

ศศิกมล ค้อไผ่ : การป้องกันมะเร็งและผลของการต้านมะเร็งของสารแอนโทไซยานินใน
มะเร็งท่อน้ำดี (CANCER PREVENTION AND ANTI-CANCER EFFECT OF
ANTHOCYANINS IN CHOLANGIOCARCINOMA). อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์
ดร.ชุตินา ตลับนิล, 83 หน้า.

คำสำคัญ: ต้านมะเร็ง/ ป้องกันมะเร็ง/ มะเร็งท่อน้ำดี

แอนโทไซยานินเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้และมีหน้าที่
สร้างเม็ดสีต่าง ๆ เช่น สีม่วง สีส้มแดง พบได้ในผักและผลไม้ เช่น บลูเบอรี่ องุ่น ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าว
เหนียวดำ เป็นต้น สารแอนโทไซยานินมีความสัมพันธ์กับการป้องกันและต่อต้านมะเร็งด้วยกลไก
ต่าง ๆ ราข้าวเหนียวดำถือเป็นแหล่งวัตถุดิบของสารแอนโทไซยานิน เช่น ไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ที่มี
ฤทธิ์ในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระและต่อต้านมะเร็ง อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาผลของ
แอนโทไซยานินที่พบในราข้าวเหนียวดำต่อการป้องกันและต่อต้านมะเร็งในมะเร็งท่อน้ำดี ใน
การศึกษารังนี้สารแอนโทไซยานินถูกสกัดจากราข้าวเหนียวชื่อว่า BBR-M-10 ผลการวิเคราะห์
องค์ประกอบแสดงให้เห็นว่าสารแอนโทไซยานินหลักใน BBR-M-10 คือ ไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ ใน
การศึกษาต่อมาผลของสารสกัด BBR-M-10 ต่อการยับยั้งการเกิดสารอนุมูลอิสระและการตายรวมไป
ถึงความเสียหายต่อสายพันธุกรรมที่เกิดจากการกระตุ้นโดยสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเซลล์ท่อน้ำดี
ปกติของมนุษย์ ผลการศึกษาพบสารสกัด BBR-M-10 ช่วยยับยั้งการเกิดสารอนุมูลอิสระได้และยัง
สามารถลดผลกระทบที่เป็นพิษและส่งผลต่อการตายของเซลล์ท่อน้ำดีปกติได้ จากการทดลองพบว่า
สารสกัด BBR-M-10 ยับยั้งการสารอนุมูลอิสระผ่านการกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ
เอนไซม์ต่อต้านอนุมูลอิสระ และลดการตายของเซลล์ท่อน้ำดีปกติผ่านการควบคุมการแสดงออกของ
โปรตีนแคสเปส-3 และเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนเซอร์ไวเวิน นอกจากนี้ความเสียหายของสาย
พันธุกรรมยังได้ถูกตรวจสอบผ่านโปรตีนแกรมมา H2AX จากการทดลองพบว่าสารสกัด BBR-M-10
ลดการแสดงออกของโปรตีนแกรมมา H2AX ในเซลล์ท่อน้ำดีปกติที่ได้รับการกระตุ้นโดยสารไฮโดรเจน
เปอร์ออกไซด์ การค้นพบนี้แสดงให้เห็นว่าแอนโทไซยานินจากราข้าวเหนียวดำสามารถป้องกันการ
เกิดความเสียหายต่อสายพันธุกรรมที่เกิดจากสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และส่งผลต่อการตายของ
เซลล์ท่อน้ำดีปกติผ่านการยับยั้งการสะสมสารอนุมูลอิสระภายในเซลล์และการควบคุมการแสดงออก
ของยีนต่อต้านอนุมูลอิสระ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าแอนโทไซยานินจากราข้าวเหนียวดำมี
แนวโน้มบทบาทในการป้องกันการเกิดมะเร็งท่อน้ำดี

นอกจากนี้ได้มีรายงานเกี่ยวกับกลไกการต่อต้านมะเร็งของแอนโทไซยานินไว้โดยกลไกต่าง ๆ ได้แก่ การลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง การย้ายถิ่นและการบุกรุก และการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งต่าง ๆ ในการศึกษาครั้งนี้ยังมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัด BBR-M-10 ต่อการยับยั้งการพัฒนาของมะเร็งท่อน้ำดีในแง่ต่าง ๆ ผลการศึกษาของสารสกัด BBR-M-10 ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต พบสารสกัด BBR-M-10 ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี เซลล์ท่อน้ำดีปกติ และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ปกติ แต่สารสกัด BBR-M-10 ยับยั้งการเคลื่อนที่และการบุกรุกของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ จากนั้นกลไกของปรากฏการณ์ดังกล่าวถูกตรวจสอบและแสดงให้เห็นว่าสารสกัด BBR-M-10 ยับยั้งการเคลื่อนย้ายและการบุกรุกของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีผ่านการกระตุ้นการแสดงออกของของโปรตีนเอฟแอกติน และ คลอдин-1 และลดการแสดงออกของโปรตีนไวเมนติน นอกจากนี้ยังพบว่าการถ่ายโอนสัญญาณผ่านทางตัวกลาง AKT ที่ลดลงในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีที่ถูกกระตุ้นด้วยสารสกัด BBR-M-10 จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าการเกิดกลไกไกลโคซิเลชันบนโปรตีนมีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายของมะเร็ง เพื่อตรวจสอบกลไกดังกล่าวเลคตินจำนวน 16 ชนิดถูกใช้เพื่อระบุความแตกต่างในการแสดงออกของไกลแคนบนผิวและภายในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีหลังการกระตุ้นด้วยสารสกัด BBR-M-10 การเปลี่ยนแปลงของเลคตินที่ลดลงหลังจากการกระตุ้นด้วย สารสกัด BBR-M-10 ของการแสดงออกของไกลแคนนั้นสังเกตได้อย่างชัดเจนในเลคตินชนิด Sambucus nigra lectin (SNA) ซึ่งเป็นเลคตินที่จดจำกรดเซียลิกที่เชื่อมโยงกับโครงสร้างกาแลคโตสในไกลแคน และยังสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีนในการสร้างเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างกรดเซียลิกดังกล่าวด้วย ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าแอนโทไซยานินที่ได้มารากราข้าวเหนียวดำมีศักยภาพในการยับยั้งการแพร่และรุกรานของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

โดยสรุปข้าวเหนียวดำถือเป็นแหล่งวัตถุดิบสำคัญของสารแอนโทไซยานินที่มีคุณประโยชน์ด้านสุขภาพ ในแง่ของมะเร็งนั้นสารสกัด BBR-M-10 มีศักยภาพเป็นสารป้องกันการเกิดมะเร็งผ่านการยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำลายสารพันธุกรรม และสารสกัด BBR-M-10 มีผลยับยั้งการพัฒนาของมะเร็งท่อน้ำดี

สาขาวิชาเคมี
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

SASIKAMON KHOPHAI : CANCER PREVENTION AND ANTI-CANCER EFFECT OF ANTHOCYANINS IN CHOLANGIOCARCINOMA. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. CHUTIMA TALABNIN, Ph.D. 83 PP.

Keyword: Anti-cancer/ Cancer prevention/ Cholangiocarcinoma

Anthocyanins are water soluble flavonoids responsible for the color of fruits and flowers such as grapes, blueberries, rice berry and black sticky rice. The roles of anthocyanins have been associated with anti-cancer and cancer prevention. Black rice bran is rich in anthocyanin pigments especially cyanidin 3-glucoside (C3G) which has high antioxidant and anti-cancer activities. However, the effect of anthocyanins on cholangiocarcinoma (CCA) prevention and progression has never been demonstrated yet. In the present study, black rice bran-derived anthocyanins, namely BBR-M-10 were extracted from the bran of the black pigmented rice (*Oryza sativa* L.). The TLC and HPLC results showed that the major anthocyanins in BBR-M-10 was C3G. First, to demonstrate the effect of BBR-M-10 on CCA prevention, H₂O₂-stimulated cholangiocytes (MMNK1) model was used to investigate the effect of BBR-M-10 on antioxidant activity and DNA damage. The results demonstrated that pretreatment with BBR-M-10 reduced the cytotoxic effect of H₂O₂-mediate MMNK-1 cell death and the reactive oxygen species (ROS) accumulation. The downregulation of cleavage caspase-3 and up-regulation of survivin were also detected in H₂O₂-treated MMNK-1 upon pretreatment with BBR-M-10. Moreover, the expressions of phase II antioxidant genes including *NRF-2* and *NQO-1* were increased upon pretreatment with BBR-M-10. Furthermore, the expression of DNA damage marker, gamma H2AX, was also determined. The immunofluorescent and western blot analysis showed that pretreatment with BBR-M-10 hindered the expression of gamma H2AX in H₂O₂-treated MMNK-1. Our findings show that BBR_M-10 can prevent H₂O₂-induced DNA damage and cell death in cholangiocytes via suppressing intracellular accumulation of ROS and up-regulation of phase II antioxidant genes. Therefore, the utility of rice bran anthocyanins would be a potential health benefit for CCA prevention.

Next, the anti-cancer effect of anthocyanins has been documented by a variety of mechanisms: reducing cancer cell proliferation, migration and invasion, and induction of apoptosis. In the present study, we also aimed to demonstrate the inhibitory effect of BBR-M-10 on CCA progression. Cell viability test demonstrated that BBR-M-10 has no toxicity to CCA cell lines, cholangiocytes and normal fibroblast cell lines. Wound healing and Transwell assay showed that BBR-M-10 inhibited CCA cell migration and invasion ($P < 0.05$). BBR-M-10 attenuated CCA cell migration and invasion evidenced by up-regulation of epithelial markers (F-actin and claudin-1), down-regulation of mesenchymal markers (vimentin); and a decrease in the activation/phosphorylation of AKT in BBR-M-10-treated CCA cell lines. Due to the glycosylation of several proteins, it plays an important role in the epithelial mesenchymal transition (EMT). A panel of 16 lectins was used to identify differences in glycan expression of CCA cell lines after BBR-M-10 treatment. The change of glycan expression in BBR-M10 treated CCA cells was obviously observed by Sambucus nigra lectin (SNA) which is a lectin that recognizes alpha2,6 sialic acid linked to N-acetyl galactosamine or galactose of the glycans structure (SNA binding-glycans). Low expression of SNA binding-glycans was associated with the reduction of alpha2,6 sialyltransferase gene expression (ST6GAL1) in BBR-M-10 treated CCA cell lines. Our findings suggest that BBR-M-10 has potential to be used as an anti-metastatic agent against CCA

In conclusion, black rice brans are a valuable source of anthocyanins that exhibit beneficial health effects in CCA evidenced by 1) preventive effect of BBR-M-10 in H_2O_2 -induced ROS generation and DNA damage and 2) inhibitory effect of BBR-M-10 on CCA progression.

School of Chemistry
Academic Year 2024

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____