



การศึกษาผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านมะเร็งเม็ดเลือดและ
กลไกด้านการอักเสบ



ฉัตรนิตา วงศ์ถาวร

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์
ปีการศึกษา 2568
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การศึกษาผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านมะเร็งเม็ดเลือดและ
กลไกด้านการอักเสบ



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์
ปีการศึกษา 2568
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง “การศึกษาผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านมะเร็งเม็ดเลือดและ
กลไกด้านการอักเสบ

The Study of Cannabidiols on Anti-leukemic and Anti-inflammatory properties”

ของ ฉัตรนิตา วงศ์ถาวร

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา เสมศรี)

.....ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ดร.ไกร ดาวตาก)

.....กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(รองศาสตราจารย์ ดร.จิรภาส จงจิตวิมล)

.....กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หนึ่งฤทัย นิลศรี)

อนุมัติ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชมนาด อินทจามรรักษ์)

หัวหน้าภาควิชาภาษาวิทยาศาสตร์ คติชนวิทยา ปรัชญาและศาสนา คณะมนุษยศาสตร์

รักษาราชการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การศึกษาผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านมะเร็งเม็ดเลือดและกลไกด้านการอักเสบ
ผู้วิจัย	ฉัตรนิตา วงศ์ถาวร
ประธานที่ปรึกษา	ดร.ไกร ดาวตาก
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2568
คำสำคัญ	สารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด มะเร็งเม็ดเลือดขาว การอักเสบ การจำลองอันตรกิริยาระดับโมเลกุล

บทคัดย่อ

แคนนาบิไดโอด (Cannabidiol; CBD) ได้รับความสนใจในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพสูงในการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ เนื่องจากมีคุณสมบัติด้านการอักเสบ ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง อีกทั้งมีความปลอดภัยมากกว่าสารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง ส่งผลให้ CBD กลายเป็นแนวทางสำคัญในการพัฒนาองค์ความรู้และงานวิจัยด้านการรักษาโรคเรื้อรังและมะเร็งในยุคปัจจุบัน การศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของ CBD ต่อกลไกการต้านการอักเสบและฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยใช้แบบจำลองเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1 เพื่อทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ ทำโดยวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ด้วย AlamarBlue assay การตรวจวัดระดับไซโตไคน์ IL-1 β IL-6 IL-10 และ TNF- α ด้วยวิธี ELISA รวมถึงการศึกษาการแสดงออกของโปรตีน NF- κ B p65, pIKB- α และ COX-2 โดยเทคนิค Western blot พบว่า CBD สามารถลดระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ พร้อมทั้งยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนสำคัญในสัญญาณการอักเสบ ได้แก่ NF- κ B p65, pIKB- α และ COX-2 นอกจากนี้ การจำลองอันตรกิริยาระดับโมเลกุลด้วยเทคนิค Molecular Docking พบว่า CBD มีความสามารถในการจับกับโปรตีน COX-2 และ IKB α /NF- κ B complex ด้วยพลังงานอิสระที่เหมาะสม อีกทั้งสามารถสร้างปฏิสัมพันธ์กับกรดอะมิโนตำแหน่งสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของโปรตีนเป้าหมาย การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งเม็ดเลือดขาวพบว่า CBD สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดไมอีลอยด์และลิมโฟยด์ได้ โดยพบว่าเซลล์ U937 มีความไวต่อ CBD สูงที่สุด ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่า CBD มีศักยภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งกลไกการอักเสบและยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ซึ่งอาจเป็นแนวทางสำคัญในการพัฒนาสารจากธรรมชาติที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพสำหรับการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องในอนาคต

Title THE STUDY OF CANNABIDIOLS ON ANTI-LEUKEMIC AND ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES

Author Chatnita Wongthaworn

Advisor Krai Daowtak, Ph.D.

Academic Paper M.S. Thesis in Medical technology, Naresuan University, 2025

Keywords Cannabidiols, Leukemia, Apoptosis, Inflammation, Molecular docking stimulation

ABSTRACT

Cannabidiol (CBD) has gained increasing attention as a natural bioactive compound with high therapeutic potential owing to its anti-inflammatory and anti-proliferative properties, together with a more favorable safety profile compared with psychoactive cannabinoids. This study aimed to investigate the anti-inflammatory mechanisms of CBD and its inhibitory effects on leukemic cell proliferation. The anti-inflammatory activity of CBD was examined using THP-1 - derived macrophages by assessing cell viability with the AlamarBlue assay, measuring cytokine levels (IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF- α) using ELISA, and determining the expression of inflammatory-related proteins, including NF- κ B p65, pI κ B- α , and COX-2, through Western blotting. CBD was found to reduce the production of pro-inflammatory cytokines and suppress the expression of key proteins involved in inflammatory signaling pathways. Molecular docking analysis further demonstrated that CBD exhibited favorable binding affinity toward COX-2 and the I κ B α /NF- κ B complex, with interactions at critical amino acid residues within the active sites. For the anti-leukemic evaluation, leukemic cell lines (K562, K562/ADR, MOLT-4, and U937) were employed. CBD significantly reduced the viability of both myeloid and lymphoid leukemia cells, with U937 cells showing the highest sensitivity. The findings indicate that CBD possesses considerable potential as a natural therapeutic agent capable of modulating inflammatory responses and inhibiting leukemic cell proliferation, providing valuable foundational evidence for future medical applications.

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์เรื่องนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ การดำเนินการวิจัยและจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความอนุเคราะห์และสนับสนุนจากหลายฝ่าย

ข้าพเจ้า นางสาวฉัตรนิตา วงศ์ถาวร ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อ ดร.ไกร ดาวตาก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำแนะนำอย่างใกล้ชิดตลอดกระบวนการวิจัย ด้วยความเมตตาอดทน เอาใจใส่ และมุ่งมั่นที่จะถ่ายทอดองค์ความรู้และประสบการณ์อย่างเต็มที่ ทำให้ข้าพเจ้ามีกำลังใจและสามารถพัฒนาผลงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา เสมศรี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. จิรภาส จงจิตวิมล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หนึ่งฤทัย นิลศรี คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำอันทรงคุณค่า ซึ่งช่วยเสริมสร้างความสมบูรณ์แก่ผลงานวิชาการฉบับนี้ รวมถึงคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ บุคลากรสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือและแนะนำในทุกด้านด้วยความเอื้ออาทร นอกจากนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณครอบครัว เพื่อนร่วมงาน และผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนทั้งทางด้านกำลังใจ เวลา และทรัพยากร ตลอดระยะเวลาดำเนินการทำวิจัยและการเรียบเรียงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ข้าพเจ้าขอประกาศความสำนึกในพระคุณของทุกท่านไว้ ณ ที่นี้ด้วยความเคารพและขอบพระคุณอย่างสูงสุด

ฉัตรนิตา วงศ์ถาวร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
ประกาศคุณูปการ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
อักษรย่อ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ขอบเขตการวิจัย	3
สมมติฐานของการวิจัย	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia)	5
การอักเสบที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง (Inflammation-associated Carcinogenesis)	6
วัฏจักรเซลล์ (Cell Cycle)	9
การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (Apoptosis)	11
การรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Treatment of Leukemia)	12
กัญชง (Hemp)	14
1. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562	17
2. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1	18
3. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด MOLT-4	18
4. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด U937	19
กลไกการออกฤทธิ์และพิษต่อหัวใจของยาโดxorubicin (Doxorubicin)	20
กลไกการออกฤทธิ์และข้อบ่งใช้ของยาเดกซาเมทาโซน (Dexamethasone)	21
การจำแนกและลักษณะฟีโนไทป์ของแมโครฟาจ (Macrophage Polarization and Phenotypes)	22
เทคนิคการทำนายพลังงานระหว่างโมเลกุลโดยใช้ Molecular docking	23

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	25
การศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการอักเสบ	25
1. การกระตุ้นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1 ให้เป็นแมคโครฟาจ	25
2. การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability test) ด้วยวิธี AlamarBlue Assay	25
3. การกระตุ้นกระบวนการอักเสบ	26
การทดสอบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบผ่านการหลั่งไซโตไคน์ ด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	26
การแสดงออกของโปรตีนเกี่ยวกับกลไกการอักเสบ	27
การทำนายการเกิดอันตรกิริยาของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ การอักเสบ	28
1. การเลือกและเตรียมโครงสร้างโปรตีน.....	28
2. เตรียมโครงสร้างลิแกนด์	29
3. การทำโมเลกุลาร์ด็อกกิงโดยใช้โปรแกรม CB-dock2.....	30
การศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด	31
1. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937, MOLT-4.....	31
2. ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด ขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937 และ MOLT-4	31
บทที่ 4 ผลการวิจัย	33
การทดสอบผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการยับยั้งกระบวนการอักเสบ	33
1. ผลการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability test) ด้วยวิธี AlamarBlue Assay	33
2. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบผ่านการหลั่งไซโตไคน์ ด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	34
3. ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงโปรตีนภายในเซลล์แมคโครฟาจ ด้วยวิธี Western blot....	35
4. ผลการทำนายอันตรกิริยาระหว่างสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ การอักเสบ	36
การทดสอบผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านมะเร็ง.....	42
ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดในเซลล์มะเร็ง เม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937, MOLT-4.....	42

บทที่ 5 บทสรุป	44
สรุปผลการวิจัย	46
บรรณานุกรม	47
ภาคผนวก	54
อภิธานศัพท์	56
ประวัติผู้วิจัย	58



สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดงกลไกการตายของเซลล์ ไสโตเคนและแอนติบอดีที่ใช้ในการทดสอบ	11
ตาราง 2 แสดงการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว กลไกการออกฤทธิ์ และข้อจำกัด.....	14
ตาราง 3 แสดงลักษณะจำเพาะ (Phenotype) บทบาท และมาร์คเกอร์ผิวเซลล์ (CD Markers) ของแมคโครฟาจชนิดต่าง ๆ (Macrophage Polarization)	23
ตาราง 4 แสดงไซโตไคน์และแอนติบอดีที่ใช้ในการทดสอบ.....	27
ตาราง 5 แสดงค่า Vina Score ของ ligand ที่จับกับโปรตีน COX-2 และ IKK α /NF-KB complex binding pocket.....	40



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 แสดงขอบเขตการวิจัย.....	4
ภาพ 2 แสดงความสัมพันธ์สามองค์ประกอบ (Leukemia Triad) ระหว่างการอักเสบเรื้อรังและการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์เริ่มต้นของเนื้องอก (Tumor-Initiating cells; TICs) ที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเกิดและการลุกลามของมะเร็ง	7
ภาพ 3 แสดงสัญญาณโปรตีน (ไซโตไคน์) ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและกระบวนการเกิดมะเร็งที่ส่งผลให้เกิดกระตุ้นและยับยั้งพัฒนาของมะเร็ง	9
ภาพ 4 แสดงวัฏจักรของเซลล์	10
ภาพ 5 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของแคนนาบินอยด์ผ่านตัวรับ CB1 และ CB2	16
ภาพ 6 แสดงรูปร่างลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562.....	17
ภาพ 7 แสดงรูปร่างลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1	18
ภาพ 8 แสดงรูปร่างลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด U937	20
ภาพ 9 แสดงขั้นตอนการนำ Molecular docking มาใช้เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็วและใช้ทรัพยากรต่ำ	24
ภาพ 10 แสดงโครงสร้างโปรตีน COX-2 รหัส PDB ID: 1CX2.....	28
ภาพ 11 แสดงโครงสร้างโปรตีน IKB α /NF- κ B complex รหัส PDB ID: 1IKN.....	29
ภาพ 12 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล CBD	29
ภาพ 13 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล SC-558	30
ภาพ 14 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล JSH-23.....	30
ภาพ 15 แสดงผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบินอยด์ที่ความเข้มข้น 0 – 1,000 μ g/ml ต่อความมีชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ	34
ภาพ 16 แสดงปริมาณไซโตไคน์ เมื่อบ่มด้วยสารบริสุทธิ์แคนนาบินอยด์ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 μ g/mL เทียบกับการบ่มด้วยกลุ่มควบคุมโดยใช้ยาเคมีบำบัด Dexamethasone	35

ภาพ 17 แสดงผลการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ phospho-NF- κ B p65 (a), phospho-I κ B- α (b) และ COX-2 (c) ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SEM) # หมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สัญลักษณ์ *** ($p \leq 0.001$) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยใช้สถิติ Independent t-test	36
ภาพ 18 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน COX-2 (PDB: 1CX2) กับ Dexamethazone ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock.....	37
ภาพ 19 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน COX-2 (PDB: 1CX2) กับ SC-558 ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock.....	38
ภาพ 20 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน COX-2 (PDB: 1CX2) กับ Cannabidiol ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock.....	38
ภาพ 21 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน I κ B α /NF- κ B complex (1IKN) กับ Dexamethazone ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock.....	39
ภาพ 22 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน I κ B α /NF- κ B complex (1IKN) กับ JSH-23 ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock.....	39
ภาพ 23 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน I κ B α /NF- κ B complex (1IKN) กับ Cannabidiol ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock.....	40
ภาพ 24 แสดงผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอยล์ที่ความเข้มข้น 0 – 1,000 μ g/mL และยาเคมีบำบัดดอกไซโรบินที่ความเข้มข้น 0-500 μ g/mL ต่อความมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, MOLT-4 และ U937	43
ภาพ 25 แสดงผลการย้อม CD14 และ CD 16 ของเซลล์ monocytes, macrophages และเซลล์ THP-1 (A,B) การย้อมติดสีของเซลล์ monocytes และ macrophages (C-E) การแสดงออกของ CD14 และ CD 16 ของเซลล์ THP-1 ที่ถูกกระตุ้นด้วย PMA เป็นระยะเวลา 7 วัน	55

อักษรย่อ

AAS	=	Atomic Absorption Spectrophotometer
CBD	=	Cannabidiol
COX-2	=	Cyclooxygenase-2
ELISA	=	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERK	=	Extracellular Signal-Regulated Kinase
FIA	=	Fluorescent Immuno Assay
IL	=	Interleukin
MAPK	=	Mitogen-Activated Protein Kinase
MOMP	=	Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization
NF- KB	=	Nuclear Factor-kappa B
NSAIDs	=	Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs
PBS	=	Phosphate Buffered Saline
PBMCs	=	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PI3K	=	Phosphoinositide 3-Kinase
PMA	=	Phorbol-12-myristate-13-acetate
RPMI	=	Roswell Park Memorial Institute medium
TNF- α	=	Tumor Necrosis Factor-alpha
UV/VIS	=	Ultraviolet and Visible spectrophotometer

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia) เป็นหนึ่งในโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดภายในไขกระดูก ส่งผลให้มีการสร้างเม็ดเลือดขาวที่ผิดปกติทั้งในด้านจำนวนและหน้าที่ นำไปสู่การรบกวนกระบวนการสร้างเม็ดเลือดปกติ ผู้ป่วยจึงมักมีภาวะซีด เลือดออกง่าย และมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูง การแบ่งประเภทของโรคตามระบบ French-American-British (FAB) และเกณฑ์ทางคลินิกช่วยให้สามารถจำแนกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้อย่างชัดเจน ซึ่งพบว่ามะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลัน (acute leukemia) มีการดำเนินโรคที่รวดเร็วและรุนแรงกว่าชนิดเรื้อรัง ทำให้จำเป็นต้องได้รับการรักษาอย่างเร่งด่วน (Lodzki et al., 2003; Arber et al., 2022)

ในระดับโมเลกุล เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีความสามารถในการหลบเลี่ยงกระบวนการอะพอพโทซิส โดยมีการแสดงออกของโปรตีนในกลุ่มยับยั้งการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (anti-apoptotic proteins) เช่น BCL-2, BCL-XL และ MCL-1 สูงกว่าปกติ ส่งผลให้เซลล์มีความทนต่อการรักษาและมีการอยู่รอดเพิ่มขึ้น (M. Vogler et al., 2025; Nwosu et al., 2024) อีกทั้งสภาวะการอักเสบเรื้อรังในร่างกายยังเป็นปัจจัยสำคัญที่มีบทบาทในการส่งเสริมการเกิดและการลุกลามของมะเร็ง ความผิดปกติของสภาวะแวดล้อมรอบเนื้องอก (tumor microenvironment) ทำให้เกิดการหลั่งไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น IL-1 β , IL-6 และ TNF- α ซึ่งกระตุ้นสัญญาณ NF- κ B และ STAT3 ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการเจริญของเซลล์มะเร็ง ความอยู่รอดของ leukemia stem cells (LSCs) และภาวะดื้อต่อยา (Grivnenkov & Greten, 2018; Nature, 2021; Nishida et al., 2025; Soler et al., 2023)

แม้ว่าการรักษาในปัจจุบัน ได้แก่ เคมีบำบัด การปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด การฉายรังสี ยามุ่งเป้า และภูมิคุ้มกันบำบัด จะช่วยยืดอายุผู้ป่วยได้ แต่ยังคงมีข้อจำกัด เช่น ผลข้างเคียงรุนแรง การรบกวนการทำงานของเซลล์ปกติ ภาวะแทรกซ้อนจากการปลูกถ่าย LSCs ยังคงคงอยู่ และความเสี่ยงของการดื้อยา (Döhner et al., 2015; DeAngelo, 2018; Brudno & Kochenderfer, 2016; Stone et al., 2017; Perl et al., 2019) ความท้าทายเหล่านี้สะท้อนถึงความจำเป็นเร่งด่วนในการค้นหาสารประกอบใหม่ที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง ลดผลกระทบต่อเซลล์ปกติ และสามารถปรับเปลี่ยนการทำงานของสัญญาณระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและการอยู่รอดของเซลล์

แคนนาบิไดโอล (Cannabidiol; CBD) ซึ่งสกัดจากพืชกัญชง เป็นสารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทและได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากงานวิจัยสมัยใหม่ เนื่องจากมีความปลอดภัยสูงกว่าสารในกลุ่มเดียวกันที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ และด้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (Atalay et al., 2019; Heider et al., 2022) รายงานหลายฉบับพบว่า CBD สามารถยับยั้งการหลั่งไซโตไคน์โปรอักเสบในเซลล์โมโนไซต์และแมคโครฟาจ โดยลดการแสดงออกของ IL-1 β และ IL-6 ตลอดจนยับยั้งการทำงานของ NF- κ B และ COX-2 ซึ่งเป็นสัญญาณสำคัญของกระบวนการอักเสบ (Sermet et al., 2021; Lowin et al., 2020)

ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการต้านมะเร็งเม็ดเลือด มีการศึกษาพบว่า CBD สามารถเหนี่ยวนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสผ่านการเปลี่ยนแปลงของไมโทคอนเดรีย การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ และการรบกวนเส้นทางการสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอดของเซลล์ เช่น ERK และ PI3K (Maggi et al., 2022; Chamoso-Sanchez et al., 2025) นอกจากนี้ CBD ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดลิมโฟบลาสต์ เช่น T-ALL โดยการรบกวนสัญญาณการอยู่รอดของเซลล์และเหนี่ยวนำการตายผ่านความเครียดภายในเซลล์ (Kalenderoglou et al., 2017; Besser et al., 2024) รวมถึงการควบคุมโปรตีน p22phox และ Nox4 ที่เกี่ยวข้องกับ oxidative stress ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดมดลูก (McKallip et al., 2006)

ในปัจจุบัน เทคโนโลยีการจำลองโมเลกุล (Molecular Docking) ได้รับความนิยมในการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระดับโมเลกุลระหว่างสารออกฤทธิ์และโปรตีนเป้าหมาย เพื่อทำนายพลังงานการจับกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้อง และความเหมาะสมของสารในฐานะตัวยับยั้งโปรตีน นับเป็นวิธีที่ช่วยเร่งกระบวนการคัดกรองและพัฒนาาใหม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Tan et al., 2024; Derardja et al., 2024) การใช้เทคนิคนี้ร่วมกับข้อมูลการทดลองในเซลล์จึงมีศักยภาพในการช่วยอธิบายกลไกการออกฤทธิ์ของ CBD ต่อโปรตีนสำคัญ เช่น COX-2 และ IKBA/NF- κ B complex ซึ่งเกี่ยวข้องกับการอักเสบและการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

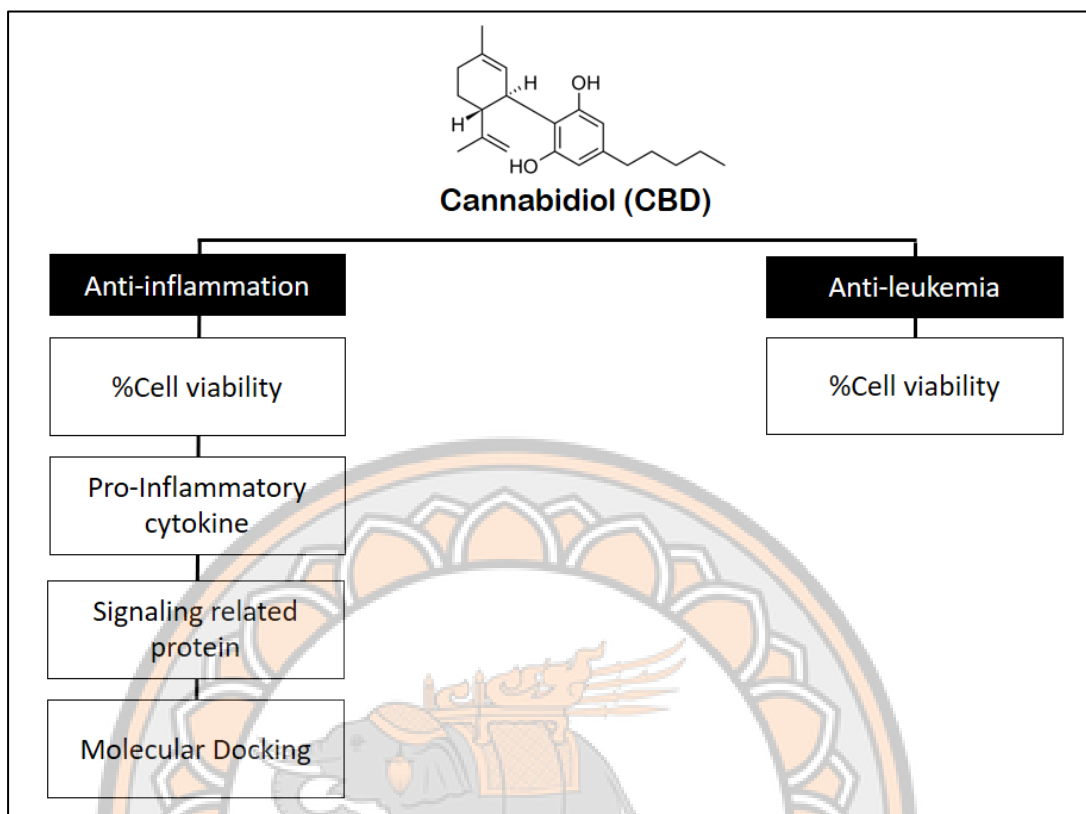
ด้วยเหตุผลดังกล่าว การศึกษาฤทธิ์ของ CBD ต่อการอักเสบและการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งในระดับเซลล์และระดับโมเลกุลจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง นอกจากจะเป็นการศึกษากลไกพื้นฐานของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติชนิดนี้ ยังมีศักยภาพในการนำไปต่อยอดสู่การพัฒนาที่ปลอดภัย มีประสิทธิภาพสูง และสามารถนำมาใช้ทดแทนการรักษาที่มีข้อจำกัดของการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวในปัจจุบันได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด ต่อกลไกการยับยั้งการอักเสบในเซลล์แมโครฟาจ
2. เพื่อศึกษาผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

ขอบเขตการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด (Cannabidiol; CBD) ต่อกลไกการยับยั้งการอักเสบและการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยใช้เซลล์ต้นแบบจากเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดไมอีลอยด์ ได้แก่ THP-1, K562, K562/ADR และ U937 เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟบลาสต์ ได้แก่ MOLT-4 การศึกษาขั้นแรกเป็นการประเมินฤทธิ์การต้านการอักเสบของ CBD ผ่านการตรวจวัดระดับการหลั่งไซโตไคน์ด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบโดยใช้เทคนิค Western blot analysis จากนั้นผลการแสดงออกของโปรตีนจะถูกนำไปใช้ทำนายอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของ CBD และโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบโดยใช้เทคนิค Molecular Docking Simulation เพื่อจำลองการจับกันในระดับโมเลกุลสุดท้ายจะทำการศึกษาฤทธิ์ของ CBD ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว



ภาพ 1 แสดงขอบเขตการวิจัย

สมมุติฐานของการวิจัย

สารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด (Cannabidiol; CBD) มีผลในการยับยั้งกลไกการอักเสบผ่านการหลั่งไซโตไคน์ในเซลล์แมคโครฟาจ และมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukemia)

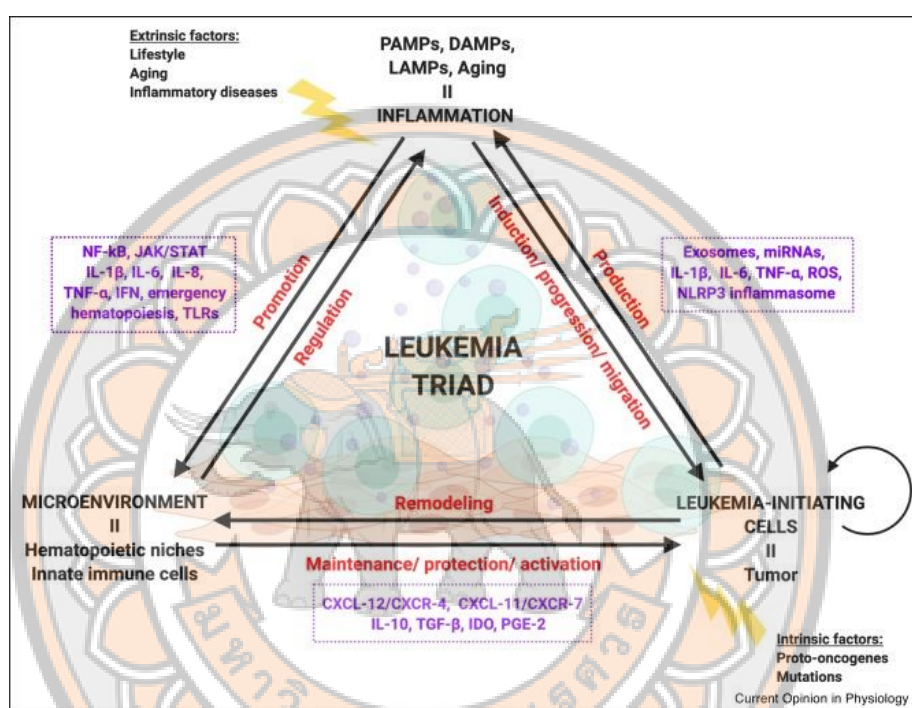
มะเร็งเม็ดเลือดขาวเป็นมะเร็งที่พบในเลือดและไขกระดูก มีสาเหตุการเกิดจากกระบวนการสร้างเม็ดเลือดขาวที่ผิดปกติในระยะที่เป็นเซลล์ต้นกำเนิด (hematopoietic stem cells) ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เม็ดเลือดขาวที่ผิดปกติในไขกระดูกและไม่สามารถควบคุมการแบ่งตัวได้ เกิดการสะสมของเม็ดเลือดขาวจนเต็มไขกระดูกแล้วปล่อยออกสู่กระแสเลือด ส่งผลให้มีปริมาณเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดสูงขึ้นผิดปกติ ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ปล่อยสู่กระแสเลือดนั้นไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อหรือทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันได้ มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีการแบ่งตามระยะและการดำเนินของโรคออกเป็น 2 ชนิด คือ มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน (acute leukemia) และมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง (chronic leukemia) โดยพบว่ามะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันจะพบการสะสมเซลล์ตัวอ่อน (blastic cells) ในกระแสเลือดและในไขกระดูกในปริมาณสูง ทำให้เกิดการดำเนินของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็ว หากไม่ได้รับการรักษาผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้ภายในระยะเวลาอันสั้น ในขณะที่มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังมีการพบการสร้างและสะสมเซลล์เม็ดเลือดขาวตัวแก่และพบเม็ดเลือดขาวได้ทุกระยะ นอกจากนี้มะเร็งเม็ดเลือดขาวยังสามารถแบ่งตามรูปร่างและลักษณะการเกิดของเซลล์ โดยแบ่งตามระบบ French-American-British (FAB) ซึ่งแบ่งชนิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ (acute myeloid leukemia; AML) ได้เป็น 8 ประเภท ได้แก่ M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6 และ M7 (Lodzki et al., 2003) ส่วนมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดลิมโฟบลาส (acute lymphoblastic leukemia; ALL) แบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ L1, L2 และ L3 และยังมีมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ (chronic myeloid leukemia; CML) และมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบลิมโฟยด์ (chronic lymphoid leukemia; CLL) (Arber et al., 2022) อะพอพโทซิส (apoptosis) เม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์โปรตีนยับยั้งการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (a) โปรตีนกระตุ้นการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (p) อะพอพโทซิส โปรตีนยับยั้งการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส โปรตีนยับยั้งการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส เม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์มะเร็งเม็ดเลือดขาวM Vogler, et al., 2025; Nwosu, G. O., et al., 2024)

การอักเสบที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง (Inflammation-associated Carcinogenesis)

การอักเสบ (inflammation) เป็นกลไกการตอบสนองทางสรีรวิทยาที่สำคัญของร่างกายต่อสิ่งกระตุ้นจากภายนอกและความเสียหายของเนื้อเยื่อ โดยมีจุดประสงค์เพื่อฟื้นฟูภาวะสมดุล (Homeostasis) อย่างไรก็ตาม เมื่อเกิดการอักเสบอย่างต่อเนื่องหรือเรื้อรัง (chronic inflammation) กลับส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมของเซลล์ (microenvironment) และก่อให้เกิดการกระตุ้นเส้นทางการสัญญาณภายในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การอยู่รอด และการแบ่งตัวของเซลล์ ซึ่งท้ายที่สุดอาจนำไปสู่การเกิดมะเร็งได้ (Grivennikov & Greten et al., 2018; Nature, 2021) มีผลการศึกษาพบว่าการอักเสบเรื้อรังสามารถกระตุ้นกระบวนการเกิดมะเร็งในทุกระยะ ได้แก่ การเริ่มต้นของเนื้องอก (Tumor Initiation), การเจริญเติบโต (Tumor growth), และการแพร่กระจาย (Metastasis) กลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องประกอบด้วยการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมของเนื้องอก (Tumor microenvironment; TME), การหลั่งไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น IL-1 β , IL-6 และ TNF- α , รวมถึงการกระตุ้นเส้นทางการสัญญาณ NF- κ B และ STAT3 ซึ่งมีบทบาทในการส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งและยับยั้งการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (Grivennikov, & Greten et al., 2018) นอกจากนี้ การอักเสบไม่ได้มีบทบาทเฉพาะในระยะเริ่มต้นของการเกิดมะเร็งเท่านั้น แต่ยังส่งผลต่อการตอบสนองของเนื้องอกต่อการรักษา (Therapeutic response) และต่อพลวัตของสภาวะแวดล้อมรอบเนื้องอก (Tumor microenvironment dynamics) โดยเฉพาะการสื่อสารระหว่างเซลล์มะเร็ง เซลล์สโตรมา และเซลล์ภูมิคุ้มกันใน TME ซึ่งร่วมกันสร้างภาวะการอักเสบที่ส่งเสริมการลุกลามของมะเร็ง (Nature, 2021) ขณะเดียวกัน ยังมีความสัมพันธ์ระหว่างภาวะการอักเสบเชิงระบบ (Systemic Inflammation) กับกลุ่มอาการเมแทบอลิกซินโดรม (Metabolic syndrome) ซึ่งทั้งสองปัจจัยนี้มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งตับ การอักเสบเรื้อรังที่สัมพันธ์กับความผิดปกติของเมแทบอลิซึมจึงถือเป็นปัจจัยร่วมที่ส่งเสริมการพัฒนาและความรุนแรงของมะเร็ง (Vitale et al., 2024)

ดังนั้นการอักเสบเรื้อรังและการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์เริ่มต้นของเนื้องอก (Tumor-Initiating cells; TICs) มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเกิดและการลุกลามของมะเร็ง โดยไม่เพียงกระตุ้นการเริ่มต้นของเนื้องอก แต่ยังส่งเสริมความสามารถของ TICs ในการเจริญเติบโต (Proliferation) การอยู่รอด (Survival) และการแพร่กระจาย (Metastasis) กลไกระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องประกอบด้วยการหลั่งไซโตไคน์โปรอักเสบ เช่น IL-1 β , IL-6 และ TNF- α ซึ่งส่งผลให้เกิดการกระตุ้นเส้นทางการสัญญาณ NF- κ B และ STAT3 นำไปสู่การคงอยู่ของ TICs และการดื้อต่อการรักษา (Therapy resistance) นอกจากนี้ การปรับเปลี่ยนกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ (Metabolic Reprogramming) และการสร้างสภาพแวดล้อมจุลภาคของเนื้องอกที่มีความหลากหลาย

(Heterogeneous Microenvironment) ยังมีส่วนสำคัญในการรักษาสสมดุลของการอักเสบที่ส่งเสริมการเกิดมะเร็ง (Pro-Tumorigenic inflammation) ดังนั้น การทำความเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างสามองค์ประกอบหลัก คือ การอักเสบ สภาวะแวดล้อมจุลภาค และ TICs จึงมีความสำคัญยิ่งต่อการพัฒนาแนวทางการรักษามะเร็งแบบมุ่งเป้าเชิงบูรณาการที่เน้นการควบคุมการอักเสบและการปรับสภาพแวดล้อมของเนื้องอก (Vilchis-Ordoñez et al., 2021)



ภาพ 2 แสดงความสัมพันธ์สามองค์ประกอบ (Leukemia Triad) ระหว่างการอักเสบเรื้อรังและการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์เริ่มต้นของเนื้องอก (Tumor-Initiating cells; TICs) ที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเกิดและการลุกลามของมะเร็ง

ที่มา: Vilchis-Ordoñez et al., 2021

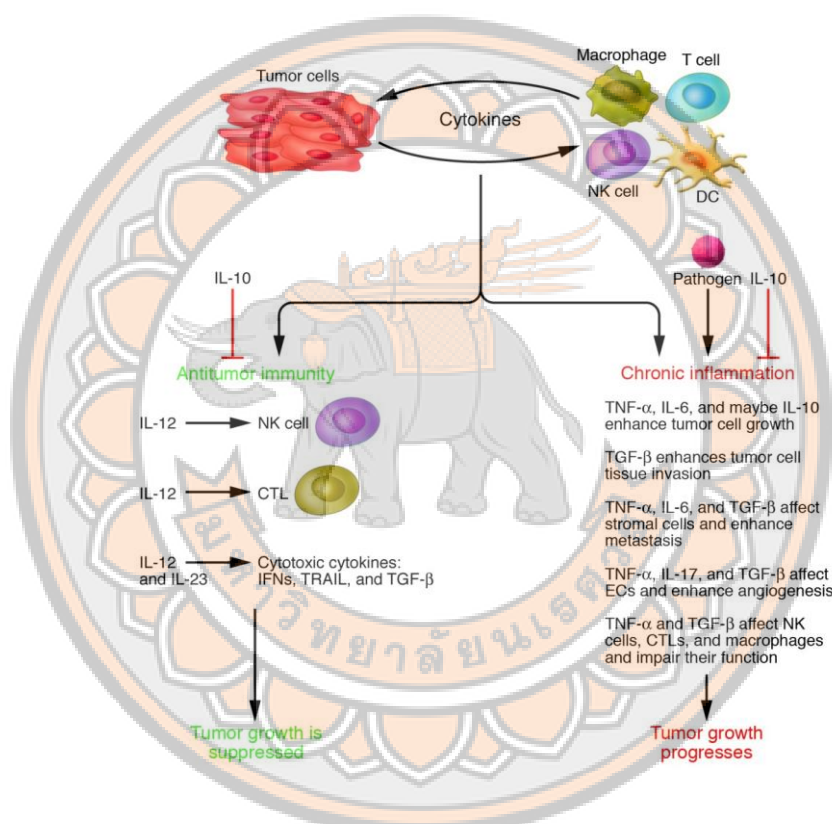
อาการอักเสบเรื้อรังที่เกิดจากการติดเชื้อปรสิต แบคทีเรีย หรือไวรัสอย่างต่อเนื่องเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้แรงกระตุ้นของเนื้องอก โดยมีข้อสังเกตว่ามีการเติบโตอย่างรวดเร็วของการแพร่กระจายในหนูและในมนุษย์ โมเลกุลของเชื้อโรคที่ทำให้ติดเชื้อจะทำให้เกิดการอักเสบโดยการกระตุ้นตัวรับ ที่รับรู้รูปแบบโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรคเรียกว่า Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) เป็นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบ Innate immunity response ได้แก่

Macrophage, Dendritic cell, Neutrophils, Eosinophils และ Monocytes ภูมิคุ้มกันนี้จะจับกับ PAMPs โดยเซลล์ภูมิคุ้มกันที่มีตัวที่ใช้จับกับชิ้นส่วนของเชื้อก่อโรคเรียกว่า Pattern-recognition receptor (PRR) ซึ่งส่วนที่สามารถจับกับเชื้อโรคได้หลายชนิด คือ Toll-like receptor (TLR) ซึ่งการรับรู้ของ PAMP และ PRR ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นเซลล์อักเสบและการเริ่มต้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันซึ่งมีจุดประสงค์หลักคือการกำจัดสิ่งแปลกปลอม แต่การส่งสัญญาณการอักเสบเป็นเวลานาน จะนำไปสู่การอักเสบเรื้อรังและทำให้เกิดเนื้องอกพัฒนาได้ดีขึ้น (Lowin et al., 2020)

สัญญาณโปรตีน เป็นการสื่อสารในระบบภูมิคุ้มกันโดยใช้โปรตีนเป็นสื่อกลาง โปรตีนนั้นคือไซโตไคน์ (Cytokine) เกิดขึ้นเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้ามาในร่างกาย เซลล์ภูมิคุ้มกันจะสร้างสารไซโตไคน์ออกมาเพื่อที่จะช่วยกระตุ้นการอักเสบตามกลไกธรรมชาติที่จำเป็นต่อการกำจัดสิ่งแปลกปลอม แต่ถ้าหากเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันสร้างไซโตไคน์ออกมามากเกินไป และเสียการควบคุมในการยับยั้งการสร้างสารเหล่านั้นไม่ให้ออกมาเกินความจำเป็นได้ จะทำให้เกิดผลกระทบต่อน้ำเยื่อหรือเซลล์ปกติในร่างกาย ไซโตไคน์เป็นโปรตีนที่ใช้ในการสื่อสารภายในระบบภูมิคุ้มกัน ทั้งระบบ innate immunity response และ adaptive immunity response (Lin, & Karin, 2007) ในปี 2017 มีการศึกษาพบว่าไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบส่วนใหญ่คือ IL-1, IL-4, IL-6 ที่สร้างขึ้นโดยเซลล์ภูมิคุ้มกันหรือเซลล์มะเร็ง แต่ไซโตไคน์ด้านการอักเสบคือ อินเตอร์ลิวคินชนิดที่ 2, 15, 21 (IL-2, IL-15 และ IL-21) มักจะกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อยับยั้งมะเร็งและรบกวนการพัฒนาของมะเร็ง ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดการรักษาโดยอาศัยการแทรกแซงแบบจำเพาะกับการออกฤทธิ์ของไซโตไคน์ที่ส่งเสริมการอักเสบและส่งเสริมมะเร็ง เพื่อป้องกันผลที่ส่งเสริมการอยู่รอดและส่งเสริมการเจริญเติบโต ขณะเดียวกันการเพิ่มประสิทธิภาพของอินเตอร์ลิวคินที่ด้านการอักเสบ ทำให้เซลล์ภูมิคุ้มกันสามารถกำจัดเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้น (Sermet et al., 2021; Hongmei Z., 2012)

ไซโตไคน์ที่มีบทบาทสำคัญ คือ Interleukin-6 (IL-6), Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) และ Interleukin-1 β (IL-1 β) โดย IL-6 ที่เป็นตัวกระตุ้นหลักผ่านเส้นทาง JAK/STAT3 โดย IL-6 ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว AML และมะเร็งเม็ดเลือดชนิด CLL ช่วยให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีอัตราการอยู่รอด การแบ่งตัว (proliferation) และยังเพิ่มคุณสมบัติคล้ายสเต็มเซลล์ (stem-like properties) อีกทั้งยังส่งผลที่เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาเคมีบำบัด นอกจากนี้ การกระตุ้น STAT3 ใน AML ยังมีผลต่อการควบคุมโมเลกุล ICAM-1 ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการหลบหนีการทำลายของ Natural Killer Cell (Nishida et al., 2025) TNF- α และ IL-1 β สามารถกระตุ้นการทำงานของ NF-KB pathway ส่งผลให้มีการแสดงออกของ Anti-apoptotic genes เช่น BCL-2 และ BCL-XL ซึ่งเป็นกลไกสำคัญของการดื้อต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด มีการศึกษาว่าการยับยั้ง TNF- α และ IL-1 β พร้อมกันสามารถลดจำนวน leukemic stem cells (LSCs) ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งบ่งชี้ถึง

ความเป็นไปได้ในการใช้เป็นเป้าหมายการรักษาใหม่ (Soler et al., 2023) นอกจากนี้ chemokines หลายชนิดมีบทบาทในกระบวนการยึดเกาะ (adhesion), การอพยพเคลื่อนที่ (migration) และการคงอยู่ของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวภายใน bone marrow niche ตัวอย่างที่เด่นชัดคือ CXCL12/CXCR4 axis ซึ่งช่วยกำหนดการกระจายตัวของเซลล์ AML และ CLL ภายในไมโครเอนไวรอนเมนต์ และมีความสัมพันธ์กับพยากรณ์โรคของผู้ป่วย การแสดงออกของตัวรับ Chemokine เช่น CXCR2, CXCR3, CXCR6 รวมถึง CCL20 และ CCR2 ยังถูกเชื่อมโยงกับการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของ AML อีกด้วย (Xie et al., 2025)



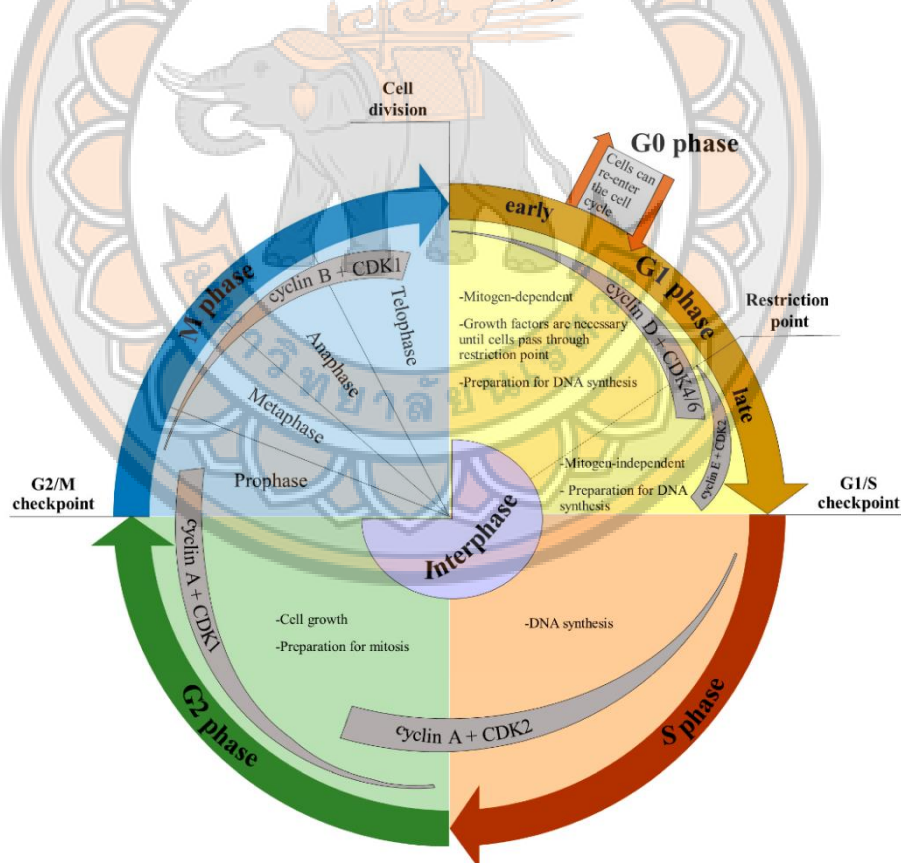
ภาพ 3 แสดงสัญญาณวิถีโปรตีน (ไซโตไคน์) ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและกระบวนการเกิดมะเร็งที่ส่งผลให้เกิดกระตุ้นและยับยั้งพัฒนาของมะเร็ง

ที่มา: Lin WW, et al., 2007

วัฏจักรเซลล์ (Cell Cycle)

วัฏจักรเซลล์ (cell cycle) เป็นกลไกพื้นฐานของเซลล์ยูคาริโอตในการควบคุมการแบ่งตัวและการเพิ่มจำนวนเซลล์ แบ่งออกเป็นระยะ G_1 , S, G_2 และ M ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมโดยโปรตีนกลุ่มไซคลิน (cyclins) และไซคลินดีเพนเดนตไคเนส (cyclin-dependent kinases: Cdks) โดยมี

โปรตีนควบคุมอื่น ๆ เช่น p53, p21 และ Rb ทำหน้าที่ตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการก่อนเข้าสู่ระยะถัดไป (Alberts et al., 2002) เมื่อเซลล์ไม่สามารถควบคุมการทำงานได้ ระบบของเซลล์จะถูกกระตุ้นให้เข้าสู่กระบวนการตายแบบอะพอพโทซิส ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีลำดับขั้นตอนและไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ โดยมีการทำงานร่วมกันของ Intrinsic pathway ซึ่งเกี่ยวข้องกับไมโทคอนเดรีย และ extrinsic pathway ซึ่งถูกกระตุ้นผ่าน death receptors ที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยทั้งสองเส้นทางจะนำไปสู่การกระตุ้นเอนไซม์กลุ่ม caspases ซึ่งทำหน้าที่แยกสลายโปรตีนโครงสร้างภายในเซลล์ และนำไปสู่การตายแบบอะพอพโทซิส (Elmore, 2007) กลไกของวัฏจักรเซลล์และการตายแบบอะพอพโทซิสมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลของการมีชีวิตและการตายของเซลล์โดยเฉพาะในบริบทของมะเร็ง ซึ่งมักพบว่าการสูญเสียการควบคุมในของวัฏจักรเซลล์ หรือมีการหลบเลี่ยงกลไกอะพอพโทซิสเป็นปัจจัยหนึ่งของการเกิดและลุกลามของเนื้องอก การศึกษาและทำความเข้าใจในระดับโมเลกุลจึงเป็นพื้นฐานสำคัญในการพัฒนาแนวทางการรักษาโรคที่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะยาที่ออกฤทธิ์เหนี่ยวนำการเกิดอะพอพโทซิสในเซลล์มะเร็ง (Elmore, 2007)



ภาพ 4 แสดงวัฏจักรของเซลล์

ที่มา: Ligasová, Frydrych, & Koberna, 2023

การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (Apoptosis)

การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสเป็นกลไกการตายของเซลล์ที่รู้จักกันดี มีลักษณะทางรูปร่างที่เฉพาะเจาะจงของเซลล์ คือ มีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane blebbing) การหดตัวของนิวเคลียส (nuclear condensation) และการเกิด apoptotic bodies ซึ่งเกิดขึ้นโดยไม่อาศัยการอักเสบของเซลล์ (Elmore, 2007)

การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสเกิดได้จากกลไกหลัก 2 กลไกคือ intrinsic pathway ซึ่งถูกกระตุ้นโดยตัวกระตุ้นภายใน เช่น การเกิดความเสียหายของ DNA หรือภาวะเครียดจากกลุ่มโปรตีน Bcl-2 family ประกอบด้วยโปรตีนกระตุ้นการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสและโปรตีนยับยั้งการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส ที่ควบคุมผ่านไมโทคอนเดรีย ในขณะที่โปรตีนกระตุ้นการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (Noxa, Puma, Bax, Bak) ถูกเพิ่มขึ้นเพื่อยับยั้งการทำงานของโปรตีนยับยั้งการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (Bcl-2, Bcl-xl, Mcl-1) และกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงบริเวณนอกของเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP) ทำให้เกิดการหลั่งโปรตีนออกจากเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย การกระตุ้น caspase 9 และ caspase 3 ให้เริ่มการเกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสอีกกลไกคือ extrinsic pathway ที่ถูกกระตุ้นผ่านตัวรับบนเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการสร้างของโปรตีนคอมเพล็กซ์ไนโซโตซอล ที่กระตุ้น caspase 8 และ caspase 3 นำไปสู่การเกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (Tokar, T., & Ulicny, J., 2023; Hongmei, Z., 2012)

ตาราง 1 แสดงกลไกการตายของเซลล์ ไชโตเคนและแอนติบอดีที่ใช้ในการทดสอบ

Pathway	ตัวกระตุ้นหลัก	กลไก	ผลลัพธ์
p53–p21	DNA damage	Arrest cell cycle / Apoptosis	หยุด G1, กระตุ้น BAX
Intrinsic	Stress, p53, tBID	MOMP → cytochrome c → caspase	Apoptosis
Extrinsic	FasL, TNF	DISC → caspase-8 → BID/caspase-3	Apoptosis
PI3K/Akt	Growth factors	Inhibits BAX/BAD, activates mTOR	Cell survival
MAPK (JNK)	Stress, ROS	Activates BAX, PUMA	Apoptosis

การรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Treatment of Leukemia)

การรักษาโดยใช้ยาเคมีบำบัด (chemotherapy) ถือเป็นแนวทางหลักในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน โดยใช้ยาออกฤทธิ์ต่อเซลล์ที่มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เช่น Cytarabine, Daunorubicin, Vincristine และ Methotrexate ซึ่งสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งและกระตุ้นให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส อย่างไรก็ตามยาเหล่านี้ไม่สามารถเลือกทำลายเฉพาะเซลล์มะเร็งได้ จึงส่งผลต่อเซลล์ปกติบางชนิด ทำให้เกิดผลข้างเคียง เช่น ภาวะไขกระดูกถูกกดการทำงาน ภาวะโลหิตจาง เม็ดเลือดขาวต่ำ และเกล็ดเลือดต่ำ (Döhner, Weisdorf, & Bloomfield, 2015) สำหรับผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงหรือไม่ตอบสนองต่อเคมีบำบัด อาจได้รับการรักษาด้วยการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด (stem cell transplantation) โดยมีทั้งแบบ autologous ซึ่งใช้เซลล์ของผู้ป่วยเอง และแบบ allogeneic ซึ่งใช้เซลล์จากผู้บริจาคที่มีความเข้ากันทางภูมิคุ้มกัน การปลูกถ่ายสามารถทดแทนไขกระดูกที่เสียหาย และสร้างภูมิคุ้มกันใหม่ที่สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งที่เหลืออยู่ได้ แต่การรักษาด้วยวิธีนี้มีความเสี่ยงสูง เช่น ภาวะแทรกซ้อนจากยาเตรียมก่อนปลูกถ่าย และการเกิดภาวะภูมิแพ้ต่อผู้ให้ (graft-versus-host disease) (DeAngelo, 2018)

การบำบัดด้วยภูมิคุ้มกัน (Immunotherapy) เป็นอีกแนวทางที่กำลังได้รับความสนใจ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาแบบดั้งเดิม เช่น การใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibodies) เช่น Rituximab ซึ่งออกฤทธิ์ต่อ CD20 บนเซลล์มะเร็งในมะเร็งเม็ดเลือดชนิด CLL หรือการใช้ Blinatumomab ซึ่งเป็น BiTE antibody ที่เชื่อม T cell กับเซลล์มะเร็งชนิด ALL ที่แสดง CD19 นอกจากนี้ ยังมีการใช้ T cell ที่ผ่านการดัดแปลงพันธุกรรม (CAR-T cell therapy) ซึ่งมีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเฉพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งและสามารถให้ผลในระยะยาว (Brudno, & Kochenderfer, 2016) ในบางกรณี การฉายรังสี (Radiation therapy) ถูกนำมาใช้ร่วมกับการรักษาอื่น ๆ โดยเฉพาะในกรณีที่โรคแพร่กระจายไปยังระบบประสาทส่วนกลาง หรือมีการก่อตัวของมวลนอกไขกระดูก เช่น Chloroma ซึ่งสามารถตอบสนองต่อรังสีได้ดี (Terwilliger, & Abdul-Hay, 2017)

นอกจากนี้การใช้อย่างมุ่งเป้าทางชีวภาพ (targeted therapy) ถือเป็นแนวทางการรักษาที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง เป็นแนวทางการรักษามะเร็งที่มุ่งเน้นการยับยั้งโมเลกุลหรือโปรตีนเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การอยู่รอด และการลุกลามของเซลล์มะเร็ง โดยตรงต่อจุดเป้าหมายทางชีวโมเลกุล (molecular target) เช่น ยีนกลายพันธุ์ (gene mutation โปรตีนควบคุมการส่งสัญญาณ (signaling proteins) หรือเอนไซม์ที่ผิดปกติจากการกลายพันธุ์ (Druker et al., 2001; Stone et al., 2017) กลไกหลักของการรักษาด้วยยามุ่งเป้า ได้แก่ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase inhibitors; TKIs) การปิดกั้นตัวรับการเจริญเติบโตของเซลล์ (growth factor receptors) และการยับยั้งสัญญาณภายในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Perl

et al., 2019) ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว CML ยา Imatinib ถือเป็นยามุ่งเป้าตัวแรก que พัฒนาเพื่ ยับยั้งเอนไซม์ BCR-ABL tyrosine kinase ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย ส่งผลให้สามารถควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพและลดอัตราการเสียชีวิตลงอย่างมีนัยสำคัญ (Druker et al., 2001). ต่อมาในมะเร็งเม็ดเลือดขาว AML พบว่า การใช้ยา Midostaurin ซึ่งเป็นยา ด้านเอนไซม์ FLT3 ร่วมกับเคมีบำบัดมาตรฐานช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ ของยีน FLT3 ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Stone et al., 2017). นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่า ยา Gilteritinib ให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าเคมีบำบัดมาตรฐานในผู้ป่วย AML ที่กลับเป็นซ้ำและมีการกลายพันธุ์ FLT3 (Perl et al., 2019) การรักษามุ่งเป้ายังขยายสู่การรักษา มะเร็งเม็ดเลือดชนิดอื่น เช่น มะเร็งเม็ดเลือด ขาว CLL ที่มียา Ibrutinib ซึ่งเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ Bruton's tyrosine kinase (BTK) สามารถยับยั้ง การส่งสัญญาณของ B-cell receptor และลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ (Byrd et al., 2014) ข้อดีของการรักษาด้วยยามุ่งเป้าคือ มี ความจำเพาะสูง (specificity) ต่อโปรตีนหรือยีนเป้าหมาย จึงลดการทำลายเซลล์ปกติและลดผลข้างเคียงเมื่อเทียบกับเคมีบำบัดแบบดั้งเดิม (Druker et al., 2001). นอกจากนี้ ยังสามารถใช้ร่วมกับเคมีบำบัดหรือภูมิคุ้มกันบำบัดเพื่อเพิ่มประสิทธิผลของ การรักษาได้ (Perl et al., 2019). อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดสำคัญ ได้แก่ การเกิดการดื้อยา (drug resistance) จากการกลายพันธุ์รองในจุดเป้าหมาย และค่าใช้จ่ายในการรักษาที่สูง รวมถึง ความจำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์ระดับโมเลกุลของผู้ป่วยเพื่อเลือกยาที่เหมาะสม (Stone et al., 2017; Perl et al., 2019).

ตาราง 2 แสดงการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว กลไกการออกฤทธิ์ และข้อจำกัด

วิธีการรักษา	กลไกการออกฤทธิ์	ข้อจำกัด
เคมีบำบัด (Chemotherapy)	ยาออกฤทธิ์ต่อเซลล์ที่แบ่งตัวอย่างรวดเร็ว โดยยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์และกระตุ้นให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส (apoptosis)	ไม่สามารถเลือกทำลายเฉพาะ เซลล์มะเร็ง เกิดผลข้างเคียง เช่น ภาวะไขกระดูกถูกกด เม็ดเลือดขาวต่ำ โลหิตจาง และเกล็ดเลือดต่ำ
ปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด (Hematopoietic stem cell transplantation)	ทดแทนไขกระดูกที่เสียหายด้วยเซลล์ต้นกำเนิดปกติ ทั้งแบบ autologous และ allogeneic ช่วยสร้างภูมิคุ้มกันใหม่ที่สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งที่เหลืออยู่	มีความเสี่ยงสูง เช่น ภาวะแทรกซ้อนจากยาเตรียมก่อนปลูกถ่าย และภาวะ graft-versus-host disease
ภูมิคุ้มกันบำบัด (Immunotherapy)	กระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ทำลายเซลล์มะเร็ง เช่น Rituximab (ต่อต้าน CD20 ใน CLL), Blinatumomab (เชื่อม T cell กับ CD19 ใน ALL) และ CAR-T cell therapy ที่มีความจำเพาะสูงต่อแอนติเจนของเซลล์มะเร็ง	ราคาสูง อาจเกิดภาวะ cytokine release syndrome และ neurotoxicity ในบางกรณี
ยามุ่งเป้าทางชีวภาพ (Targeted Therapy)	มุ่งยับยั้งโมเลกุลหรือโปรตีนเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การอยู่รอด และการลุกลามของเซลล์มะเร็ง เช่น Imatinib (BCR-ABL TKI ใน CML), Midostaurin และ Gilteritinib (FLT3 inhibitors ใน AML), Ibrutinib (BTK inhibitor ใน CLL)	อาจเกิดการดื้อยา จากการกลายพันธุ์ รอง ค่าใช้จ่ายสูง และต้องตรวจวิเคราะห์ระดับโมเลกุลเพื่อเลือกยาที่เหมาะสม
การฉายรังสี (Radiation Therapy)	ใช้รังสีพลังงานสูงทำลายดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็ง มักใช้ร่วมกับวิธีอื่น โดยเฉพาะในกรณีโรคแพร่กระจายสู่ระบบประสาท หรือมีมวลนอกไขกระดูก (chloroma)	มีผลต่อเนื้อเยื่อปกติบริเวณรอบข้าง อาจทำให้เกิดการอักเสบหรือพังผืดในระยะยาว

กัญชง (Hemp)

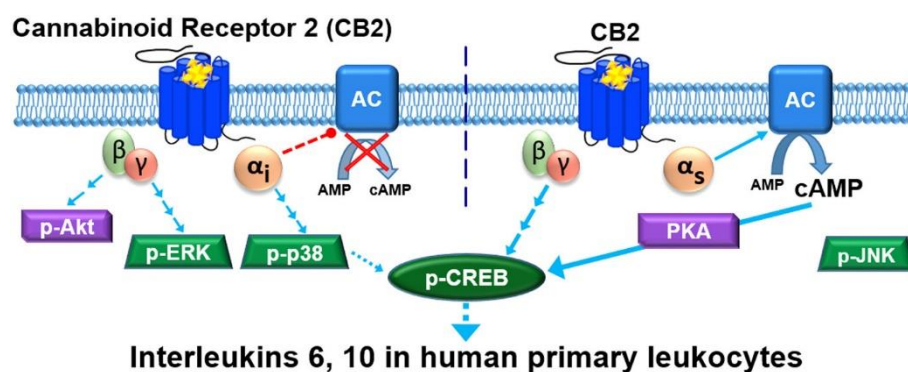
เป็นพืชที่มีแหล่งกำเนิดในเขตเอเชียกลาง มีการกระจายแพร่ไปทั่วเอเชียตะวันออก อินเดีย ยุโรป ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Cannabis sativa* L. อยู่ในวงศ์ Cannabaceae สารสำคัญ ที่พบ คือ สารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ (Cannabinoids) โดยมีโครงสร้างหลักในรูปของเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) มีสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ สารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (δ -9-tetrahydrocannabinol หรือ Δ 9-THC) แคนนาบิไดอล (Cannabidiol, CBD) แคนนาบินอล

(Cannabinol, CBN) และอนุพันธ์ของคานนาบินอยด์รูปแบบอื่น ๆ CBD เป็นสารไฟโตแคนนาบินอยด์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ *C. sativa* ที่ไม่ออกฤทธิ์ทางระบบประสาท แต่มีประโยชน์หลายประการ รวมถึงคุณสมบัติด้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ (Atalay, Jarocka-Karpowicz, & Skrzydlewska, 2019)

ปี 2003 มีการศึกษาผลของ CBD ต่อการอักเสบในระบบนำส่งผ่านผิวหนังโดยใช้เอทโทโซม (Ethosomal) ของ CBD ซึ่งมีลักษณะเฉพาะ คือสามารถส่งด้วยกลไกการขนส่งแบบพาสซีฟผ่าน กลไกการขนส่งเลเซอร์สแกนคอนโฟคอล และวัดความร้อนได้ด้วยการเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (Differential scanning calorimeter) หรือที่เรียกย่อว่าเครื่อง DSC เป็นแคลอริมิเตอร์ (calorimeter) ซึ่งใช้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางความร้อน ผลการศึกษาพบว่าการใช้ Ethosomal CBD บนผิวหนังช่วยป้องกันการอักเสบและอาการบวมที่ที่เกิดจากการฉีดสารเจียโนได้ ผ่าเท้าในสัตว์ทดลอง เอทโทโซมช่วยให้ CBD ซึมผ่านผิวหนังได้และสามารถคงอยู่ถึงระดับที่แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ CBD บนผิวหนังที่จะใช้เป็นยาต้านการอักเสบได้ (Lodzki et al., 2003)

ปี 2020 มีการพบว่า CBD ส่งผลให้เกิดการเพิ่มระดับแคลเซียมในเซลล์ ลดอัตราความมีชีวิตรอดของเซลล์และลดการผลิต IL-6, IL-8, MMP-3 ในโรคไขข้ออักเสบรูมาตอยด์ Rheumatoid arthritis synovial fibroblasts (RASf) ผ่านกลไกการทำงานของ Transient receptor potential ankyrin (TRPA1) และกลไกการเกิดความผิดปกติของ Mitochondria ทำให้เกิด Mitochondrial permeability transition pore และการเปิดของ pore นี้จะส่งผลต่อ Membrane potential ส่งผลให้ Oxidative Phosphorylation ลดลงและพลังงาน ATP ลดลงจนกระทั่งเซลล์ตายในที่สุด (Lowin, Tingting, Zurmahr et al., 2020) และในปี 2021 มีการค้นพบว่า CBD สามารถทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน innate immunity ของโมโนไซต์ที่ถูกกระตุ้นผ่านตัวรับ toll-like receptors (TLR) โดยสามารถยับยั้งการหลั่ง Interleukin-6 (IL-6) และ Interleukin-1 β (IL-1 β) ซึ่งเป็น pro-inflammatory cytokine อย่างมีนัยสำคัญ (Sermet et al., 2021)

ในปี 2022 มีการค้นพบว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ CBD ที่รู้จักกันดีที่สุด คือการทำงานของเอนโดแคนนาบินอยด์ CBD อาจมีผลในการต้านมะเร็ง เช่นเดียวกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ของสารแคนนาบินอยด์จับกับกลุ่มของ G protein-coupled receptors หรือที่เรียกว่าตัวรับแคนนาบินอยด์ประเภท 1 และ 2 (CB1 และ CB2 ตามลำดับ) ตัวรับ CB1 และ CB2 สามารถทั้งออกฤทธิ์ด้านการอักเสบ โปรอะพอพอโทติก และยับยั้งการแพร่กระจาย ซึ่งอาจช่วยต่อต้านเซลล์มะเร็งได้ (Heider et al., 2022)



ภาพ 5 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของแคนนาบินอยด์ผ่านตัวรับ CB1 และ CB2

ที่มา: Heider CG, et al., 2022

CBD เป็นสารประกอบหลักที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทในกัญชา โมเลกุลออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการต้านมะเร็งได้รับความสนใจอย่างมาก โดยเฉพาะในกลุ่มมะเร็งเม็ดเลือด เนื่องจากมีรายงานว่าสามารถเหนี่ยวนำกระบวนการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส พร้อมทั้งยับยั้งวัฏจักรเซลล์ผ่านกลไกหลากหลายเส้นทางสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง เช่น การเหนี่ยวนำให้เกิด mitochondrial dysfunction และการกระตุ้นกระบวนการ mitophagy ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด CML สายพันธุ์ K-562 (Maggi et al., 2022) นอกจากนี้ CBD ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์และลดความมีชีวิตของเซลล์ในเซลล์ AML-like (HL-60) และ CML (K-562) แบบขึ้นกับขนาดยา (dose-dependent) และเวลา (time-dependent) พร้อมทั้งกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบลิพิดที่สัมพันธ์กับกระบวนการตายของเซลล์ (Chamoso-Sanchez et al., 2025)

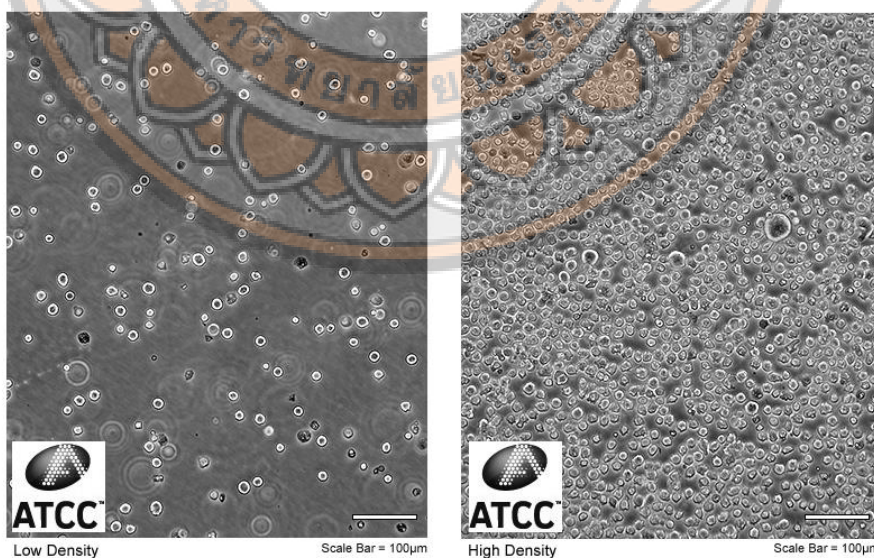
ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดดิมฟอยด์ เช่น T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) มีรายงานว่า CBD สามารถรบกวนสัญญาณการอยู่รอดของเซลล์และลดขนาดเซลล์ พร้อมทั้งส่งเสริมการตายของเซลล์ผ่านการเหนี่ยวนำความเครียดภายในเซลล์ (Kalenderoglou et al., 2017) อีกทั้งงานล่าสุดยังพบว่าสาร cannabinoid ที่มี CBD เป็นองค์ประกอบสำคัญสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสในเซลล์ T-ALL ที่มีการกลายพันธุ์ของ NOTCH1 ซึ่งเป็นสัญญาณสำคัญของมะเร็งชนิดนี้ (Besser et al., 2024) และยังพบว่า CBD กระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสในเซลล์ human leukemia ผ่านการควบคุมโปรตีน p22phox และ Nox4 ซึ่งเป็นโมเลกุลเกี่ยวข้องกับการเกิด oxidative stress ส่งเสริมการตายของเซลล์มะเร็งอย่างชัดเจน (McKallip et al., 2006)

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ใช้ในการทดสอบ

1. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 เป็นเซลล์ที่ได้รับมาจากผู้ป่วย CML ใช้เพื่อทดสอบคุณสมบัติของ B lymphocytes และ T lymphocytes และเซลล์มะเร็ง เป็นเซลล์รูปร่างทรงกลม และมีพื้นผิวเรียบ มีไมโครวิลลีสั้นที่คล้ายกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว สามารถจับกับ Immunoglobulin Fc receptor สามารถเกิดการ Pinocytosis แต่ไม่เกิดการ Phagocytosis เซลล์ K562 เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดซึ่งเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของโครโมโซมแบบ translocation ระหว่างโครโมโซมแท่งที่ 9 และ 22 t(9;22) (q34; q11.2) ที่เรียกว่าโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย ทำให้ไม่สามารถสร้างเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ เพื่อทำหน้าที่รักษาสมดุลของร่างกาย ความผิดปกติชนิดนี้ส่งผลให้เกิดยีนลูกผสมชนิด BCR-ABL ที่เป็นพยาธิกำเนิดของโรคในการย้อมสี Histochemical พบว่า K562 ให้ผลบวกต่อ Esterase, Lipid และ Acid phosphatase เซลล์ K562 ไม่ใช่ B cell line แต่มีบางคุณสมบัติที่เป็น T cell บางคุณสมบัติบ่งชี้ว่าไม่ใช่เซลล์สายลิมโฟยด์ แต่โดยปกติของตัวบ่งชี้ใน Chronic myeloid leukemia โดยพิจารณาจากโครโมโซมฟิลาเดลเฟียก็สามารถถือว่าเป็นส่วนหนึ่งของเซลล์ในกลุ่ม Granulocytic series (Klein et al., 1976)

ATCC Number: **CCL-243™**
Designation: **K-562**

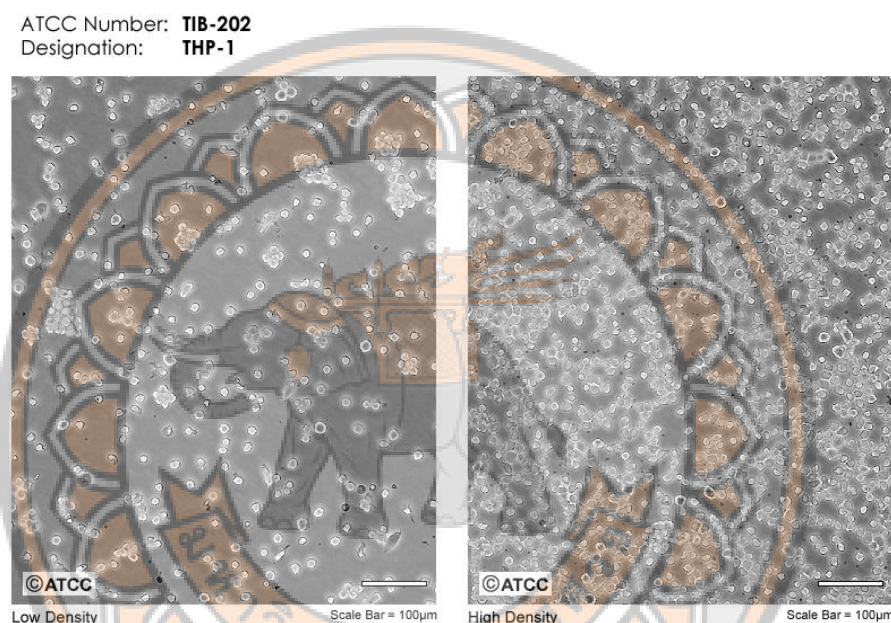


ภาพ 6 แสดงรูปร่างลักษณะพื้นฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562

ที่มา: <https://www.atcc.org/products/ccl-243>

2. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1 เป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดกลุ่มโมโนไซต์ (Leukemia monocytic cell line) ซึ่งถูกนำมาใช้งานอย่างแพร่หลายในการศึกษากลไก การส่งสัญญาณ การขนส่งสารอาหารและยาของโมโนไซต์หรือแมคโครฟาจ เซลล์ THP-1 มีลักษณะเฉพาะเป็นรูปแบบที่ใช้ในการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทั้งสภาวะที่เซลล์ถูกกระตุ้นและสภาวะปกติ (Chanput, Mes, & Wichers, 2014)



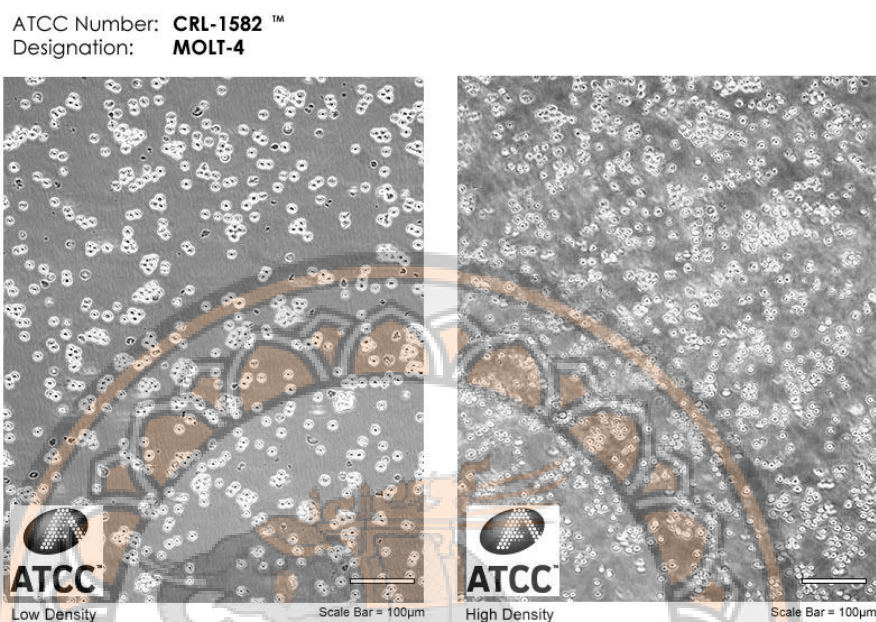
ภาพ 7 แสดงรูปร่างลักษณะพื้นฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1

ที่มา: <https://www.atcc.org/products/tib-202>

3. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด MOLT-4

MOLT-4 เป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphoid พบได้ในโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟบลาสต์เฉียบพลันชนิดทีเซลล์ (T-cell acute lymphoblastic leukemia-T-ALL) มีความผิดปกติของการจัดเรียงยีนแอมมาตัวรับแอนติเจนของทีเซลล์ (T-cell antigen receptor gamma-chain gene - T-gamma) มีลักษณะอิมมูโนฟีโนไทป์ (Immunophenotype) คล้าย thymocytes มีแสดงการแสดงออกของ CD1 และ CD5 และพบการจัดเรียง (rearrangement) ของ

ยีน T-cell receptor γ -chain ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเซลล์ในสาย T-cell (Greenberg et al., 1988)

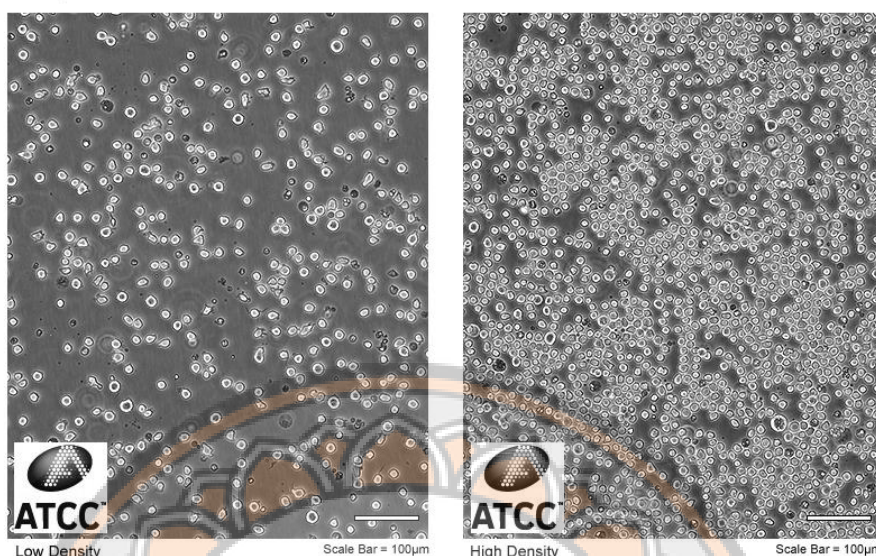


ภาพ 6 แสดงรูปร่างลักษณะพื้นฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด MOLT-4

4. เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด U937

U937 เป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดกลุ่มโมโนไซต์ (leukemia monocytic cell line) ซึ่งมาจากน้ำในเยื่อหุ้มปอด (pleural effusion) ของผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดฮิสติโอซัยติก (histiocytic lymphoma) มีลักษณะการเติบโตแบบแขวนลอย (suspension growth) และคงไว้ซึ่งคุณสมบัติหลักของเซลล์ โมโนไซต์ (monocyte) (Tafreshi M.G.K. et al., 2021)

ATCC Number: **CRL-1593.2™**
Designation: **U-937**



ภาพ 8 แสดงรูปร่างลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด U937

กลไกการออกฤทธิ์และพิษต่อหัวใจของยาโดxorubicin (Doxorubicin)

ยาโดxorubicin เป็นยาต้านมะเร็งในกลุ่ม anthracycline antibiotics ซึ่งได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S. FDA) ให้ใช้รักษามะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดลิมโฟบลาสต์ และไมอีโลบลาสต์ มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดฮอดจ์กินและนอน-ฮอดจ์กิน มะเร็งเต้านม มะเร็งรังไข่ มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งกระเพาะปัสสาวะชนิด transitional cell มะเร็งไทรอยด์ มะเร็งปอดชนิด small cell รวมถึงซาร์โคมาและเนื้องอกของเนื้อเยื่อกระดูกบางชนิด (U.S. Food and Drug Administration, 2012) อีกทั้งยังเป็นหนึ่งในยาต้านมะเร็งที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดเท่าที่มีการพัฒนา อย่างไรก็ตามยานี้มีข้อจำกัดสำคัญคือสามารถก่อให้เกิด โรคกล้ามเนื้อหัวใจเสื่อม (cardiomyopathy) ซึ่งอาจนำไปสู่ ภาวะหัวใจล้มเหลวชนิดคั่งเลือด (congestive heart failure) ได้ (Takemura, & Fujiwara, 2007)

กลไกการเกิดพิษต่อหัวใจของยาโดxorubicin เกี่ยวข้องกับการสร้างอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) ภายในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจในปริมาณมาก ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress) และความไม่สมดุลของระบบต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลให้ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระหลัก ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GSH-Px) ลดลง ในขณะที่ระดับของ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้น ความเสียหายดังกล่าวส่งผลให้เกิดการสูญเสียศักยภาพ

ของเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย กระตุ้นให้ cytochrome C ถูกปล่อยออกสู่ไซโตพลาซึมและกระตุ้นการทำงานของ caspase-9 และ caspase-3 ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ผ่านกลไก intrinsic apoptotic pathway (Sun et al., 2013).

นอกจากนี้ยาดีออกซิโธริบิซินยังเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน p53 และ Bax พร้อมลดการแสดงออกของ Bcl-2 ส่งผลให้สัดส่วน Bcl-2/Bax ลดลง ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่กระตุ้นให้เกิด Apoptosis ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ อีกทั้งยังสามารถกระตุ้น MAPK signaling pathway โดยเพิ่มการฟอสโฟรีเลชันของ JNK, ERK1/2, และ p38, ส่งผลให้ความเสียหายของเซลล์หัวใจรุนแรงยิ่งขึ้น กลไกดังกล่าวถือเป็นพื้นฐานสำคัญของการเกิดภาวะพิษต่อหัวใจจากยาดีออกซิโธริบิซิน (Sun et al., 2013)

กลไกการออกฤทธิ์และข้อบ่งใช้ของยาเดกซามิथाโซน (Dexamethasone)

ยาเดกซามิथाโซนใช้ในการรักษาภาวะทางคลินิกหลายชนิด เช่น โรคปลอกประสาทเสื่อมแข็งหลายจุด (Multiple Sclerosis) ภาวะสมองบวม (Cerebral Edema) ภาวะช็อก (Shock) และการอักเสบเฉียบพลัน (Acute Inflammation) รวมถึงใช้บรรเทาอาการในผู้ป่วยที่มีโรคภูมิแพ้ (allergic reactions), โรคหอบหืด (asthma), ผื่นหนังอักเสบ (atopic dermatitis) และ ภาวะแพ้ยารุนแรง (drug hypersensitivity reactions) (NCBI, 2023)

ยาเดกซามิथाโซนเป็นกลูโคคอร์ติคอยด์ที่ออกฤทธิ์โดยการจับกับตัวรับกลูโคคอร์ติคอยด์ (Glucocorticoid Receptor; GR) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ กลไกการออกฤทธิ์สำคัญเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการทำงานของ NF- κ B (nuclear factor kappa B) ผ่านการกระตุ้นการแสดงออกของ ยีน IKB α ซึ่งเป็นโปรตีนยับยั้งการเคลื่อนย้ายของ NF- κ B จากไซโตพลาซึมเข้าสู่นิวเคลียส (Deroo, & Archer, 2001)

การศึกษาภายในเซลล์มะเร็งเต้านมมนุษย์สายพันธุ์ T47D/A1-2 ซึ่งมีการแสดงออกของ GR พบว่า ยาเดกซามิथाโซนสามารถกระตุ้นการทำงานของโปรโมเตอร์ IKB α ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Micrococcal Nuclease, Restriction enzyme และ DNase I แสดงให้เห็นว่าบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน IKB α มีโครงสร้างแบบ Open Chromatin หลังการให้ยาเดกซามิथाโซนพบว่าการเพิ่มขึ้นของการจับระหว่าง Transcription Factors กับบริเวณโปรโมเตอร์ ส่งผลให้การถอดรหัสของยีน IKB α เพิ่มขึ้น ซึ่งนำไปสู่การยับยั้งการทำงานของ NF- κ B กลไกดังกล่าวเป็นพื้นฐานสำคัญของฤทธิ์ต้านการอักเสบของเดกซามิथाโซน (Deroo, & Archer, 2001)

การจำแนกและลักษณะฟีโนไทป์ของแมโครฟาจ (Macrophage Polarization and Phenotypes)

เซลล์แมโครฟาจเป็นเซลล์สำคัญของระบบภูมิคุ้มกันชนิดกำเนิด (Innate immune cells) ที่มีความสามารถในการปรับเปลี่ยนฟีโนไทป์ตามสภาพแวดล้อมของสิ่งกระตุ้น (Microenvironmental stimuli) เพื่อทำหน้าที่แตกต่างกันทั้งในการตอบสนองต่อการอักเสบ การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และการรักษาสมดุลของระบบภูมิคุ้มกัน การจำแนกแมโครฟาจจึงมักแบ่งออกเป็นหลายระยะ ได้แก่ M0, M1, และ M2 subtypes (M2a, M2b, M2c) ซึ่งแต่ละระยะมี CD Markers (Cluster of Differentiation Markers) และหน้าที่ทางชีววิทยาที่แตกต่างกัน (Baxter et al., 2020; Genin et al., 2015; Daigneault et al., 2010) ในภาวะ M0 (Resting Macrophage) เซลล์อยู่ในสภาวะที่ยังไม่ถูกกระตุ้น จะมีการแสดงออกของ CD14 และ CD68 ซึ่งเป็น lineage Markers ของแมโครฟาจ และมีบทบาทในการตรวจจับและกำจัดสิ่งแปลกปลอมผ่านกระบวนการ Phagocytosis (Daigneault et al., 2010) เมื่อได้รับสิ่งกระตุ้น เช่น lipopolysaccharide (LPS) หรือ Interferon- γ (IFN- γ) เซลล์จะเปลี่ยนเป็น M1 Macrophage หรือ Classically Activated Macrophage ซึ่งเป็นฟีโนไทป์ที่มีฤทธิ์ก่อการอักเสบ (Pro-inflammatory) จะมีการแสดงออกของ CD80, CD86, HLA-DR และ CD40 ซึ่งสัมพันธ์กับการทำหน้าที่เป็น Antigen-Presenting cell (APC) เพื่อกระตุ้นการตอบสนองของ T lymphocyte รวมถึงการหลั่งไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น TNF- α และ IL-1 β (Baxter et al., 2020) ภายหลังจากการอักเสบเฉียบพลัน เซลล์แมโครฟาจสามารถเปลี่ยนเข้าสู่ฟีโนไทป์ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบหรือมีบทบาทในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ เรียกว่า M2 macrophage ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้เป็น 3 ชนิดย่อยคือ M2a, M2b, และ M2c (Genin et al., 2015) ภาวะ M2a (Repair/Wound-healing macrophage) เกิดจากการกระตุ้นด้วย IL-4 หรือ IL-13 จะมีการแสดงออกของ CD206, CD163 และ CD204 มีหน้าที่หลักในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อและกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) ภาวะ M2b (Immune-regulatory macrophage) เกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลภูมิคุ้มกัน จะมีการแสดงออกของ CD86, CD80, CD32 และ CD64 มีบทบาทในการยับยั้งการอักเสบส่วนเกินและรักษาสมดุลของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ภาวะ M2c (Regulatory/Suppressor macrophage) เกิดจากการกระตุ้นด้วย IL-10 หรือ glucocorticoids จะมีการแสดงออกของ CD163, CD206 และ CD200R ทำหน้าที่สำคัญในการกำจัดเซลล์ที่ตายแบบ Apoptosis ผ่านกระบวนการ Efferocytosis และลดการอักเสบในระยะฟื้นฟู (Baxter et al., 2020; Genin et al., 2015).

ตาราง 3 แสดงลักษณะจำเพาะ (Phenotype) บทบาท และมาร์คเกอร์ผิวเซลล์ (CD Markers) ของแมคโครฟาจชนิดต่าง ๆ (Macrophage Polarization)

Macrophage Polarization	CD Markers	Physiology
M0 (Resting)	CD14, CD68	Phagocytosis
M1 (Pro-inflammatory)	CD80, CD86, HLA-DR, CD40	Antigen-Presenting Cells; APCs, Antimicrobial, Antineoplastic
M2a (Repair/Wound Healing)	CD206, CD163, CD204	Tissue regeneration, Phagocytosis, Anti-inflammatory activity
M2b (Immune Regulation)	CD86, CD80, CD32, CD64	Allergic responses and inflammatory regulation
M2c (Regulation/Suppressor)	CD163, CD206, CD200R	Efferocytosis, Anti-inflammatory activity

ที่มา: Baxter et al., 2020; Genin et al., 2015; Daigneault et al., 2010

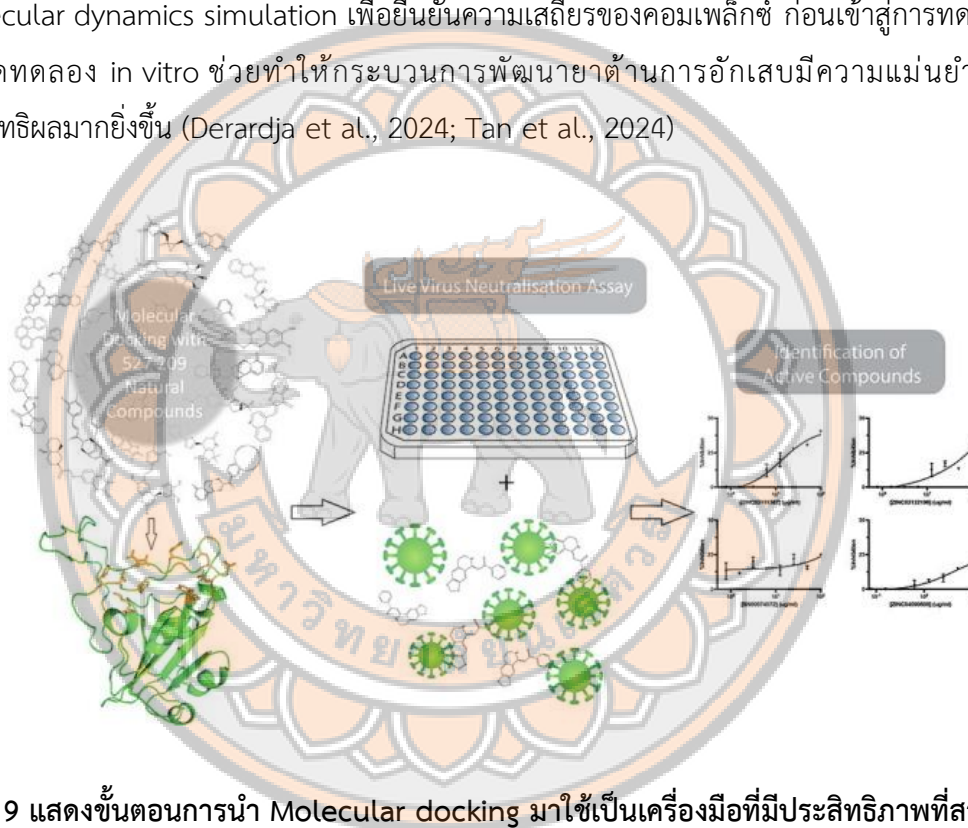
เทคนิคการทำนายพลังงานระหว่างโมเลกุลโดยใช้ Molecular docking

Molecular docking เป็นเทคนิคทางคอมพิวเตอร์ที่ใช้จำลองการจับกันระหว่างลิแกนด์กับโปรตีนเพื่อทำนายลักษณะการจับ (binding pose) และพลังงานการจับ (binding affinity) ซึ่งโปรแกรมจะสร้างตำแหน่งและมุมของลิแกนด์หลายรูปแบบภายในบริเวณ active site ของโปรตีน แล้วใช้ scoring function ประเมินความเสถียรของการจับจากแรงระหว่างโมเลกุล เช่น พันธะไฮโดรเจน แรงไฟฟ้าสถิต และแรงแวนเดอร์วาลส์ เทคนิคนี้ถูกใช้เพื่อคาดการณ์โมเลกุลที่มีโอกาสยับยั้งโปรตีนเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ ก่อนเข้าสู่การทดลองจริง (Tan et al., 2024; Jheng, & Lee, 2023)

ปัจจุบัน molecular docking ถูกใช้เป็นเครื่องมือสำคัญในการค้นหายาใหม่ เนื่องจากสามารถคัดกรองโมเลกุลจำนวนมากได้อย่างรวดเร็วและประหยัดทรัพยากร โดยเฉพาะงานวิจัยด้านไวรัส เช่น SARS-CoV-2 ที่ใช้ docking และ virtual screening เพื่อคัดเลือกสารธรรมชาติที่สามารถจับกับโปรตีนหนามหรือเอนไซม์ 3CLpro ของไวรัส ซึ่งช่วยลดจำนวนสารที่ต้องนำไปทดสอบจริงใน

ห้องปฏิบัติการอย่างมาก และเพิ่มโอกาสพบสารต้านไวรัสที่มีประสิทธิภาพ (Power et al., 2022; Zong et al., 2024)

ในงานวิจัยด้านการอักเสบ เทคนิค molecular docking ถูกนำมาใช้เพื่อคัดกรองสารที่มีศักยภาพในการยับยั้งโปรตีนสำคัญ เช่น COX-2, 5-LOX และ NF- κ B โดยช่วยให้สามารถระบุกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ รวมทั้งใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงโครงสร้างของสารต้นแบบให้มีความจำเพาะและประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงขึ้น งานวิจัยสมัยใหม่ยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ molecular docking เพื่อเลือกสารที่มีพลังงานการจับต่ำ ร่วมกับ molecular dynamics simulation เพื่อยืนยันความเสถียรของคอมเพล็กซ์ ก่อนเข้าสู่การทดลองในหลอดทดลอง in vitro ช่วยทำให้กระบวนการพัฒนายาต้านการอักเสบมีความแม่นยำและมีประสิทธิผลมากยิ่งขึ้น (Derardja et al., 2024; Tan et al., 2024)



ภาพ 9 แสดงขั้นตอนการนำ Molecular docking มาใช้เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็วและใช้ทรัพยากรต่ำ

ที่มา: Power et al., 2021

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการอักเสบ

1. การกระตุ้นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1 ให้เป็นแมคโครฟาจ

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1 จาก the American Type Culture Collection (ATCC) ถูกเพาะเลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ที่มีส่วนประกอบของ 10% FBS และสารละลาย 1% antibiotic-antimycotic (penicillin, streptomycin และ amphotericin B) การพัฒนาไปเป็นแมคโครฟาจของ THP-1 ถูกกระตุ้นโดย Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) 5 ng/mL ใน RPMI เป็นเวลา 3 วัน และเลี้ยงใน completed RPMI 1640 ที่ไม่มี PMA ที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะที่มี CO₂ 5% เป็นเวลา 5 วัน

2. การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability test) ด้วยวิธี AlamarBlue Assay

นำเซลล์ผสมกับน้ำยา trypan blue ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นนับเซลล์ที่มีชีวิต และไม่มีชีวิตด้วย hemocytometer โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะไม่มีการติดสีน้ำเงินของ trypan blue และมีลักษณะที่วาว ส่วนเซลล์ที่ไม่มีชีวิตจะติดสีน้ำเงินของ trypan blue ทำให้เซลล์มีสีน้ำเงิน จากนั้นนับจำนวนเซลล์ดังกล่าว แล้วจึงเพาะเลี้ยงโมโนไซต์ให้มีการพัฒนาเป็นแมคโครฟาจในสภาวะที่เหมาะสม

$$\text{จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้} \times \text{ระดับการเจือจาง (Dilution factor)}}{\text{ปริมาตร}}$$

เตรียมเซลล์และสารที่ต้องการทดสอบ ใน 96-well plates โดยต้องมีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 100 µL/หลุม ทำการ Incubate เพื่อให้เซลล์และสารที่ต้องการทดสอบทำปฏิกิริยา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา เทสารละลายทิ้งในแต่ละหลุม จากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ที่มีผสมด้วยสาร Resazurin (7-hydroxy-10-oxidophenoxazin-10-ium-3-one, sodium) ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในแต่ละหลุม นำกลับไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการวัดสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Multimode plate reader (EnSpire, PerkinELmer) ที่มีความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยการทดสอบจะทำซ้ำกันสองครั้งในแต่ละการทดลอง และทำทั้งหมดสามครั้ง เพื่อวิเคราะห์หาความแปรผันทางสถิติด้วย standard deviation (SD) นำค่าการ

ดูกลิ่นแสงในแต่ละหลุมที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (Percentage viable cells; % cell viability) ดังแสดงตามสูตรสมการดังนี้

$$\% \text{cell viability} = \frac{\text{absorbance of the test sample} - \text{absorbance of the blank}}{\text{absorbance of control well} - \text{absorbance of the blank}} \times 100$$

จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (แกน y) และความเข้มข้นของยาหรือสารสกัด (แกน X) แล้วทำการหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการมีชีวิตของเซลล์ (inhibition concentration) ที่ 50 % (IC50) ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism

3. การกระตุ้นกระบวนการอักเสบ

เลี้ยงเซลล์ THP-1 ในหลุมที่เป็น 24-well plate ปริมาณ 2×10^5 เซลล์/หลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเซลล์จะได้รับการกระตุ้นด้วยสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด จากนั้นเซลล์จะถูกกระตุ้นด้วย LPS จากเชื้อ *Escherichia coli* ความเข้มข้น 100 ng/mL และทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง สำหรับ positive control เซลล์จะถูกเติมด้วยยา Dexamethasone และ Negative control เซลล์จะถูกเติมด้วย LPS จากเชื้อ *E. coli*

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบผ่านการหลั่งไซโตไคน์ ด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

ใช้หลักการ Antigen-Antibody complex แล้วตรวจวัดปฏิกิริยาด้วยสารที่เป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์และเปลี่ยนสีได้เมื่อกลายเป็นผลิตภัณฑ์ โดยเคลือบที่พื้นผิวของหลุม 96 well plate ด้วย anti-cytokine Ab ที่จำเพาะต่อ cytokine ชนิดที่ต้องการทดสอบ ดังแสดงในตาราง 4 ที่ 4°C เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นเติม supernatant จากอาหารเลี้ยงเซลล์ลงไป หากมี cytokine ที่จำเพาะต่อ anti-cytokine Ab ชนิดนั้นจะเกิดการจับกันแบบ Antigen-Antibody complex จากนั้นจึงนำไป incubate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนล้างส่วนเกินที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก หลังจากนั้นเติม anti-cytokine Ab ตัวที่สองที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ลงไป โดยจะใช้เอนไซม์ Avidin horseradish peroxidase เขย่าภาตเป็นเวลา 30 นาที แอนติบอดีตัวที่สองนี้จะทำปฏิกิริยากับ cytokine ที่ถูกตรึงด้วยแอนติบอดีตัวแรก ซึ่งเมื่อล้างส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกแล้ว เติม Substrate ลงไป แล้วทำการตรวจวัดปริมาณสีที่เกิดขึ้นจากเครื่อง Spectrophotometer โดยการเปลี่ยนแปลงสีของ substrate จะเป็นสัดส่วน

โดยตรงกับปริมาณของ cytokine ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ (15) แสดงในภาพ 15 ไซโตไคน์และแอนติบอดีที่ใช้ในการทดสอบแสดงในตาราง 3

ตาราง 4 แสดงไซโตไคน์และแอนติบอดีที่ใช้ในการทดสอบ

ไซโตไคน์ที่ต้องการทดสอบ	Anti-cytokine Ab
Interleukin-6 (IL-6)	Anti-IL6
Interleukin-10 (IL-10)	Anti-IL10
Tumor necrosis factor- α (TNF- α)	Anti-TNF α
Interleukin-1 β (IL-1 β)	Anti-IL1 β

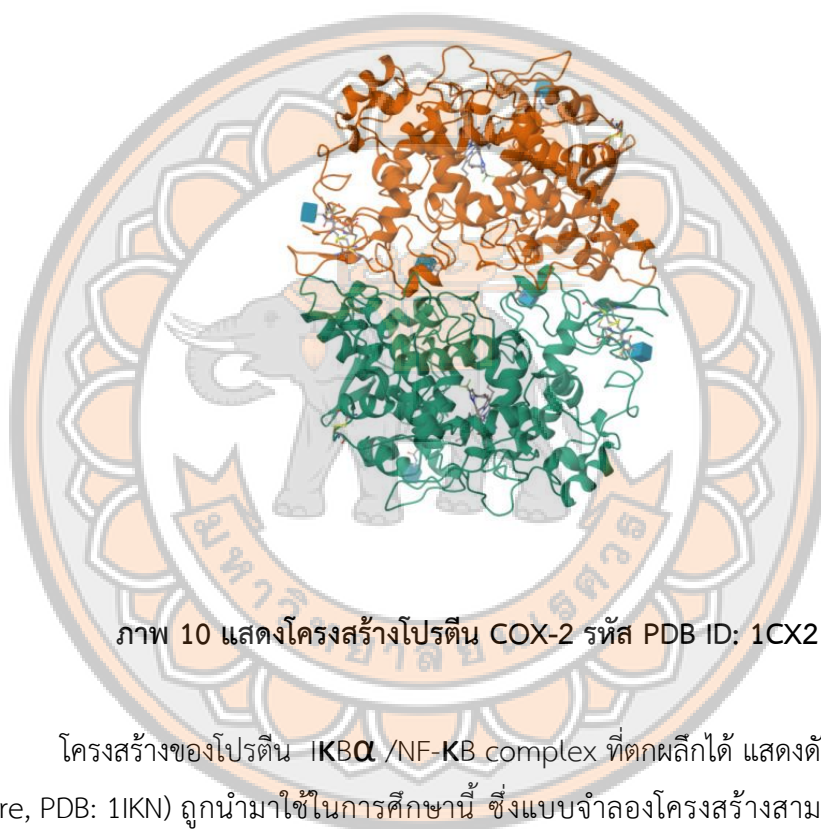
การแสดงผลของโปรตีนเกี่ยวกับกลไกการอักเสบ

การศึกษาการแสดงผลของโปรตีนเกี่ยวกับกลไกการอักเสบในเซลล์ ด้วยวิธี Western blot โดยเตรียมตัวอย่างโปรตีนให้มีความเข้มข้น 20 mg/mL ผสมกับสารละลาย loading dye ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปแยกด้วยเจล 12% SDS-polyacrylamide gel วิเคราะห์ด้วยวิธี electrophoresis และเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (protein ladder) หลังจากแยกโปรตีนแล้ว นำเจลไป transfer ลงบน polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane และทำการบล็อกเมมเบรนด้วยสารละลาย 5% Bovine Serum Albumin (BSA) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นย้อมด้วย primary antibody ที่จำเพาะต่อโปรตีน phospho-NF- κ B p65, phospho-I κ B- α และ COX-2 เขย่าตลอดคืนที่อุณหภูมิ 4°C หลังจากนั้นล้างเมมเบรนด้วยสารละลาย TBST จำนวน 3 ครั้ง และย้อมต่อด้วย horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG (H + L) secondary antibody ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วล้างเมมเบรนอีก 4 ครั้งด้วย TBST buffer ต่อมาหยด chemiluminescence substrate ลงบนเมมเบรน ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และทำการถ่ายภาพโปรตีนที่แสดงออกโดยใช้โปรแกรม ChemiDoc XRS+ Imaging System (Bio-Rad) และ Image Studio Lite software

การทำนายการเกิดอันตรกิริยาของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ

1. การเลือกและเตรียมโครงสร้างโปรตีน

โครงสร้างของโปรตีน COX-2 ที่ตกผลึกได้ (crystal structure, PDB ID: 1CX2) แสดงดังภาพที่ 6 ถูกนำมาใช้ในการศึกษานี้ ซึ่งแบบจำลองโครงสร้างสามมิตินั้น นำมาจากฐานข้อมูลของ RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) โครงสร้างของโปรตีน COX-2 รหัส PDB 1CX2 ที่ได้จะถูกนำส่วนของโมเลกุลอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องออกไป



ภาพ 10 แสดงโครงสร้างโปรตีน COX-2 รหัส PDB ID: 1CX2

โครงสร้างของโปรตีน $\text{IKB}\alpha$ /NF- KB complex ที่ตกผลึกได้ แสดงดังภาพ 11 (crystal structure, PDB: 1IKN) ถูกนำมาใช้ในการศึกษานี้ ซึ่งแบบจำลองโครงสร้างสามมิตินั้น นำมาจากฐานข้อมูลของ RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) โครงสร้างของโปรตีน $\text{IKB}\alpha$ /NF- KB complex รหัส PDB 1IKN ที่ได้จะถูกนำส่วนของโมเลกุลอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องออกไป

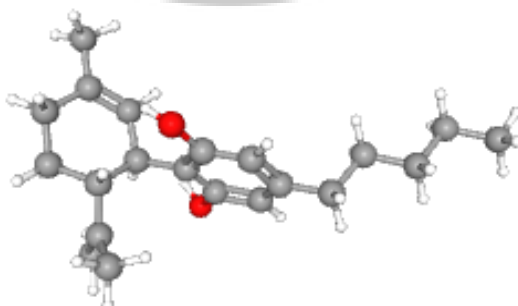


ภาพ 11 แสดงโครงสร้างโปรตีน IKBA /NF-κB complex รหัส PDB ID: 1IKN

ทำการดาวน์โหลดโครงสร้างสามมิติของโปรตีน ในระบบฐานข้อมูล RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) ทำการเตรียมโปรตีนโดยการนำลำดับกรดอะมิโนจาก FASTA Sequence เข้าสู่ระบบ SWISS-MODEL เพื่อคัดเลือก model ของโปรตีนที่ ค่า Sequence Identity 100 % จากนั้นทำการดาวน์โหลดในรูปแบบนามสกุลไฟล์ pdb format

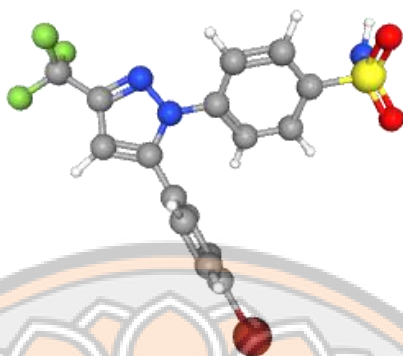
2. เตรียมโครงสร้างลิแกนด์

2.1 โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล CBD จากฐานข้อมูล Pub-Chem จากนั้นทำการดาวน์โหลดในรูปแบบนามสกุลไฟล์ SDF format



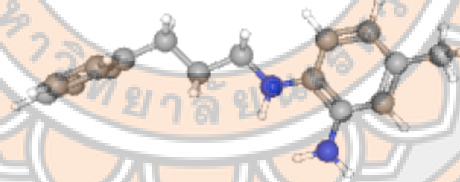
ภาพ 12 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล CBD

2.2 โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล SC-558 จากฐานข้อมูล Pub-Chem จากนั้นทำการดาวน์โหลดในรูปแบบนามสกุลไฟล์ SDF format



ภาพ 13 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล SC-558

2.3 โครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล JSH-23 จากฐานข้อมูล Pub-Chem จากนั้นทำการดาวน์โหลดในรูปแบบนามสกุลไฟล์ SDF format



ภาพ 14 แสดงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล JSH-23

3. การทำโมเลกุลาร์ดีockingโดยใช้โปรแกรม CB-dock2

การจำลองโมเลกุลาร์ดีockingระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ ทำโมเลกุลาร์ ดีockingจากโปรตีนและลิแกนด์ที่เตรียมไว้ โดยใช้โปรแกรม CB-dock ทำการเปิดโปรแกรม CB-DOCK จากนั้นทำการอัปโหลดโปรตีนและอัปโหลดลิแกนด์ที่เตรียมไว้ จากนั้นทำการเลือก Auto Blind docking จากนั้นทำการดาวน์โหลดโครงสร้าง pocket ในตำแหน่งเดียวกับที่ลิแกนด์ควบคุมเชิงบวกจับ ทำการดาวน์โหลดในรูปแบบนามสกุลไฟล์ PDB format จากนั้นทำการเปิดในโปรแกรม Biovia discovery studio เพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลในรูปแบบ 2D interaction

การศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด

1. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937, MOLT-4

การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562, K562/ADR, U937, MOLT-4 ทำได้โดยนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ที่ประกอบด้วย 10% FBS โดยมีสารละลาย 1% Antimycotic-Antibiotic ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95

2. ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937 และ MOLT-4

เตรียมเซลล์ก่อนทำการทดสอบ โดยนำเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937 และ MOLT-4 ปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ 2×10^4 เซลล์ต่อหลุม มาเลี้ยงในหลุมเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณ 5% CO₂

วัดความมีชีวิตรอดของเซลล์ด้วยวิธี alamarBlue Assay เพื่อทดสอบความเป็นพิษของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง โดยอาศัยหลักการตรวจวัดเซลล์ที่มีชีวิตด้วยสาร resazurin (7-hydroxy-10-oxidophenoxazin-10-ium-3-one, sodium) ที่ถูก reduced ด้วยเอนไซม์ mitochondrial reductase จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็น resorufin ให้สีชมพู ตามหลักการ alamarBlue Assay โดยการนำสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด ความเข้มข้น 0 – 1,000 µg/mL และ ยาเคมีบำบัดชนิดดอกโรสไบซินความเข้มข้น 0 – 500 µg/mL ที่เตรียมในอาหารเลี้ยงเซลล์แล้ว เติมนลงในหลุมเซลล์มะเร็ง จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณ 5% CO₂ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อครบกำหนดเวลา เติม Resazurin (7-hydroxy-10-oxidophenoxazin-10-ium-3-one, sodium) โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายเมื่อรวมกับปริมาตรเดิมในแต่ละหลุมเป็น 0.015 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำกลับไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

วัดค่า fluorescence intensity ของสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Multimode plate reader (EnSpire, PerkinELmer) ที่มีความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยการทดสอบจะทำซ้ำกันสองครั้งในแต่ละการทดลอง และทำทั้งหมดสามครั้ง เพื่อวิเคราะห์หาความแปรผันทางสถิติด้วย standard deviation (SD) นำค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละหลุมที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (Percentage viable cells; % cell viability) ดังแสดงตามสูตรสมการดังนี้

$$\% \text{cell viability} = \frac{\text{FI of the test sample} - \text{FI of the blank}}{\text{FI of control well} - \text{FI of the blank}} \times 100$$

หมายเหตุ: FI= Fluorescence intensity

จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (แกน y) และความเข้มข้นของยาหรือสารสกัด (แกน X) แล้วทำการหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการมีชีวิตของเซลล์ (inhibition concentration) ที่ 50 % (IC₅₀) ด้วยโปรแกรม Origin



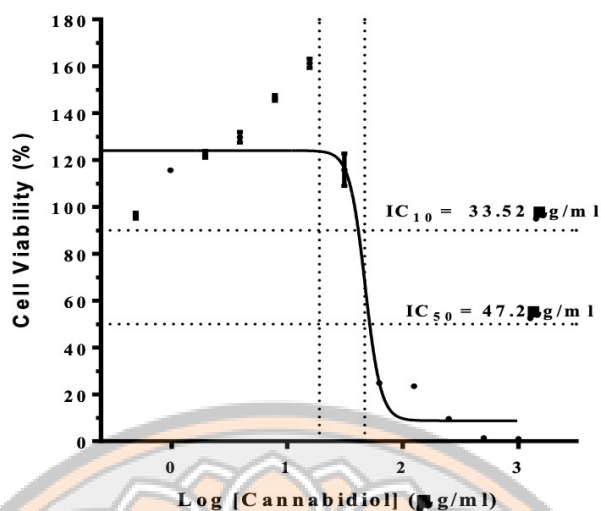
บทที่ 4

ผลการวิจัย

การทดสอบผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการยับยั้งกระบวนการอักเสบ

1. ผลการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability test) ด้วยวิธี AlamarBlue Assay

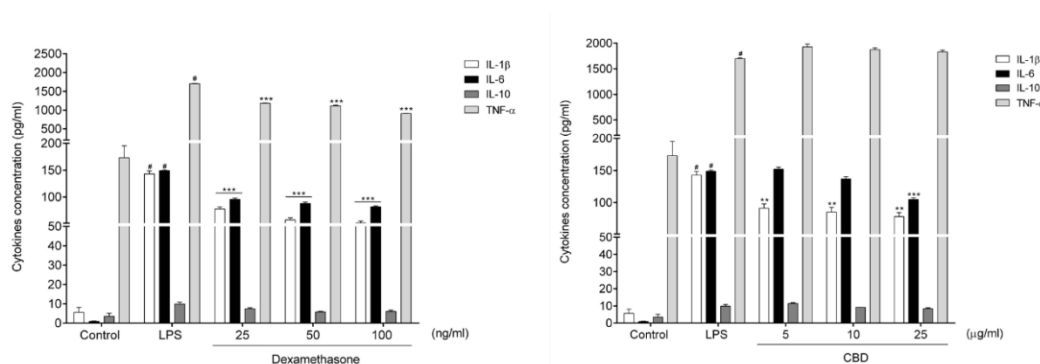
จากการศึกษาผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด (Cannabidiol; CBD) โดยใช้การทดสอบ AlamarBlue Assay ต่อการมีชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นมาจากเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิด THP-1 โดยนำเซลล์ดังกล่าวมาบ่มกับ CBD ความเข้มข้น 0 ถึง 1,000 $\mu\text{g/mL}$ แล้วนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์และความเข้มข้นของยา หรือ CBD แล้วทำการหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งการมีชีวิตของเซลล์ (inhibition concentration) ที่ 50 % (IC_{50}) พบว่าผลการศึกษาพบว่า Cannabidiol (CBD) ส่งผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) แบบขึ้นกับความเข้มข้น (concentration-dependent effect) โดยที่ความเข้มข้นต่ำตั้งแต่ 0.5 – 7.8 $\mu\text{g/mL}$ กระตุ้นให้เซลล์มีความมีชีวิตเพิ่มขึ้นมากกว่า 100% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สะท้อนให้เห็นถึงฤทธิ์กระตุ้นการตอบสนองของเซลล์ในช่วงความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของ CBD เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ 15.6 $\mu\text{g/mL}$ เป็นต้นไป พบว่าความมีชีวิตของเซลล์เริ่มลดลงอย่างชัดเจน โดยเฉพาะในช่วง 31.3–62.5 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งเซลล์ตอบสนองลดลงอย่างมากจนเหลือระดับต่ำกว่า 20% และที่ความเข้มข้น 125–1,000 $\mu\text{g/mL}$ ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงจนเกือบเป็นศูนย์ แสดงถึงผลยับยั้งการเจริญและเป็นพิษต่อเซลล์อย่างรุนแรงในช่วงความเข้มข้นสูง สามารถคำนวณค่า $\text{IC}_{10} = 33.52 \mu\text{g/mL}$ และค่า $\text{IC}_{50} = 47.28 \mu\text{g/mL}$ ซึ่งบ่งชี้ถึงความเข้มข้นของ CBD ที่ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลง 10% และ 50% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า CBD มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ในระดับปานกลาง และออกฤทธิ์เด่นชัดในช่วงความเข้มข้นมากกว่า 30 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า CBD มีผลสองลักษณะ คือ กระตุ้นเซลล์ในความเข้มข้นต่ำและเป็นพิษต่อเซลล์ในความเข้มข้นสูง



ภาพ 15 แสดงผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดที่ความเข้มข้น 0 – 1,000 µg/ml ต่อความมีชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบผ่านการหลั่งไซโตไคน์ ด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

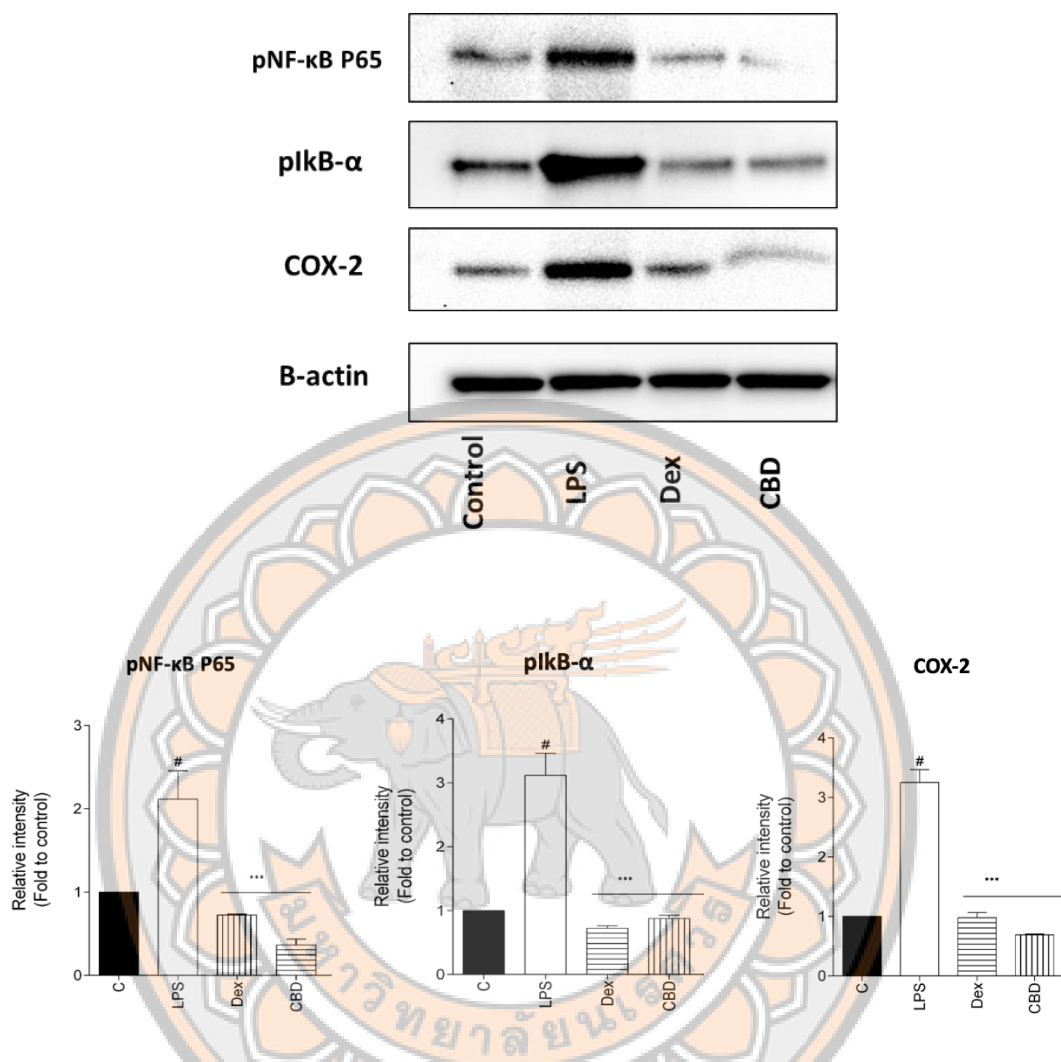
การทดสอบฤทธิ์ของ CBD ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 25 µg/ml ที่มีผลต่อการหลั่งไซโตไคน์อักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ โดยการตรวจวัดปริมาณไซโตไคน์ ได้แก่ IL-1 β , IL-6, IL-10 และ TNF- α ด้วยวิธี Antigen-Antibody Complex โดยใช้แอนติบอดีจำเพาะต่อไซโตไคน์แต่ละชนิด (anti-cytokine antibody) การศึกษานี้ใช้ยาเคมีบำบัด Dexamethasone ที่ความเข้มข้น 25 – 100 ng/ml เป็นสารเปรียบเทียบฤทธิ์ด้านการอักเสบเป็นกลุ่มควบคุม พบว่าเมื่อบ่มเซลล์แมคโครฟาจด้วย CBD มีผลต่อการหลั่ง Cytokine เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ามีปริมาณการหลั่งไซโตไคน์ชนิด IL-1 β และ IL-6 ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ LPS เพียงอย่างเดียว โดยเมื่อบ่มกับ CBD ที่ความเข้มข้น 25 µg/ml จะให้ผลในการยับยั้งการหลั่ง IL-1 β และ IL-6 ได้ใกล้เคียงกับยาเคมีบำบัด Dexamethasone ที่ความเข้มข้นสูงสุด กล่าวได้ว่า CBD มีผลยับยั้งการอักเสบได้



ภาพ 16 แสดงปริมาณไซโตไคน์ เมื่อบ่มด้วยสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดออลความเข้มข้น 5, 10 และ 25 $\mu\text{g/mL}$ เทียบกับการบ่มด้วยกลุ่มควบคุมโดยใช้ยาเคมีบำบัด Dexamethasone

3. ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงโปรตีนภายในเซลล์แมโครฟาจ ด้วยวิธี Western blot

การตรวจวัดการแสดงออกของโปรตีน NF- κ B p65, pI κ B- α และ COX-2 ในแมโครฟาจ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบวมด้วยยาเคมีบำบัด Dexamethasone กับสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดออล ด้วยวิธี Western blot และทำการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นสัมพันธ์ของโปรตีนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Control) โดยใช้ β -actin เป็นโปรตีนควบคุมภายใน (loading control) จากผลการทดสอบพบว่า การแสดงออกของโปรตีน NF- κ B p65, pI κ B- α และ COX-2 ที่บ่มด้วย CBD ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่บ่มด้วย LPS จึงสรุปได้ว่า CBD มีฤทธิ์ในการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการอักเสบหลัก ได้แก่ NF- κ B p65, pI κ B- α และ COX-2 ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้สำคัญในกระบวนการอักเสบของแมโครฟาจ แสดงให้เห็นฤทธิ์ต้านการอักเสบในระดับโปรตีน



ภาพ 17 แสดงผลการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ phospho-NF-κB p65 (a), phospho-IκB-α (b) และ COX-2 (c) ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SEM) # หมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สัญลักษณ์ *** ($p \leq 0.001$) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยใช้สถิติ Independent t-test

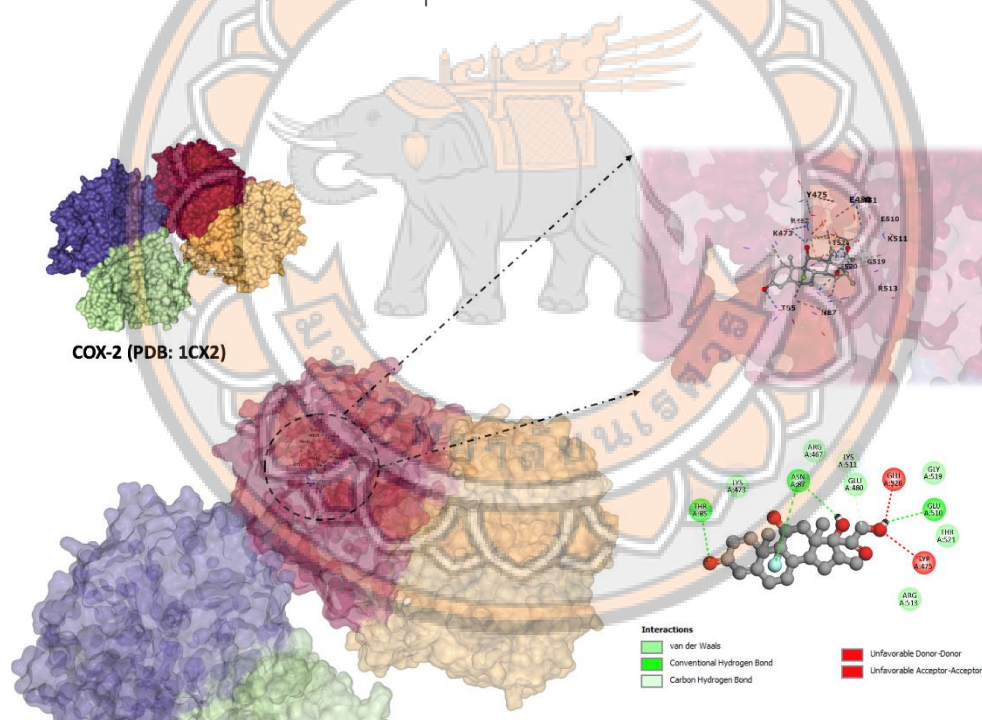
4. ผลการทำนายอันตรกิริยาระหว่างสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ

จากการศึกษา ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาวิเคราะห์อันตรกิริยาระหว่าง CBD กับโปรตีนชนิด COX-2 และ IκBα /NF-κB complex โดยใช้โครงสร้างโปรตีนจากฐานข้อมูล RCSB โดยการจำลองแบบโมเลกุลาร์ต็อกกิงโดยใช้โปรแกรม CB-dock2 พบว่าค่า binding energy ของสารบริสุทธิ์แคนนา

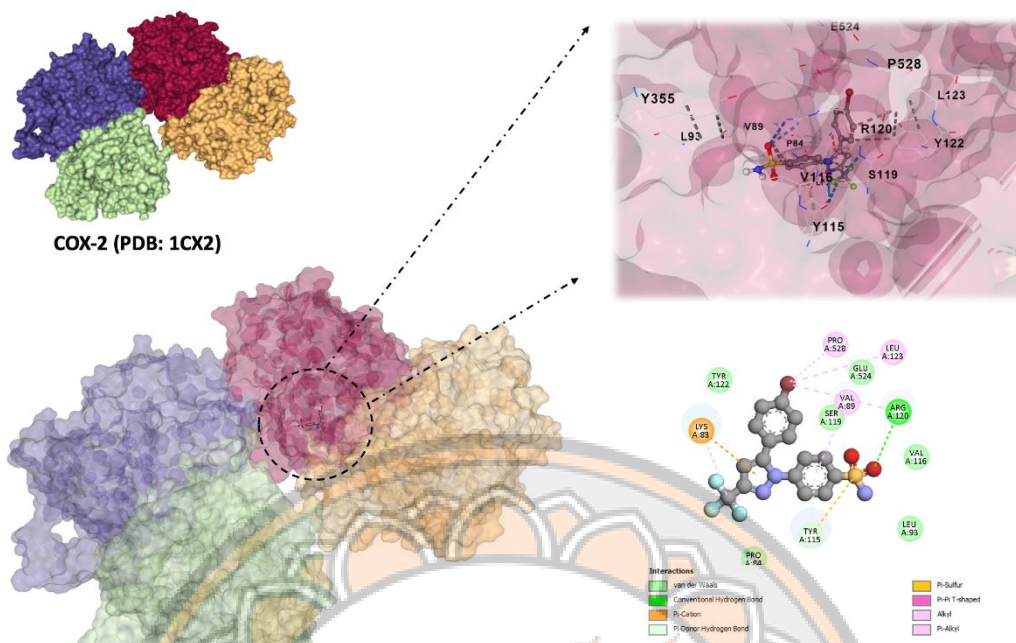
ปีไดออล โดยใช้ Dexamethazone และ SC-558 เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวกของโปรตีน COX-2 และใช้ Dexamethazone และ JSH-23 เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวกของโปรตีน $IKB\alpha$ /NF- κ B complex แสดงดังตาราง 5

จากการศึกษาพบว่า โปรตีน COX-2 กับสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดออลมีค่าพลังงานยึดเหนี่ยว (Binding energy) เท่ากับ -7.1 kcal/mol ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าพลังงานยึดเหนี่ยวของ Dexamethazone (-7.2 kcal/mol) และ SC-558 (-7.5 kcal/mol) ซึ่งเป็นโมเลกุลควบคุมเชิงบวกของโปรตีน COX-2

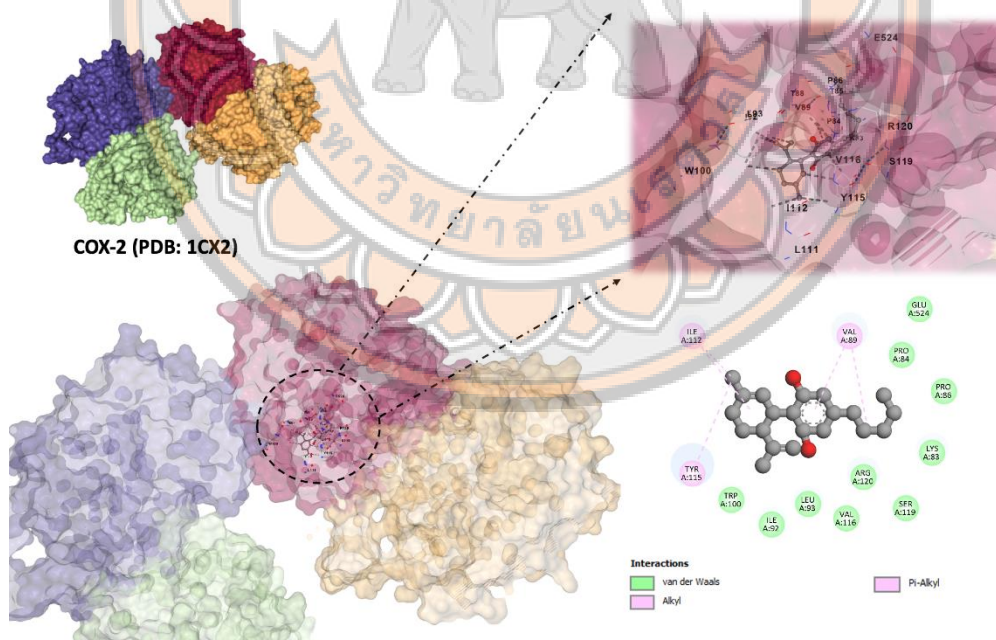
โปรตีน $IKB\alpha$ /NF- κ B complex กับสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดออลมีค่าพลังงานยึดเหนี่ยว (Binding energy) เท่ากับ -6.2 kcal/mol ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าพลังงานยึดเหนี่ยวของ Dexamethazone (-7.2 kcal/mol) และ JSH-23 (-7.5 kcal/mol) ซึ่งเป็นโมเลกุลควบคุมเชิงบวกของโปรตีน $IKB\alpha$ /NF- κ B complex



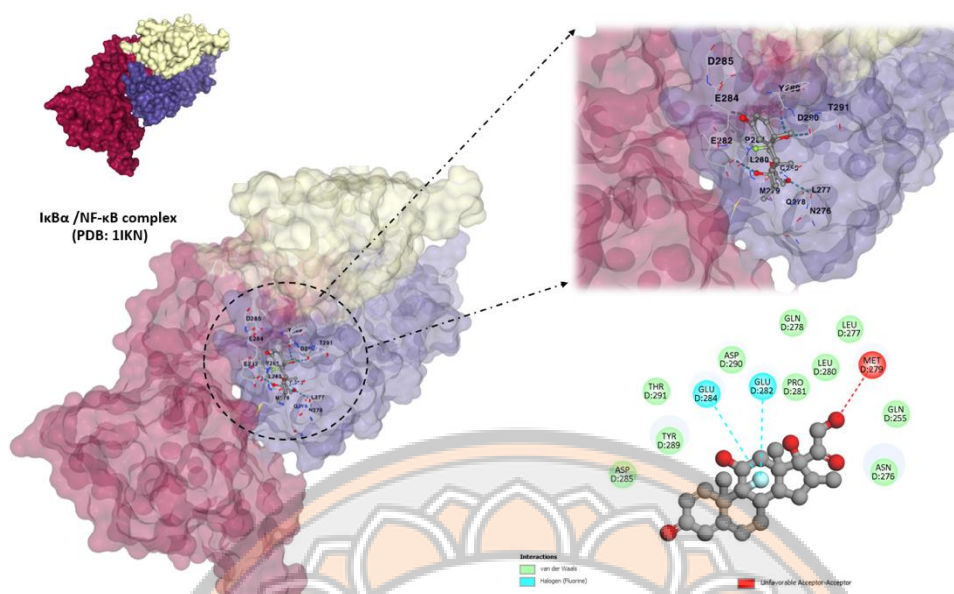
ภาพ 18 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน COX-2 (PDB: 1CX2) กับ Dexamethazone ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock



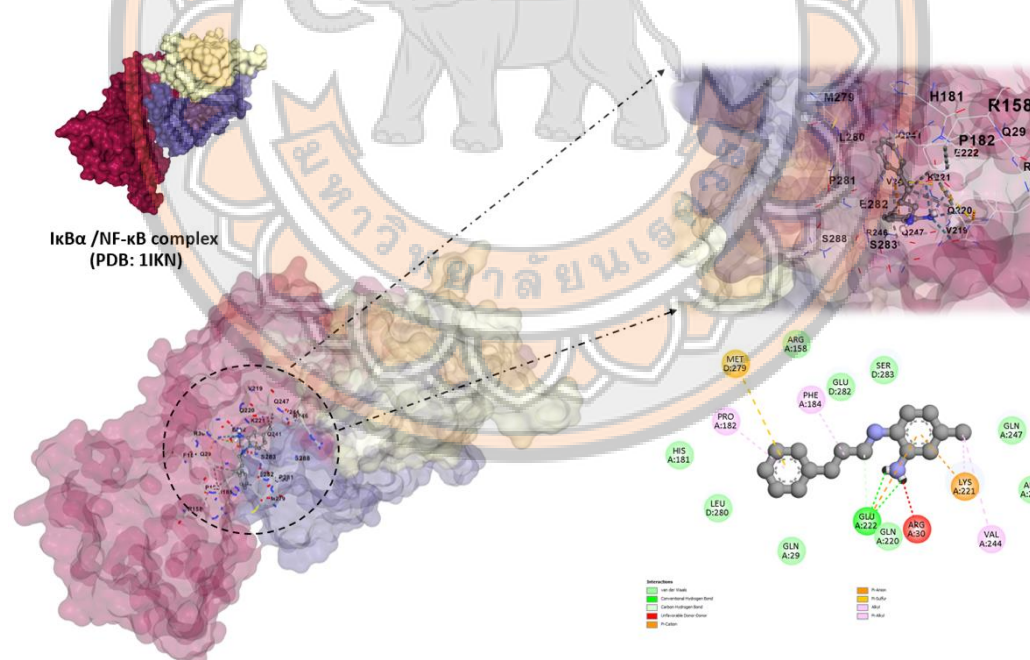
ภาพ 19 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน COX-2 (PDB: 1CX2) กับ SC-558 ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock



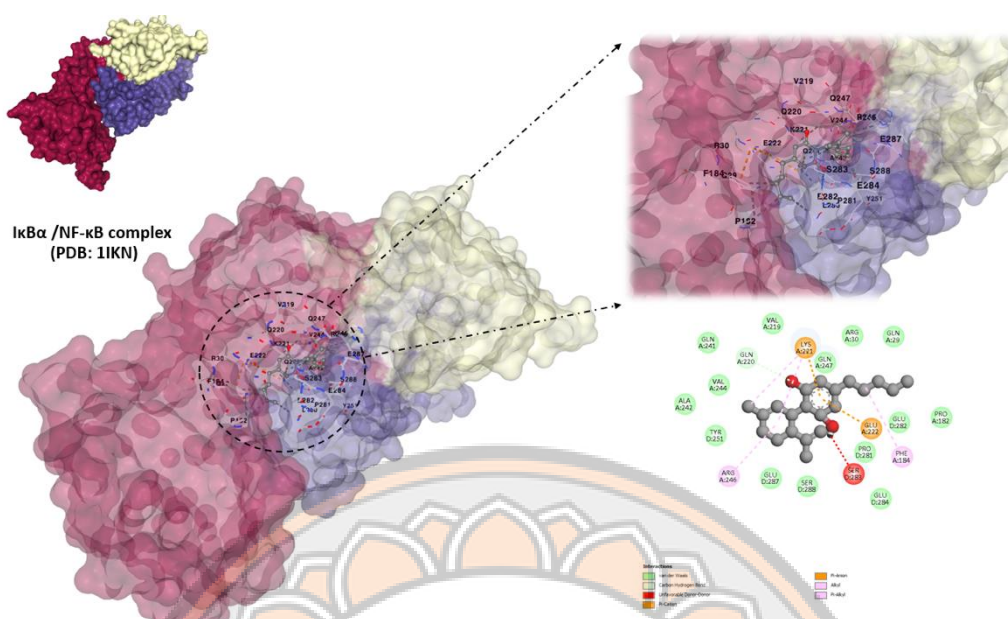
ภาพ 20 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน COX-2 (PDB: 1CX2) กับ Cannabidiol ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock



ภาพ 21 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน IκBα /NF-κB complex (1IKN) กับ Dexamethazone ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock



ภาพ 22 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน IκBα /NF-κB complex (1IKN) กับ JSH-23 ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลาร์ต็อกกิ้งโดยโปรแกรม CB-dock



ภาพ 23 แสดงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน **IκBα** /NF-κB complex (1IKN) กับ Cannabidiol ด้วยเทคนิคการจำลองโมเลกุลารีด็อกกิ่งโดยโปรแกรม CB-dock

ตาราง 5 แสดงค่า Vina Score ของ ligand ที่จับกับโปรตีน COX-2 และ **IκBα** /NF-κB complex binding pocket

Protein (PDB)	Ligand	Vina Score (kcal/mol)	Cavity Volume (Å ³)	Docking Center (x, y, z)	Docking Size (x, y, z)
COX-2 (1CX2)	SC-558	-7.5	3237	23,16,17	22, 22, 22
	Dexamethazone	-7.2	3237	23,16,17	21, 27, 21
	Cannabidiol	-7.1	3237	23,16,17	22, 22, 22
IκBα /NF-κB complex (1IKN)	JSH-23	-7.5	2633	50, 33, 31	23, 23, 34
	Dexamethazone	-7.2	2633	50, 33, 31	21, 27, 34
	Cannabidiol	-6.2	2633	50, 33, 31	22, 22, 34

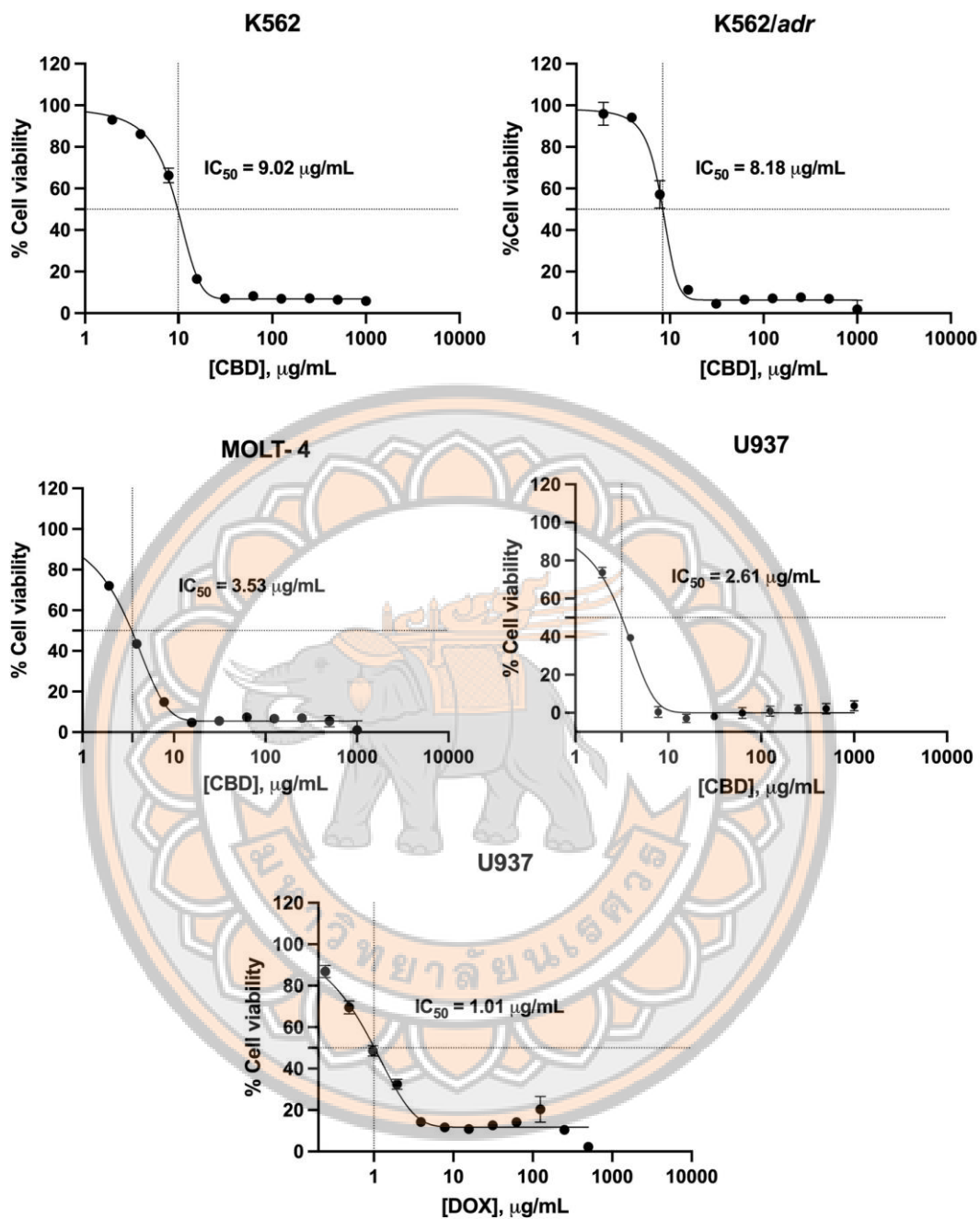
Protein (PDB)	Ligand	Van der waals	Carbon Hydrogen bond	Pi-Donor Hydrogen Bond	Unfavo- rable Donor- Donor	Pi-cation	Conventi- onal Hydrogen bond	Pi-Anion	Pi-Akyl/ Akyl	Pi-sulfer
	SC-558	TYR A:122	ARG A:120 (Conventional Hydrogen bond)	TYR A:115		LYS A:83			VAL A:89	
		PRO A:84							LEU A:123	
		LEU A:93							PRO A:528	
		VAL A:116								
		SER A:119								
		GLU A:524								
COX-2 (1CX2)	CBD	ARG A:120							VAL A:89	
		ILE A:92							ILE A:112	
		LYS A:83							TYR A:115	
		GLU A:524								
		PRO A:86								
		PRO A:84								
		SER A:119								
		TRP A:100								
		VAL A:116								
		ARG A:246		ARG A:30			GLU A:222	LYS A:221	VAL A:244	MET D:279
		ARG A:158							PRO A:182	
		GLN A:29							PHE A:184	
	JSH-23	GLN A:220								
		GLN A:247								
		GLU D:282								
		LEU D:280								
		HIS A:181								
		SER D:283								
IKBα /NF-κB complex (1IKN)		ALA A:242	GLN A:220	SER D:283		GLU A:222			PHE A:184	
		ARG A:30				LYS A:221			ARG A:246	
		ARG A:248								
		GLN A:29								
		GLN A:241								
		GLN A:247								
	CBD	GLU D:282								
		GLU D:284								
		GLU D:287								
		PRO A:182								
		PRO D:281								
		TYR D:251								
		SER D:288								
		VAL A:244								

การทดสอบผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดต่อกลไกการต้านมะเร็ง

ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937, MOLT-4

เมื่อวัดความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี alamarBlue Assay เพื่อทดสอบความเป็นพิษของ CBD ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, U937, MOLT-4 เมื่อคำนวณหา ค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ (Percentage viable cells; % cell viability) แล้วพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ CBD เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความมีชีวิตของเซลล์ K562, K562/ADR, U937, MOLT-4 ลดลง โดยมีค่าร้อยละการมีชีวิตรอดดังแสดงในภาพ 24





ภาพ 24 แสดงผลของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดออลที่ความเข้มข้น 0 – 1,000 μg/mL และยาเคมีบำบัดดอกไซรูบิซินที่ความเข้มข้น 0-500 μg/mL ต่อความมีชีวิตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว เพาะเลี้ยงชนิด K562, K562/ADR, MOLT-4 และ U937

บทที่ 5

บทสรุป

อภิปรายผล

1. ฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ของ CBD ที่ความเข้มข้นต่ำ (Low-dose proliferative effect)

การที่ CBD ในความเข้มข้นต่ำเร่งการเจริญของเซลล์อาจสะท้อนถึงกลไกแบบฮอร์เมซิส (hormesis) ซึ่งเป็นลักษณะการตอบสนองของเซลล์ที่สารออกฤทธิ์ชีวภาพในปริมาณต่ำสามารถกระตุ้นกระบวนการเมแทบอลิซึมและส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์ได้รับผลดี (Calabrese, & Baldwin, 2003) งานวิจัยบางฉบับรายงานว่ากลุ่มสาร cannabinoids อาจกระตุ้น mitochondrial electron transport chain และเพิ่ม metabolic activity ในเซลล์ภูมิคุ้มกัน ส่งผลให้ cell viability เพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มข้นต่ำ (Zhornitsky, & Potvin, 2012) ซึ่งสอดคล้องกับผลที่พบในงานวิจัยนี้ว่า CBD ในระดับต่ำทำให้การมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นชั่วคราว ส่วนฤทธิ์การยับยั้งจะเกิดขึ้นในความเข้มข้นสูงกว่า

2. ฤทธิ์ทำลายเซลล์ของ CBD ที่ความเข้มข้นสูง (High-dose cytotoxic effect)

ที่ความเข้มข้นสูง CBD แสดงฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวอย่างชัดเจน โดยมีค่า IC₅₀ ประมาณ 47.2 µg/mL ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Maggi et al. (2022) ที่พบว่า CBD สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด mitochondrial dysfunction และ apoptosis ในเซลล์ K562 ผ่านกระบวนการเพิ่มระดับ Reactive Oxygen Species (ROS) และการสูญเสียศักย์ไฟฟ้าข้ามเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย (mitochondrial membrane potential) นอกจากนี้ งานของ Kalenderoglou et al. (2017) และ Besser et al. (2024) ยังสนับสนุนว่า CBD สามารถเหนี่ยวนำ caspase-dependent apoptosis ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวผ่านหลายกลไก เช่น การกระตุ้น caspase cascade และ ER stress ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงในลักษณะขึ้นกับขนาดยา (dose-dependent) และสอดคล้องกับผลที่พบในงานวิจัยนี้

3. ฤทธิ์ด้านการอักเสบของ CBD ต่อ cytokines และ NF-κB pathway

ผลการทดลองพบว่า CBD ลดระดับ IL-1β และ IL-6 ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ด้านการอักเสบที่มีรายงานอย่างกว้างขวาง IL-1β และ IL-6 เป็นปัจจัยสำคัญที่กระตุ้นการส่งสัญญาณผ่าน NF-κB และเกี่ยวข้องกับการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง รวมถึงการสร้างสภาพแวดล้อมที่ส่งเสริมการเกิดมะเร็ง (tumor-promoting microenvironment) (Grivennikov, & Greten, 2010)

งานวิจัยของ Sermet et al. (2021) รายงานว่า CBD สามารถลดการหลั่ง IL-1 β และ IL-6 ใน human monocyte-derived macrophages โดยยับยั้งการฟอสโฟริเลชันของ NF- κ B p65 นอกจากนี้ Lowin et al. (2020) ยังพบว่า CBD ลด IL-6 และ IL-8 ใน rheumatoid arthritis synovial fibroblasts ผ่านการรบกวนสัญญาณภายในเซลล์ เช่น แคลเซียมและ mitochondrial stress การลดลงของไซโตไคน์กลุ่ม IL-6 ที่เป็นตัวกระตุ้นแกนสัญญาณ STAT3 ซึ่งมีบทบาททั้งในกระบวนการอักเสบและการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด

4. การยับยั้งสัญญาณ NF- κ B และ COX-2

จากผล Western blot พบว่า CBD ยับยั้งการแสดงออกของ NF- κ B p65, pIKB- α และ COX-2 ได้อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านการอักเสบของ CBD เกิดขึ้นทั้งในระดับ upstream (IKB- α) และ downstream (COX-2) ของสัญญาณ NF- κ B เส้นทางนี้ถือเป็น central inflammatory pathway โดยการลดลงของ IKB- α ในงานนี้บ่งชี้การยับยั้งการกระตุ้น NF- κ B ในระดับ upstream ขณะที่การลดลงของ COX-2 สะท้อนการลด inflammatory mediators ในระดับ downstream ซึ่งช่วยยืนยันว่าสาร CBD สามารถยับยั้ง canonical NF- κ B pathway อย่างเป็นระบบ ผลนี้สอดคล้องอย่างชัดเจนกับงานของ Atalay et al. (2019) พบว่า CBD สามารถลด COX-2 และ NF- κ B pathway ในหลายเซลล์ ซึ่งตรงกับผลในงานวิจัยนี้ที่พบว่า CBD ลดระดับโปรตีน NF- κ B p65, pIKB- α และ COX-2 อย่างมีนัยสำคัญ รวมถึงงานของ Heider et al. (2022) ที่ระบุว่า CBD ออกฤทธิ์ผ่านการกระตุ้นตัวรับ CB2 บนเซลล์ภูมิคุ้มกัน และลด phosphorylation ของ p65 ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้ NF- κ B ถูกกระตุ้น

5. ผล CBD ต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวหลายสายพันธุ์

ผลการทดสอบเซลล์ K562, K562/ADR, U937 และ MOLT-4 พบว่า CBD ลด cell viability ในลักษณะขึ้นกับขนาดยาและเวลา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chamoso-Sanchez et al. (2025) และ Maggi et al. (2022) ที่แสดงว่า CBD ลดการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวหลายชนิดผ่านกระบวนการเพิ่ม ROS และรบกวน lipid metabolism นอกจากนี้เซลล์ U937 ซึ่งเป็นสายโมโนไซต์ พบการตอบสนองเด่นชัดที่สุด ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของตัวรับ CB2 ที่สูงกว่า ทำให้ CBD ออกฤทธิ์ได้ดีกว่าในเซลล์ภูมิคุ้มกัน (Heider et al., 2022)

6. ความเหมาะสมของผลการจำลองอันตรกิริยาระดับโมเลกุล ต่อ COX-2 และ IKB α /NF- κ B complex

ผลการจำลองอันตรกิริยาระดับโมเลกุลด้วยเทคนิค Molecular Docking แสดงว่า CBD มีพลังงานการจับที่ติดต่อกับ COX-2 และ IKB α /NF- κ B complex อีกทั้งยังสามารถสร้างปฏิสัมพันธ์กับกรดอะมิโนสำคัญในตำแหน่ง active site ซึ่งสนับสนุนสมมติฐานว่าฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบของ CBD

อาจเกิดจากการจับกับโปรตีนเป้าหมายโดยตรง ผลนี้สอดคล้องกับงานของ Tan et al. (2024) ซึ่งระบุว่าสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่มี binding affinity ต่ำใน COX-2 มีแนวโน้มให้ผลยับยั้งเอนไซม์ได้จริงในงานทดลอง และงานของ Derardja et al. (2024) ที่ยืนยันว่าการจำลองโมเลกุลสามารถใช้คาดการณ์ฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารประกอบได้อย่างมีความสัมพันธ์กับข้อมูล in vitro ดังนั้นการจำลองอันตรกิริยาระดับโมเลกุลที่ใช้ในงานนี้จึงช่วยสนับสนุนกลไกการออกฤทธิ์ของ CBD ได้อย่างเป็นระบบและมีความน่าเชื่อถือเชิงวิทยาศาสตร์

7. สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้กระตุ้น THP-1 ให้เปลี่ยนแปลงเป็นแมโครฟาจ

THP-1 เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาว Monocyte ที่สามารถถูกกระตุ้นให้เปลี่ยนเป็นแมโครฟาจ ได้ด้วยสาร PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) ซึ่งถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในงานวิจัยด้านการติดเชื้อของเชื้อก่อโรคและภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (Host Innate Immunity) มีการศึกษาเพื่อประเมินผลของปัจจัยที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เปลี่ยนเป็นแมโครฟาจ ได้แก่ ระยะเวลาในการกระตุ้น (Induction time), ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น (Cell seeding density) และ ความเข้มข้นของ PMA โดยตรวจสอบอัตราการแสดงออกของ CD14 ด้วยวิธี flow cytometry เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงไปเป็นแมโครฟาจ ผลการทดลองพบว่า PMA ความเข้มข้น 80 ng/ml, ระยะเวลา 24 ชั่วโมง, และความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น 5×10^5 cells/ml ให้ค่า CD14 positive rate สูงที่สุดใน THP-1 คือประมาณ 66.52 % (Liu et al., 2023)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอด (Cannabidiol; CBD) ต่อกลไกการต้านการอักเสบในเซลล์แมโครฟาจที่เหนี่ยวนำจากเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด THP-1 พบว่าสารบริสุทธิ์แคนนาบิไดโอดมีฤทธิ์ในการลดการอักเสบได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่ความเข้มข้น 5–25 $\mu\text{g/ml}$ สามารถลดระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ได้แก่ IL-1 β และ IL-6 และยังสามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ได้แก่ NF- κ B p65, pI κ B- α และ COX-2 ซึ่งตรวจวัดโดยวิธี Western blot



บรรณานุกรม

มหาวิทยาลัยนเรศวร

บรรณานุกรม

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell* (4th ed.). Garland Science.
- Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjian, R. P., Borowitz, M. J., Calvo, K. R., ...Kvasnicka, H. M. (2022). International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemias: Integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*, 140(11), 1200–1228.
- Atalay, S., Jarocka-Karpowicz, I., & Skrzydlewska, E. (2019). Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants*, 9(1), 21.
- Aziz, A., Nguyen, L. C., Oumeslakht, L., Bensussan, A., & Ben Mkaddem, S. (2023). Cannabinoids as immune system modulators: Cannabidiol potential therapeutic approaches and limitations. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 8(2), 254–269.
- Baxter, E. W., Graham, A. E., Re, N. A., Carr, I. M., Robinson, J. I., Mackie, S. L., & Morgan, A. W. (2020). Standardized protocols for differentiation of THP-1 cells to macrophages with distinct M(IFN γ + LPS), M(IL-4) and M(IL-10) phenotypes. *Journal of Immunological Methods*, 478, 112721.
- Besser, E., et al. (2024). Cannabinoid combination targets NOTCH1-mutated T-cell acute lymphoblastic leukemia. *eLife*, 13, e90854.
- Brudno, J. N., & Kochenderfer, J. N. (2016). Chimeric antigen receptor T-cell therapies for lymphoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 13(8), 473–492.
- Byrd, J. C., Brown, J. R., O'Brien, S., Barrientos, J. C., Kay, N. E., Reddy, N. M., ...Furman, R. R. (2014). Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 371(3), 213–223.
- Chamoso-Sanchez, D., Panini, M., Caroli, C., Marani, M., Corsi, L., Rupérez, F. J., Garcia, A., & Pellati, F. (2025). Unveiling cellular changes in leukaemia cell lines after cannabidiol treatment through lipidomics. *Scientific Reports*, 15(1), 2238.

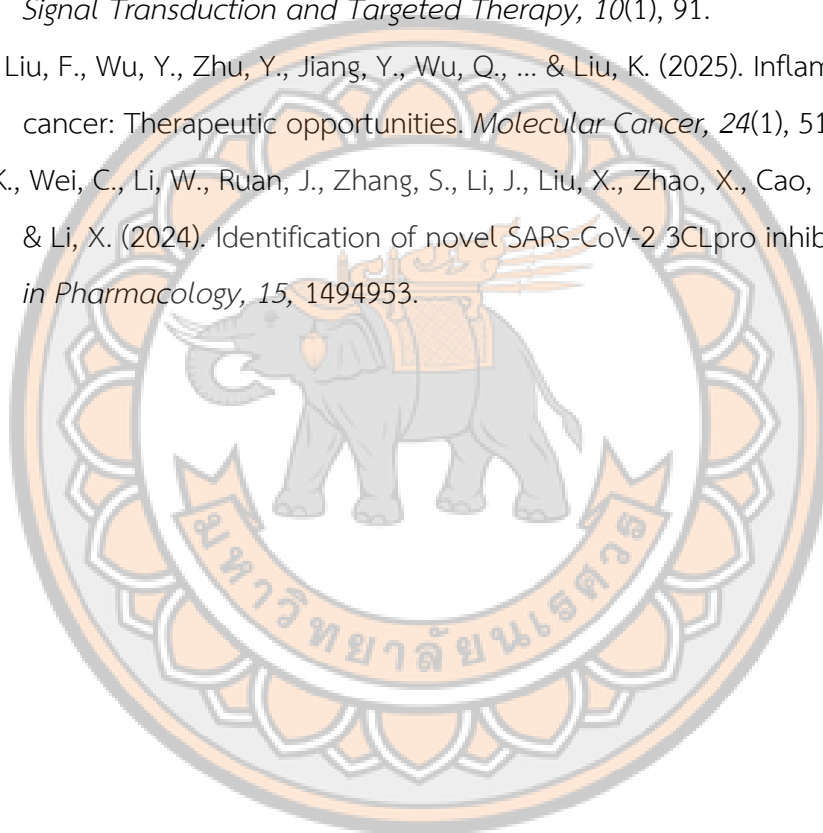
- Chanput, W., Mes, J. J., & Wichers, H. J. (2014). THP-1 cell line: An in vitro cell model for immune modulation approach. *International Immunopharmacology*, 23(1), 37–45.
- Daigneault, M., Preston, J. A., Marriott, H. M., Whyte, M. K. B., & Dockrell, D. H. (2010). The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages. *PLoS ONE*, 5(1), e8668.
- DeAngelo, D. J. (2018). Modern treatment strategies for acute lymphoblastic leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 32(2), 211–229.
- Derardja, I., Rebai, R., Toumi, M. E., Kebaili, F. F., & Boudah, A. (2024). Identification of new potential cyclooxygenase-2 inhibitors using structure-based virtual screening, molecular dynamics and pharmacokinetic modelling. *Biology and Life Sciences Forum*, 35(1), 6.
- Deroo, B. J., & Archer, T. K. (2001). Glucocorticoid receptor activation of the $\text{IKB-}\alpha$ promoter within chromatin. *Molecular Biology of the Cell*, 12(11), 3365–3374.
- Döhner, H., Weisdorf, D. J., & Bloomfield, C. D. (2015). Acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 373(12), 1136–1152.
- Druker, B. J., Talpaz, M., Resta, D. J., Peng, B., Buchdunger, E., Ford, J. M., ..., Sawyers, C. L. (2001). Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 344(14), 1031–1037.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516.
- Genin, M., Clement, F., Fattaccioli, A., Raes, M., & Michiels, C. (2015). M1 and M2 macrophages derived from THP-1 cells differentially modulate the response of cancer cells to etoposide. *BMC Cancer*, 15, 577.
- Greenberg, J. M., Gonzalez-Sarmiento, R., Arthur, D. C., Wilkowski, C. W., Streifel, B. J., & Kersey, J. H. (1988). Immunophenotypic and cytogenetic analysis of Molt-3 and Molt-4. *Blood*, 71(4), 948–954.

- Grivennikov, S. I., Greten, F. R., & Karin, M. (2018). Inflammation and cancer: Triggers, mechanisms and consequences. *Immunity*, 51(1), 27–41.
- Heider, C. G., Itenberg, S. A., Rao, J., Ma, H., & Wu, X. (2022). Mechanisms of cannabidiol (CBD) in cancer treatment: A review. *Biology*, 11(6), 817.
- Hongmei, Z. (2012). Extrinsic and intrinsic apoptosis signal pathway review. In T. Ntuli (Ed.), *Apoptosis and Medicine*. IntechOpen.
- Jabbour, E., & Kantarjian, H. (2020). Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring. *American Journal of Hematology*, 95(6), 691–709.
- Jheng, C.-P., & Lee, C.-I. (2023). Combination of structure-based virtual screening, molecular docking and molecular dynamics approaches for the discovery of anti-prion fibril flavonoids. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9, 1088733.
- Juknat, A., Gao, F., Coppola, G., Vogel, Z., & Kozela, E. (2013). miRNA expression profiles and molecular networks in resting and LPS-activated THP-1 cells: Modulation by cannabidiol. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 8(4), 1037–1046.
- Kalenderoglou, N., Macpherson, T., & Wright, K. L. (2017). Cannabidiol reduces leukemic cell size – But is it important? *Frontiers in Pharmacology*, 8, 144.
- Klein, E., Ben-Bassat, H., Neumann, H., Ralph, P., Zeuthen, J., Polliack, A., & Vánky, F. (1976). Properties of the K562 cell line. *International Journal of Cancer*, 18(4), 421–431.
- Lin, W. W., & Karin, M. (2007). A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *Journal of Clinical Investigation*, 117(5), 1175–1183.
- Liu, T., Huang, T., Li, J., Li, A., Li, C., Huang, X., Li, D., Wang, S., & Liang, M. (2023). Optimization of differentiation and transcriptomic profile of THP-1 cells into macrophage by PMA. *PLoS ONE*, 18(7), e0286056.
- Liu, W. M., Scott, K. A., Shamash, J., Joel, S., & Powles, T. B. (2008). Enhancing in vitro cytotoxic activity of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in leukemic cells. *Leukemia & Lymphoma*, 49(9), 1800–1809.

- Lodzki, M., Godin, B., Rakou, L., Mechoulam, R., Gallily, R., & Touitou, E. (2003). Cannabidiol—transdermal delivery and anti-inflammatory effect. *Journal of Controlled Release*, 93(3), 377–387.
- Lowin, T., Tingting, R., & Zurmahr, J. (2020). Cannabidiol (CBD): A killer for inflammatory rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Cell Death & Disease*, 11, 714.
- Luetragoon, T., Sranujit, R. P., Noysang, C., Thongsri, Y., Potup, P., Suphrom, N., Nuengchamnong, N., & Usuwanthim, K. (2020). Bioactive compounds in *Moringa oleifera* Lam. leaves inhibit the pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide-induced human monocyte-derived macrophages. *Molecules*, 25(1), 191. <https://doi.org/10.3390/molecules25010191>
- Maggi, F., Morelli, M. B., Tomassoni, D., & Marinelli, O., (2022). Effects of cannabidiol via TRPV2 in chronic myeloid leukemia and combination with imatinib. *Cancer Science*, 113(4), 1235–1249.
- McKallip, R. J., Jia, W., Schlomer, J., Warren, J. W., Nagarkatti, P. S., & Nagarkatti, M. (2006). Cannabidiol-induced apoptosis in human leukemia cells. *Molecular Pharmacology*, 70(3), 897–908.
- Nallathambi, R., Mazuz, M., Ion, A., Selvaraj, G., & Namdar, D. (2018). Differential expression of cannabinoids in leukemia cell lines. *BMC Cancer*, 18, 1057.
- National Center for Biotechnology Information. (2023). *Dexamethasone*. StatPearls.
- Nature Reviews Cancer. (2021). Inflammation and tumor progression: Signaling pathways and targeted intervention. *Nature Reviews Cancer*, 21(9), 543–554.
- Nishida, A., & Andoh, A. (2025). The role of inflammation in cancer. *Cells*, 14(7), 488.
- Nwosu, G. O. (2024). Venetoclax therapy and emerging resistance in AML. *Cell Death & Disease*, 15, 456.
- Perl, A. E., Martinelli, G., Cortes, J. E., Neubauer, A., Berman, E., Paolini, S., ...Levis, M. J. (2019). Gilteritinib for relapsed FLT3-mutated AML. *The New England Journal of Medicine*, 381(18), 1728–1740.

- Power, H., Wu, J., Turville, S., Aggarwal, A., Valtchev, P., Schindeler, A., & Dehghani, F. (2022). Virtual screening and validation of natural compound inhibitors against SARS-CoV-2 spike protein. *Bioorganic Chemistry*, 119, 105574.
- Sermet, S., Li, J., Bach, A., Crawford, R. B., & Kaminski, N. E. (2021). Cannabidiol selectively modulates IL-1 β and IL-6 in TLR-activated monocytes. *Toxicology*, 464, 153016.
- Soler, M. F., Abaurrea, A., Azcoaga, P., Araujo, A. M., & Caffarel, M. M. (2023). New perspectives in cancer immunotherapy: Targeting IL-6 family. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 11(11), e007530.
- Stone, R. M., Mandrekar, S. J., Sanford, B. L., Laumann, K., Geyer, S., Bloomfield, C. D., ...Döhner, K. (2017). Midostaurin plus chemotherapy for FLT3-mutated AML. *The New England Journal of Medicine*, 377(5), 454–464.
- Sultan, W., Madieto, A., & Moreno-Sanz, G. (2024). Controlled inhalation of THC-predominant cannabis improves PTSD symptoms. *Medical Cannabis and Cannabinoids*, 7(1), 149–159.
- Sun, J., Sun, G., Meng, X., Wang, H., Luo, Y., Qin, M., Ma, B., Wang, M., Cai, D., Guo, P., & Sun, X. (2013). Isorhamnetin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *PLoS ONE*, 8(5), e64526.
- Takemura, G., & Fujiwara, H. (2007). From the cardiotoxic mechanisms to management. *Pharmacology & Therapeutics*, 114(1), 192–201.
- Tafreshi, M. G. K., Mazaheri, Z., Heidari, M., Babaei, N., & Doosti, A. (2021). Induction of apoptosis in U937 cells. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 10(4), 265–275.
- Tan, S., Zou, Z., Luan, X., Chen, C., Li, S., Zhang, Z., Quan, M., Li, X., Zhu, W., & Yang, G. (2024). Novel pyxinol derivatives as NF- κ B inhibitors: Synthesis and docking. *Molecules*, 29(8), 1711.
- Terwilliger, T., & Abdul-Hay, M. (2017). Acute lymphoblastic leukemia: Review and update. *Blood Cancer Journal*, 7(6), e577.
- Tokar, T., & Ulicny, J. (2013). Mathematical model of Bcl-2 family MOMP regulation. *PLoS ONE*, 8, e81861.

- U.S. Food and Drug Administration. (2012). Adriamycin prescribing information.
- Velasco, G., Sánchez, C., & Guzmán, M. (2016). Anticancer mechanisms of cannabinoids. *Oncologist*, 23(Suppl 2), S23–S32.
- Vitale, G., Ferrante, E., Parisi, A., & Tarantino, G. (2024). Associations between cancer risk, inflammation and metabolic syndrome. *Biology*, 13(5), 352.
- Vogler, M., Braun, Y., Smith, V. M., Westhoff, M. A., Pereira, R. S., Pieper, N. M., ...Dyer, M. J. (2025). The BCL2 family: From apoptosis to targeted therapy advances. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 10(1), 91.
- Xie, Y., Liu, F., Wu, Y., Zhu, Y., Jiang, Y., Wu, Q., ... & Liu, K. (2025). Inflammation in cancer: Therapeutic opportunities. *Molecular Cancer*, 24(1), 51.
- Zong, K., Wei, C., Li, W., Ruan, J., Zhang, S., Li, J., Liu, X., Zhao, X., Cao, R., Yan, H., & Li, X. (2024). Identification of novel SARS-CoV-2 3CLpro inhibitors. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1494953.

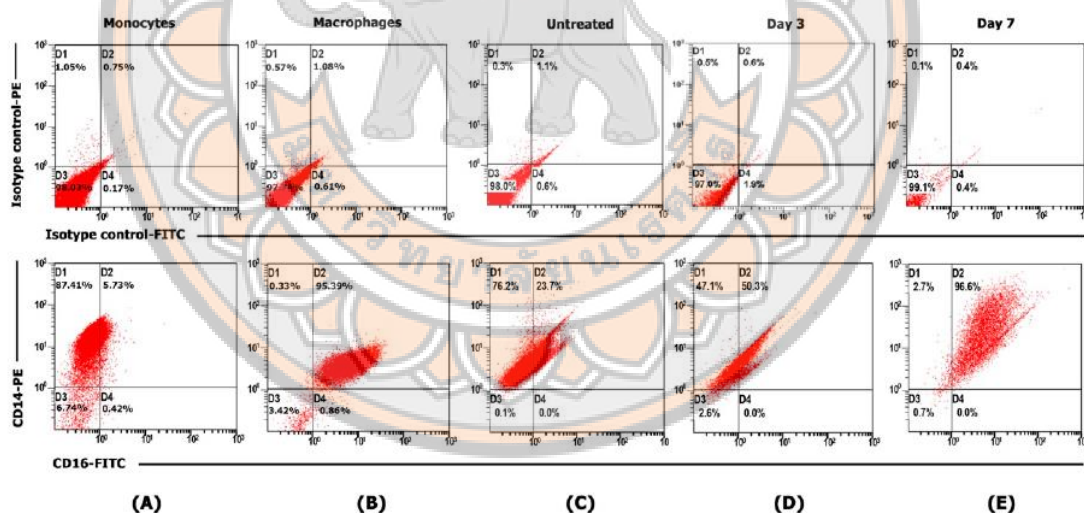




ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การตรวจสอบ CD marker ของ THP-1 ที่ถูกกระตุ้นให้เป็นเซลล์แมโครฟาจด้วยวิธี Flowcytometry

การกระตุ้นให้ THP-1 เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์แมโครฟาจทำได้โดย การแยกโมโนไซต์ออกจาก Buffy coat นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI และปล่อยให้เกิดการเปลี่ยนสภาพเป็นแมโครฟาจเป็นระยะเวลา 7 วัน ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 37 °C และมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 2 วัน จนกระทั่งเซลล์เปลี่ยนเป็นแมโครฟาจที่ได้จากโมโนไซต์ (human monocyte-derived macrophages; MDMs) จากนั้นนำมาตรวจสอบด้วยวิธี Flowcytometry โดยพบว่าโมโนไซต์มีการแสดงออกของ CD14 และ CD16 เท่ากับร้อยละ 93.14 และ 6.15 ตามลำดับ ขณะที่ MDMs แสดงการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของ CD14 และ CD16 เป็นร้อยละ 95.72 และ 96.25 ตามลำดับ นอกจากนี้ THP-1 ถูกเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนสภาพเป็นแมโครฟาจโดยการกระตุ้นด้วย PMA ที่ความเข้มข้น 5 ng/mL ส่งผลให้เซลล์มีการแสดงออกของ CD14 และ CD16 เพิ่มขึ้น (Luetragoon et al., 2020)

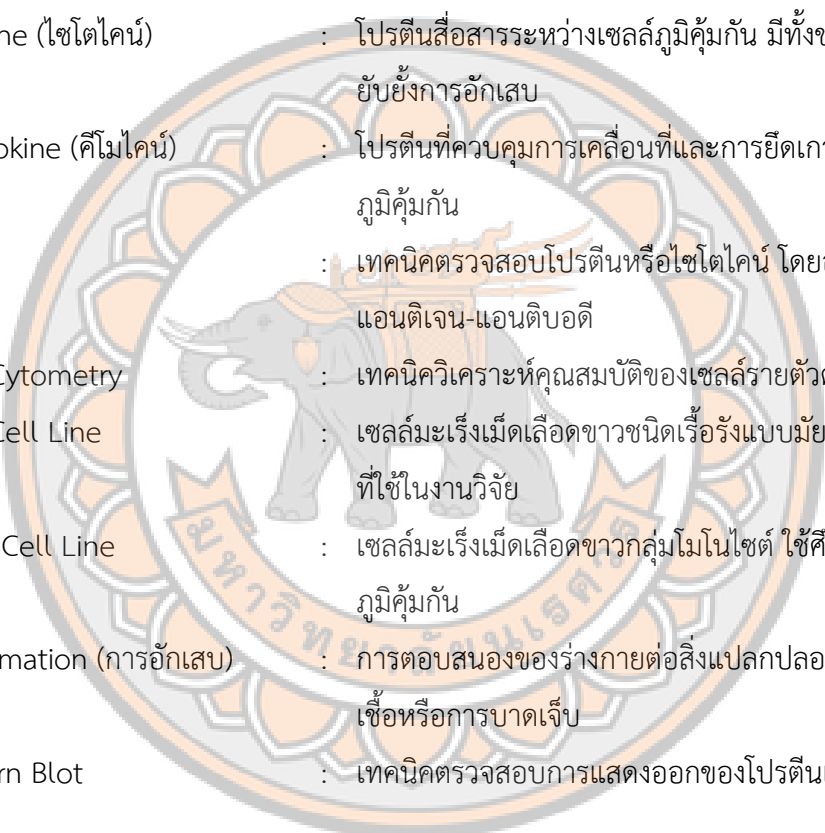


ภาพ 25 แสดงผลการย้อม CD14 และ CD 16 ของเซลล์ monocytes, macrophages และเซลล์ THP-1 (A,B) การย้อมติดสีของเซลล์ monocytes และ macrophages (C-E) การแสดงออกของ CD14 และ CD 16 ของเซลล์ THP-1 ที่ถูกกระตุ้นด้วย PMA เป็นระยะเวลา 7 วัน



อภิธานศัพท์

อภิธานศัพท์



Apoptosis (อะพอพอโทซิส)	: กระบวนการตายของเซลล์ที่มีการควบคุม ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ
Cannabidiol (CBD)	: สารสำคัญในกัญชาและกัญชง ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านมะเร็ง
Cytokine (ไซโตไคน์)	: โปรตีนสื่อสารระหว่างเซลล์ภูมิคุ้มกัน มีทั้งชนิดกระตุ้นและยับยั้งการอักเสบ
Chemokine (คีโมไคน์)	: โปรตีนที่ควบคุมการเคลื่อนที่และการยึดเกาะของเซลล์ภูมิคุ้มกัน
ELISA	: เทคนิคตรวจสอบโปรตีนหรือไซโตไคน์ โดยอาศัยปฏิกิริยาแอนติเจน-แอนติบอดี
Flow Cytometry	: เทคนิควิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์รายตัวด้วยเลเซอร์
K562 Cell Line	: เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ (CML) ที่ใช้ในงานวิจัย
THP-1 Cell Line	: เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวกลุ่มโมโนไซต์ ใช้ศึกษาเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน
Inflammation (การอักเสบ)	: การตอบสนองของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอม เช่น การติดเชื้อหรือการบาดเจ็บ
Western Blot	: เทคนิคตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนเฉพาะชนิด