บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลืองในหนู BABL/c ในงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลืองในการส่งเสริมการทำหน้าที่ของ NK cell ซึ่งประสิทธิภาพดังกล่าวน่าจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณไซโตไคน์ IFN-γ ที่เพิ่มขึ้นภายหลังจากการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินสำหรับฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะนั้น พบว่า อนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณและระยะเวลาที่สัตว์ทดลองได้รับไม่มีผลใดๆ ต่อปริมาณและการทำหน้าที่ (การแบ่งตัวเพิ่มจำนวน) ของ T cell สำหรับ B cell นั้น พบว่า อนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินส่งผลให้ปริมาณ B cell เพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้ความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนลดลง อย่างไรก็ตาม ผลของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินที่มีต่อการทำหน้าที่ของ B cell ยังต้องมีการศึกษาถึงการทำหน้าที่หลักของ B cell ในการสร้างแอนติบอดี จึงจะสามารถระบุได้ถึงผลของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินที่มีต่อการทำงานของ B cell ได้อย่างแท้จริงผลการศึกษาครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่าอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินที่มีแหล่งมาจากรังไหมเหลืองในปริมาณและระยะเวลาที่ทดสอบนี้มีความปลอดภัยต่อหนู BALB/c ผลการวิจัยที่ได้รับในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน หากต้องมีการนำอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลืองไปใช้ประโยชน์เชิงสุขภาพ

อภิปรายผล

ซิริซินถึงแม้ว่าจะเป็นของไม่มีประโยชน์จากอุตสาหกรรมการผลิตผ้าไหม แต่พบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย อาทิเช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Rajendran, et al., 2011) ต้านอนุมูลอิสระ (Kato, et al., 1998) ป้องกันมะเร็ง (Zhaorigetu, et al., 2001) และช่วยลดคอเลสเตอรอล (Limpeanchob, et al., 2010) แต่ด้วยคุณสมบัติของซิริซิน ซึ่งเป็นโปรตีนขนาดใหญ่และมีขนาดโมเลกุลที่หลากหลายตั้งแต่ 10-300 kDa (Zhang, 2002) ทำให้ซิริซินถูกย่อยหรือถูกดูดซึมได้น้อยลง (Kato, 2000; Okazaki, et al., 2011) ด้วยเหตุผลดังกล่าว จึงมีการนำโปรตีนซิริซินมาย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสให้ได้เป็นเปปไทด์ขนาดเล็กก่อน ทั้งนี้เพื่อที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด (Wu, et al., 2008) งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลืองในหนู BALB/c ซึ่งพบว่า การได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหม

เหลืองสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางภูมิคุ้มกันได้หลายประการทั้งภูมิคุ้มกันแบบกำเนิด (innate immunity) และภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (adaptive immunity) ทั้งยังพบว่าอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลืองในปริมาณและระยะเวลาที่ทำการศึกษา มีความปลอดภัยต่อสัตว์ทดลองอีกด้วย

ผลการศึกษาตลอดระยะเวลาการศึกษา 4 สัปดาห์ พบว่า หนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลืองมีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินและมีการเจริญเติบโตเป็นปกติตามอัตราการเจริญเติบโตของหนูสายพันธุ์ BALB/c เพศเมีย ซึ่งมีค่าน้ำหนักตัวอยู่ระหว่าง 20-25 g (National Laboratory Animal Centre, Mahidol University) อีกทั้งการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณดังกล่าวไม่ทำให้น้ำหนักม้าม ปอด และไตของหนู มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม อนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลือง จึงน่าจะมีความปลอดภัยต่ออวัยวะทั้งสามดังกล่าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งม้ามซึ่งเป็น secondary lymphoid organ ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของระบบภูมิคุ้มกัน ทำหน้าที่ในการกรองดักจับสิ่งแปลกปลอมที่มากับเลือด โดยเมื่อเลือดเคลื่อนเข้าสู่บริเวณรอยต่อระหว่าง red pulp และ white pulp จะมีเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการดักจับสิ่งแปลกปลอม (phagocytic cells) และเริ่มต้นการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน (ไพศาล สิทธิกรกุล, 2548) ส่วนกรณีต่อมไทมัสพบว่า ภายหลังจาก 1 สัปดาห์ ต่อมไทมัสของหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 500 mg/kg BW มีขนาดเล็กลง แต่น้ำหนักต่อมไทมัสที่ลดลงนั้น เมื่อเทียบเป็นมิลลิกรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 42.0 ± 8.37 mg ก็ยังอยู่ในค่าเฉลี่ยปกติของหนู mice สายพันธุ์ต่างๆ (mean strain average) ที่มีอายุใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 42.9 ± 24.7 mg ทั้งในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 4 ต่อมไทมัสของหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณดังกล่าว ก็มีน้ำหนักไม่แตกต่างกับหนูกลุ่มควบคุมประกอบกับการพิจารณาลักษณะภายนอกของต่อมไทมัสหลังการผ่าตัดก็ไม่พบความผิดปกติใดๆ ของอวัยวะดังกล่าว น้ำหนักที่ลดลงของต่อมไทมัสในสัปดาห์ที่ 1 ในการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นเพียงการปรับตัวของต่อมไทมัสก็เป็นได้ งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาโดยให้หนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley ได้รับซิริซินเปปไทด์ปริมาณ 500 และ 2,000 mg/kg เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ก็พบว่า ซิริซินเปปไทด์ไม่เป็นพิษต่อต่อมไทมัส (Ryu, et al., 2008) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอีกฉบับหนึ่งที่ทำการทดสอบความปลอดภัยของเปปไทด์สายหนึ่งที่ได้มาจากรังไหมของประเทศเกาหลีสายพันธุ์ *Bombyxmori* โดยทำการศึกษาพิษวิทยาแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic toxicity) ของเปปไทด์ E5K6 ที่ปริมาณ 500, 1000 และ 2000 mg/kg BW ในหนูสายพันธุ์ Spraque-Dawley เป็นเวลา 90 วัน พบว่าการได้รับเปปไทด์ดังกล่าวในปริมาณที่สูงถึง 2000 mg/kg BW

ก็ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของต่อมไทมัส (Han, et al., 2011) ผลจากงานวิจัยทั้งสองฉบับชี้ให้เห็นว่าเปปไทด์ที่มีแหล่งมาจากรังไหมนั้นมีความปลอดภัยต่อต่อมไทมัสในสัตว์ทดลอง สำหรับตับการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 500 mg/kg BW เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำให้ตับมีขนาดเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (5.48 ± 0.05 g/100 g BW; $p<0.05$) แต่การลดลงของน้ำหนักตับนั้นก็ยังอยู่ในค่าเฉลี่ยปกติของหนู mice สายพันธุ์ต่างๆ (mean strain average) ที่มีอายุใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.11 ± 0.45 g/100 g BW และในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 น้ำหนักตับของหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณ 50, 100 และ 500 mg/kg BW ก็มีค่าใกล้เคียงกันกับน้ำหนักตับของหนูกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซิน และไม่พบว่ามีหนูตายตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์ที่ทำการทดสอบการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซิน จึงน่าที่จะมีความปลอดภัยต่อตับด้วย นอกจากนั้นงานวิจัยของ Han, et al. (2011) ได้รายงานไว้ว่าน้ำหนักของตับหนูสายพันธุ์ Spraque-Dawley ที่ได้รับเปปไทด์ E5K6 ปริมาณ 500 และ 2000 mg/kg มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (2.5678 ± 0.1695 และ 2.5541 ± 0.2273 % BW ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับน้ำหนักตับของหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับเปปไทด์ E5K6 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.3681 ± 0.2012 % BW แต่น้ำหนักตับที่เพิ่มขึ้นนั้นถือเป็นค่าที่ปกติ เนื่องจากยังอยู่ในช่วงค่าอ้างอิงจากการศึกษาก่อนหน้าของคณะวิจัยชุดนี้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.0235-3.0236% BW (Han, et al., 2010) ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตับในหนูที่ได้รับเปปไทด์ E5K6 จึงไม่น่าจะมีพิษต่อตับ ผลที่ได้รับจากการศึกษาในงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินที่มีแหล่งมาจากรังไหมเหลืองในปริมาณและระยะเวลาที่ทดสอบนี้มีความปลอดภัยต่อหนู BALB/c

นอกเหนือจากนั้นยังได้ศึกษาผลของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินทางด้านโลหิตวิทยา อันได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และการนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว เนื่องจากค่าเหล่านี้สามารถระบุความผิดปกติของเม็ดเลือดได้ ยิ่งไปกว่านั้นการนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว เป็นการบ่งบอกอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันในการปกป้องร่างกายจากเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอม จากผลการศึกษา ถึงแม้ว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 50 mg/kg BW เป็นเวลา 3 สัปดาห์มีจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม แต่การเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดนั้น ก็ยังอยู่ในค่าช่วงปกติซึ่งมีค่าเท่ากับ $10.60 \pm 0.316 \times 10^6$ cells/µl (The Jackson Laboratory, 2007) อีกทั้งลักษณะและรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดงภายหลังจากการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินทั้งปริมาณ 50, 100 และ 500 mg/kg BW เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ก็ไม่พบว่ามีความผิดปกติใดๆ เช่นเดียวกับปริมาตร

เม็ดเลือดแดงอัดแน่นในสัปดาห์ที่ 3 ถึงแม้ว่าหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินขนาด 50 และ 500 mg/kg BW มีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวก็ยังอยู่ในช่วงค่าที่ปกติซึ่งมีค่าเท่ากับ 48.4 ± 1.76 % (The Jackson Laboratory, 2007) อนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณและระยะเวลาที่ศึกษาดังกล่าวจึงไม่น่าที่จะมีอันตรายต่อเม็ดเลือดแดง

สำหรับฤทธิ์ของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินต่อระบบภูมิคุ้มกันด้านต่างๆ ในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินต่อการทำงานของ NK cell โดยวัดการทำงานของ NK cell ในการฆ่า/ทำลายเซลล์เป้าหมาย YAC-1 ผลการศึกษาพบว่า NK cell ของหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณ 100 และ 500 mg/kg BWในสัปดาห์ที่ 1 มีความสามารถในการฆ่า/ทำลายเซลล์เป้าหมายเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับในหนูที่ไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินและความสามารถดังกล่าวก็คงอยู่ถึงสัปดาห์ที่ 2 ผลการศึกษานี้แสดงให้ถึงฤทธิ์ของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในการกระตุ้นการทำหน้าที่ของ NK cell ทั้งยังเป็นที่น่าสังเกตว่าการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณ 100 mg/kg BW เพียง 1 สัปดาห์ก็สามารถทำให้ NK cell ฆ่า/ทำลายเซลล์เป้าหมายได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการที่ไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินและใช้จำนวน NK cell ในอัตราส่วนที่น้อยลงต่อการฆ่า/ทำลายเซลล์เป้าหมาย 1 เซลล์ (E:T เท่ากับ 25:1) อย่างไรก็ตามการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินเป็นเวลานานมากกว่า 2 สัปดาห์ พบว่า ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มความสามารถของ NK cell ในการฆ่า/ทำลายเซลล์เป้าหมายการที่อนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินมีฤทธิ์ส่งเสริมการทำหน้าที่ของ NK cell ได้ตั้งแต่สัปดาห์แรกๆ นั้นน่าจะเป็นประโยชน์เนื่องจาก NK cell เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการลาดตระเวน (surveillance) ตรวจดูเซลล์ที่ผิดปกติหรือแปลกปลอมไปในช่วงแรกๆ ก่อนที่เซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะโดยเฉพาะ T lymphocyte จะทำหน้าที่ ทั้งยังมีรายงานก่อนหน้านี้ว่า NK cell ในหนูทดลองมีความสามารถในการฆ่า/ทำลายเซลล์เป้าหมายได้สูงสุดอยู่ที่ช่วงอายุ 5-8 สัปดาห์ (Mocchegiani, et al., 2009) ไม่กี่ปีที่ผ่านมา มีงานวิจัยที่มีการนำโปรตีนไฮโดไลเสทจากธรรมชาติที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5000 Da มาศึกษาฤทธิ์ในการส่งเสริมการทำงานของ NK cell ให้มีความสามารถในการฆ่า/ทำลายเซลล์มะเร็งได้ดียิ่งขึ้น ได้แก่ งานวิจัยของ Yang, et al. (2009) พบว่า NK cell ของหนูที่ได้รับโปรตีนไฮโดไลเสทจากปลา Chum Salmon ปริมาณ 0.22 g/kg BW นาน 4 สัปดาห์มีความสามารถในการฆ่า/ทำลายเซลล์เป้าหมายเพิ่มมากขึ้น งานวิจัยอีกฉบับหนึ่ง พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสทจากหอย *Crassostrea gigas* ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 3000 Da เมื่อให้แก่หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งในปริมาณ 0.25, 0.5 และ 1 mg/g BW

เป็นเวลานาน 14 วันสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ NK cell ในการฆ่า/ทำลายเซลล์มะเร็งได้ (Wang, et al., 2010) ผลการวิจัยที่กล่าวมา รวมถึงผลจากการวิจัยครั้งนี้ จึงแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากธรรมชาติจากแหล่งต่างๆ ในการส่งเสริมประสิทธิภาพการทำงานของ NK cell เมื่อศึกษาผลของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินต่อการสร้างไซโตไคน์ที่สำคัญๆ ก็พบว่า อนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 500 mg/kg BW ส่งผลเพิ่มการสร้างไซโตไคน์ชนิด IFN-γ จาก T-lymphocyte โดยพบปริมาณ IFN-γ ซึ่งมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์แรก และยิ่งเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 เนื่องจาก IFN-γ เป็นไซโตไคน์หนึ่งที่มีบทบาทในการกระตุ้นการทำงานของ NK cell (Hwang, et al., 2012) ซึ่งเป็นไปได้ว่า NK cell activity ที่เพิ่มขึ้นหลังการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินนั้นสัมพันธ์กับปริมาณไซโตไคน์ IFN-γ ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามกลไกการทำงานที่เกี่ยวข้องที่ทำให้อนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินสามารถส่งเสริมการทำงานของ NK cell ได้ยังคงต้องมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไป

ผลการศึกษาการนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวพบว่าการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 50 และ 500 mg/kg BW นาน 1 สัปดาห์ ทำให้ปริมาณนิวโตรฟิลสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับการไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซิน ปริมาณนิวโตรฟิลที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์แรกนั้น น่าจะเป็นประโยชน์ต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบ innate immunity ในการเป็นปราการด่านแรกหากมีสิ่งแปลกปลอมต่างๆ เข้าสู่ร่างกาย (Scott, et al., 2005) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าหากได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณเดียวกันนาน 4 สัปดาห์ปริมาณนิวโตรฟิลจะลดลงเมื่อเทียบกับการไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซิน ซึ่งก็อาจจะส่งผลทำให้มีเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการจับกินเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ น้อยลง แต่อย่างไรก็ตาม การลดลงของปริมาณนิวโตรฟิลที่จะส่งผลถึงการทำหน้าที่ของนิวโตรฟิลอย่างไรนั้น ควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีก

สำหรับลิมโฟไซต์ ผลจากการนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวในสัปดาห์แรกพบว่าหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 50 และ 500 mg/kg BW มีปริมาณลิมโฟไซต์ลดลงและในสัปดาห์เดียวกันนี้เมื่อทำการหาประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ด้วยเทคนิค flow cytometry ก็พบการลดลงของจำนวนลิมโฟไซต์ T cell ทั้งชนิด T helper cell และ cytotoxic T cell ในหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณ 50 และ 500 mg/kg BW ดังนั้นปริมาณลิมโฟไซต์ที่ลดลงน่าจะมาจากการลดลงของลิมโฟไซต์ T cell ทั้งชนิด T helper cell และ cytotoxic T cell และอาจจะสัมพันธ์กับขนาดต่อมไทมัสที่ลดลง ซึ่งในสัปดาห์แรกด้วย

ก็เป็นได้อย่างไรก็ตาม หากเทียบกับค่าปกติของปริมาณประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ในหนู BALB/c จากแหล่งอ้างอิงที่เชื่อถือได้ พบว่า ประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ที่ลดลงทั้งชนิด T helper cell กับ cytotoxic T cell ดังกล่าวก็ยังอยู่ในช่วงที่เป็นปกติ (The Jackson Laboratory, 2007) นอกจากนี้ ยังพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนลิมโฟไซต์จากการนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว หลังจากที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 50 mg/kg BW ในสัปดาห์ที่ 4 และผลจากการหาประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ด้วยเทคนิค flow cytometry ก็พบการเพิ่มขึ้นของประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ชนิด cytotoxic T cell ในหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณ 50 mg/kg BW การเพิ่มขึ้นของปริมาณลิมโฟไซต์จากการนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวน่าจะเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ชนิด cytotoxic T cell แต่กระนั้นก็ตามปริมาณ cytotoxic T cell ดังกล่าวยังคงมีค่าใกล้เคียงกันกับค่าปกติของปริมาณ cytotoxic T cell ที่พบได้ในหนู BALB/c ที่มีอายุใกล้เคียงกัน (The Jackson Laboratory, 2007) เมื่อทำการศึกษาหน้าที่ของ T cell โดยดูจากการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (splenocyte proliferation) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ConA ก็พบว่า T cell ในหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในปริมาณ 50, 100 และ 500 mg/kg BW มีความสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้เป็นปกติไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซิน ผลการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินไม่มีผลที่แสดงนัยสำคัญใดๆ ต่อทั้งจำนวนและการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ T cell

การศึกษาผลของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินต่อลิมโฟไซต์ชนิด B cell ทั้งในเชิงปริมาณและหน้าที่ ในสัปดาห์แรกพบว่าประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ชนิด B cell มีจำนวนเพิ่มขึ้นในหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 50 และ 500 mg/kg BW เมื่อเทียบกับหนูที่ไม่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซิน ในสัปดาห์เดียวกันเมื่อศึกษาการทำหน้าที่ของ B cell โดยวัดความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน พบว่า ลิมโฟไซต์ของหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 500 mg/kg BW มีความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนลดลง เมื่อถูกกระตุ้นด้วย LPS ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับผลที่ได้รับเมื่อใช้ PWM เป็นตัวกระตุ้น เนื่องจากอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินไม่มีผลต่อการทำหน้าที่ของ T cell ในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (ผลจากการศึกษาการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ด้วย ConA) ดังนั้นความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนที่ลดลงเมื่อถูกกระตุ้นด้วย PWM จึงน่าจะเป็นผลมาจาก B cell มากกว่า T cell เช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 2 ประชากรย่อยของลิมโฟไซต์ชนิด B cell ในหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 500 mg/kg BW มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อศึกษาความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเมื่อใช้ LPS เป็นไมโตเจน ก็พบว่า

B cell ของหนูที่ได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินปริมาณ 50 mg/kg BW มีความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนที่ลดลง ผลการศึกษาความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์เมื่อใช้ PWM เป็นไมโตเจน ก็เป็นไปในทิศทางเดียวกันการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินอาจจะส่งผลต่อการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ B cell ในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 แต่ทว่าในแง่หน้าที่หลักของ humoral immunity โดย B cell นั้นโมเลกุลสำคัญคือแอนติบอดีที่สร้างขึ้นจาก B cell ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาปริมาณแอนติบอดีที่สร้างขึ้นภายหลังจากการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 จะทำให้สามารถระบุถึงผลของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินที่มีต่อการทำงานของ B cell ได้จริงๆ ถึงกระนั้นก็ตามการได้รับอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินเป็นเวลามากกว่า 4 สัปดาห์ ก็ไม่ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรย่อยของลิมโฟไซต์รวมถึงความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน และการสร้างแอนติบอดีของ B cell แต่อย่างใด

ตาราง 5 สรุปฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันของอนุพันธ์ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซินจากรังไหมเหลือง ในหนู BALB/c

Treatment	Parameters			
	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
SDO50	%Neutrophils ↑ %Lymphocytes ↓ % B cell ↑	LPS (10 µg/ml)-induced lymphocyte proliferation ↓	-	%Neutrophils ↓ %Lymphocytes ↑
SDO100	NK cell activity (25:1) ↑ PWM (10 µg/ml)-induced lymphocyte proliferation ↓	PWM (10 µg/ml)-induced lymphocyte proliferation ↓ PWM (50 µg/ml)-induced lymphocyte proliferation ↓ NK cell activity (100:1) ↑	-	-
SDO500	%Neutrophils ↑ %Lymphocytes ↓ % B cell ↑ NK cell activity (25:1) ↑ NK cell activity (50:1) ↑ IFN-γ ↑ LPS (5 µg/ml)- induced lymphocyte proliferation ↓ LPS (10 µg/ml)- induced lymphocyte proliferation ↓ PWM (10 µg/ml)- induced lymphocyte proliferation ↓ PWM (50 µg/ml)- induced lymphocyte proliferation ↓	% B cell ↑ NK cell activity (25:1) ↑ NK cell activity (100:1) ↑ IFN-γ ↑ PWM (10 µg/ml) -induced lymphocyte proliferation ↓	-	-