สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร
Naresuan University Publishing House

ตัวชี้วัดทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนัง

จากความรู้พื้นฐานสู่การนำไปประยุกต์ใช้เพื่อประเมินเวชสำอาง

Biomarkers of Skin Cells
From Basic Knowledge to Application for Cosmeceutical Evaluation

ตัวอย่าง

จารุภา วิโยชน์

ตัวชี้วัดทางชีวภาพ ของเซลล์ผิวหนัง

จากความรู้พื้นฐานสู่การนำไปประยุกต์ใช้เพื่อประเมินเวชสำอาง

Biomarkers of Skin Cells

From Basic Knowledge to Application for Cosmeceutical Evaluation

ตัวอย่าง

จารุภา วิโยชน์

สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร

Naresuan University Publishing House

www.nupress.grad.nu.ac.th

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของสำนักหอสมุดแห่งชาติ
National Library of Thailand Cataloging in Publication Data

จารุภา วิโยชน์.
ตัวชี้วัดทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนัง จากความรู้พื้นฐานสู่การนำไปประยุกต์ใช้เพื่อประเมินเวชสำอาง-- พิษณุโลก: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2560.
520 หน้า.
1. การทดสอบทางผิวหนัง. 2. ผิวหนัง. 3. เครื่องสำอาง--การประเมิน. I. ชื่อเรื่อง.
612.79
ISBN (e-Book) 978-616-426-027-6
สพน. 027

ตัวชี้วัดทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนัง จากความรู้พื้นฐานสู่การนำไปประยุกต์ใช้เพื่อประเมินเวชสำอาง
จารุภา วิโยชน์

สงวนลิขสิทธิ์โดยสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร
มกราคม พ.ศ. 2560 ราคา 570 บาท

การผลิตและการลอกเลียนหนังสือเล่มนี้ไม่ว่ารูปแบบใดทั้งสิ้น
ต้องได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร

ผู้จัดพิมพ์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร
มีวางจำหน่ายที่
1. บริษัท ซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด (มหาชน) อาคารทีซีไอเอฟ ทาวเวอร์ ชั้น 19 เลขที่ 1858/87-90 ถนนบางนา-ตราด แขวงบางนา เขตบางนา กรุงเทพฯ 10260 เบอร์โทรศัพท์ 0-2739-8000
2. บริษัท อมรินทร์ บุ๊ค เซ็นเตอร์ จำกัด 108 หมู่ 2 ถนนบางกรวย-จงถนอม ตำบลมหาสวัสดิ์ อำเภอบางกรวย นนทบุรี 11130 โทร. 0-2423-9998, 02-423-9999 กด 4
3. ศูนย์หนังสือแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาคารวิทยกิตติ์ ชั้น 14 ซอยจุฬาลงกรณ์ 64 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2218-9884-7

กองบรรณาธิการ กองบรรณาธิการจัดทำเอกสารสิ่งพิมพ์ทางวิชาการของสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร
ออกแบบปก สรญา แสงเย็นพันธ์

ตัวอย่าง

คำนำ

วัตถุประสงค์หนึ่งในการใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือ เพื่อป้องกันหรือชะลอผิวไม่ให้เกิดการแก่หรือเสื่อมสภาพก่อนวัยอันควร หรือฟื้นฟูผิวที่แก่หรือเสื่อมสภาพจนสู่ระดับที่ผู้ใช้พอใจ ถึงแม้เครื่อง สำอางไม่ได้เป็นปัจจัยสี่ในการดำรงชีวิต แต่เป็นสิ่งที่ส่งผลต่อความเชื่อมั่นและสามารถเสริมสร้างบุคลิก ในปัจจุบันอาจกล่าวได้ว่าอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเป็นธุรกิจที่มีความสำคัญมากในเชิงเศรษฐกิจของประเทศและได้มีการคิดค้นหาสารแอคทีฟ (active ingredient) ใหม่ๆ มาใช้ ทั้งจากพืชสมุนไพรที่มีอยู่มากมายในประเทศและสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับชีวโมเลกุลที่ผลิตโดยเซลล์ผิวหนัง ทั้งนี้ก็เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค

เพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารแอคทีฟที่ถูกคิดค้น และ/หรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของสารแอคทีฟ จึงมีความพยายามที่จะคิดค้นและตรวจสอบความถูกต้อง (validation) ของวิธีการทดสอบต่างๆ เพื่อนำมาใช้เพื่อพิสูจน์ประสิทธิภาพและความปลอดภัย โดยมีหน่วยงานต่างๆ เช่น OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) และ European Center for the Validation of Alternative Methods (EURL ECVAM) เป็นต้น ซึ่งเป็นหน่วยงานที่ถูกยอมรับในระดับนานาชาติ ได้ออกแบบการทดลองที่ใช้และไม่ใช้สัตว์ทดลอง อย่างไรก็ดีในปัจจุบันมีการรณรงค์การไม่ใช้สัตว์ทดลองในการทดสอบเครื่องสำอาง รวมทั้งในบางประเทศ เช่น ในสหภาพยุโรปได้ออกเป็นกฎหมายมาแล้ว ด้วยเหตุนี้การทดสอบโดยการไม่ใช้สัตว์ทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เซลล์หรือเนื้อเยื่อผิวหนังจึงได้รับการพัฒนาและถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามการทดสอบโดยใช้เซลล์และเนื้อเยื่อผิวหนังยังมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ ซึ่งผู้ใช้ไม่ว่าจะเป็นนักวิจัยผู้ปฏิบัติงานหรือผู้ เกี่ยวข้องทางด้านการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควรทราบ เพื่อนำไปสู่การนำวิธีการทดสอบไปใช้และการอ้างสรรพคุณได้อย่างถูกต้อง

ตัวอย่าง

หนังสือเล่มนี้มีเนื้อหาครอบคลุมตั้งแต่คำจำกัดความของเครื่องสำอางและเวชสำอาง การอ้างสรรพคุณ โครงสร้างของผิวหนังในระดับมหภาคและจุลภาค การทำงานและการผลิตชีวโมเลกุลที่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) โดยเซลล์หลักที่พบในผิวหนัง ได้แก่ คีราติโนไซต์ (keratinocyte) เมลาโนไซต์ (melanocyte) และไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) ส่วนในบทสุดท้ายจะเป็นเรื่องเกี่ยวกับการประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยเครื่องสำอาง โดยใช้เซลล์และเนื้อเยื่อผิวหนังเพาะเลี้ยง โดยนำความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการทำงานและการผลิตชีวโมเลกุลจากเซลล์เหล่านี้มาประยุกต์ ใช้

ท้ายสุดนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณบิดา น.ต.จงรักษ์ วิโยชน์ ร.น. มารดา นางวรรณะ วิโยชน์ สามี Mr. Francois Pierre Andre Grandmotte และบุตร Master Andre Michel Jongrak Grandmotte ที่เป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าในการเขียนหนังสือเล่มนี้ให้สำเร็จลุลวงไปด้วยดี ขอขอบคุณ Professor Philippe Humbert และ Dr. Céline Viennet จาก Engineering and Cutaneous Biology Laboratory, INSERM UMR 1098, University of Franche-Comte, Besancon, France สำหรับความร่วมมือในการทำงานวิจัยและการเพิ่มพูนความรู้เทคนิคต่างๆ ทางด้านการเพาะเลี้ยงเซลล์ และขอขอบคุณนิสิตและผู้ช่วยวิจัยทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ได้แก่ นางสาวสวรรยา ยาแก้ว นางสาวเขมจิรา เพ็ชดี นางสาวขวัญจิต อิสระสุข นายธรรมนูญ รุ่งสังข์ นางสาวไพจิตร อินปัญญา นางอัจฉริยา ไฝเครือ นางสาวศิรินทิพย์ อินทรประสิทธิ์ นางสาวขวัญฤดี มหิงษา นางสาวนริษรา ถิระรวีสิทธิ์ นางสาววงษ์นภา นาคใหญ่ นางสาวปิยาพร ดอนสิงห์ นางสาวกุลธิดา เหลืองประดิษฐ์กุล นางสาววิภาดา บุตรนาค นายนนทพรรษ์ ลีราชและนายปรียวัสดิ์ พิมพ์นวล สำหรับการทำงานวิจัยที่มีคุณค่าร่วมกันเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลในการเขียนหนังสือเล่มนี้ และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยนเรศวรในการสนับสนุนทุกๆ ด้าน

จารุภา วิโยชน์

ตัวอย่าง

สารบัญ

บทที่ **หน้า**

บทที่ 1 คำจำกัดความของเครื่องสำอางและเวชสำอาง 1

บทนำ 1

ความหมายของเครื่องสำอาง (cosmetics) 2

ความหมายของเวชสำอาง (cosmeceuticals) 4

บทสรุป 22

บทที่ 2 การอ้างสรรพคุณ 44

บทนำ 44

แนวทางในการอ้างสรรพคุณของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในประเทศไทย 45

แนวทางในการอ้างสรรพคุณของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในประเทศอื่น ๆ 52

รูปแบบในการอ้าง (types of claims) สรรพคุณ และการพิสูจน์ (claim substantiation) 52

บทสรุป 58

ตัวอย่าง

บทที่ 3 โครงสร้างของผิวหนังในระดับมหภาคและจุลภาค **61**

บทนำ 61

โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของผิวหนัง 62

1. หนังกำพร้า (epidermis or cuticle or scarf skin) 62

1.1 สตราตัมเบซาล (stratum basal) 63

1.2 สตราตัมสไปโนซัม (stratum spinosum) หรือชั้นพริคเคิลเซลล์ (prickle cell layer) 63

1.3 สตราตัมแกรนูโลซัม (stratum granulosum) หรือชั้นแกรนูลลาร์ (granular layer) 64

1.4 สตราตัมลูซิดัม (stratum lucidum) หรือชั้นโปร่งใส (transparent layer) 65

1.5 สตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) หรือชั้นฮอร์นี (horny layer) 65

1.6 ไขมันที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์คอร์นีโอไซต์ (corneocyte) มีบทบาทสำคัญต่อการทำหน้าที่เป็นชั้นกางกั้น (barrier layer) ของผิวหนัง 66

1.7 สารให้ความชุ่มชื้นตามธรรมชาติ (nature moisturizing factors, NMFs) 72

1.8 เอนไซม์กับกระบวนการหลุดลอก (desquamation) ของผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) 75

2. เยื่อฐาน (basement membrane) ที่อยู่ระหว่างชั้นหนังแท้และหนังกำพร้า 76

3. หนังแท้ (dermis or corium or cutis vera) 76

3.1 ชั้นบนหรือพาพิลารี (papillary layer) 76

3.2 ชั้นเรติคิวลาร์ (reticular layer) 77

3.3 ไฟบริลคอลลาเจน (collagen fibrils) 78

3.4 เส้นใยอีลาสติน (elastin fibers) 81

3.5 องค์ประกอบของเนื้อพื้น (ground substance): โปรติโอไกลแคน (proteoglycans) และไกลโคสอะมิโนไกลแคน (glycosaminoglycans) 84

4. ต่อมต่างๆ ในผิวหนัง 87

4.1 ต่อมไขมัน (sebaceous gland) 87

4.2 ต่อมเหงื่อ (sweat gland) 90

บทสรุป 91

ตัวอย่าง

บทที่ 4 คีราติโนไซต์: เซลล์หลักสำหรับการสร้างหนังกำพร้า..... 105

บทนำ..... 105

โกรธแฟคเตอร์ (growth factors) ฮอร์โมน (hormones) สารส่งผ่านประสาท (neurotransmitters) และสารสื่ออักเสบ (inflammatory mediators) ที่ผลิตโดยคีราติโนไซต์..... 107

1. สารส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์หรือโกรธแฟคเตอร์ (growth factors) และรีเซปเตอร์ (receptors) ที่เกี่ยวข้อง..... 107

1.1 อีพิเดอร์มัลโกรธแฟคเตอร์หรืออีจีเอฟ (epidermal growth factor, EGF) และรีเซปเตอร์..... 107

1.2 คีราติโนไซต์โกรธแฟคเตอร์หรือเคจีเอฟ (keratinocyte growth factor, KGF) ไฟโบรบลาสต์โกรธแฟคเตอร์หรือเอฟจีเอฟ (fibroblast growth factor, FGF) และรีเซปเตอร์..... 109

1.3 อินซูลิน-ไลค์โกรธแฟคเตอร์ 1 หรือไอจีเอฟ-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) และรีเซปเตอร์..... 109

2. ฮอร์โมน (hormones) และรีเซปเตอร์ (receptors) ที่เกี่ยวข้อง..... 110

2.1 คอร์ติโคโทรปินรีลีสซิงฮอร์โมนหรือซีอาร์เอช (corticotropin releasing hormone, CRH) และรีเซปเตอร์..... 110

2.2 โปรโอปิโอเมลาโนคอร์ตินหรือพีโอเอ็มซี (proopiomelanocortin, POMC) และรีเซปเตอร์..... 111

2.3 แอนโดรเจน (androgen) เอสโตรเจน (estrogen) โปรเจสเตอโรน (progesterone) และรีเซปเตอร์..... 111

2.4 กลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoids) มินเนอราโลคอร์ติคอยด์ (mineralocorticoid) และรีเซปเตอร์..... 114

2.5 โปรแลคติน (prolactin) และรีเซปเตอร์..... 115

2.6 พาราไทรอยด์ฮอร์โมนรีเลทเต็ดโปรตีน (parathyroid hormone related protein, PTHrP) และรีเซปเตอร์..... 116

2.7 ฮอร์โมนไทรอยด์ (thyroid hormone) และรีเซปเตอร์..... 116

2.8 เรตินอยด์ (retinoids) เรติโนอิคแอซิดรีเซปเตอร์หรืออาร์เออาร์ (retinoic acid receptors, RARs) และเรตินอยด์เอ็กซ์รีเซปเตอร์หรืออาร์เอ็กซ์อาร์ (retinoid x receptors, RXRs)..... 117

ตัวอย่าง

2.9 วิตามินดี (vitamin D) และรีเซปเตอร์ 122
3. นิวโรเพปไตด์ (neuropeptides) สารที่มีผลต่อการหลั่งของนิวโรเพปไตด์ สารส่งผ่านประสาท (neurotransmitters) และรีเซปเตอร์ (receptors) ที่เกี่ยวข้อง 123
3.1 เอ็นเคฟฟาลิน (enkephalins) และโอปิออยด์รีเซปเตอร์ (opioid receptors) 123
3.2 เวโซแอคทีฟอินเทสทินัลเพปไตด์หรือวีไอพี (vasoactive intestinal peptide, VIP) และรีเซปเตอร์ 124
3.3 ซับสแตนซ์พี (substance P) และนิวโรไคนินรีเซปเตอร์ (neurokinin receptors, NKR) 124
3.4 เนิร์ฟโกรธแฟคเตอร์หรือเอ็นจีเอฟ (nerve growth factor, NGF) และรีเซปเตอร์ 125
3.5. อะซีติลโคลีน (acetylcholine) และโคลิเนอร์จิครีเซปเตอร์ (cholinergic receptors) 125
3.6 อะดรีเนอร์จิค (adrenergic) และรีเซปเตอร์ 126
3.7 กลูตาเมต (glutamate) และรีเซปเตอร์ 127
3.8 แคลซิโตนินยีน-รีเลทเต็ดเพปไตด์หรือซีจีอาร์พี (calcitonin gene-related peptide, CGRP) และรีเซปเตอร์ 128
3.9 แกสตรินรีลีสซิงเพปไตด์ (gastrin releasing peptide) และรีเซปเตอร์ 130
4. สารสื่ออักเสบ (inflammatory mediators) และรีเซปเตอร์ (receptors) ที่เกี่ยวข้อง 131
4.1 ฮิสตะมีน (histamine) และรีเซปเตอร์ 131
4.2 โทลล์-ไลค์รีเซปเตอร์หรือทีแอลอาร์ (Toll-like receptors, TLRs) 132
4.3 โปรตีเนส-แอคทิเวเต็ดรีเซปเตอร์-2 หรือพาร์-2 (proteinase-activated receptor-2, PAR-2) 133
4.4 โพรสตาแกลนดิน (prostaglandins) และรีเซปเตอร์ 134
4.5 ไซโตไคน์ (cytokines) และรีเซปเตอร์ 134
5. สารชีวโมเลกุลและรีเซปเตอร์อื่นๆ 140
5.1 รีเซปเตอร์พูรินอร์จิค (purinergic receptors) 140
5.2 กลูตาไธโอน (glutathione) 140
5.3 กรดไฮยาลูโรนิค (hyaluronic acid) และรีเซปเตอร์ 141
บทสรุป 142

ตัวอย่าง

บทที่ 5 เมลาโนไซต์: เซลล์สร้างสารสี 176

บทนำ 176

การสร้างเม็ดสีผิวในเมลาโนโซมและความแตกต่างของสีผิว 177

การขนส่งเมลาโนโซมไปยังคีราติโนไซต์ ขั้นตอนสำคัญของการปรากฏสีผิว 183

สารชีวโมเลกุลจากคีราติโนไซต์และไฟโบรบลาสต์ มีผลต่อการทำงานของเมลาโนไซต์ 187

1. โปรโอปิโอเมลาโนคอร์ตินหรือพีโอเอ็มซี (proopiomelanocortin, POMC) อนุพันธ์ของพีโอเอ็มซี และรีเซปเตอร์ 188
2. อะดรีเนอร์จิค (adrenergic) และรีเซปเตอร์ 191
3. เอ็นโดเทลิน-1 หรืออีที-1 (endothelin, ET-1) และรีเซปเตอร์ 191
4. ไฟโบรบลาสต์โกรธแฟคเตอร์หรือเอฟจีเอฟ (fibroblast growth factor, FGF) และรีเซปเตอร์ 192
5. สเต็มเซลล์แฟคเตอร์หรือเอสซีเอฟ (stem cell factor, SCF) และรีเซปเตอร์ 192
6. นิวโรโทรฟิน (neurotrophin) และรีเซปเตอร์ 194
7. เฮพาโตไซต์โกรธแฟคเตอร์หรือเอชจีเอฟ (hepatocyte growth factor, HGF) และรีเซปเตอร์ 194
8. นิวเรกูลิน 1 หรือเอ็นอาร์จี 1 (neuregulin 1, NRG1) และรีเซปเตอร์ 195
9. เบตา-เอ็นดอร์ฟิน (β-endorphin) และโอปิออยด์รีเซปเตอร์ 195
10. แกรนูโลไซต์มาโครฟาจโคโลนีสติมิวเลติงแฟคเตอร์หรือจีเอ็ม-ซีเอสเอฟ (granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) และรีเซปเตอร์ 196
11. ลิวคีเมียอินฮิบิทอรีแฟคเตอร์หรือแอลไอเอฟ (leukemia inhibitory factor, LIF) และรีเซปเตอร์ 196
12. ไนตริคออกไซด์ (nitric oxide, NO) 196
13. ฮิสตะมีน (histamine, H) และรีเซปเตอร์ 197
14. โพรสตาแกลนดิน (prostaglandins) และรีเซปเตอร์ 198
15. สารสื่ออักเสบ (inflammatory mediators) อื่นๆ และรีเซปเตอร์ที่เกี่ยวข้อง 199
16. ฮอร์โมนเพศ และรีเซปเตอร์ 204

ตัวอย่าง

17. วิตามินดี (vitamin D) และรีเซปเตอร์ 206
18. เรตินอยด์ (retinoids) และรีเซปเตอร์ 208
19. สารชีวโมเลกุลชนิดอื่น ๆ 210
บทสรุป 212

บทที่ 6 ไฟโบลาสต์: เซลล์หลักของชั้นหนังแท้ 246
บทนำ 246
ไฟโบรบลาสต์รูปแบบต่าง ๆ 248
ไฟโบรบลาสต์ที่เสื่อมสภาพหรือซีเนสเซนซ์ (senescent fibroblast) กับผิวหนังที่แก่หรือเสื่อมสภาพ (skin aging) 252
1. เทโลเมียร์ (telomere) สั้นลงในเซลล์ที่เสื่อมสภาพ อันเนื่องมาจากการแบ่งตัวหลายรอบ (replicative senescence) 253
2. การแสดงออกของยีน และ/หรือโปรตีนในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่เสื่อมสภาพ 254
3. ไฟโบรบลาสต์ที่เสื่อมสภาพกับการตอบสนองต่อการทำงานของโกรธแฟคเตอร์ 256
4. ไฟโบรบลาสต์ที่แก่หรือเสื่อมสภาพ กับการบีบตัวของเซลล์และการจัดเรียงตัวของเมทริกซ์นอกเซลล์ 287
รังสียูวีกับผิวหนังแก่ก่อนวัย อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงในการทำงานของไฟโบรบลาสต์ 291
1. คอลลาเจนถูกทำลายและโซลาร์อีลาสโตสิส (solar elastosis) คือลักษณะของผิวหนังแก่เนื่องจากได้รับรังสียูวี 292
2. รังสียูวีกับการทำลายดีเอ็นเอและผลิตอาร์โอเอส 293
3. รังสียูวีกับการกระตุ้นไซโตไคน์ (cytokines) และโกรธแฟคเตอร์ (growth factors) 297
4. รังสียูวีกับการลดการสร้างโปรคอลลาเจน (procollagen) 300
แอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นโพรดักหรือเอจีอี (advanced glycation end-products, AGEs) กับการทำงานของไฟโบรบลาสต์ 300
โปรแลคติน (prolactin) เอสโตรเจน (estrogen) และอินซูลิน-ไลค์โกรธแฟคเตอร์ 1 หรือไอจีเอฟ-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) กับการทำงานของไฟโบรบลาสต์ 306
บทสรุป 307

ตัวอย่าง

บทที่ 7 การประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยเครื่องสำอางและ/หรือเวชสำอาง
โดยใช้เซลล์และเนื้อเยื่อผิวหนังเพาะเลี้ยง 342
บทนำ 342
คุณสมบัติของเซลล์ที่แยกจากเนื้อเยื่อผิวหนังโดยตรง (primary skin cells) และ
เซลล์ไลน์ (cell lines) ที่มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์ผิวหนัง 343
เซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ที่นิยมนำมาใช้ในการประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัย
ของสารที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและ/หรือเวชสำอาง 347
1. ฮาแคท (HaCaT, human, adult, low calcium, high temperature,
skin keratinocytes) 347
2. บี 16 เอฟ 1 (B16F1, mouse melanoma cell) และเมลาน-เอ (melan-a) 349
3. 3 ที 3 (3T3, 3-day transfer, inoculum 3 x 105 cells) 350
4. เซิร์ค (SIRC, Statens Seruminstitut Rabbit Cornea) 351
5. คีราติโนเซน (KeratinoSens™) 352
6. ทีเอชพี-1 (THP-1) 353
การแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนัง 354
1. การแยกผิวหนังชั้นหนังกำพร้าออกจากชั้นหนังแท้ 358
2. การแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ 359
3. การเพาะเลี้ยงไฟโบรบลาสต์ในโครงร่าง 3 มิติ (three-dimensional matrix) 368
4. การแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์คีราติไซต์และเมลาโนไซต์ 372
5. การเพาะเลี้ยงเซลล์ร่วมกัน (co-culture) ระหว่างเซลล์คีราติไซต์และเมลาโนไซต์ 378
5.1 การเพาะเลี้ยงโดยควบคุมสัดส่วนของคีราติโนไซต์ต่อเมลาโนไซต์ 379
5.2 การเพาะเลี้ยงโดยไม่ได้ควบคุมสัดส่วนของคีราติโนไซต์ต่อเมลาโนไซต์ 380
6. ข้อจำกัดของการนำเซลล์ผิวหนังที่ถูกเพาะเลี้ยงมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพ
และความปลอดภัย 380
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผิวหนัง (skin organ culture) 381
เซลล์ผิวหนังและตัวบ่งชี้ทางชีวโมเลกุล เพื่อการทดสอบและประเมินความปลอดภัย
ของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและ/หรือเวชสำอาง 386

ตัวอย่าง

เซลล์ผิวหนังและตัวบ่งชี้ทางชีวโมเลกุล เพื่อการทดสอบสรรพคุณของผลิตภัณฑ์
เครื่องสำอางและ/หรือเวชสำอาง..... 390
บทสรุป..... 391

ดัชนี..... 442

ตัวอย่าง

บทที่ 1

คำจำกัดความของเครื่องสำอางและเวชสำอาง

ตัวอย่าง

บทนำ

ถึงแม้ว่าวัตถุประสงค์ทั่วไปของการใช้เครื่องสำอาง (cosmetics) คือ เพื่อความสะอาด ปรับปรุงรูปลักษณ์ภายนอกหรือทำให้มีกลิ่นกายหอมน่าดึงดูด ในปัจจุบันพบว่ามีผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีรูปแบบและวัตถุประสงค์ในการใช้ที่หลากหลาย รวมทั้งได้มีการคิดค้นสารแอคทีฟ (active ingredient) หรือสารคอสเมซูติคอล (cosmeceutical agent) เพื่อนำมาใช้ในเครื่องสำอาง ในที่นี้ผู้เขียนใช้คำว่าสารแอคทีฟแทนที่จะใช้คำว่า สารออกฤทธิ์ หรือสารสำคัญ ซึ่งเป็นคำที่นิยมนำมาใช้กับเภสัชภัณฑ์ รวมทั้งเพื่อไม่ให้เกิดการสับสนกับคำนิยามของสารสำคัญตามที่กำหนดในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 โดยสารแอคทีฟดังกล่าว ไม่ได้มีวัตถุประสงค์ในการใช้เพียงเพื่อส่งเสริมความสวยงามหรือปรับปรุงรูปลักษณ์ภายนอกเท่านั้น แต่ยังมีผลต่อกระบวนการทางชีววิทยาของผิวหนังเพื่อเอื้อให้เกิดประโยชน์กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อเป้าหมาย ไม่ว่าจะเป็นเซลล์ที่อยู่ในชั้นหนังกำพร้า หนังแท้ รากผม หรือต่อมไขมันเป็นต้น ดังนั้นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีสารแอคทีฟเป็นส่วนประกอบ จึงมีวัตถุประสงค์ในการใช้ในเชิงป้องกัน (prevention) หรือฟื้นฟู (rejuvenation) ผิวหนังจากความแก่หรือเสื่อมสภาพ (aging) เมื่ออายุมากขึ้นหรือแก่ก่อนวัยเนื่องจากปัจจัยภายนอก เช่น รังสีอัลตราไวโอเลตหรือยูวี (ultraviolet ray, UV) หรือช่วยแก้ไขการผลิตเม็ดสีผิว (melanin) ที่ผิดปกติหรือช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิวหนัง เป็นต้น นำไปสู่ที่มาของคำว่า “เวชสำอาง” หรือ “คอสเมซูติคอล” (cosmeceuticals) ซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีคำจำกัดความตามกฎหมายรองรับ แต่คำๆ นี้ถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายในหลายประเทศเพื่อวัตถุประสงค์ในการระบุสรรพคุณของผลิตภัณฑ์ ที่มีแนวโน้มในการฟื้นฟูหรือป้องกันการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผิวหนัง

และการทำหน้าที่ของสารชีวโมเลกุลที่อยู่ในผิวหนัง ดังนั้นเพื่อให้ผู้อ่านเข้าใจและสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เวชสำอางและยา ในบทนี้จึงกล่าวถึงความหมายของเครื่องสำอางตามที่กฎหมายไทยกำหนด รวมทั้งของประเทศอื่นๆ เช่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรปและญี่ปุ่น และความหมายของเวชสำอางที่เป็นที่เข้าใจในปัจจุบัน

ความหมายของเครื่องสำอาง (cosmetics)

ตามคำจำกัดความ ในมาตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558[1] กำหนดไว้ว่า เครื่องสำอาง หมายถึง

1. วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อบ หรือกระทำด้วยวิธีอื่นใดกับส่วนภายนอกของร่างกายมนุษย์ และให้หมายความรวมถึงการใช้กับฟันและเยื่อบุในช่องปาก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อความสะอาด ความสวยงาม หรือเปลี่ยนแปลงลักษณะที่ปรากฏ หรือระงับกลิ่นกาย หรือปกป้องดูแลส่วนต่างๆ นั้น ให้อยู่ในสภาพดี และรวมตลอดทั้งเครื่องประทินต่างๆ สำหรับผิวด้วย แต่ไม่รวมถึงเครื่องประดับและเครื่องแต่งตัวซึ่งเป็นอุปกรณ์ภายนอกร่างกาย
2. วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางโดยเฉพาะ หรือ
3. วัตถุอื่นที่กำหนดโดยกฎกระทรวงให้เป็นเครื่องสำอาง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เข้าข่ายเป็นเครื่องสำอาง เช่น ครีมทาหน้า โลชันทาผิวกาย สบู่ แชมพู ครีมนวดผม ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก ลิปสติก บลัชออน อายแชโดว์ อายไลน์เนอร์ สีทาเล็บ แป้งทาหน้า แป้งฝุ่นโรยตัว ผ้าเย็นหรือกระดาษเย็น ผ้าอนามัย ผลิตภัณฑ์ย้อมผม ผลิตภัณฑ์ดัดผม ผลิตภัณฑ์กำจัดขน ผลิตภัณฑ์ฟอกสีผม ผลิตภัณฑ์ฟอกสีฟัน ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย และน้ำหอม

จากคำจำกัดความข้างบน อาจกล่าวได้ว่า ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนั้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน โดยการสัมผัสร่างกายภายนอก เพื่อความสะอาด ความสวยงาม และทำให้มีกลิ่นกายหอม ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่น เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้เพื่อวินิจฉัย บำบัด บรรเทา รักษาโรค หรือความผิดปกติต่างๆ ของร่างกาย ผลิตภัณฑ์ที่มีผลต่อโครงสร้างหรือการกระทำหน้าที่ต่างๆ ของร่างกายอันเป็นสรรพคุณทางยา ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ร่วมกับเครื่องมือแพทย์แล้วส่งผลให้สารถูกดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ประกอบการทำหัตถการต่างๆ ผลิตภัณฑ์ที่มิได้ใช้กับร่างกายมนุษย์โดยตรง และผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วยวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง เป็นต้น ไม่ถูกจัดว่าเป็นเครื่องสำอาง สำหรับคำว่า “สารสำคัญ” ที่ระบุไว้ในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 นั้น หมายถึง วัตถุที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางที่รัฐมนตรีประกาศกำหนดตามาตรา 6 (3) หรือวัตถุที่ทำให้เกิดสรรพคุณตามข้อความที่กล่าวอ้างไว้ในฉลาก หรือตามที่ได้จดแจ้งไว้ต่อผู้รับจดแจ้งตามที่รัฐมนตรีประกาศกำหนดตามมาตรา 6 (4) ดังนั้นสารสำคัญในที่นี้อาจหมายรวมถึงสารแอคทีฟที่ผู้เขียนกล่าวในที่นี้

ตัวอย่าง

บทที่ 2

การอ้างสรรพคุณ

ตัวอย่าง

บทนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยจัดอยู่ในอันดับที่ 17 ในการผลิตเครื่องสำอางของโลก อาจกล่าวได้ว่าอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญมากในเชิงเศรษฐกิจของประเทศ ในปี 2554 ประเทศไทยมีการส่งออกผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพิ่มขึ้น จากมูลค่าประมาณ 1,556 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ ในปี 2553 เป็นมูลค่า 1,723 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 10 โดยประมาณ[1] และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในปีต่อๆ มา ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ได้รับการยอมรับในตลาดโลกส่วนใหญ่มีสารสกัดจากธรรมชาติเป็นส่วนประกอบหรือทำหน้าที่เป็นสารแอคทีฟ (active ingredient) เพื่อรองรับความต้องการของผู้บริโภคที่นิยมใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติ เนื่องจากมีความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพและความปลอดภัย วิทยาการและเทคนิคทางวิทยาศาสตร์ที่ก้าวหน้าในปัจจุบัน เช่น เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อ สามารถนำมาใช้ศึกษาวิจัยในเชิงลึกเพื่อยืนยันประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารแอคทีฟ รวมทั้งทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่เป็นที่ยอมรับในระดับสากล ซึ่งนำไปสู่การคิดค้นพัฒนาสารแอคทีฟใหม่ๆ มาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ดังที่กล่าวไปแล้วในบทก่อนหน้านี้ว่าเครื่องสำอางนั้นหมายถึงของที่ใช้ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อบ ต่อส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกายเพื่อความสะอาดสวยงาม ดังนั้นจึงไม่สามารถอ้างว่าวินิจฉัย บำบัด บรรเทา รักษา ป้องกันโรคหรือความเจ็บป่วยได้ อย่างไรก็ตาม สารแอคทีฟที่นำมาใช้ในเครื่องสำอางที่พบในท้องตลาดมักมีผลต่อโครงสร้างหรือการทำงานของผิวหนัง เช่น ผลิตภัณฑ์ไวท์เทนนิ่ง (whitening products) ซึ่งมีสารแอคทีฟที่ส่งผลลดการผลิตเม็ดสีผิวโดยเซลล์เมลานาไซต์ (melanocyte) ผลิตภัณฑ์แอนตี้เอจจิง (antiaging products) หรือลดริ้วรอย ซึ่งมีสารแอคทีฟที่ส่งผลให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ลดการผลิตเอนไซม์ที่

ทำลายคอลลาเจน (collagen) หรือเหนี่ยวนำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่เสื่อมสภาพผลิตคอลลาเจนมากขึ้น และ/หรือลดการผลิตสารก่ออักเสบโดยเซลล์ผิวหนังที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต (ultraviolet ray, UV) และผลิตภัณฑ์สำหรับผิวมัน (oily skin treatment products) หรือสำหรับสิว (acne treatment products) ซึ่งมีสารแอคทีฟที่ช่วยลดการหลั่งไขผิวหนัง (sebum) จากต่อมไขมัน (sebaceous gland) ที่เป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น ประเทศไทยนั้นยังไม่มีกฎหมายรองรับเครื่องสำอางประเภทนี้เหมือนกับประเทศสหภาพยุโรปและญี่ปุ่น[2] ทั้งนี้ เครื่องสำอางที่ขายในท้องตลาดทุกชนิดในประเทศไทยถูกจัดเป็นเครื่องสำอางควบคุม[3,4] ซึ่งผู้ประกอบการต้องมาจดแจ้งต่อสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาก่อนผลิตและนำเข้า โดยขั้นตอนหนึ่งของการยื่นจดแจ้งคือต้องจัดทำแฟ้มข้อมูลผลิตภัณฑ์ (Product Information File, PIF) ซึ่งจะถูกจัดเก็บไว้ที่สถานที่ประกอบกิจการเครื่องสำอางและต้องส่งมอบให้กับพนักงานเจ้าหน้าที่ถ้ามีการร้องขอ แฟ้มข้อมูลผลิตภัณฑ์นั้นประกอบไปด้วยส่วนประกอบหรือสูตรของผลิตภัณฑ์ ฉลากผลิตภัณฑ์ วิธีการผลิต ข้อมูลความปลอดภัยและประสิทธิภาพหรือสรรพคุณ รวมทั้งข้อมูลทางวิชาการเพื่อสนับสนุนการอ้างประสิทธิภาพและสรรพคุณ ดังนั้นในบทนี้จะมีเนื้อหาครอบคลุมข้อกำหนดในการกล่าวอ้างสรรพคุณ ตามประกาศของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทย ข้อกำหนดของประเทศอื่นๆ เช่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรปและญี่ปุ่นในการอ้างสรรพคุณ และแหล่งข้อมูลที่สามารถนำมาใช้สนับสนุนการอ้างสรรพคุณ

แนวทางในการอ้างสรรพคุณของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในประเทศไทย

ตามมาตรา 41 ซึ่งเกี่ยวข้องกับโฆษณาเครื่องสำอางที่ออกตามความในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2538 รวมทั้งบทบัญญัติตามที่กำหนดไว้ใน ASEAN Cosmetic Directive เพื่อควบคุมไม่ให้มีการอ้างสรรพคุณเกินจริง[5-7] โดยมีข้อกำหนดที่สำคัญคือ หากมีการกล่าวอ้างสรรพคุณของสารที่เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง จะต้องเป็นสรรพคุณที่ไม่เป็นเท็จหรือเกินจริงและอยู่ในขอบข่ายของความเป็นเครื่องสำอาง[5] ได้แก่ มีผลต่อความสะอาด ความสวยงามหรือส่งเสริมให้เกิดความสวยงาม โดยไม่มีผลมุ่งหมายสำหรับให้เกิดผลแก่สุขภาพ โครงสร้าง หรือการกระทำหน้าที่ใดๆ ของร่างกายของมนุษย์ ซึ่งเป็นสรรพคุณทางยา ต้องมีสารที่กล่าวอ้างสรรพคุณอยู่ในผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่เพียงพอแก่การกล่าวอ้างสรรพคุณ รวมทั้งจะต้องพิสูจน์ได้โดยตรวจสอบจากหลักฐาน เช่น ตำราหรือวารสารทางวิชาการที่ใช้ในการศึกษาและค้นคว้าเกี่ยวกับวิชาเครื่องสำอาง ทางการแพทย์หรือทางเภสัชศาสตร์ หรือหนังสือรับรองจากหน่วยงานของรัฐหรือสถาบันเอกชนที่เชื่อถือได้ทั้งของไทยหรือต่างประเทศ หรือผลการทดลองหรือตรวจสอบคุณภาพเครื่องสำอางของทางสถาบันทางราชการทั้งไทยหรือต่างประเทศ หรือสถาบันการศึกษาอันมีความเชี่ยวชาญ หรือผลการทดลองหรือตรวจสอบคุณภาพเครื่องสำอางของสถาบันเอกชนทั้งของประเทศไทยหรือต่างประเทศ ซึ่งสถาบันเหล่านี้จะต้องได้รับการรับรองจากหน่วยงานของรัฐ ทั้งนี้ ตัวอย่างของแนวทางการอ้างสรรพคุณที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้จัดทำขึ้น โดยจำแนกเครื่องสำอางออกเป็น 15 กลุ่ม และแต่ละกลุ่มมีแนวทางในการกำกับการกล่าวอ้างสรรพคุณดังที่แสดงในตารางที่ 2.1

ตัวอย่าง

บทที่ 3

โครงสร้างของผิวหนัง ในระดับมหภาคและจุลภาค

ตัวอย่าง

บทนำ

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีพื้นที่มากที่สุดในร่างกาย โดยจะครอบคลุมพื้นที่ประมาณ 16 ตารางฟุต หน้าที่ของผิวหนัง ได้แก่ ปกป้องอวัยวะภายในจากความร้อน จุลินทรีย์ และการบาดเจ็บเนื่องจากแรงกระทำจากภายนอก นอกจากนี้ ผิวหนังยังเป็นอวัยวะที่ก่อให้เกิดความรู้สึก และทำหน้าที่ขับถ่ายของเสียหรือสิ่งที่เป็นพิษต่อร่างกายในรูปของเหงื่อ ผิวหนังเป็นสิ่งที่ใช้บ่งบอกสุขภาพและอายุของผู้เป็นเจ้าของได้ หากผิวหนังแก่หรือเสื่อมสภาพ จะส่งผลให้ลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างของผิวหนังในระดับมหภาคและจุลภาคเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ผิวหนังบางลงเนื่องจากจำนวนเซลล์ลดลง และความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นลดลงเนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีที่มีความชอบน้ำลดลง เป็นต้น

ผลิตภัณฑ์เวชสำอางที่มีวัตถุประสงค์ในการใช้เพื่อชะลอความแก่ หรือเสื่อมสภาพของผิวหนังอันเนื่องมาจากสิ่งกระตุ้นจากภายนอก หรือฟื้นฟูผิวหนังที่เสื่อมสภาพให้กลับมามีคุณสมบัติและทำงานได้ดีขึ้น เช่น ผลิตภัณฑ์เพื่อรักษาความชุ่มชื้น ลดริ้วรอยและปรับความสม่ำเสมอของสีผิว ส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยสารแอคทีฟ (active ingredient) ที่อ้างว่ามีผลต้านออกซิเดชัน ต้านการอักเสบ กระตุ้นการสร้างเส้นใยคอลลาเจน (collagen) อีลาสติน (elastin) หรือองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติของผิวหนัง และ/หรือลดการสร้างสารสีเกิน (hyperpigmentation) เป็นต้น ในการที่จะพิสูจน์ว่าสารแอคทีฟส่งผลเหล่านี้หรือไม่ ควรมีความรู้ความเข้าใจในระดับมหภาค ได้แก่ โครงสร้าง และจุลภาค ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมีและชีวโมเลกุลของผิวหนัง เพื่อที่จะสามารถออกแบบตัวชี้วัดได้อย่างเหมาะสม เช่น ตัวชี้วัดทางชีวกลศาสตร์ (biomechanical properties) ของผิวหนังเมื่อทำการศึกษาระดับในกาย (*in vivo*) และชนิด

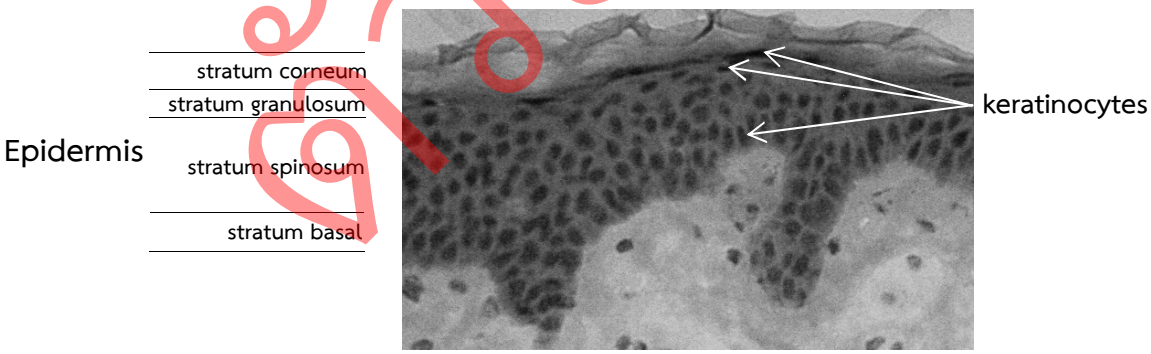
และ/หรือปริมาณของสารชีวโมเลกุลเมื่อทำการศึกษานอกกาย (*in vitro*) โดยใช้เซลล์หรือเนื้อเยื่อผิวหนังเพาะเลี้ยง เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่จะก่อให้เกิดความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารแอคทีฟ

โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของผิวหนัง

ผิวหนังของมนุษย์แบ่งเป็น 3 ชั้น ได้แก่ ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) หนังแท้ (dermis) และชั้นรองรับผิวหนัง (hypodermis) ซึ่งในชั้นสุดท้ายนี้มีเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) อยู่มาก ทั้งนี้ ก็เพื่อป้องกันอวัยวะภายในจากการถูกกระแทกและยังเป็นที่สะสมไขมัน (fat reservoir) ของร่างกาย ในบทนี้จะกล่าวถึงโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของผิวหนังชั้นหนังกำพร้าและหนังแท้ เนื่องจากสารแอคทีฟส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและ/หรือเวชสำอาง มีเป้าหมายในการแสดงผลทางชีวภาพที่ 2 ชั้นนี้

1. หนังกำพร้า (epidermis or cuticle or scarf skin)

หนังกำพร้าเป็นส่วนของผิวหนังที่อยู่ชั้นนอกสุด ในแต่ละแห่งของร่างกายนั้นหนังกำพร้าจะมีความหนาไม่เท่ากัน โดยทั่วไปจะมีความหนาอยู่ในช่วง 75 ถึง 150 ไมโครเมตร โดยส่วนอุ้งมือและอุ้งเท้าจะหนาที่สุด คือ ประมาณ 400 ถึง 600 ไมโครเมตร ชั้นหนังกำพร้าแบ่งเป็น 4 ถึง 5 ชั้นย่อย (รูปที่ 3.1) ซึ่งแต่ละชั้นมีโครงสร้างและหน้าที่ต่างกัน โดยชั้นบนสุด ได้แก่ สตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) หรือที่เรียกว่าชั้นฮอร์นี (horny layer) เซลล์ผิวหนังในชั้นนี้จะมีการหลุดลอกออกไป (desquamation) และถูกสร้างขึ้นมาทดแทนใหม่ (turnover) เป็นวงจร ในแต่ละวงจรใช้เวลาประมาณ 2 ถึง 4 สัปดาห์[1] วงจรการหลุดลอกของผิวหนังในแต่ละแห่งของร่างกายจะใช้เวลาไม่เท่ากัน



รูปที่ 3.1 รูปถ่ายของเนื้อเยื่อผิวหนังกำพร้า (epidermis) ที่ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลิน (hematoxylin) และอีโอซิน (eosin) ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงโครงสร้างที่ประกอบไปด้วยเซลล์คีราติโนไซต์ (keratinocyte) ที่มีรูปร่างต่างๆ เมื่ออยู่ในหนังกำพร้าชั้นต่างๆ ได้แก่ สตราตัมเบซาล (stratum basal) สตราตัมสไปโนซัม (stratum spinosum) สตราตัมแกรนูโลซัม (stratum granulosum) และสตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum)

ตัวอย่าง

บทที่ 4

คีราติโนไซต์: เซลล์หลักสำหรับการสร้างหนังกำพร้า

ตัวอย่าง

บทนำ

คีราติโนไซต์เป็นเซลล์ที่พบอยู่ประมาณร้อยละ 85 ของเซลล์ในชั้นหนังกำพร้า[1] คีราติโนไซต์จะเกิดการเพิ่มจำนวน (proliferation) เปลี่ยนสภาพ (differentiation) พร้อมกับเคลื่อนย้ายที่ (migration) จากหนังกำพร้าชั้นสตราตัมเบซาล (stratum basal) ที่อยู่ชั้นล่างสุด ไปสู่ชั้นบนสุดเพื่อหลุดลอกออกไป ซึ่งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่อยู่ที่หนังกำพร้าชั้นล่างและการหลุดลอกของเซลล์ที่ผิวหนังชั้นบนสุดจะต้องสมดุลกัน เพื่อให้ผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) ยังคงอยู่ มีความหนาที่เหมาะสมและยังคงทำหน้าที่เป็นปราการป้องกันสิ่งแปลกปลอมจากภายนอก รวมทั้งกักเก็บน้ำไว้ในผิว การที่เซลล์คีราติโนไซต์ที่อยู่ในชั้นสตราตัมเบซาลมีความสามารถในการเพิ่มจำนวน เพื่อทดแทนเซลล์ที่เปลี่ยนสภาพและเคลื่อนย้ายออกไปอยู่ในชั้นถัดขึ้นไปได้นั้น ก็เนื่องจากในชั้นนี้มีเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์คีราติโนไซต์ (keratinocyte stem cell) อยู่[2,3] ซึ่งเซลล์ชนิดนี้มีจำนวนไม่มาก เนื่องจากเซลล์ชนิดนี้เมื่อแบ่งตัวแล้วส่วนใหญ่จะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการแบ่งตัวเองได้อย่างรวดเร็ว ที่มีชื่อเรียกว่า ทรานซิทแอมปลิไฟอิงเซลล์หรือเซลล์ทีเอ (transit amplifying cell, TA cell) ดังนั้น เซลล์เพาะเลี้ยงที่แยกได้จากเนื้อเยื่อผิวหนังกำพร้าที่มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนในระหว่างการเพาะเลี้ยง จึงเป็นเซลล์คีราติโนไซต์ชนิดเซลล์ทีเอ[1] รูปที่ 4.1 แสดงรูปร่างเซลล์คีราติโนไซต์ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณใบหน้าและถูกเพาะเลี้ยงอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงที่จำเพาะกับเซลล์ชนิดนี้

รูปที่ 4.1 เซลล์คีราติโนไซต์ (keratinocyte) ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณใบหน้า และถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ (inverted microscope) ที่กำลังขยาย 400 เท่า

การเคลื่อนที่ของคีราติโนไซต์ขึ้นไปอยู่บนชั้นถัดไป จะเกิดขึ้นพร้อมกับเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงสัณฐานและผลิตสารชีวโมเลกุลที่แตกต่าง (post-mitotic differentiating cell)[3] เช่น จากที่มีสัณฐานเป็นทรงกระบอก จะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์แบนๆ และผลิตเคอราทิน (keratin) ต่างชนิดออกไป เคอราทินเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโครงร่างค้ำจุนเซลล์ และยังสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ลักษณะเฉพาะของเซลล์ที่อยู่ในแต่ละชั้น หรือบ่งบอกความผิดปกติในการทำงานของเซลล์ ยกตัวอย่างเช่น เซลล์ที่อยู่ในชั้นล่างสุดของหนังกำพร้าจะผลิตเคอราทิน ชนิดที่ 5, 14, 15 และ 19 ในขณะที่เซลล์คีราติไซต์ที่อยู่เหนือชั้นนี้จะผลิตเคอราทิน 1 และ 10[4-6] ส่วนเคอราทิน 2 และ 9 จะพบในผิวหนังบริเวณที่หนา[4] เช่น ส้นเท้าและฝ่ามือ เป็นต้น นอกจากเคอราทินแล้ว สารชีวโมเลกุลอื่นๆ ถูกนำมาใช้บ่งชี้สภาวะของเซลล์เช่นกัน ยกตัวอย่างเช่น โปรตีนอินทีกริน (integrins) เช่น อินทีกรินเบตา 1 (integrin β1) และอินทีกรินแอลฟา 6 (integrin α6) จะพบในเซลล์ที่อยู่ในชั้นสตราตัมเบซาล[7,8] โปรตีนชนิดนี้นอกจากจะทำหน้าที่เป็นตัวรับยึด (adhesion receptor) เพื่อยึดเซลล์คีราติโนไซต์ที่อยู่ในชั้นสตราตัมเบซาลไว้กับเยื่อฐาน (basement membrane) โดยจับกับลามินินชนิดต่างๆ (laminins) ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อฐานแล้ว ยังมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนสภาพและการเคลื่อนย้ายที่ของเซลล์ไปอยู่บนชั้นถัดขึ้นไป โดยโปรตีนพี 63 (p63)[9,10] ทำหน้าที่เหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออก (expression) ของยีนผลิตอินทีกรินและการสร้างเยื่อฐาน รูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นตัวอย่างโปรตีนและเอนไซม์ที่ผลิตจำเพาะโดยเซลล์ที่อยู่ในหนังกำพร้าแต่ละชั้น สารชีวโมเลกุลที่ยกตัวอย่างขึ้นมานี้มีความสำคัญต่อการสร้างชั้นสตราตัมคอร์เนียม และสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้เพื่อศึกษาผลทางชีวภาพของสารที่ต้องการทดสอบว่ามีผลอย่างไรต่อการทำงานของคีราติโนไซต์และการสร้างหนังกำพร้า หน้าที่ของสารชีวโมเลกุลเหล่านี้ได้กล่าวไปแล้วในบทที่ 3 นอกจากนี้ คีราติไซต์ยังผลิตโกรธแฟคเตอร์ ฮอร์โมน สารส่งผ่านประสาทและสารสื่ออักเสบที่มีความสำคัญต่อการสร้างและคงอยู่ของหนังกำพร้า ดังที่จะกล่าวต่อไป

ตัวอย่าง

บทที่ 5

เมลาโนไซต์: เซลล์สร้างสารสี

ตัวอย่าง

บทนำ

เมลาโนไซต์ (melanocyte) เป็นเซลล์ที่พบอยู่ประมาณร้อยละ 5 ของเซลล์ในชั้นหนังกำพร้า[1] และมีจำนวนประมาณ 1,200 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร[2,3] ทั้งนี้ จำนวนเซลล์จะขึ้นอยู่กับเชื้อชาติ โดยเมลาโนไซต์มีตำแหน่งอยู่ที่ชั้นสตราตัมเบซาลของหนังกำพร้า (รูปที่ 5.1) ทำหน้าที่ผลิตสารสี (pigment) โดยเม็ดสีผิวหรือที่เรียกว่าเมลานินแกรนูล (melanin granule) ถูกสร้างภายในถุงที่มีชื่อว่าเมลาโนโซม (melanosome) ซึ่งอยู่ในไซโตพลาซึม (cytoplasm) ของเซลล์ เมลาโนไซต์พัฒนามาจากเมลาโนบลาสต์ (melanoblast) ซึ่งมีต้นกำเนิดมาจากนิวรัลเครสท์ (neural crest)[4] ที่พบในช่วงที่เป็นตัวอ่อน (embryo) และเป็นต้นกำเนิดของเซลล์ประสาทเช่นกัน เมลาโนบลาสต์จะเคลื่อนย้ายมาที่ผิวหนังพร้อมกับการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมลาโนไซต์ที่มีแขนงหรือเดนไดรต์ (dendrite) (รูปที่ 5.2) ยื่นไปสู่เซลล์คีราติโนไซต์ (keratinocyte) ที่อยู่ในหนังกำพร้าชั้นสตราตัมสไปโนซัม (stratum spinosum) และทำหน้าที่ขนส่งเมลาโนโซมที่บรรจุเม็ดสีผิวไปยังเซลล์คีราติโนไซต์ การขนส่งเม็ดสีผิวเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อการเกิดสีผิวและปกป้องผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเลตหรือยูวี (ultraviolet ray, UV) ทั้งนี้เมลาโนไซต์จำนวน 1 เซลล์จะส่งเม็ดสีผิวให้กับคีราติโนไซต์จำนวนประมาณ 40 เซลล์ ซึ่งเรียกว่าอีพิเดอร์มัลเมลานินยูนิต (epidermal melanin unit)[5]

ในบทนี้ กล่าวถึงความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดสีผิว และการขนส่งเม็ดสีผิวไปยังเซลล์คีราติโนไซต์ที่เชื่อมโยงกับลักษณะสีผิวที่ปรากฏ ปัจจัยภายนอกและภายในที่มีผลต่อการสร้างเม็ดสีผิว รวมทั้งฮอร์โมน (hormones) ไซโตไคน์ (cytokines) โกรธแฟคเตอร์ (growth factors) และสารชีวโมเลกุลอื่นๆ ซึ่งข้อมูลพื้นฐานเหล่านี้ จะเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ประยุกต์เพื่อการประเมินประสิทธิภาพและ

ความปลอดภัยของสารแอคทีฟ (active ingredient) ที่จะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ภัณฑ์ไวท์เทนนิ่ง (whitening product)

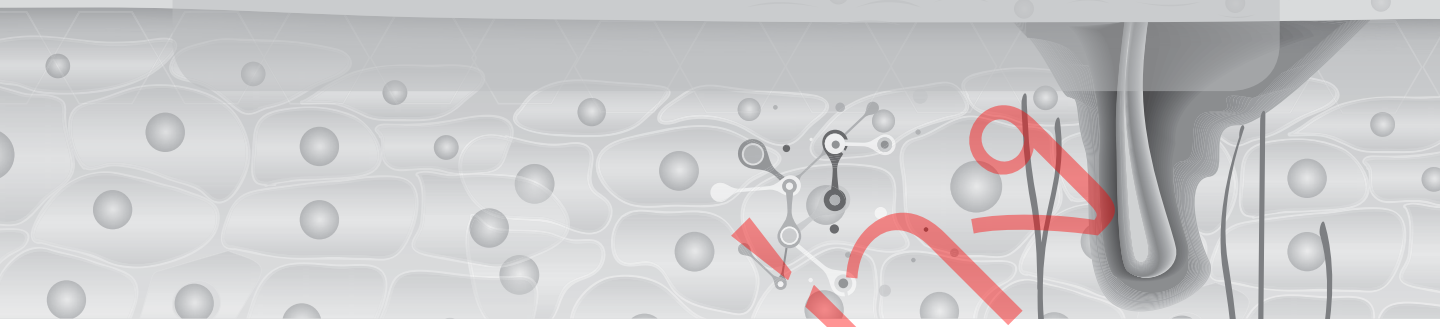
การสร้างเม็ดสีผิวในเมลาโนโซมและความแตกต่างของสีผิว

เมลาโนเจเนสิส (melanogenesis) เป็นกระบวนการทางชีวเคมีของการสังเคราะห์เม็ดสีผิวซึ่งเกิดขึ้นภายในถุงที่อยู่ในไซโตพลาซึม (cytoplasm) ถุงนี้มีชื่อว่าเมลาโนโซม (melanosome) เม็ดสีผิวนั้นมีความสำคัญในการปกป้องผิวหนังจากอันตราย เนื่องจากมีคุณสมบัติในการดูดซับรังสียูวี และ/หรือทำให้รังสีกระเจิงออก[6] จับอนุมูลอิสระ[7] สามารถเกิดปฏิกิริยาควบคู่[7] คือถูกออกซิไดซ์ (oxidized) หรือสูญเสียอิเล็กทรอน และถูกรีดิวซ์ (reduced) หรือได้รับอิเล็กทรอน รวมทั้งสามารถกักเก็บไอออน[8] เม็ดสีผิวหรือเมลานินที่ถูกผลิตโดยเมลาโนไซต์มี 2 ชนิด คือ ฟีโอเมลานิน (pheomelanin) ซึ่งเป็นเม็ดสีสีเหลืองถึงแดง และยูเมลานิน (eumelanin) ซึ่งเป็นเม็ดสีสีน้ำตาลหรือดำ ขั้นตอนการสังเคราะห์ฟีโอเมลานินและยูเมลานินแสดงในรูปที่ 5.3 ซึ่งสรุปได้ว่า การที่เซลล์จะผลิตเม็ดสีผิวชนิดไหนนั้นขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นที่มีอยู่และการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ในการสังเคราะห์เม็ดสีผิวนั้น ต้องอาศัยเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ ไทโรซิเนส (tyrosinase) ไทโรซิเนส-รีเลทเต็ดโปรตีน 1 (tyrosinase-related protein 1, TYRP1) และโดปาโครมทอโทเมอเรส (DOPAchrome tautomerase, DCT) หรือมีอีกชื่อหนึ่งว่า ไทโรซิเนส-รีเลทเต็ดโปรตีน 2 (tyrosinase-related protein2, TYRP2) โดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด มีโครงสร้าง กระบวนการสังเคราะห์ และเส้นทางการเปลี่ยนแปลงสภาพและเคลื่อนที่ไปยังเมลาโนโซมที่ใกล้เคียงกัน[9] ไทโรซิเนสหรือโมโนฟีนอลโมโนออกซีจีเนส (monophenol monooxygenase) เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เม็ดสีผิว ที่ประกอบไปด้วยไอออนคอปเปอร์ (copper ion) ทำหน้าที่เป็นปัจจัยร่วม (cofactor) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในขั้นตอนการเติมหมู่ไฮดรอกซี (hydroxy) ที่โมเลกุลของไทโรซีน (tyrosine hydroxylation) ซึ่งเป็นขั้นตอนที่กำหนดความเร็วของปฏิกิริยาทางเคมีทั้งหมด (rate-limiting step)[9] ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมลาโนเจเนสิส สำหรับไทโรซิเนส-รีเลทเต็ดโปรตีน 1 และโดปาโครมทอโทเมอเรสนั้น เป็นเอนไซม์สำหรับทำให้เกิดเม็ดสีผิวชนิดต่างๆ จากรูปที่ 5.3 เมื่อไทโรซีน (tyrosine) ถูกเติมหมู่ไฮดรอกซีโดยไทโรซิเนส ได้เป็น 3, 4-ไดไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน (3,4-dihydroxyphenylalanin) หรือโดปา (DOPA) แล้ว โดปาที่เกิดขึ้นจะถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วได้เป็นโดปา-ควิโนน (DOPAquinone) สำหรับการผลิตฟีโอเมลานินนั้น โดปาควิโนนจะเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับสารกลุ่มไธออล (thiols) เช่น ซิสเตอีน (cysteine) หรือกลูตาไธโอน (glutathione) ได้เป็น 3-/5-ซิสเตนิลโดปา (3-/5-cysteinylDOPA) แล้วถูกออกซิไดซ์และพอลิเมอไรซ์ (polymerization) ต่อ ได้เป็นเม็ดสีชนิดฟีโอเมลานินที่มีสีเหลืองถึงแดง ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเบนโซไธอะซีน (benzothiazine) ที่สามารถละลายได้ในสภาวะที่เป็นด่าง ในส่วนของกระบวนการผลิตยูเมลานินนั้น เกิดขึ้นโดยไม่ต้องอาศัยซิสเตอีน ทั้งนี้โมเลกุลของโดปาควิโนนจะเกิดการเชื่อมโยงกันเองเป็นวงแหวน (cyclization) ได้เป็นโดปาโครม (DOPAchrome) หลังจากนั้น หมู่กรดคาร์บอก-ซิลิค (carboxylic acid) ที่อยู่ในโมเลกุลจะหลุดออก เกิดเป็น 5,6-ไดไฮดรอกซีอินโดลหรือดีเอชไอ (5,6-dihydroxyindole, DHI) ดีเอชไอที่เกิดขึ้นจะถูกเปลี่ยนเป็น อินโดล-5,6-ควิโนน (indole-5,6-quinone) โดย

ตัวอย่าง

บทที่ 6

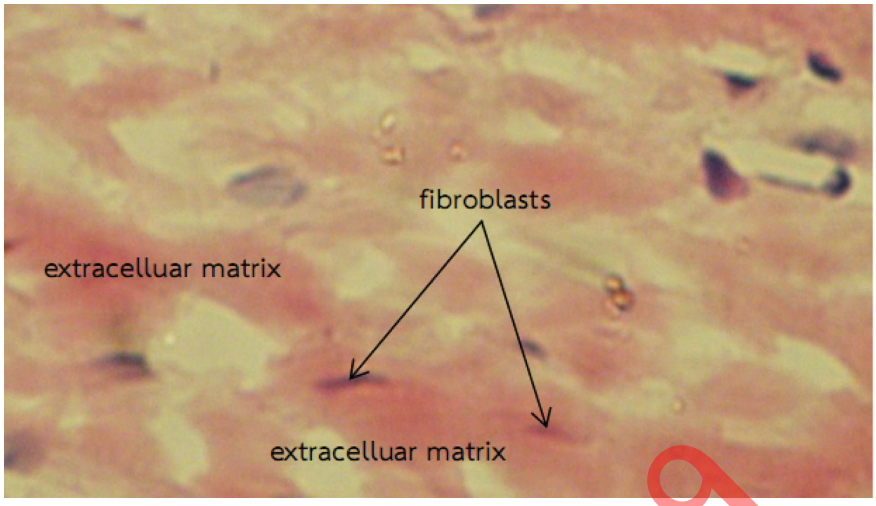
ไฟโบลาสต์: เซลล์หลักของชั้นหนังแท้



ตัวอย่าง

บทนำ

ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) เป็นเซลล์หลักที่พบในผิวหนังชั้นหนังแท้ (dermis) และมีหน้าที่ในการผลิตไซโตไคน์ (cytokines) โกรธแฟคเตอร์ (growth factors) และฮอร์โมน (hormones) ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนสภาพของเซลล์ไฟโบรบลาสต์เองและเซลล์ชนิดอื่นๆ รวมทั้งผลิตและปลดปล่อยโปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เช่น คอลลาเจน (collagen) และอีลาสติน (elastin) และองค์ประกอบเคมีอื่นๆ เช่น โปรติโอไกลแคน (proteoglycans) รวมเรียกว่า เมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ที่มีผลต่อคุณสมบัติเชิงกลของผิวหนัง เช่น ความยืดหยุ่น ดังที่ได้กล่าวไปแล้วในบทโครงสร้างของผิวหนังระดับมหภาคและจุลภาค เมทริกซ์นอกเซลล์ที่ไฟโบรบลาสต์ผลิตและปลดปล่อยออกมานั้นทำหน้าที่เป็นโครงร่าง (scaffold) ให้ไฟโบรบลาสต์ยึดเกาะและทำงานได้ รูปที่ 6.1 แสดงรูปเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่กระจายตัวอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ของชั้นหนังแท้



รูปที่ 6.1 รูปเนื้อเยื่อผิวหนังชั้นหนังแท้ (dermis) ที่ถูกย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลิน (hematoxylin) และอีโอซิน (eosin) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงให้เห็นถึงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) ที่กระจายตัวอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix)

เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่มีตำแหน่งอยู่ที่ชั้นพาพิลารี (papillary layer) และเรติคิวลาร์ (reticular layer) จะมีรูปร่าง การผลิตโปรตีนเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ที่แตกต่างกัน[1,2] นอกจากนี้ไฟโบรบลาสต์ที่อยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณเดียวกันอาจมีความแตกต่างในแง่รูปร่าง ความสามารถในการเพิ่มจำนวน การผลิตและการตอบสนองต่อการกระตุ้นโดยไซโตไคน์และโกรธแฟคเตอร์ รวมไปถึงการผลิตคอลลาเจนและการผลิตเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายคอลลาเจน[3-8] เป็นต้น ความสมดุลในสัดส่วนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์แต่ละแบบในผิวหนัง มีความสำคัญต่อการคงสภาพทางกายภาพและประสิทธิภาพในการทำหน้าที่ของผิวหนัง การที่สมดุลนี้สูญเสียไปเพราะการผลิตฮอร์โมน (hormones) ไซโตไคน์ (cytokines) โกรธแฟคเตอร์ (growth factors) และสารชีวโมเลกุลอื่นๆ เปลี่ยนแปลงไป อันเนื่องมาจากปัจจัยภายใน เช่น เมื่ออายุมากขึ้น หรือจากปัจจัยภายนอก เช่น รังสียูวี (UV radiation) การสูบบุหรี่และการดื่มแอลกอฮอล์ เป็นต้น จะส่งผลให้เนื้อเยื่อผิวหนังเกิดการแก่หรือเสื่อมสภาพ (aging) ในปัจจุบัน มีการศึกษาจำนวนมากที่พยายามอธิบายเพื่อเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของไฟโบรบลาสต์และการเสื่อมสภาพของผิวหนังอันเนื่องมาจากปริมาณคอลลาเจน (collagen) ที่หนังแท้ลดลง ดังนั้น ในบทนี้จึงมีเนื้อหาครอบคลุมเรื่องของไฟโบรบลาสต์แบบต่างๆ ที่พบในผิวหนัง กระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ปกติและเสื่อมสภาพ รวมทั้งฮอร์โมน ไซโตไคน์ โกรธแฟคเตอร์และสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่ส่งผลต่อการทำงานของไฟโบรบลาสต์ ซึ่งข้อมูลพื้นฐานเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ประยุกต์เพื่อการประเมินประสิทธิภาพของสารแอคทีฟ (active ingredient) ที่จะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์แอนตี้เอจจิง (antiaging product) สำหรับชะลอหรือป้องกันการเสื่อมสภาพของผิวหนังก่อนวัยอันควร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อันเนื่องมาจากปัจจัยภายนอก ได้แก่ รังสียูวี

ตัวอย่าง

บทที่ 7

การประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยของเครื่องสำอางและ/หรือเวชสำอางโดยใช้เซลล์และเนื้อเยื่อผิวหนังเพาะเลี้ยง

ตัวอย่าง

บทนำ

อาจกล่าวได้ว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อผิวหนัง เป็นเทคนิคที่สำคัญสำหรับงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางเพื่อการพิสูจน์ประสิทธิภาพและความปลอดภัย และการค้นคว้าหาสารแอคทีฟใหม่ๆ มาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การที่หลายประเทศมีนโยบายห้ามวางจำหน่ายผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ผ่านการทดสอบในสัตว์ทดลอง นำไปสู่การศึกษาวิจัยในเชิงลึกเพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบของผิวหนังในระดับชีวโมเลกุล ควบคู่กับการพัฒนาเทคโนโลยีทางชีวภาพเพื่อนำมาใช้ในการออกแบบโมเดล (model) หรือรูปแบบของการทดสอบโดยใช้เซลล์หรือเนื้อเยื่อผิวหนังมนุษย์ เพื่อให้ผลการทดสอบที่ได้สอดคล้องกับผลที่เกิดขึ้นกับผิวหนังมนุษย์ ทั้งนี้รูปแบบการทดสอบดังกล่าวควรจะต้องผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง หรือความสมเหตุสมผลของวิธีการทดสอบ (validation) ในปัจจุบัน สหภาพยุโรปมีหน่วยงาน European Center for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) หรือที่เรียกแบบย่อว่า เอคแวม สหรัฐอเมริกามีหน่วยงาน Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) และญี่ปุ่นมีหน่วยงาน Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) ทำหน้าที่ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทางเลือก (alternative methods) เช่น วิธีที่ใช้เซลล์หรือเนื้อเยื่อมาประเมินความปลอดภัยสารที่จะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับมนุษย์ เช่น เครื่องสำอางหรือยา ทำให้การศึกษาโดยใช้เซลล์และเนื้อเยื่อผิวหนังเพาะเลี้ยงเป็นที่ยอมรับและแพร่หลายในระดับสากลมากขึ้น

จากที่กล่าวมาแล้วในบทก่อนหน้านี้ ว่าผิวหนังประกอบไปด้วยเซลล์หลัก 3 ชนิด ได้แก่ คีราติโนไซต์ (keratinocyte) ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) และเมลาโนไซต์ (melanocyte) โดยเซลล์ทั้ง 3 ชนิดนี้จะผลิตชีวโมเลกุล เช่น สารส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ (growth factors) ฮอร์โมน (hormones) และสารสื่ออักเสบ (inflammatory mediators) เพื่อกระตุ้นและ/หรือยับยั้งการทำงานของเซลล์ที่ผลิตเองหรือเซลล์ชนิดอื่นๆ รวมทั้งทำหน้าที่ผลิตชีวโมเลกุลอื่นๆ ที่เป็นเอกลักษณ์หรือส่งผลต่อลักษณะทางกายภายและคุณสมบัติของผิวหนัง ทั้งนี้ เมื่อผิวหนังเสื่อมสภาพเมื่อถึงเวลา หรือเมื่อก่อนเวลาอันสมควรเนื่องจากถูกกระตุ้นจากสภาวะแวดล้อม เช่น รังสีอัลตราไวโอเลตหรือยูวี (ultraviolet ray, UV) การทำงานของเซลล์เหล่านี้จะเปลี่ยนไป ส่งผลให้มีการผลิตสารชีวโมเลกุลต่างๆ เพิ่มขึ้นหรือลดลง ด้วยเหตุนี้สารชีวโมเลกุลที่ถูกผลิตโดยเซลล์เหล่านี้จึงถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการทำงานของเซลล์ เช่น ปริมาณการผลิตหรือการสันดาปคอลลาเจน (collagen) อีลาสติน (elastin) และไกลโคโปรตีน (glycolprotein) โดยเซลล์ไฟโบรบลาสต์สามารถใช้เป็นสิ่งบ่งชี้สภาวะของเซลล์ว่าเป็นเซลล์ปกติหรือเซลล์แก่ ปริมาณและกิจกรรมเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าผลิตเม็ดสีผิว (melanin) ในเซลล์เมลาโนไซต์สามารถใช้บ่งชี้ว่าเซลล์อยู่ในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยปัจจัยต่างๆ เช่น แอลฟา-เมลาโนไซต์สติมิวเลติงฮอร์โมน (α-melanocyte stimulating hormone) หรือรังสียูวีหรือไม่ และปริมาณเคอราทิน (keratin) 1 และ 10 ที่ถูกผลิตโดยเซลล์คีราติโนไซต์สามารถใช้บ่งบอกว่าเซลล์คีราติโนไซต์สามารถพัฒนาตนเองเพื่อทำหน้าที่เป็นชั้นกางกั้น เป็นต้น

ในบทนี้ จะกล่าวถึงคุณสมบัติของเซลล์ที่แยกจากเนื้อเยื่อผิวหนังโดยตรง (primary skin cells) และเซลล์ไลน์ (cell lines) ชนิดต่างๆ ที่เกิดจากการแปรสภาพ และข้อจำกัดของการทดสอบเมื่อนำเซลล์ประเภทใดประเภทหนึ่งมาใช้ รวมถึงจะกล่าวถึงเทคนิคที่ใช้ในแยกเซลล์คีราติโนไซต์ เมลาโนไซต์และไฟโบรบลาสต์จากเนื้อเยื่อผิวหนังและการเพาะเลี้ยง รวมทั้งตัวอย่างสารชีวโมเลกุลที่นิยมนำมาใช้เป็นตัวชี้วัด (biomarker) การทำงานของเซลล์แต่ละชนิด และสามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารแอคทีฟที่จะนำไปใช้เพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ เช่น ใช้ในผลิตภัณฑ์ไวท์เทนนิ่ง (whitening products) และผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอย (antiaging/antiwrinkle products) เป็นต้น

คุณสมบัติของเซลล์ที่แยกจากเนื้อเยื่อผิวหนังโดยตรง (primary skin cells) และเซลล์ไลน์ (cell lines) ที่มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์ผิวหนัง

เซลล์ที่แยกจากเนื้อเยื่อผิวหนังโดยตรง (primary skin cells) หมายถึงเซลล์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อผิวหนัง โดยการย่อยเนื้อเยื่อเพื่อให้เซลล์หลุดออกจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือหลุดออกจากการยึดเกาะกัน ได้เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือได้จากการปล่อยให้เซลล์เคลื่อนย้ายออกมาจากเนื้อเยื่อที่ถูกนำมาบ่มหรือเพาะเลี้ยงนอกร่างกาย โดยเซลล์ที่แยกได้นี้จะมีรูปแบบปรากฏ (phenotype) รูปแบบพันธุกรรม

ตัวอย่าง

ประวัติผู้เขียน

รองศาสตราจารย์ ดร.จารุภา วิโยชน์

ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี	สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาโท	สาขาวิชาเภสัชอุตสาหกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาเอก	Medico-Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Japan

หน่วยงานที่สังกัด

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

ความเชี่ยวชาญและงานวิจัย

ทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

พัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ เช่น เครื่องสำอาง เสริมอาหาร และวัสดุทางการแพทย์

ผลงานและรางวัลทางวิชาการ

วารสารวิชาการทั้งในระดับชาติและนานาชาติมากกว่า 30 เรื่อง

1 Yakaew S, Itsarasook K, Rukchay R, Ngoenkam J, Jedsadayanmata A, **Viyoch J,** Chulasiri M (2016) Ethanolic extract of Terminalia chebula fruit protects against UVB-induced skin damage. Pharmaceutical Biology 54: 2701-2707

2 Tiraravesit N, Yakaew S, Rukchay R, Luangbudnark W, Viennet C, Humbert P, **Viyoch J** (2015) Artocarpus altilis heartwood extract protects skin against UVB in vitro and in vivo. Journal of Ethnopharmacology 175: 153-162

ตัวอย่าง

3 tsarasook K, Ingkaninan K, **Viyoch J** (2014) Artocarpin-enriched extract reverses collagen metabolism in UV-exposed fibroblasts. Biologia 69: 943-951

4 **Viyoch J**, Mahingsa K, Kornkanok I (2012) Effects of Thai Musa species on prevention of UVB-induced skin damage in mice. Food and Chemical Toxicology 50: 4292-4301

สิทธิบัตรและอนุสิทธิบัตร

1 **Viyoch J**, Faikrua A, Sila-asana M. Blending Collagen/Chitosan Scaffold for Application in Skin Tissue Engineering. Application Number: 0703001109, Approved Date: 10 June 2009, Petty Patent Number : 4905, Applicant: National Research Council of Thailand

2 **Viyoch J**, Ngoenkam J. Thermosensitive Hydrogel of Blending Crab Chitosan/ Starch for Controlled Release of Therapeutic Agents or Biomaterials. Application Number: 0803000 087, Approved Date: 2 July 2009, Petty Patent Number : 4943, Applicant: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), Thailand

3 **Viyoch J**, Naresuan University, Thailand Research Fund and Axis IP Holding LTD., System and Method for Preparing a Controlled Release Preparation, WO10062261, Patent Cooperation Treaty Application, June 2010

รางวัลทางวิชาการ

พ.ศ. 2558 Nagai Award Thailand, Pharmaceutical Sciences Area, from Professor Tsuneji Nagai, Chairman of Board of Trustees of the Nagai Foundation, Tokyo, Japan

พ.ศ. 2557 DMSc Award ประเภทงานวิจัยและพัฒนาสาขาการวิจัยและพัฒนาเพื่อองค์ความรู้ใหม่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เรื่อง “การพัฒนาวัสดุโครงร่างที่มีคุณสมบัติตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ซึ่งเตรียมจากการผสมระหว่างไคโตซาน แป้งข้าวโพดและเบต้ากลีเซอรอลฟอสเฟต เพื่อใช้ในการนำส่งเซลล์กระดูกอ่อนและสารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูกอ่อน สำหรับนำไปใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน”

ตัวอย่าง

พ.ศ. 2557 รางวัลนักวิจัยดีเด่น มหาวิทยาลัยนเรศวร ด้านการวิจัยที่สร้างประโยชน์สู่เชิงพาณิชย์หรือสร้างประโยชน์ให้แก่ชุมชน

พ.ศ. 2556 รางวัลนักวิจัยดีเด่นด้าน มหาวิทยาลัยนเรศวร ด้านการวิจัยเชิงวิชาการพื้นฐาน

พ.ศ. 2555 Nagai Award Thailand, Pharmaceutical Sciences Area, from Professor Tsuneji Nagai, Chairman of Board of Trustees of the Nagai Foundation, Tokyo, Japan

พ.ศ. 2554 รางวัลนักนักวิจัยดีเด่น มหาวิทยาลัยนเรศวร กลุ่มสาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

ตัวอย่าง

ตัวชี้วัดทางชีวภาพของเซลล์ผิวหนัง

จากความรู้พื้นฐานสู่การนำไปประยุกต์ใช้เพื่อประเมินเวชสำอาง

Biomarkers of Skin Cells : From Basic Knowledge to Application for Cosmeceutical Evaluation

หนังสือเล่มนี้มีเนื้อหาครอบคลุมตั้งแต่คำจำกัดความของเครื่องสำอางและเวชสำอาง การอ้างสรรพคุณ โครงสร้างของผิวหนังในระดับมหภาคและจุลภาค การทำงานและการผลิตชีวโมเลกุลที่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) โดยเซลล์หลักที่พบในผิวหนัง ได้แก่ คีราติโนไซต์ (keratinocyte) เมลาโนไซต์ (melanocyte) และไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) และการประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและเวชสำอางโดยใช้เซลล์และเนื้อเยื่อผิวหนังเพาะเลี้ยง โดยนำความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการทำงานและการผลิตชีวโมเลกุลจากเซลล์เหล่านี้มาประยุกต์ใช้

ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่า หนังสือเล่มนี้จะมีประโยชน์ทั้งในแวดวงวิชาการและภาคอุตสาหกรรม เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง นำไปสู่ประโยชน์สูงสุดแก่ผู้บริโภคที่จะได้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและความปลอดภัย

ตัวอย่าง

สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร
Naresuan University Publishing House

www.nupress.grad.nu.ac.th

ISBN 978-616-426-027-6
9 786164 260276