

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG 5480293

ชื่อโครงการ : ผลของสารอัลคาร์ลอยด์ชนิดเซอร์บาร์ในการเหนี่ยวนำของทีเอ็นเอฟให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบอะพอพโทซิส ยับยั้งการแพร่กระจาย และการสร้างหลอดเลือดใหม่ของเซลล์มะเร็งผ่านการทำงานของเอ็นเอฟแคปปารีบี

ชื่อนักวิจัย : อ.ดร.ศุภชัย ยอดคีรี

อีเมลล์ : Yodkeeree@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ : กรกฎาคม 2554 ถึง มิถุนายน 2556 รวมระยะเวลา 2 ปี

บทคัดย่อ:

Crebanine เป็นสารอัลคาร์ลอยด์ที่สกัดได้จากส่วนหัวของต้นสบู่เลือด โดยมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่างเช่นป้องกันอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ และยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง แต่กลไกของ crebanine ต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่ง NF- κ B เป็น transcription factor ที่ควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอด การแพร่กระจาย และการสร้างหลอดเลือดใหม่ของมะเร็ง ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของ crebanine ต่อการทำงานของ NF- κ B ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย TNF- α จากผลการทดลองพบว่า crebanine สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งชนิด HT1080, A549, MCF-7, MDA-MB-231, KB-31, SKOV-3 และ CaOV-3 เกิดการตายเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่ออัตราการอยู่รอดของเซลล์ normal human skin fibroblast นอกจากนี้ crebanine ยังสามารถเพิ่มการตายแบบ apoptosis ในเซลล์ MCF-7 และ A549 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย TNF- α ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ crebanine สามารถลดการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ anti-apoptosis (Bcl-xl) และการแบ่งตัวของเซลล์(cyclin D1) ทำให้ TNF- α สามารถกระตุ้นให้เซลล์เกิดการตายแบบ apoptosis ผ่านการทำงานของ caspase-8, caspase-3 และ PARP เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการแพร่กระจายด้วยวิธี Boyden chamber assay ในเซลล์ HT1080 และ MDA-MB-231 ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีการแสดงออกของ NF- κ B แบบ constitutive expression พบว่า crebanine สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์ทั้งสองได้ผ่านการยับยั้งการทำงานของ NF- κ B ทำให้การแสดงออกของเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งคือเอนไซม์ MMP-2, MMP-9 และ uPA ลดลง นอกจากนี้เมื่อศึกษาผลของ TNF- α ต่อการแพร่กระจายของเซลล์ A549 พบว่า TNF- α สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ A549 เคลื่อนที่แบบแพร่กระจายเพิ่มมากขึ้นและ crebanine สามารถลดผลที่เกิดขึ้นดังกล่าว โดยลดการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งคือ uPA, uPAR, MMP-9 และ ICAM-1 และเมื่อทดสอบผลของ crebanine ต่อการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ในเซลล์ A549 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย TNF α ก็พบว่า crebanine สามารถลดการแสดงออกของ VEGF และ COX-2 ได้ ซึ่งผลทั้งหมดของ crebanine ต่อเซลล์ A549 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย TNF- α

เกิดขึ้นเนื่องจาก crebanine สามารถยับยั้งการทำงานของ NF- κ B ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย TNF α โดยผ่านการยับยั้งการสลายของ I κ B- α ทำให้การเคลื่อนที่ของ NF- κ B เคลื่อนที่จาก cytoplasm เข้าสู่ nucleus เพื่อจับกับ DNA responsive element ของยีนต่างๆ ลดลงเป็นผลทำให้การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอด การแบ่งตัว การแพร่กระจายและการสร้างหลอดเลือดใหม่ของเซลล์มะเร็งลดลง ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า crebanine เป็นสารพิษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งผ่านการยับยั้งการทำงานของ NF- κ B

คำหลัก: การตายแบบ apoptosis, การแพร่กระจายและการสร้างหลอดเลือดใหม่ของมะเร็ง crebanine และ NF- κ B

Abstract

Project Code: MRG 5480293

Project Title: Crebanine, alkaloid from *Stephania venosa* , potentiates TNF-induced apoptosis and suppresses invasion and angiogenesis of tumor cells by inhibiting NF- κ B-regulated gene products

Investigator: Dr.Supachai Yodkeeree

E-mail Address: Yodkeeree@hotmail.com

Project Period: July 2011 to June 2013 duration 2 year

Abstract:

Crebanine is isolated from *Stephania venosa* (*S.venosa*) have been shown to inhibit the proliferation and induce the apoptosis of cancer cells, but its mechanism is not well understood. Besides, the nuclear factor- κ B (NF- κ B) transcription factor has been correlated with inflammation, carcinogenesis, tumor cell survival, invasion and angiogenesis. In this study, we investigated the effects of crebanine on tumor necrosis factor alpha (TNF- α)-induced NF- κ B activation and the expression of NF- κ B-regulated gene products. We found that crebanine reduced the cell proliferation of lung (A549, HT1080), ovarian (CaOV3 and SKOV-3), cervical (KB-31) and breast cancer cells (MDA-MB-231 and MCF-7). In contrast, crebanine caused much less toxicity in human normal fibroblast cells. Crebanine also potentiated TNF-alpha induced apoptosis of MCF-7 and A549 cells which correlated with the suppression of the gene products linked to cell survival; Bcl-2, proliferation; cyclin D1. In addition, crebanine affected TNF-alpha induced activation of caspase-8,-3 and PARP cleavage, indicating that the apoptotic effects of TNF-alpha were enhanced by crebanine. On the other hand, the constitutive NF- κ B expression cells (HT1080 and MDA-MB-231 cells), were used to determine the effect of crebanine on cancer cells invasion. Treatment the cells with crebanine reduced HT1080 and MDA-MB-231 cells invasion with dose dependent manner. Matrix metalloproteinases (MMPs) and urokinase plasminogen activator (uPA) are the extracellular matrix (ECM) degradation enzymes that play an important role in cancer cell metastasis. Results from zymography showed that crebanine reduced MMP-2, MMP-9 and uPA expression in HT1080 cells. Moreover, crebanine also reduced TNF-alpha induced A549 cell invasion and migration. Furthermore, crebanine suppressed the TNF-alpha mediated expression of proteins that involved cancer cell invasion (MMP-9, uPA, uPAR and ICAM-1) and angiogenesis (COX-2 and VEGF), all of

which are known to be regulated by NF- κ B. We also demonstrated that TNF- α induced NF- κ B DNA binding activity in A549 cells, which was inhibited by crebanine. Moreover, crebanine suppressed the TNF- α induced degradation of I κ B α , inhibitor of NF- κ B, which led to reduced NF- κ B translocation to the nucleus of A549 cells. In addition, crebanine reduced NF- κ B DNA binding activity and nucleus translocation in HT1080 cells. Taken together, our results demonstrated that crebanine reduced cancer cell proliferation, invasion, and angiogenesis and induced cell apoptosis by suppressing NF- κ B activity and expression profile of its downstream genes.

Keywords : Apoptosis, Cancer cell invasion and angiogenesis, Crebanine, NF- κ B