

การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาราช ครั้งที่ 2

The 2nd STOU Graduate Research Conference

สารออกฤทธิ์จากขิงมีศักยภาพปกป้องการสลายกระดูกอ่อนที่ถูกเหนี่ยวนำโดยไซโตไคน์

Active Component of Ginger Has Potent Chondroprotective Activity Against Cytokine-Induced Cartilage Degradation

ปิยะพร บุตรพรหม (Piyaporn Budprom)* สิริวรรณ องค์ไชย (Siriwan Ongchai)**

เจษฎา เรืองสุริยะ (Jetsada Ruangsuriya)***

บทคัดย่อ

ขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) เป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ระงับอาการปวดในโรคข้อเสื่อมและข้ออักเสบมานาน จากอดีตจนถึงปัจจุบัน แต่ยังไม่มียาต้านการอักเสบที่ปลอดภัยและไม่มีผลข้างเคียงที่สำคัญของโรคข้อเสื่อม การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารซิงเจอโรน (Zingerone) ซึ่งเป็นหนึ่งในสารสำคัญจากขิง ต่อการปกป้องกระดูกอ่อนที่ถูกเร่งให้เสื่อมสลายด้วยไซโตไคน์ชนิดที่เป็นสาเหตุหลักของการสลายกระดูกอ่อนในโรคข้อเสื่อม คืออินเตอร์ลิวคิน-1บีตา (IL-1 β) โดยใช้ Cartilage Explant Model

เตรียมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน จากกระดูกอ่อนของฝ่าเท้าหมู เพื่อนำมาเลี้ยงในภาวะที่มีหรือไม่มี IL-1 β (10 ng/ml) ร่วมกับสารซิงเจอโรนที่ความเข้มข้น 0-40 μ M โดยมี diacerein ซึ่งเป็นยารักษาโรคข้อเสื่อมเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก เมื่อครบกำหนด 5 หรือ 30 วัน น้ำเลี้ยงกระดูกอ่อนจะถูกนำมาวิเคราะห์หาสารบ่งชี้การเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนที่สลายมาในน้ำเลี้ยง คือ กลัยโคซามิโนไกลแคน (s-GAGs) และกรดไฮยาลูโรนิก (HA) โดยวัดจากปฏิกิริยาสีที่จำเพาะกับโปรตีน (dye-binding assay) และ ELISA รวมทั้งได้วิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเนื้อกระดูกอ่อนของโรคข้อเสื่อมได้แก่ แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส-2 (MMP-2) โดยวิธีเจลาตินไซโมกราฟี ส่วนชิ้นกระดูกอ่อนจะถูกนำมาย่อยและตรวจวัดปริมาณสารสำคัญที่คงเหลืออยู่ในชิ้นเนื้อได้แก่คอลลาเจนและกรดยูโรนิกโดยวิธีการวัดสี (colorimetric assay)

ผลการศึกษาพบว่า กระดูกอ่อนที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β จะมีการสลายสารสำคัญของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนออกมาในน้ำเลี้ยงสูงมากเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม คือ s-GAGs และ HA สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนและกรดยูโรนิกที่มีปริมาณคงเหลือน้อยลงในเนื้อกระดูกอ่อน แต่กลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β ร่วมกับสารซิงเจอโรน พบว่าปริมาณ s-GAGs และ HA รวมทั้งการทำงานของเอนไซม์ MMP-2 ในน้ำเลี้ยงลดลงตามความเข้มข้นของสารซิงเจอโรน สอดคล้องกับคอลลาเจนและกรดยูโรนิกที่มีปริมาณคงเหลือสูงมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่มีเฉพาะ IL-1 β พบว่า สารซิงเจอโรนที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 40 μ M สามารถป้องกันการสลายเนื้อเยื่อได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลการทดลองครั้งนี้ถือเป็นครั้งแรกในการเปิดเผยให้เห็นศักยภาพของซิงเจอโรนจากขิงที่สามารถป้องกันการสลายกระดูกอ่อนซึ่งจำลองจากสภาวะที่เกิดขึ้นในโรคข้อเสื่อม กลไกการป้องกันนี้ น่าจะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งฤทธิ์ IL-1 β ในระดับโมเลกุลซึ่งกระตุ้นการสังเคราะห์และปลดปล่อยเอนไซม์ MMP-2 ซึ่งเป็นหนึ่งในเอนไซม์สำคัญของการสลายกระดูกอ่อนในโรคข้อเสื่อม

คำสำคัญ: ซิงเจอโรน, อินเตอร์ลิวคิน-1บีตา, แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส, เนื้อเยื่อกระดูกอ่อน, การปกป้องกระดูกอ่อน

* วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ piyaporn.bu@gmail.com

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีวเคมีและศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ siriwan.ongchai@gmail.com

*** อาจารย์มหาวิทยาลัย ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ jetsada.ruang@cmu.ac.th

Abstract

Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) has long been used to relieve pain in both degenerative and inflammatory joint diseases. Nevertheless, there has been no report of ginger to protect against cartilage degradation which leads to degenerative joint diseases. This study aimed to investigate chondroprotective effect of Zingerone, one of the active components isolated from dried ginger, on cartilage degradation induced by the most important cytokine which causes degenerative joint diseases, IL-1b, using Cartilage Explant Model.

Articular cartilage explants were prepared from porcine metacarpophalangeal joints. They were cultured in the presence or absence of IL-1b, (10 ng/ml) and Zingerone at the concentration range of 0-40 μ M. The anti-arthritis drug, diacerein, was performed as a positive control. After 5 or 30 days of incubation, the culture medium was harvested for analysis of cartilage degradation markers as sulfated glycosaminoglycans (s-GAGs) and hyaluronic acid (HA) by Dye binding assay and ELISA technique. Activity of matrix metalloproteinase enzyme-2 (MMP-2) which involved in cartilage degradation of degenerative joint diseases was analysed by gelatin zymography. The remaining of collagen and uronic acid in the cartilage explants were analyzed by colorimetric assays.

It was found that IL-1b treatments caused the dramatic increase in the release of cartilage biomolecules into the culture media as s-GAGs and HA, constantly with the great reduction of collagen and uronic acids contents which remained in cartilage explants. In co-treatment of IL-1b and Zingerone, results from the media analysis showed the significant reduction of s-GAGs and HA, including MMP-2 activity, in dose-response manners. These were concomitant with the higher contents of collagen and uronic acids in the explants compared to the IL-1b treated group. Zingerone from 40 μ M was found to significantly protect cartilage degradation ($p < 0.05$). These results were the first to reveal chondroprotective activity of ginger in condition which simulated the pathology of degenerative joint diseases. The mechanism of protection may involve in the molecular suppression of IL-1b-induced synthesis and release of MMP-2, one of cartilage degrading enzymes of degenerative joint diseases.

Keywords: Zingerone, IL-1b, MMPs, Cartilage explants, Chondroprotection