218997

การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็งลดลง กระบวนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งประกอบด้วยหลายขั้นตอนคือ การยึดเกาะของเซลล์มะเร็งกับองค์ประกอบภายนอกเซลล์ กระบวนการสลายองค์ประกอบภายนอกเซลล์โดยเอนไซม์ รวมทั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็ง โดยที่เอนไซม์ในกลุ่ม matrix metalloproteinaseS (MMPs) และ urokinase plasminogen activator (uPA) จะมีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งโดยการสลายองค์ประกอบภายนอกเซลล์ ดังนั้นการควบคุมการทำงานหรือการแสดงออกของเอนไซม์ดังกล่าวจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ให้ความสนใจฤทธิ์ของ curcumin(Cur), demethoxycurcumin(DMC) และ bisdemethoxycurcumin(BDMC) ซึ่งเป็นสารสกัดจากที่ได้จากขมิ้นชันต่อการยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ถึงแม้จะมีการรายงานฤทธิ์ของ Cur ต่อการยับยั้งแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งแต่ยังไม่ทราบถึงกลไกที่แน่นอน นอกจากนี้ฤทธิ์ของ DMC และ BDMC ต่อการยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งก็ยังไม่ได้รับการศึกษา ดังนั้นในศึกษาครั้งนี้จึงทำการทดสอบและเปรียบเทียบผลของ Cur, DMC และ BDMC ต่อการสร้างเอนไซม์ MMP-2, MMP-9, uPA, MT1-MMP และ TIMP-2 ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ซึ่งจากผลการศึกษาการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งด้วยวิธี Boyden Chamber assay พบว่า Cur, DMC และ BDMC สามารถลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งชนิด HT1080 และ MDA-MB-231 ได้ โดยที่ DMC และ BDMC จะมีประสิทธิภาพสูงกว่า Cur และเมื่อศึกษาการหลั่งของเอนไซม์ uPA, MMP-2 และ MMP-9 ด้วยวิธี zymography ก็พบว่า Cur, DMC และ BDMC สามารถยับยั้งการหลั่งของเอนไซม์ uPA, MMP-9 และ active MMP-2 แต่ไม่มีผลต่อระดับของ Pro-MMP-2 โดยที่ BDMC และ DMC จะมีประสิทธิภาพสูงกว่า Cur นอกจากนั้นยังพบว่าผลการลดลงของ active MMP-2 เกิดเนื่องจากการลดลงของ MT1-MMP และ TIMP-2 ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปของเอนไซม์ MMP-2 โดยจากผลของ western blot พบว่า DMC และ BDMC ที่ความเข้มข้น 10 μM สามารถลดการสร้าง MT1-MMP และ TIMP-2 ได้ ในขณะที่ Cur สามารถลดการสร้าง MT1-MMP แต่ไม่มีผลต่อการสร้าง TIMP-2 และเมื่อศึกษาการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งกับองค์ประกอบภายนอกเซลล์ก็พบว่า Cur, DMC และ BDMC สามารถลดการจับกันระหว่างเซลล์ HT1080 กับ matrigel และ laminin โดยที่ DMC มีประสิทธิภาพสูงสุดตามมาด้วย BDMC และ Cur นอกจากนี้ยังพบว่า DMC และ BDMC สามารถยับยั้งการจับกันระหว่าง Collagen type IV กับเซลล์ HT1080 โดยที่ Cur ไม่มีผลต่อการจับดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตาม Cur, DMC และ BDMC สามารถลดการเหนี่ยวนำของ fibronectin ต่อการเปลี่ยนรูปของเอนไซม์ MMP-2 จากรูปที่ไม่ทำงานเป็นรูปที่ไม่ทำงานได้โดยที่ BDMC จะมีประสิทธิภาพสูงที่สุดตามมาด้วย DMC และ Cur ตามลำดับ ดังนั้นจึง สามารถสรุปได้ว่า DMC, BDMC สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่า Cur โดยที่สามารถลดการยึดเกาะของเซลล์กับองค์ประกอบภายนอกเซลล์ รวมทั้งสามารถลดการแสดงออกของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง

Abstract

Cancer metastasis, the spread of cancer cells from the primary neoplasm to distant sites and their growth there, is the major cause of death for cancer patients. Cancer metastasis consists of a complex cascade of event, including cell adhesion, invasion, and angiogenesis. Matrix metalloproteinase (MMPs) and urokinase plasminogen activator (uPA) are the extracellular matrix (ECM) degradation enzymes which are play a key role in cancer invasion. Therefore, to regulate the expression or the activity of ECM degradation enzymes are considered as target for therapeutic intervention. Curcumin(Cur), demethoxycurcumin(DMC) and bisdemethoxycurcumin (BDMC) were found in *Curcuma longa linn.* Curcumin has been reported in anti metastasis, but the mechanism remains unclear. Moreover, DMC and BDMC have not investigated whether they exhibit anti-metastasis to the same extend as curcumin. In this study, we comparatively examined the influence of Cur, DMC and BDMC on the in vitro invasion of HT1080 and MDA-MB-231 cells. Moreover the expression of MMP-2, MMP-9, MT1-MMP, uPA and TIMP-2 was examined in HT1080 cells. The result from the Boyden chamber assay indicated that DMC and BDMC show higher anti-invasion of HT1080 and MDA-MB-231 cells than Cur, whereas the cells migration was not effected. Zymography indicated that Cur, DMC and BDMC significantly inhibited uPA, active MMP-2 and MMP-9 but not pro-MMP-2 secretion in a dose dependent manner in which DMC and BDMC show higher potency than Cur. The suppression of active MMP-2 level correlated with inhibition of MT1-MMP and TIMP-2 protein levels involved in pro-MMP-2 activation. Importantly, BDMC and DMC at 10 μM reduced MT1-MMP and TIMP-2 protein expression, but Cur slightly reduced only MT1-MMP but not TIMP-2. In addition Cur, DMC and BDMC reduced HT1080 cells adhesion to matrigel and laminin with difference potency which is DMC>BDMC>Cur. Moreover, DMC and BDMC at 20 μM reduced the cells adhesion to collagen but not Cur. In the other hand, Cur, DMC and BDMC reduced the effect of fibronectin induced MMP-9 secretion and MMP-2 activation with dose dependent manner and BDMC show higher potency followed by DMC and Cur respectively. In conclusion, our results demonstrated that DMC and BDMC show higher antimetastasis potency than Cur by differentially reduced cells adhesion and down-regulated ECM degradation enzymes.