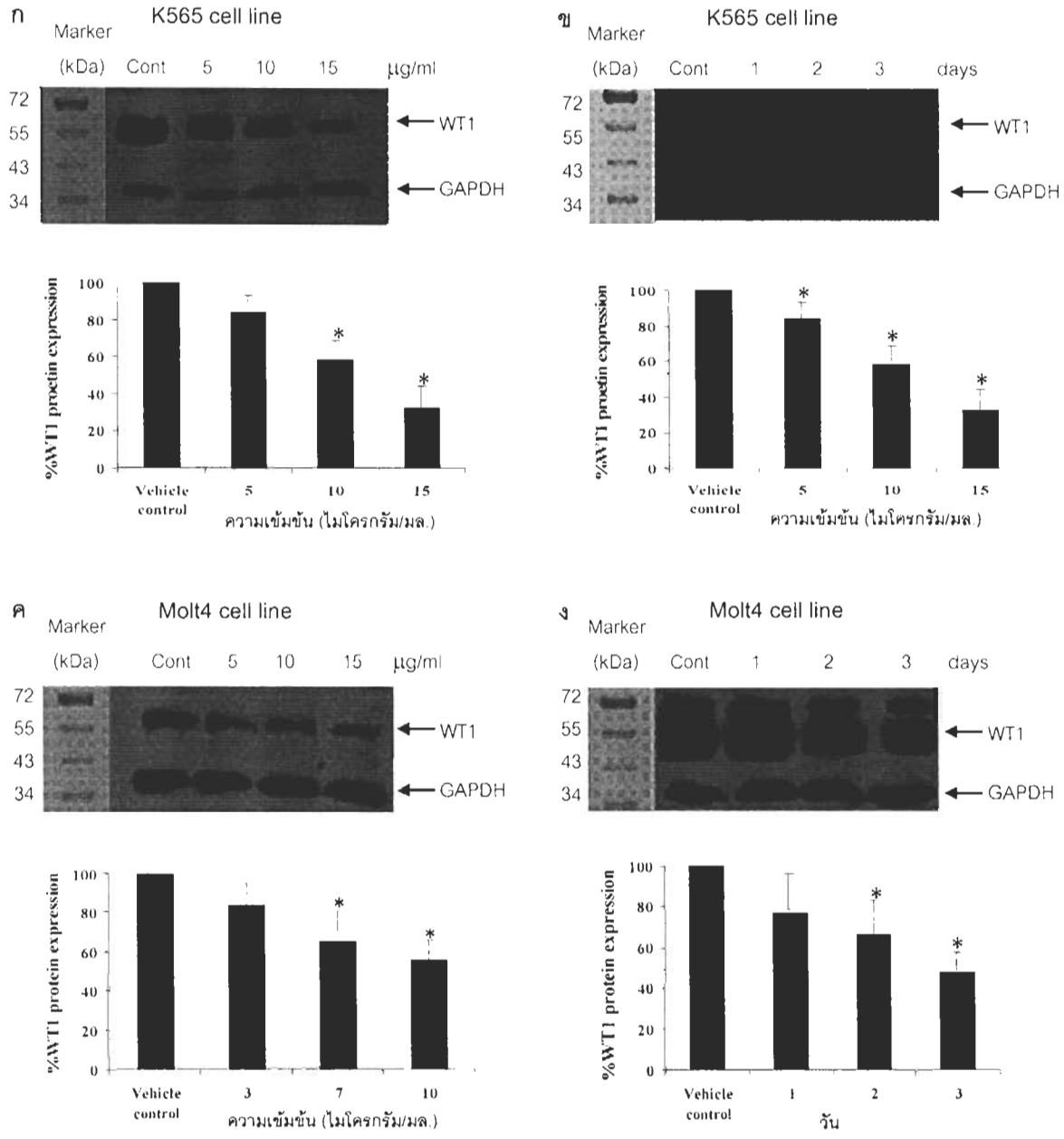
หมายเหตุ: Control (Cont) = กลุ่มควบคุม, 1 = สารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทธานอล, 2 = สารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทธิลอะซิเตต, 3 = สารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยบิวทานอล, 4 = สารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเฮกเซน และ * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

รูปที่ 5 ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ต่อระดับของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (ก) K562 (ข) Molt4 และ (ค) กราฟแสดงระดับของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันหลังการปรับเทียบค่าด้วยโปรตีน GAPDH

วิจารณ์

การศึกษานี้ศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการแบ่งเซลล์ของมะเร็งเม็ดเลือดขาว ซึ่งมีกลไกเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ในการศึกษากลุ่มของสารออกฤทธิ์ในเบื้องต้นโดยใช้สารสกัดจากเอทธานอลเป็นการศึกษาสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยรวม พบว่าสารสกัดจากเอทธานอลให้ผลผลิตจากการสกัดมากที่สุดคือ ร้อยละ 12.3 เนื่องจากสามารถสกัดได้ทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้วโดยรวมออกมาด้วยกัน รองลงมาคือ บิวทานอล เอทธิลอะซิเตต เมทธานอล และเฮกเซน ซึ่งให้ผลได้ไม่แตกต่างกัน คือ 4.0, 4.1, 5.1 และ 4.1 ตามลำดับ

ศึกษาผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อความเป็นพิษกับเซลล์ พบว่าสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากเอทธานอล เอทธิลอะซิเตต บิวทานอล และเฮกเซน มีผลทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด แต่เมทธานอลไม่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ดังนั้นจึงนำสารสกัดที่สกัดได้จาก 4 ตัว ทำละลาย คือ เอทธานอล เอทธิลอะซิเตต บิวทานอล และเฮกเซน มาศึกษาผลของสารสกัดต่อการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ซึ่งการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันเคยมีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์[12] โดยการศึกษานี้ใช้ความเข้มข้น



หมายเหตุ: (ก) และ (ข) การศึกษาสารสกัดจากเอทธิลอะซิเตต ต่อการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์ K562 (ค) และ (ง) การศึกษาสารสกัดจากเอทธานอลในเซลล์ Molt4, Control (Cont) = กลุ่มควบคุม และ * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

รูปที่ 6 ผลของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 (ก) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ข) ระยะเวลาต่าง ๆ และ Molt4 (ค) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ง) ระยะเวลาต่าง ๆ

ของสารสกัดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ จากการศึกษาผลของสารสกัดต่อการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยเปรียบเทียบกับสารสกัดบริสุทธิ์จากเปลือกมังคุด 2 ชนิด คือแอลฟา และเบต้าแมงโกสตินรวม และ 9-oxo-xanthene ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่พบมากในเปลือกมังคุด พบว่าค่า IC_{50} มีค่า ที่ใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่ได้จากเอทธิลอะซิเตต ดังนั้นอาจจะเป็นไปได้ว่าสารสกัดที่สกัดได้จากเอทธิลอะซิเตตน่าจะมีองค์ประกอบของแมงโกสติน ซึ่งเป็นสารหนึ่งที่มีส่วนที่ทำให้สารสกัดออกฤทธิ์อยู่มาก ส่วน 9-oxo-xanthene พบว่าไม่มีผลทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด (IC_{50}>100 มคก./มล.) ซึ่งค่าที่ได้มีความใกล้เคียงกับฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้จากเมทธานอล ดังนั้นสารสกัดที่สกัดได้จากเมทธานอลน่าจะมีส่วนประกอบของแซนโทนหรือแซนโทนชนิดอื่นๆ อยู่มาก

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน พบว่าในเซลล์แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อตัวสกัดแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน คือ เซลล์ K562 ให้ผลในการตอบสนองต่อสารสกัดทั้งบิวทานอล เอทธานอล และเอทธิลอะซิเตต โดยสามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันด้วยวิธี RT-PCR และพบว่าการทดสอบในเซลล์ Molt4 และ U937 ที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากเอทธานอลให้ผลในการยับยั้งที่ดีเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเอทธานอลเป็นเพียงการศึกษาสารสกัดโดยรวม เมื่อพิจารณาในส่วนของการสกัดแบบแยกส่วนจะพบว่าสารประกอบทั้งในเฮกเซนและเอธิลอะซิเตตน่าจะมีผลต่อการยับยั้งการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน ซึ่งต้องพิจารณาผลต่อโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในการทดลองต่อไป ส่วนผลการทดลองในเซลล์ HL60 พบว่าสารสกัดที่สามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันได้ดีที่สุดคือสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยบิวทานอล ซึ่งแตกต่างจากเซลล์ K562, Molt4 และ U937 ซึ่งผลในการยับยั้งไม่น่าจะเป็นสารชนิดเดียวกัน นอกจากนี้ผลการศึกษาทั้งหมดยังได้ตรวจยืนยันด้วยวิธี real time RT-PCR ซึ่งผลจากการศึกษาของทั้ง 2 วิธี ให้ผลที่สอดคล้องกัน

ศึกษาและเปรียบเทียบผลการทดลองกับผลของสารสกัดเคอร์คิวมินต่อการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน พบว่าเคอร์คิวมินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ (3.68 มคก./มล.) สามารถลดการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิดได้[10, 13] ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้ใกล้เคียงกับความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดในส่วนของเอทธิลอะซิเตต เมื่อทำการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด พบว่าไม่สามารถตรวจวัดระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์ U937 และ HL60 ได้แม้จะตรวจพบการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันในระดับ mRNA ทั้งนี้เพราะอาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด มีระดับที่แตกต่างกัน[10, 13] ซึ่งอาจจะส่งผลให้มีการแสดงออกของโปรตีนที่แตกต่างกันไปด้วย

นอกจากนี้กระบวนการหลังการเกิดทรานสเลชั่นของเซลล์มะร็งแต่ละชนิด อาจจะส่งผลต่อระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันที่แตกต่างกันออกไปด้วย ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ศึกษาของสารสกัดหยาบแยกส่วนจากเปลือกมังคุดที่สกัดจากเอทธานอล เอทธิลอะซิเตต บิวทานอล และเฮกเซน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 และ Molt4 เท่านั้น ผลการทดลองพบว่าการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันมีผลสอดคล้องกับผลการยับยั้งการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วัน โดยวิธี RT-PCR และ real time RT-PCR อย่างไรก็ตามจากการศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดแยกด้วยเฮกเซน และเอทธิลอะซิเตตให้ผลในการยับยั้งการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันที่ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อศึกษาในระดับโปรตีนพบว่าสารสกัดแยกส่วนจากเฮกเซนไม่ให้ผลในการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน ดังนั้นสารสกัดแยกส่วนที่ให้ผลดีทั้งเซลล์ Molt4 และ K562

ทั้งระดับ mRNA และโปรตีน น่าจะเป็นสารสกัดแยกส่วนจากเอทธิลอะซิเตต โดยสารที่สำคัญนั้นคาดว่าน่าจะเป็นสารแมงโกสติน ซึ่งเป็นสารหนึ่งที่มีส่วนที่ทำให้สารสกัดออกฤทธิ์ อย่างไรก็ตามความแตกต่างกันในการตอบสนองต่อสารสกัดจากเปลือกมังคุดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด น่าจะเกิดจากความแตกต่างของฟีโนไทพ์ของเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิด ซึ่งมาจากต้นกำเนิดของมะเร็งเม็ดเลือดที่แตกต่างกัน

สรุป

สารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากเอทธิลอะซิเตตและบิวทานอล มีผลในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 และ HL60 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจกเอธทานอล สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด Molt4 และ U937 นอกจากนี้ ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ยังสามารถยับยั้งกระบวนการทรานสคริปชั่น และทรานเลชั่น นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ของสารสกัดหยาบแยกส่วนเปลือกมังคุดยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ และยังส่งผลให้มีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวลดลง จากการทดลองคาดว่าสารที่ออกฤทธิ์ที่สำคัญต่อเซลล์ K562 Molt4 และ U937 น่าจะเป็นแมงโกสติน ส่วนใน HL60 น่าจะเป็นสารชนิดอื่นที่พบในส่วนของบิวทานอล

เอกสารอ้างอิง

1. Yamagami T, Ogawa H, Tamaki H, et al. Suppression of Wilms' tumor gene (WT1) expression induces G2/M arrest in leukemic cells. Leuk Res 1998;22:383-4.
2. Bergmann L, Maurer U, Weidmann E. Wilms tumor gene expression in acute myeloid leukemias. Leuk Lymphoma 1997;25:435-43.
3. Maurer U, Brieger J, Weidmann E, et al. The Wilms' tumor gene is expressed in a subset of CD34+ progenitors and downregulated early in the course of differentiation in vitro. Exp Hematol 1997;25:945-50.
4. Sugiyama H. Wilms' tumor gene WT1: its oncogenic function and clinical application. Int J Hematol 2001;73:177-87.
5. Iinuma M, Tosa H, Tanaka T, et al. Antibacterial activity of xanthones from guttiferaeous plants against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Pharm Pharmacol 1996;48:861-5.
6. Phongpaichit S, Rungjindamai N, Rukachaisirikul V, et al. Antimicrobial activity in cultures of endophytic fungi isolated from Garcinia species. FEMS Immunol Med Microbiol 2006;48:367-72.
7. Suksamrarn S, Suwannapoch N, Phakhodee W, et al. Antimycobacterial activity of prenylated xanthones from the fruits of Garcinia mangostana. Chem Pharm Bull (Tokyo) 2003;51:857-9.
8. Jung HA, Su BN, Keller WJ, et al. Antioxidant xanthones from the pericarp of Garcinia mangostana (Mangosteen). J Agric Food Chem 2006; 54:2077-82.
9. Williams P, Ongsakul M, Proudfoot J, et al. Mangostin inhibits the oxidative modification of human low density lipoprotein. Free Radic Res 1995;23:175-84.
10. Anuchapreeda S, Thanarattanakorn P, Sittipreechacharn S, et al. Curcumin inhibits WT1 gene expression in human leukemic K562 cells. Acta Pharmacol Sin 2006;27:360-6.
11. สิงห์คำ ธิมา, ประสิทธิ์ ชนะรัตน์, ชฎารัตน์ ดวงรัตน์, และคณะ. ผลของเคอร์คิวมิน ดีเมตทอกซีเคอร์คิวมิน และบีสดีเมตทอกซีเคอร์คิวมินต่อการยับยั้งการ

แสดงออกของยีน และการผลิตโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิดต่างๆ. สงขลานครินทร์เวชสาร 2551;26:1-14.

12. Mi Y, Wang L, Bian S. Effect of WT1 gene expression on cell growth and proliferation in myeloid leukemia cell lines. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi 1998;19:627-30.
13. Anuchapreeda S, Tima S, Duangrat C, et al. Effect of pure curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin on WT1 gene expression in leukemic cell lines. Cancer Chemother Pharmacol 2008;62:585-94.