

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : DIG5180031

ชื่อโครงการ : การศึกษาการออกฤทธิ์และกลไกของ **Dioscoreanone** จากสารสกัดชั้นแอลกอฮอล์ของหัวข้าวเย็นชนิด *Dioscorea membranacea* ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอด

ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร. พินทุสร หาญสกุล และ รศ.ดร. อรุณพร อีจรัตน์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

E-mail Address: hansakul@yahoo.com และ iarunporn@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

Dioscoreanone ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเป็น phenantraquinone เป็นสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดชั้นเอทานอลของหัวข้าวเย็นชนิด *Dioscorea membranacea* ได้มีการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่ามีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดและมะเร็งเต้านม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษเพิ่มเติมในกลุ่มเซลล์มะเร็งปอดที่มีหลายชนิด และเพื่อศึกษากลไกความเป็นพิษในระดับโมเลกุล ผลการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษพบว่า Dioscoreanone มีความเป็นพิษที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็งปอดชนิด NSCLC ทั้ง 3 subtype คือ squamous cell carcinoma large cell carcinoma และ adenocarcinoma แต่ไม่มีความเป็นพิษกับเซลล์ปกติ งานวิจัยนี้ใช้ A549 เป็นเซลล์มะเร็งต้นแบบเพื่อศึกษากลไกความเป็นพิษในระดับโมเลกุลของสาร โดยเริ่มต้นวิเคราะห์การกระจายของเซลล์ในวัฏจักรเซลล์ ซึ่งพบว่า Dioscoreanone ที่ความเข้มข้น 15 μM และ 30 μM ทำให้เกิดการสะสมของเซลล์ที่ระยะ G2/M สูงสุดที่ 48 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 30 μM ทำให้มีเซลล์ตายมากกว่ากลุ่มควบคุม ถึง 12 เท่า การตายของเซลล์มะเร็งเกิดขึ้นโดยผ่านทาง apoptotic pathway เนื่องจากสามารถตรวจพบ phosphatidylserine (PS) ที่พลิกกลับออกมาอยู่ด้านนอก (outer leaflet) ของเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ที่กำลังเข้าสู่ apoptosis ได้ โดยสารเริ่มเหนี่ยวนำการตายตั้งแต่ 24 ชั่วโมง และเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ตรวจพบ early apoptotic cell สูงสุดที่ 72 ชั่วโมง นอกจากนี้ ยังพบว่า apoptosis ถูกกระตุ้นผ่านทาง caspase cascade เนื่องจากพบว่าการกระตุ้น caspase 3 activity เพิ่มขึ้นสูงสุดในช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมง การใช้ general caspase inhibitor Z-VAD-FMK สามารถยับยั้งการตายได้ทั้งหมด แสดงว่าการออกฤทธิ์ของสาร Dioscoreanone กระตุ้นให้เกิดการตายแบบ apoptosis ผ่านทาง caspase-dependent pathway เป็น pathway หลัก งานวิจัยนี้เป็นการแสดงข้อมูลของกลไกการออกฤทธิ์ระดับโมเลกุลครั้งแรกของสาร Dioscoreanone แสดงให้เห็นว่าสารนี้อาจจะเป็นสารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์กระตุ้นให้เกิด apoptosis ต่อเซลล์มะเร็งปอด NSCLC ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำหลัก: Dioscoreanone apoptosis และ molecular mechanisms

Abstract

Project code: DIG5180031

Project title: Study on inhibitory effects and molecular mechanisms of Dioscoreanone from ethanol extract of Hua-Khao-Yen (*Dioscorea membranacea*) on human lung cancer cells

Investigators: Assist. Prof. Pintusorn Hansakul and Asso. Prof. Arunporn Itharat, Faculty of Medicine, Thammasat University

E-mail Address: hansakul@yahoo.com and iarunporn@yahoo.com

Project period: 2 years

Dioscoreanone, a 1, 4 phenanthraquinone is found in the dried rhizome of *Dioscorea membranacea* Pierre. Previously, Dioscoreanone has been reported to possess cytotoxic effects against lung and breast cancer cell lines. The present study aimed to further study its cytotoxic effect against several lung cancer cell types and to elucidate its molecular mechanisms of this activity. Study on cytotoxic effects revealed that Dioscoreanone was specifically toxic to all 3 subtypes of NSCLC including squamous cell carcinoma, large cell carcinoma and adenocarcinoma, but not to normal lung cells. A549 was used as a cancer cell model to investigate mechanisms of cytotoxic effects of Dioscoreanone firstly through cell cycle distribution. The result showed that Dioscoreanone at 15 μ M and 30 μ M caused cell cycle arrest and increased the highest level of cell population in the G2/M phase at 48 h. Moreover, 30 μ M of this compound induced a 12 fold-increase in apoptotic cells in sub-G1 peak as compared with controls. These dead cells were mediated through apoptosis because the translocation of phosphatidylserine from the inner leaflet of the plasma membrane to the cell surface in the early apoptotic cells was detected. Such induction was initiated within the first 24 h and progressively continued. The highest percentage of early apoptotic cells was detected at 72h. In addition, this apoptosis was activated via caspase activation cascade due to the fact that the highest activity of caspase 3 was found at 24 h. The general caspase inhibitor Z-VAD-FMK completely suppressed Dioscoreanone-induced apoptosis in A549 cells, thus indicating caspase-dependent apoptosis as a major pathway. This study investigated the molecular mechanisms of Dioscoreanone for the first time and suggests that Dioscoreanone may be a potential, natural apoptosis-inducing agent for NSCLC.

Keywords: Dioscoreanone, apoptosis, molecular mechanisms