

Abstract

Project Code : TRG5680007

Project Title : The effects of chlorpyrifos and its metabolite on colon and liver cancer cell growth, survival and migration: Role of non-neuronal cholinergic system

Investigator : Dr.Tawit Suriyo Chulabhorn Research Institute

E-mail Address : tawit@cri.or.th

Project Period : 03/06/2013 – 03/06/2015

Apart from the effects on neuronal cholinergic system, the epidemiological study suggests the association of chlorpyrifos exposure and cancer risk. This *in vitro* study examined the effects of chlorpyrifos (CPF) and its toxic metabolite, chlorpyrifos oxon (CPF-O), on the growth of human colorectal adenocarcinoma H508, normal colon epithelial CCD841, liver hepatocellular carcinoma HepG2, and normal liver hepatocyte THLE-3 cells. The results showed that CPF (0.1-100 μ M) not CPF-O concentration dependently increased viability of H508 and CCD841 cells in serum free condition, and this increasing effect was not found in HepG2 and THLE-3 cells. Meanwhile, CPF-O (50-100 μ M) reduced the viability of all cell lines. The cell cycle analysis showed the induction of cell in the S phase, and the EdU incorporation assay revealed the induction of the DNA synthesis in CPF-treated H508 cells. Even though, the inhibitory effect on the acetylcholinesterase activity and the stimulating effect on the generation of reactive oxygen species (ROS) were observed in CPF treatment but atropine which is a non-selective muscarinic acetylcholine receptor antagonist, and N-acetylcysteine (NAC), which is an antioxidant, did not reverse the growth promoting effect of CPF. Furthermore, CPF increased the phosphorylation of epidermal growth factor receptor (EGFR) and its downstream effector, extracellular signal regulated kinase (ERK1/2) in H508 cells. Moreover, AG-1478, a specific EGFR tyrosine kinase inhibitor, and U0126, a specific MEK inhibitor, completely mitigated the growth promoting effect of CPF. All together, these results suggest that CPF promotes the growth of colorectal adenocarcinoma H508 cells through the activation of EGFR/ERK1/2 signaling pathway.

Keywords : Chlorpyrifos, chlorpyrifos oxon, colon cancer, cancer cell growth, EGFR, H508 cells

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5680007

ชื่อโครงการ: การศึกษาผลของยาฆ่าแมลงคลอร์ไพริฟอสต่อการเจริญเติบโต อ้วนอด และเคลื่อนแผ่
กระจายของเซลล์มะเร็งลำไส้และตับ: บทบาทของระบบนอนนิวโรนอลคอลิเนอร์จิก

ชื่อนักวิจัย: ดร.ทวิช สุริโย สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

E-mail Address : tawit@cri.or.th

ระยะเวลาโครงการ: 03/06/2556 – 03/06/2558

นอกเหนือไปจากความเป็นพิษต่อระบบประสาทคอลิเนอร์จิกแล้ว การศึกษาทางระบาดวิทยายังชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสัมผัสยาฆ่าแมลงคลอร์ไพริฟอสและความเสี่ยงของการเป็นมะเร็ง การศึกษาวิจัยในหลอดทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของคลอร์ไพริฟอสและอนุพันธ์ที่มีพิษของมันซึ่งได้แก่ คลอร์ไพริฟอสออกซอน ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด H508 เซลล์มะเร็งตับชนิด HepG2 เซลล์ผนังลำไส้ใหญ่ปกติชนิด CCD841 และเซลล์ตับปกติชนิด THLE-3 จากผลการทดลองพบว่า คลอร์ไพริฟอสที่ความเข้มข้น 0.1-100 ไมโครโมลาร์ สามารถเพิ่มจำนวนการมีชีวิตของเซลล์ลำไส้ใหญ่ H508 และ CCD841 ได้ในสภาวะที่ไม่มีซีรัมในอาหารเลี้ยงเซลล์ โดยการตอบสนองนี้จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของคลอร์ไพริฟอส ทั้งนี้ผลของคลอร์ไพริฟอสต่อการเพิ่มจำนวนการมีชีวิตของเซลล์นี้ไม่สามารถตรวจพบได้ในเซลล์ตับ HepG2 และ THLE-3 ในขณะที่คลอร์ไพริฟอสออกซอนจะทำให้เกิดการลดลงของการมีชีวิตของเซลล์ทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการศึกษานี้ จากการศึกษาวัฏจักรของเซลล์แสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของเซลล์ที่อยู่ในช่วงแบ่งเซลล์ และยังพบว่ามี การสร้างสายพันธุ์กรรมใหม่เพิ่มขึ้นในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ H508 ที่ได้รับคลอร์ไพริฟอสที่ความเข้มข้น 50-100 ไมโครโมลาร์ และแม้ว่าจะตรวจพบว่าคลอร์ไพริฟอสสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและกระตุ้นการสร้างสารอนุมูลอิสระได้ แต่อะโทรปีนซึ่งเป็นสารปิดกั้นการทำงานของตัวรับสัญญาณมัสคารินิกและสารเอ็นอะซิติลโคลีนอื่นซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถที่จะยับยั้งฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของคลอร์ไพริฟอสได้ นอกเหนือไปจากนี้ยังพบว่าคลอร์ไพริฟอสสามารถกระตุ้นการทำงานของตัวรับสัญญาณ EGFR และโปรตีนรับสัญญาณ ERK1/2 ได้อีกด้วย และพบว่าสารยับยั้งการทำงานของตัวรับสัญญาณ EGFR ซึ่งได้แก่ AG-1478 และสารยับยั้งการทำงานของโปรตีน MEK ซึ่งได้แก่ U0126 สามารถยับยั้งฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของคลอร์ไพริฟอสได้ กล่าวโดยสรุปได้ว่าคลอร์ไพริฟอสสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด H508 ได้โดยผ่านทางกระตุ้นของตัวรับสัญญาณ EGFR และการส่งต่อสัญญาณของ ERK1/2

คำหลัก : ยาฆ่าแมลง คลอร์ไพริฟอส เซลล์มะเร็งลำไส้ คอลิเนอร์จิก