

บทคัดย่อ

สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม (TAM) มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีงานวิจัยที่แสดงว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ สามารถออกฤทธิ์ต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันร่วมด้วย งานวิจัยนี้ จึงศึกษาผลของ TAM ต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบไม่จำเพาะ (innate immunity) และแบบจำเพาะ (acquired immunity) ในโมเดลของหนูเม้าส์ เซลล์ม้ามจากหนูเม้าส์ B6C3F1 ที่ได้รับสารสกัด TAM 0.1-10 $\mu\text{g/ml}$ ใน *in vitro* ไม่มีการเปลี่ยนแปลงการเจริญและการแบ่งเซลล์ของ lymphocyte ในการตอบสนองต่อ T เซลล์ mitogen concanavalin A สารสกัด TAM 10 $\mu\text{g/ml}$ สามารถลดการตอบสนองต่อ allogeneic เซลล์ซึ่งเป็นเซลล์ม้ามของหนูเม้าส์ DBA/2 ในวิธีการทดสอบแบบ one-way mixed lymphocyte reaction การศึกษาการใช้เซลล์เม็ดเลือดแดงแกะกระดูกสันหลังเซลล์ม้าม เพื่อให้สร้าง antibody ใน *in vitro* ด้วยวิธีทดสอบ Mishell Dutton พบว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม TAM ที่ 1 และ 5 $\mu\text{g/ml}$ สามารถเพิ่มปริมาณเซลล์ที่สร้าง antibody (AFC) ต่อ culture ได้ร้อยละ 32 และ ร้อยละ 43 ตามลำดับ ($p < 0.05$) หรือเมื่อแสดงค่าเป็น AFC ต่อ 1 ล้านเซลล์เท่ากัน TAM ที่ 1 และ 5 $\mu\text{g/ml}$ มีค่า AFC/ 10^6 เซลล์ เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมร้อยละ 33.5 และ ร้อยละ 58 ตามลำดับ การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ใน *in vitro* พบว่า เซลล์มะเร็งสายพันธุ์มีความไวต่อสารสกัด TAM แตกต่างกัน นอกจากนั้น เซลล์สายพันธุ์ RAW264.7 ที่ได้รับ TAM 0.2-200 $\mu\text{g/ml}$ ใน *in vitro* มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง nitric oxide (NO) ที่ถูกชักนำให้สร้างขึ้นโดย 10 $\mu\text{g/ml}$ lipopolysaccharide (LPS) และ 10 ng/ml interferon-gamma (IFN- γ) โดยการยับยั้งเกิดได้สูงสุดถึงร้อยละ 68 ($p < 0.01$) และการยับยั้งแปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น นอกจากนั้น การกระตุ้นการสร้าง NO ด้วย 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, LPS และ/หรือ IFN- γ ในเซลล์ macrophage ที่เตรียมได้จากช่องท้องของหนูเม้าส์ B6C3F1 ที่ได้รับการป้องกันปากด้วยสารสกัด TAM 100-500 mg/kg เป็นเวลา 14 วัน ก็ถูกยับยั้งได้เช่นกัน โดยการยับยั้งขึ้นกับปริมาณสารสกัดที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย ผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความเป็นพิษในหนูเม้าส์ B6C3F1 พบการลดน้ำหนักตัวชั่วคราวของกลุ่มที่ได้รับสารสกัด TAM สูงสุดที่ 1,000 mg/kg โดยไม่แสดงความเป็นพิษอื่นใด รวมทั้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงการทำหน้าที่ของ natural killer เซลล์

โดยภาพรวม งานวิจัยนี้ชี้แนะว่าสารสกัด TAM มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยกระทบต่อการสร้าง NO ของเซลล์ macrophage สูงสุด ดังนั้น งานวิจัยเกี่ยวกับกลไกการยับยั้งการสร้าง NO ของเซลล์ macrophage และ ประโยชน์ของ TAM ต่อการบรรเทาโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง NO ในปริมาณที่สูงเกินควร จึงควรค่าต่อการทำวิจัยต่อยอดในอนาคต

Abstract

The seed coat extract of *Tamarindus indica* Linn. (TAM) has been shown to have antioxidant properties. As several medicinal plants possess antioxidant property also display immunomodulating activity, the present study explored the effects of TAM on both innate and acquired immunity in a murine model. *In vitro* exposure of splenocytes from B6C3F1 mice to TAM at 0.1-10 µg/ml did not alter the lymphoproliferative response to T cell mitogen, concanavalin A. At 10 µg/ml, TAM could significantly reduce the allogeneic response to DBA/2 splenocytes in a one-way mixed lymphocyte reaction. The study of *in vitro* sensitization with sheep red blood cells for antibody production in the Mishell Dutton assay revealed that when compared to the corresponding vehicle controls, 1 and 5 µg/ml TAM significantly increased antibody forming cell (AFC)/culture by 32 % and 43%, respectively ($p < 0.05$). Exposure of TAM at 1 and 5 µg/ml also enhanced the AFC/ 10^6 splenocytes by 33.5% and 58.0%, respectively. *In vitro* cytotoxicity of TAM to six cancer cell lines showed selectivity towards some cancer cells. Furthermore, *In vitro* exposure of RAW264.7 cells to 0.2-200 µg/ml significantly attenuated nitric oxide (NO) production, induced by 10 µg/ml lipopolysaccharide (LPS) and 10 ng/ml interferon-gamma (IFN- γ), as much as 68% in a concentration-dependent manner ($p < 0.01$). TAM at the concentration range of 100-500 mg/kg also showed a dose dependent suppression of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, LPS and/or IFN- γ -induced NO production in isolated peritoneal macrophages from B6C3F1 mice exposed to TAM via oral gavage for 14 days. The preliminary safety studies in B6C3F1 mice showed a transient decrease in body weight at only the highest dose (1000 mg/kg) without alteration of any general toxicities and natural killer cell activity.

Overall, the present studies suggest that the immunomodulating effects of TAM is most pronounced in the suppression of NO production by macrophages. Further studies to gain insight for inhibitory mechanisms and the beneficial roles of TAM on alleviation of diseases associated with overproduction of NO are worthwhile for investigation in the future.