หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

เห็ด *Ganoderma lucidum (Fr.)Karst* เป็นเห็ดที่มีสรรพคุณทางยา จัดเป็นเห็ดสมุนไพรชนิดหนึ่งซึ่งมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามท้องถิ่นนั้นๆเช่น ชาวจีนเรียก หลินจือ(Lingzhi) ชาวญี่ปุ่นเรียก Reishi หรือ Mannentake ในภาษาอังกฤษเรียกว่า Lacquered Mushroom หรือ Holy Mushroom ส่วนคนไทยรู้จักกันในชื่อ เห็ดอมตะ เห็ดหลินจือ เห็ดจวักงู หรือเห็ดหมื่นปี (สุทธพรรณ ตรีรัตน์ ,2531) ในประเทศจีนรวมทั้งญี่ปุ่น และเกาหลี นิยมใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่าง ๆ มานานแล้ว เช่น โรคความดันโลหิตสูง (hypertension),โรคสภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) และโรคภูมิแพ้ (allergy) ปัจจุบันได้รับความสนใจศึกษาถึงคุณสมบัติต้านทานเซลล์มะเร็ง และได้มีการทดลองค้นคว้ากันอย่างกว้างขวาง

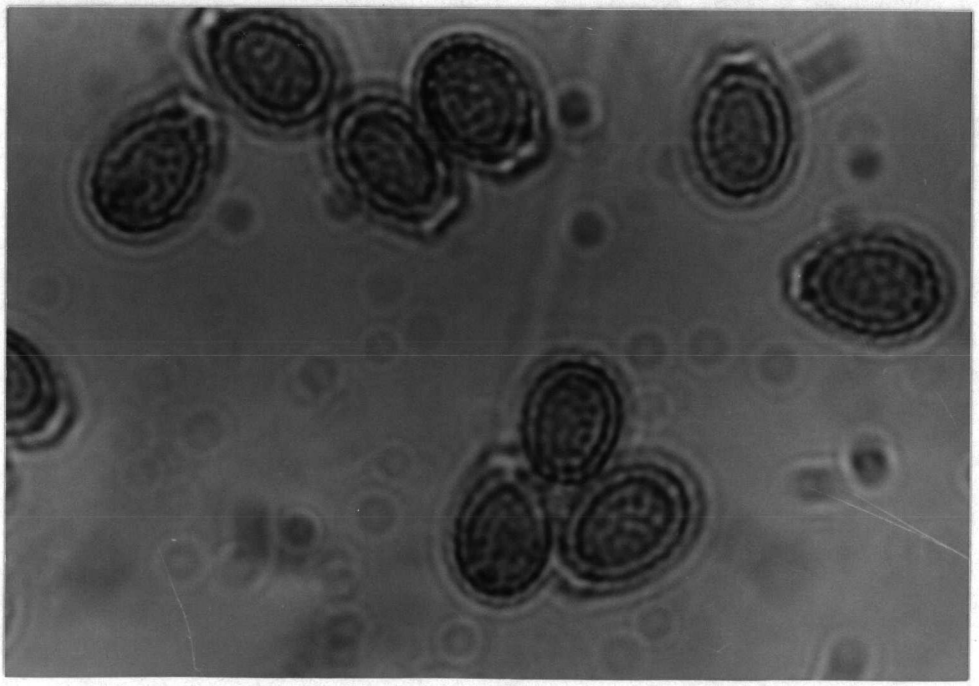
เห็ดหมื่นปีที่พบในธรรมชาติสามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตอบอุ่น และเขตร้อน เช่น จีน ญี่ปุ่น เกาหลี ประเทศแถบอเมริกาเหนือ ยุโรป ฯลฯ (Adaskaveg and Gilbertson, 1985) ส่วนในประเทศไทย อนงค์ จันทร์ศรีกุล และคณะ (2528) ได้สำรวจพบว่า เห็ดชนิดนี้สามารถขึ้นได้ทั่วประเทศ ดอกเห็ดมักจะขึ้นบนตอไม้ที่ตายแล้ว หรือเป็นพาราสิตของรากพืชบริเวณโคนต้นไม้บางชนิด เช่น ตูน ก้ามปู หางนกยูงฝรั่ง ยางพารา มะม่วง เป็นต้น สุทธพรรณ ตรีรัตน์ (2531) รายงานว่าเมื่อเดือน กรกฎาคม 2530 หน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด พบดอกเห็ดขึ้นอยู่บริเวณโคนต้นหางนกยูงฝรั่ง (*Delonix regia*) ในบริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงได้ทำการศึกษารูปร่างลักษณะของดอกและสปอร์ รวมทั้งได้รับการยืนยันจากผู้เชี่ยวชาญเห็ดในประเทศไทยและต่างประเทศว่าเป็นเห็ด *G. lucidum* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อค้นคว้าวิจัยในงานวิจัยนี้ต่อไป

ลักษณะโดยทั่วไปของเห็ด *G. lucidum* จัดอยู่ในสกุล *Polyporaceae* หรือที่รู้จักในพวก polypore เนื่องจากมีลักษณะเด่นคือ ใต้หมวกเห็ดไม่มีครีบแต่มีรูเล็ก ๆ จำนวนมากเป็นที่เกิดของสปอร์ (Alexopolus, 1979) เนื้อดอกแตกต่างกันไปตามอายุ ตั้งแต่นุ่มจนแข็งเหมือนเนื้อไม้ เมื่อเกิดดอกมีลักษณะเป็นแท่งสีเหลืองจากยอดลงมา ดอกอ่อนมีขอบสีขาว เหลืองกลางดอกสีน้ำตาล ต่อมาส่วนบนเจริญแผ่กว้างออกไปเป็นหมวกคล้ายพัด ผิวด้านบนของหมวกมีสีน้ำตาลแดง หรือสีเชสนัท ผิวหมวกเป็นมันเงาเหมือนเคลือบด้วยแลคเกอร์ จึงได้ชื่อว่า (Lacquered mushroom)ด้านใต้หมวกเป็นรูเล็ก ๆ มีสีเหลืองอ่อน หรือครีม เนื้อของดอกเห็ดเป็นเส้นใยสีน้ำตาล ดอกเห็ดอาจขึ้นเป็นดอกเดี่ยว หรือเป็นกลุ่มเห็ดอาจจะมีก้านหรือไม่มีก้านก็ได้ โดยปกติก้านดอกจะอยู่ตรงกลาง หรือด้านข้างของดอก (Bakshi,1971, อนงค์ จันทร์ศรีกุล และคณะ, 2528) เมื่อดอกเห็ดพัฒนาสมบูรณ์แล้ว จะสร้างสปอร์ปล่อยออกมาเป็นสีน้ำตาล ลักษณะสปอร์มีรูปร่าง กลมรี ปลายด้านหนึ่งจะโค้งมนปลายอีกด้านหนึ่งตัดผนังสปอร์มี 2 ชั้น ผนังชั้นนอกเรียบและมีรอยนุ่มเป็นแอ่งตื้น ๆ บนผิวชั้นนอก ผนังชั้นในยื่นส่วนคล้ายหนามไปชนผนังชั้นนอก (รูปที่ 1)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 1 ดอกเห็ด *G. lucidum* ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติเปรียบเทียบกับดอกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในถุงขี้เลื่อย

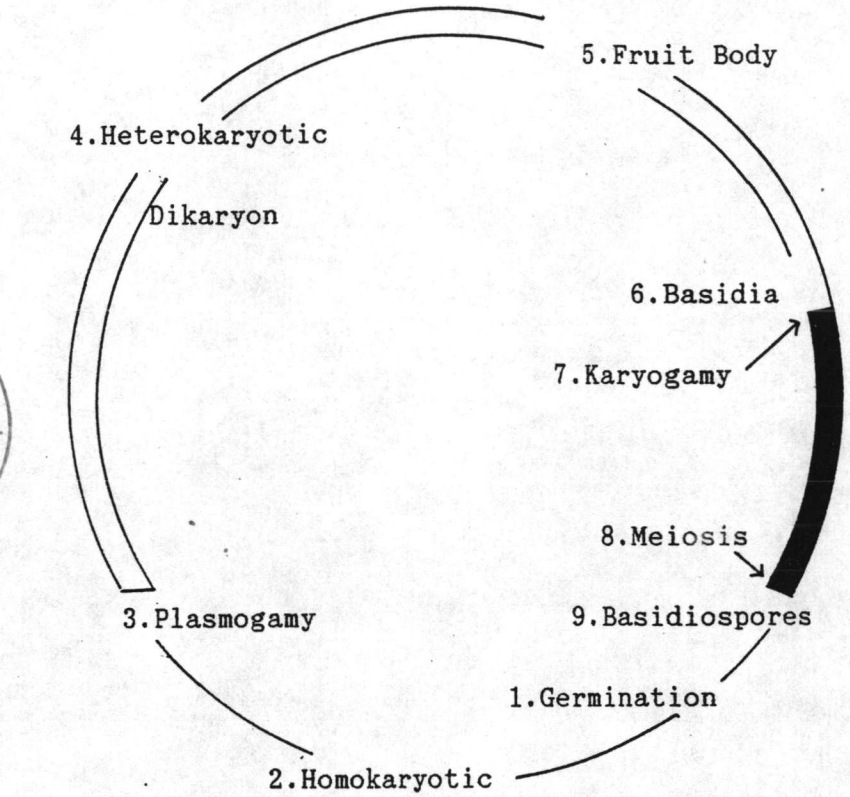
เส้นใยของดอกเห็ด *G. lucidum* แบ่งตามลักษณะการเจริญออกเป็น 2 ระยะ คือ เส้นใยระยะที่ 1 (primary mycelium) เป็นเส้นใยที่งอกออกมาจาก basidiospore มีโครโมโซมเป็น haploid (n) จึงเรียกว่า homokaryotic mycelium ภายในผนังเส้นใยมีโปรโตพลาสม มีผนังกั้นเป็นส่วน ๆ แตกกิ่งก้านสาขาออกไปได้มาก ในเส้นใยระยะนี้ไม่พบ clamp connection (ผนังต่อระหว่างเซลล์ เพื่อทำหน้าที่แลกเปลี่ยนไซโตพลาสม และสารพันธุกรรมซึ่งกันและกัน) เมื่อเส้นใยระยะที่หนึ่งมาเชื่อมต่อกัน ทำให้นิวเคลียสทั้ง 2 อันมารวมอยู่ในเซลล์เดียวกัน (dikaryotic mycelium) จึงมีการพัฒนาไปเป็นเส้นใยระยะที่ 2 เรียกว่า secondary mycelium ซึ่งเมื่อเกิดขึ้นใหม่ ๆ จะมีลักษณะคล้ายกับเส้นใยระยะที่ 1 แต่สามารถตรวจพบ clamp connection ได้ในบางบริเวณ เส้นใยระยะที่ 2 นี้เมื่ออายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็น 2 ระยะอีกเช่นกันคือผนังอาจหนาขึ้นภายในเส้นใยกว้างไม่มีโปรโตพลาสม อาจตรวจพบ granular และจะสังเกตุพบ clamp connection น้อยลงหรือมีผนังเซลล์หนาภายในเส้นใยแคบ มีลักษณะเป็นเส้น (fiber)(Sarkar,1959)เส้นใยระยะนี้เมื่อได้รับสภาวะที่เหมาะสมจะรวมกันเป็นตุ่มเห็ด (primordia) ซึ่งมีสัณฐานเป็นกลุ่มของเส้นใยที่ยึดกันแน่น มีสีขาว จากนั้นจะเจริญขึ้นเป็นดอกเห็ดต่อไป



หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 2 ลักษณะของสปอร์เห็ด *G. lucidum*

วงชีพของเห็ดหมื่นปี เป็นแบบ heterothallic แบบ tetrapolar (Ching and Chem,1986) (รูปที่ 3)



หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 วงชีพของเห็ดใน Class Basidioomycetes (Chang and Hayes, 1976)

ปรีชา กลิ่นเกษร (2530) เริ่มทำการศึกษาเพาะเลี้ยงเห็ดหมื่นปี ที่พบในประเทศไทย ในถุงขี้เลื่อยไม้เนื้อค่อนข้างแข็ง เช่น ไม้ยางพารา และไม้ยางนา ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเส้นใย 18-20 วัน สุทธพรรณ ตรีรัตน์ (2531) แยกเนื้อเห็ดหมื่นปีที่พบในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แล้วเลี้ยงเชื้อเห็ดในถุงขี้เลื่อยไม้ยางพารา ผสมรำ ยิบซั่ม และ ดีเกลือ บ่มถุงในธรรมชาติที่มีอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมระหว่าง 28-32 ^{o}ซ เมื่อเส้นใยเจริญเติบโตเต็มถุง และรอให้ก้อนเชื้อสมบูรณ์จึงให้ความชื้น เส้นใยเห็ดจะเริ่มสร้างดอกอ่อนออกมาภายใน 7-10 วัน เมื่อดอกเห็ดพัฒนาเต็มที่สามารถสร้างสปอร์ได้

การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปีในอาหารเหลว Tseng และคณะ(1984)เลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปีในอาหารเหลวนาน 14 วัน พบว่าอาหารเหลวที่เติม malt extract 10 % ให้อัตราการเจริญของเส้นใยดีที่สุด และได้เสนอว่าควรเลี้ยงบนอาหารเหลว potato dextrose เพราะว่าหาง่ายราคาถูก และให้อัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ หลังจากวันที่ 14 ไปแล้ว นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์สารอาหาร ที่พบในเส้นใยเห็ดที่เลี้ยงบนอาหารเหลว potato dextrose เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าประกอบไปด้วย คาร์โบไฮเดรท 75% ไขมัน 4.6 % โปรตีน (soluble protein) 8.3 % และเถ้า 3.62% ดอกเห็ดหมื่นปีประกอบด้วยราจำพวก ergosterol กรดอินทรีย์, กลูโคซามีน และ polysaccharide , D-manitol, fungal lysozyme และ acid protease ได้มีการแยกเอาสารจำพวก โปรตีน กรดอะมิโน และ saccharides หลายชนิดจากส่วนของดอกเห็ด พบว่าในเส้นใยเห็ดและ น้ำเลี้ยงเส้นใย มีสารจำพวก sterols, lactones, alkaloids และ polysaccharides หลายชนิด (Chen, 1986)

สุทธพรรณ ตรีรัตน์ (2531) ได้รวบรวมข้อมูล และเอกสารอ้างอิงกว่า 40 รายการ เกี่ยวกับการทำวิจัยในเรื่องการสกัดสารจากเห็ด ชนิดของสารและการทดสอบสมบัติ หรือสรรพคุณในการบำบัดโรค แล้วสรุปโดยสังเขปได้ดังนี้

สารและประเภทของสารที่มีใน *G. lucidum*

cholestan (steroid)

ergosterol (steroid)

ganoderlan (carbohydrate)

ganoderic acid (triterpene) (มีหลายชนิด)

G. lucidum antibiotic (carbohydrate)

G. lucidum polysaccharide (carbohydrate)

lucideric acid (triterpene)

นอกจากสารที่กล่าวแล้วข้างต้น ก็มีรายงานถึงสารอาหารที่พบได้ในเห็ด *G. lucidum*

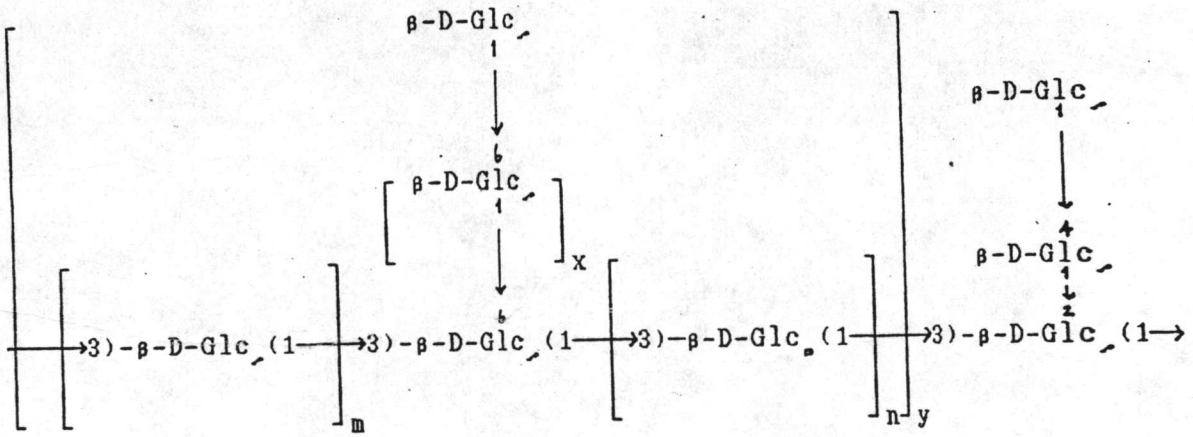
ด้วย เช่น แร่ธาตุ โปแตสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และวิตามินบี เป็นต้น

คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์จากเห็ดหมื่นปี ในแง่การรักษาและป้องกันโรค มีมากมายหลายชนิด อาทิ เช่น (Mizuno และคณะ 1984) สกัดสารโพลิแซคคาไรด์ จากดอกเห็ดหมื่นปี พบว่าโพลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำ มี 5 ส่วน(fraction) ∝- และ β-glucans, fucogalactan, mannofucogalactan และacidic β-glucan พบว่ามีโพลิแซคคาไรด์เพียง 2 ชนิดคือ β-glucan และ acidic β-glucan ที่มีสูตรโครงสร้าง β(1-3)-D-glucosyl สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 ที่ปลูกลงใต้ผิวหนังของหนู ICR-Jcl ได้ สาร β-glucan เป็นสารที่มีโครงสร้างหลักเป็น β-(1-3)D-glucan ซึ่งมีการแตกสาขา (branching) ด้วย β-(1-6) และน้ำหนักโมเลกุลประมาณ $1.05x10^6$ และ acidic β-glucan น้ำหนักโมเลกุล $4.30x10^5$ ดาลตัน และประกอบด้วย D-glucose, D-mannose, D-glucuronic acid, D-galactose และ D-xylose นอกจากในดอกแล้วได้มีการทดลองในเส้นใยโดย Lee และคณะ 1984 ฉีดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด *G. lucidum* 2 กรัม/กก.น้ำหนักตัว ทุกวันเป็นเวลา 27 วันในหนูสายพันธุ์ C3H เพื่อยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Fibrosarcoma ได้อย่างมีนัยสำคัญและยังให้ผลยับยั้ง โครโลนีของเซลล์มะเร็งชนิดนี้ ที่บริเวณเปอดได้อย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน Hikino และคณะ (1985) พบว่าสารประกอบ glucan ทั้ง ganoderans A และ B ที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ด สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูได้อย่างมีนัยสำคัญ Kohda และคณะ (1985) แสดงให้เห็นว่าสารประกอบ triterpene ประเภท ganoderic C และ D ซึ่งสกัดจากดอกเห็ด ด้วยเมทธิลแอลกอฮอล์ สามารถยับยั้งการหลั่ง histamine ใน rat mast cell ได้ Nogami และคณะ (1986) ทดลองให้สารสกัดจากดอกเห็ด เพื่อยับยั้งการที่หนูหลั่ง histamine จาก peritonial mast cell เนื่องจากการกระตุ้นด้วยไข่ขาว นอกจากนี้ยังยับยั้งโรคหอบหืด โรคผิวหนังของหนูพุก(guinea pig) และยับยั้งการขับโปรตีนปนออกมากับยูเรีย และเลือดของหนูที่เป็นโรคไตอักเสบ Kanmatsuse และคณะ (1985) สกัดสารจากดอกเห็ดหมื่นปีแล้วผลิตเป็นยาเม็ดทดลองกับคนไข้ที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงในปริมาณ 1 มก./กก.น้ำหนักตัวหนู ให้ยาทุกวันเป็น

เวลา 6 เดือน พบว่าความดันลดลง และปริมาณ cholesterol ลดลงด้วย โดยไม่มีผลข้างเคียงแต่อย่างไร Maruyama และคณะ (1989) พบว่าสารโพลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำสกัดจาก *G. lucidum* ซึ่งที่มีมวลโมเลกุลสูงกว่า 10,000 ดาลตัน ขึ้นไป จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง Sarcoma 180 ได้ดีกว่า พวกที่มีมวลโมเลกุลต่ำกว่า 10,000 ดาลตัน แต่สารโพลิแซคคาไรด์ ที่ละลายในเอทธานอล จะไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

Miyazaki and Nishijima (1981) แยกสารประกอบโพลิแซคคาไรด์จากดอกเห็ดแล้วทำการวิเคราะห์ พบว่ามีส่วนประกอบของ glucose, xylose และ arabinose ในอัตราส่วน 18.8:1.5:1 น้ำหนักโมเลกุล 40,000 ดาลตัน สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 ในหนูได้สูงถึง 95.6-98.5 % โดยให้ความเข้มข้น 20 มก./กก.น้ำหนักตัว ทุกวันเป็นเวลา 10 วัน Mizuno และคณะ (1985) พบว่าสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งนี้คือ glucan, glucanfucogalactan,mannofucogalactan, acid glucan แต่ glucan ให้ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด Sone และคณะ (1985) พบว่าสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ ที่มีแกนของโครงสร้างเป็น (1-3)β-D-glucan (รูปที่ 4) ที่แยกได้จากดอกเห็ดโดยการสกัดแยกด้วยน้ำร้อน และสารโพลิแซคคาไรด์ที่ปล่อยออกภายนอกนี้ได้แยกสารโพลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำ และค่าสารประกอบ β-D-glucans ซึ่งมีค่าองศาของการแตกสาขาแตกต่างกัน อาหารเลี้ยงเส้นใยให้ผลการยับยั้ง การเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 ได้สูงสุดถึง 96 % และ 91 % ตามลำดับ Mizuno และ Hazama (1986) ได้แยก fibrous polysaccharides (noncellulose) จากดอกเห็ด *G. lucidum* พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็น D-glucan และมี uronic acid, xylose และ mannoseเป็นองค์ประกอบ และมีโครงสร้างแกนเป็น β-(1-3)-D-glucan และ สาขาเป็น β-(1-6)-D-glucosyl เช่นเดียวกัน โดยมี น.น.โมเลกุลเฉลี่ยประมาณ $3.3x10^5$, $6.0x10^4$, $1.6x10^5$ และ $1.1x10^5$ ตามลำดับ สาร β-D-glucan เหล่านี้มีฤทธิ์ต้านการเจริญของ Sarcoma 180 ในหนูเมื่อฉีดเข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal)

Lieu และคณะ (1992) ศึกษาถึงฤทธิ์ของสารโพลิแซคคาไรด์ ที่สกัดจาก *G. lucidum* โดยทำการทดสอบใน *in vitro* พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว U937 ในคนได้และชักนำให้เซลล์มะเร็งนั้น มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป โดยจะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของตัวมันเองลดลง Wang และคณะ (1993)รายงานว่า สาร (1-3)-β-D-glucan ของ *G. tsugae* ที่มีมวลโมเลกุลอยู่ในช่วง $1.1x10^5$ - $7.0x10^5$ ดาลตัน และมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยมีฤทธิ์ช่วยต้านมะเร็งชนิด Sarcoma 180 ได้อย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน อย่างไรก็ตามกลไกของการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ยังไม่กระจ่างมากนัก ปริญญา รัตนพิมาน และคณะ(1992) ได้ศึกษาวิธีการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากดอกเห็ดหมื่นปี *G. lucidum* ที่เพาะเลี้ยงในถุงขี้เลื่อย สกัดด้วยน้ำร้อน และตกตะกอนด้วยเอทธานอล พบว่าสารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูกคน (human cervical carcinoma) ที่เจริญในหนูไร้ขน (nude mice) ได้ นอกจากนี้ยังรายงานว่าสารโพลิแซคคาไรด์ ที่สกัดแยกจากเส้นใยเพาะเลี้ยงของเห็ด *G. lucidum* มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูกได้เช่นกัน



Glc = Glucose

m,n,x,y = polymer

รูปที่ 4 โครงสร้างสารประกอบ glucan ที่พบในเห็ดหมื่นปี (Sone และคณะ 1985)

สำหรับการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเห็ดหมื่นปี ได้มีผู้สนใจศึกษากันอยู่บ้าง เช่น Kim และคณะ (1986) ทดลองป้อนสารสกัดจากดอกเห็ดให้หนูในปริมาณ 5 กรัม/กก.น้ำหนักตัว ทุกวันเป็นเวลา 20 วัน ไม่พบความผิดปกติในตัวหนู และเมื่อทำการวัดความเป็นพิษของสารสกัดดังกล่าว โดยการฉีดสารสกัดจากเห็ดหมื่นปีในหนู เพื่อวัดประสิทธิภาพความเป็นพิษพบว่ามีค่า LD_{50} สูงกว่า 5 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

มะเร็งเป็นโรคร้ายแรง ที่สร้างความน่าสพึงกลัวให้แก่ประชาชนทั่วไปในปัจจุบัน ทั้งนี้เป็นเพราะว่าโรคมะเร็งส่วนใหญ่ที่ตรวจพบในคนไข้นั้น มักจะเป็นระยะสุดท้าย ซึ่งมีผลทำให้การบำบัดรักษาเป็นไปได้ด้วยประสิทธิผลที่ค่อนข้างต่ำ จากสถิติของกระทรวงสาธารณสุข ในปี 2530 ปรากฏว่าโรคมะเร็ง เป็นสาเหตุการตายของประชากรไทย สูงเป็นอันดับที่ 2 รองจากโรคหัวใจ โดยมีอัตราการตาย 31.5 คนต่อประชากรแสนคน (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสังเกตุด้วยว่าโรคมะเร็งส่วนใหญ่นั้น ยังสามารถพบได้ในประชากรที่ยังมีอายุค่อนข้างน้อย เช่น มะเร็งตับอาจจะพบในผู้ชายที่มีอายุไม่ถึง 35 ปี เป็นต้น ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้ อาจจะเป็นตัวบ่งชี้ว่าในสิ่งแวดล้อมปัจจุบันอาจมีปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งเสริมให้มีการเกิดโรคมะเร็งได้รวดเร็วขึ้นด้วย จากการศึกษาถึงแนวโน้มของการเกิดมะเร็งชนิดต่าง ๆ ในช่วงเวลาที่ผ่านมา จะเห็นได้ว่ามะเร็งที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีความสำคัญอันดับสูงได้แก่มะเร็งปอด เนื่องจากสภาพมลพิษในกรุงเทพมหานคร ทำให้คนเป็นโรคมะเร็งของระบบทางเดินหายใจมากขึ้น จากรายงานประจำปีของฝ่ายแผนงานและสถิติ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2534 พบว่าในเพศชายจะเป็นมะเร็งปอดสูงสุด รองลงมาได้แก่มะเร็งตับ และมะเร็งในช่องปาก ส่วนในเพศหญิงจะพบมะเร็งปากมดลูกบ่อยที่สุด รองลงมาคือ มะเร็งเต้านม มะเร็งในช่องปากตามลำดับ (ตารางที่ 2)

แม้ว่าจะมีเทคโนโลยีที่ทันสมัย มีการผ่าตัด การฉายรังสีและยาชนิดใหม่ ๆ เพื่อรักษาโรคมะเร็ง อัตราการเกิดโรคมะเร็งก็ยังไม่มีแนวโน้มลดลง นักมะเร็งวิทยาจึงหันมาสนใจในการป้องกัน หรือชลอการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งควบคู่ไปกับการรักษามากขึ้น วิธีการรักษาในปัจจุบันคือ การผ่าตัดเอาก้อนเนื้องอกออกไป การฉายรังสีขนาดสูงเพื่อฆ่าเซลล์มะเร็งที่คง

ตารางที่ 1 จำนวนการตายของประชากรไทยด้วยสาเหตุที่สำคัญ และอัตรา (ต่อประชากรแสนคน) พ.ศ. 2530 (กองสถิติสาธารณสุข, 2530)

สาเหตุการตาย	จำนวน	อัตราการตาย (ต่อประชากรแสนคน)
โรคหัวใจ	22,897	42.7
โรคมะเร็งทุกชนิด	16,905	31.5
อุบัติเหตุ และการเป็นพิษ	14,009	26.1
วัณโรคทุกชนิด	5,471	10.2
ปอดอักเสบ	4,577	6.7
โรคท้องร่วง	2,295	4.3
ไข้มาลาเรีย	1,635	3.1
โรคกระเพาะอาหารและดูโอดินั่ม	1,328	2.5
ความบกพร่องทางโภชนาการ	360	0.7
โรคแทรกในการตั้งครรภ์การคลอด และการอยู่ไฟ	329	0.6
โรคอื่น ๆ	164,162	306.2
รวม	232,168	434.6

ตารางที่ 2 มะเร็งที่พบมาก 10 อันดับแรกในปี พ.ศ. 2534

(ฝ่ายแผนงานและสถิติ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ)

ชาย			หญิง		
อวัยวะ	จำนวน	%	อวัยวะ	จำนวน	%
รวม	653	100.0	รวม	1,216	100.0
ปอด	132	20.2	ปากมดลูก	421	34.6
ตับ	91	13.9	เต้านม	327	26.9
ช่องปาก(ไม่รวมหลอดคอ)	75	11.5	ช่องปาก(ไม่รวมหลอดคอ)	81	6.7
ลำไส้เล็ก & ลำไส้ใหญ่	45	6.9	รังไข่	38	3.1
กระเพาะอาหาร	34	5.2	ลำไส้เล็ก & ลำไส้ใหญ่	37	3.0
ผิวหนัง	29	4.4	ปอด	36	3.0
กล่องเสียง	28	4.3	มดลูก	31	2.5
หลอดอาหาร	23	3.5	ต่อมธัยรอยด์	30	2.5
ช่องหลังในโพรงจมูก	19	2.9	ตับ	24	2.0
องคชาติ	19	2.9	ผิงหนัง	24	2.0

เหลือหรือผ่าตัดออกไม่ได้ และการบำบัดด้วยสารเคมีที่มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งได้โดยตรง หรืออาจใช้หลายวิธีร่วมกัน เพื่อให้ได้ผลดีที่สุด ดังนั้นการใช้วิธีรักษามะเร็งจึงจำเป็นที่จะต้องมีการพัฒนายาชนิดใหม่ ให้ใช้รักษามะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และมีอันตรายต่อผู้ป่วยน้อยที่สุด โดยเฉพาะสารทางชีวภาพที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ อาทิเช่นสารจากพืช สัตว์ หรือเห็ดสมุนไพรต่าง ๆ วิธีการรักษาทางชีวภาพนี้เรียกว่า Biotherapy ซึ่งเป็นรูปของการรักษาโรคมะเร็งแผนใหม่ซึ่งกำลังเป็นที่สนใจ และศึกษาค้นคว้าอยู่มากในนานาประเทศ โดยหาวิธีการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ที่เหมาะสม ตลอดจนปรับปรุงการผลิตให้เพียงพอต่อความต้องการ

วิธีการทดสอบและวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในการลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งกระทำได้หลายวิธีอาทิ เช่น

1. การทดสอบการต้านมะเร็งชนิด Fibrosarcoma ในหนูสีน้ำตาลสายพันธุ์ C3H ซึ่งเป็นมะเร็งของหนูเอง ที่ค่อนข้างดื้อต่อการรักษา และหนูที่ถูกทำให้เกิดมะเร็งชนิดนี้จะตายในเวลาอันสั้น

สามารถแบ่งการทดสอบออกเป็น 3 วิธีคือ

1.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งใน *in vitro* เพื่อหาค่า TCD_{50} (50 % tumor control dose) หมายถึง ขนาดของสารที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ 50 %

1.2 การทดสอบความสามารถในการชลอการเจริญของเซลล์มะเร็ง (tumor growth delay) ที่ฉีดลงบริเวณกล้ามเนื้อขาของหนู นอกจากนี้อาจใช้วิธีเปรียบเทียบ เพื่อดูความแตกต่างของสารในการยืดอายุของหนูทดลอง (mean survival time) ก็เป็นอีกวิธีหนึ่ง

1.3 การทดสอบ Lung colony formation โดยการฉีดเซลล์มะเร็งเข้าเส้นเลือดดำทางหางเพื่อให้เซลล์มะเร็งเคลื่อนเข้าไปยังปอด แล้วนับจำนวนโคโลนีของเซลล์มะเร็งที่ปอดเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของยาที่สามารถควบคุมและลดปริมาณของการเกิดโคโลนีได้

2. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ เซลล์มะเร็งที่นำมาทดสอบได้แก่ KB-cell (Human Nasopharyngeal carcinoma) HeLa cell (Human carcinoma) หรือ L-1210

cell (Mouse Lymphocytic Leukemia) เหล่านี้เป็นต้น โดยวัดความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งด้วยค่า ED_{50} หรือ IC_{50} (Median Effective dose) หรือ Inhibitory concentration ซึ่งหมายถึง ขนาดของสารที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ 50% ของกลุ่มควบคุม

นอกจากนี้การทดสอบใน *in vivo* ก็ทำได้โดยการฉีดเซลล์ KB ใต้ผิวหนังของหนูไร้ขน (nude mice) การเลือกใช้หนูไร้ขนในการศึกษาเกี่ยวกับมะเร็งมีข้อดีคือ หนูไร้ขนเป็นหนูที่ไม่มีต่อม Thymus (athymic animal) ซึ่งมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของหนู โดยไม่มีระบบการทำงานของ T-cell ดังนั้นจึงสามารถนำเซลล์มะเร็ง จากคนมาปลูกถ่ายในหนูไร้ขนได้ และเมื่อนำชิ้นเนื้อมะเร็งมาตรวจสอบทาง Histopathology พบว่าลักษณะของเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากมะเร็งในคน และการเจริญของเซลล์มะเร็งที่ปลูกในหนูไร้ขนยังสามารถนำกลับมาเป็นต้นตอของเซลล์มะเร็งในคนใหม่ได้อีกด้วย(Giovanella และคณะ 1974)

เนื่องจากในประเทศไทย สามารถพบเห็ดหมื่นปีชนิดนี้ได้ทั่วไปโดยมีการกระจายกันอยู่ทั้งประเทศ อีกทั้งยังเป็นเห็ดพื้นเมืองที่ขึ้นง่าย โตเร็ว ปัจจุบันในแง่ของเทคนิคสามารถเพาะเลี้ยงได้ในถุงขี้เลื่อย และอาหารเหลว ในสภาวะที่ติดตามและ ควบคุมผลผลิตได้แน่นอน (ปรีชา กลิ่นเกษร, 2530 ; สุทธพรรณ ตรีรัตน์ และคณะ ,2531) นอกจากนี้มีรายงานว่าเส้นใย *G. lucidum* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว สามารถสังเคราะห์สาร β-glucan ที่มีคุณสมบัติต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูก (ปริญญา รัตนพิมาน และคณะ 1992) และยังสามารถปลดปล่อยสาร β-glucan ออกมาภายนอกเซลล์ที่มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญของ solid tumor ชนิด Sarcoma 180 เมื่อทำการฉีดอย่างต่อเนื่องเข้าใต้ผิวหนังดังนั้น การพยายามค้นคว้าศึกษาหา สารต้านมะเร็ง จากดอกเห็ดหรือเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจึงน่าจะมุ่งไปสู่การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติและผลการผลิต β-glucan ของเส้นใยกับดอกเห็ดตลอดจนกลไกการควบคุมเมตาบอลิสม และเทคนิคการเพาะเลี้ยงเห็ดดังกล่าว ให้มีปริมาณมากพอที่จะใช้ในอุตสาหกรรม ซึ่งการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด เป็นแหล่งของการผลิตสารโพลิแซคคาไรด์ ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ทั้งในลักษณะของการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว การเพาะเลี้ยงแบบนิ่ง (static) และ submerged จึงเป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับ

การขยายส่วนการผลิตเข้าสู่อุตสาหกรรม fermentation ในอนาคตต่อไป

ในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาสารโพลิแซคคาไรด์ จากดอก และเส้นใยตลอดจนส่วนที่ผลิตในอาหารเลี้ยงเส้นใย ตลอดจนส่วนที่ผลิตในอาหารเลี้ยงเส้นใยของเห็ดหมื่นปี *G. lucidum* สายพันธุ์ที่แยกได้จากประเทศไทย (สุทธพรรณ ตรีรัตน์, 2531) จากการสกัดแยกสารโพลิแซคคาไรด์ และสารโพลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ แล้วนำไปทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยตกตะกอนด้วยเอทธานอล และเทคนิคโครมาโตกราฟฟี สารที่ได้นำไปศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพบางประการ และคุณสมบัติการต้านมะเร็ง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาชนิด และองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง ตลอดจนสภาวะที่เหมาะสมบางประการ ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด *G. lucidum* เพื่อการผลิตสารโพลิแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติต้านมะเร็ง ในเชิงพาณิชย์ต่อไป โดยมีวัตถุประสงค์ของการวิจัยดังต่อไปนี้

1. เพื่อศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) โดยการเลี้ยงในอาหารเหลว และดอกเห็ดเพาะในถุงขี้เลื่อย

2. ศึกษาวิธีการสกัดแยกสารออกฤทธิ์ต้านมะเร็งจากเส้นใย และดอกเห็ดหมื่นปี และทำให้บริสุทธิ์บางส่วน

3. ศึกษาวิธีการทดสอบคุณสมบัติการต้านมะเร็งของสารที่สกัดแยกจากเส้นใย และดอกเห็ดหมื่นปี

4. ศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารออกฤทธิ์ต้านมะเร็ง