

Abstract

Project Code: 122/2551(EC2)

Project Title: Immunological activity of cucurbitacin B on human lymphocyte.

Investigators: Tanawan Kummalue

Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital,
Mahidol University, Thailand.

E-mail address : sitkm@mahidol.ac.th

Project Period: 26 March, 2008-26 March, 2009

Abstract

We have investigated the role of immunological activities of cucurbitacin B on human lymphocyte. The mononuclear cells (MNC) were isolated from peripheral blood of 15 healthy volunteers. The cells were treated with 0.5 $\mu\text{g/ml}$ of cucurbitacin B, 45 $\mu\text{g/ml}$ PHA or 25 ng/ml PMA plus 1 $\mu\text{g/ml}$ ionomycin for 4-72 hours. The percentage of total cytolytic activity after 24, 48 and 72 hours of incubation with cucurbitacin B was significantly decreased when compared to control or PHA. The mean \pm SEM of total cytolytic activity after 48 hours of incubation with cucurbitacin B compared to control or PHA were 11.891 \pm 2.206 VS 45.436 \pm 7.648, P=0.0015 or 11.891 \pm 2.206 VS 80.728 \pm 6.078, P<0.000, respectively. The expression of CD69⁺ cells were significantly higher than control (27.89 \pm 3.60 vs 13.80 \pm 1.75, P=0.0005) but CD3+CD69⁺ was no significant difference from negative control. CD8⁺ cell was significantly decreased from control (26.21 \pm 2.22 VS 30.86 \pm 2.65, P=0.0175 or PHA 26.21 \pm 2.22 VS 31.98 \pm 2.89, P= 0.0084). The intracellular cytokine was not different from negative control. TNF- α was decreased after stimulation with PHA in the presence of cucurbitacin B for 72 hours. In conclusion, cucurbitacin B, natural product isolated from *Trichosanthes cucumerima* L., showed significant immunological inhibition in lymphocytic cells especially in NK cells when compared with the controls. This study revealed the propensity of using this active compound in some ways for immunomodulating in special group of patients.

Keywords: cucurbitacin B, CTL assay, NK function, cytokine

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: 122/2551(EC2)

ชื่อโครงการ: ผลของสารสกัดจากบวบขม cucurbitacin B ต่อเซลล์ human lymphocyte

ชื่อนักวิจัย: ธนวรรณ กุมมาลือ

ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail address : sitkm@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 26 มีนาคม 2551-26 มีนาคม 2552

บทคัดย่อ

ทำการศึกษากฤทธิ์ของ cucurbitacin B ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากบวบขมต่อ human lymphocyte โดยศึกษาจากเลือดอาสาสมัครปกติจำนวน 15 ราย นำมา ปั่นแยกให้ได้ mononuclear cell นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี cucurbitacin B 0.5 $\mu\text{g/ml}$ นาน 4-72 ชั่วโมง เทียบกับ negative control ซึ่งไม่มีสารกระตุ้นและ positive control PMA 25 ng/ml ร่วมกับ Ionomycin 1 $\mu\text{g/ml}$ หรือ PHA 45 $\mu\text{g/ml}$ ตรวจวิเคราะห์ cytotoxic lymphocyte (CTL) function พบว่า cucurbitacin B ทำให้ total cytotoxic activity ลดลงเมื่อเทียบกับ normal control หรือ PHA (ทั้ง 24, 48 และ 72 ชั่วโมง) ที่ 48 ชั่วโมงพบค่า total cytotoxic activity ของ cucurbitacin B เทียบกับ normal control หรือ PHA มีค่าเท่ากับ 11.89 ± 2.20 VS 45.43 ± 7.65 , $P=0.0015$ หรือ 11.89 ± 2.21 VS 80.73 ± 6.08 , $P<0.000$, ตามลำดับ ตรวจวิเคราะห์ lymphocyte surface marker พบค่า CD8+ มีปริมาณต่ำกว่า control และ PHA (26.21 ± 2.22 VS 30.86 ± 2.65 , $P=0.0175$ และ 26.21 ± 2.22 VS 31.98 ± 2.89 , $P=0.0084$ ตามลำดับ) และ CD69+ มีค่าสูงกว่า normal control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (27.89 ± 3.60 VS 13.80 ± 1.75 , $P=0.0005$) แต่ค่า CD3+CD69+ ไม่มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ไม่พบความแตกต่างของการสร้าง intracellular cytokine เมื่อกระตุ้นด้วย cucurbitacin B แต่พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ cucurbitacin B ในอาหารที่มี PHA จะทำให้การหลั่งของ TNF- α ลดลง โดยสรุปพบว่าสาร cucurbitacin B เป็นสารที่สกัดจากบวบขม *Trichosanthes cucumerima* L., ซึ่งมีอยู่ในธรรมชาติ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันโดยเฉพาะการทำงานของ NK cell ซึ่งอาจมีประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน

รหัสคำ: cucurbitacin B, CTL assay, NK function, cytokine