

รหัสโครงการ : MRG5180099

ชื่อโครงการ : การศึกษากลไกของเคอร์คิวมินจากขมิ้นชันต่อการยับยั้งการทำงานของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน
ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562

คณะผู้ทำการศึกษา ผศ. ดร. ทรงยศ อนุชปรีดา¹

รศ. ดร. พรงาม ถิมตระกูล²

นางสาวสุวรรณา เสมศิริ¹

หน่วยงานที่สังกัด

¹แขนงวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

E-mail Address : songyot@chiangmai.ac.th หรือ sanuchapreeda@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

บทคัดย่อ :

มะเร็งเม็ดเลือดขาวเป็นมะเร็งที่สามารถพบได้บ่อย จากการศึกษาพบว่าภายในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนจะมีการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน (WT1) ในระดับสูง ดังนั้นวิล์มทูเมอร์วัน จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในการตรวจสอบมะเร็งเม็ดเลือดขาวรวมทั้งใช้ประเมินความรุนแรงของโรคได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเคอร์คิวมินสามารถลดระดับการแสดงออกของวิล์มทูเมอร์วันเอ็มอาร์เอ็นเอ และโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันได้ แต่อย่างไรก็ตามกลไกในการยับยั้งการแสดงออกยังเป็นเรื่องที่ยังไม่ชัดเจนในขณะนี้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อศึกษาผลของสารสกัดเคอร์คิวมินบริสุทธิ์ต่อวิล์มทูเมอร์วันไอโซฟอร์มทั้ง 4 ชนิด ในเซลล์ U937 ที่นำอินวิล์มทูเมอร์วันไอโซฟอร์มเข้าสู่เซลล์ และเพื่อศึกษาผลของเคอร์คิวมินต่อการส่งสัญญาณในการกระตุ้นการทำงานของอินวิล์มทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 จากการศึกษาพบว่า สารสกัดเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งทั้งยีน และโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันไอโซฟอร์ม +/- ได้ดีที่สุด ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด U937 ที่มีการโคลนอินวิล์มทูเมอร์วันทั้ง 4 ชนิดเข้าไป (exogenous Wilms' tumor 1) โดยผ่านกลไกการทำลายโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน จากการศึกษากลไกของสารสกัดเคอร์คิวมินต่อการลดลงของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันชนิด endogenous ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 โดยกลไกที่สำคัญคือสารสกัดเคอร์คิวมินบริสุทธิ์ลดการทำงานของ PKC α ซึ่งอยู่ใน PKC signaling pathway โดยผลที่ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ PKC α inhibitor (GF109203x ที่ความเข้มข้น 0.0084 μ M) ต่อการแสดงออกยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน คือเมื่อยับยั้งการทำงานของ PKC α ทำให้ส่งผลยับยั้งการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันด้วย นอกจากนี้ยังศึกษาต่อถึงกลไกต่อเนื่องในระดับลึกลงไป (downstream) ของ PKC pathway พบว่าโปรตีน JNK เป็นโปรตีนอีกตัวที่เข้ามาเกี่ยวข้อง

เนื่องจากผลการศึกษาของสารสกัดเคอร์คิวมินต่อโปรตีน phospho kinase พบว่าสารสกัดเคอร์คิวมินสามารถลดการแสดงออกของ phosphorylation JNK pan (T183/Y185, T221/Y223) ได้ และเมื่อใช้ JNK inhibitor (SP600125 ที่ความเข้มข้น 0.040 μM) ให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับผลการศึกษาของสารสกัดเคอร์คิวมิน คือสามารถลดการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันได้ ดังนั้นกลไกที่สำคัญของที่เกี่ยวข้องในการลดระดับของฮีนและโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันโดยสารสกัดเคอร์คิวมิน จะผ่านกลไกการส่งสัญญาณของ PKC และส่งผ่านมาทางโปรตีน JNK โดยโปรตีน JNK จะเป็นตัวกระตุ้นการทำงานต่อไปที่โปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ซึ่งความสำคัญของกลไกนี้สามารถใช้เป็นความรู้พื้นฐานที่สามารถนำไปใช้เพื่ออธิบายกลไกของสารสกัดเคอร์คิวมินบริสุทธิ์ ในการนำไปประยุกต์ใช้ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ในอนาคต

Project Code : MRG5180099

Project Title : Inhibitory mechanism of curcumin from Turmeric on Wilms' tumor 1 expression in K562 cell line

Authors : Asst. Prof. Dr. Songyot Anuchapreeda¹
Assoc. Prof. Dr. Pornngarm Limtrakul²
Miss Suwanna Semsri¹

Addresses : ¹Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences,
Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai,
Thailand

E-mail Address : songyot@chiangmai.ac.th or sanuchapreeda@yahoo.com

Project Period : 2 months

Abstract:

Leukemias commonly occur world-wide. The Wilms'tumor1 (WT1) protein is highly expressed in leukemic blast cells of myeloid and lymphoid origin. Thus, WT1 mRNA serves as a tumor marker for leukemias detection and monitoring disease progression. In previous studies, we found that curcumin could inhibit WT1 mRNA and WT1 protein levels in leukemic cell lines. However, the inhibitory mechanism of curcumin's action is at present unclear. The aims of this study were to investigate the effect of curcumin on WT1 isoforms in U937 transfected cells and to study the inhibitory mechanism of curcumin on the WT1 protein signaling pathway in a K562 cell model. The WT1 (+/+) isoform showed the greatest inhibitory response after curcumin treatment. The inhibitory mechanism of this exogenous WT1 protein was related to the protein degradation mechanism. In addition, the inhibitory effect of curcumin in endogenous WT1 in K562 cells involved the PKC α signaling pathway. This result was in accordance with the results using PKC α inhibitor (0.0084 μ M GF109203x) treatment. GF109203x decreased *WT1* gene and WT1 protein expression. The downstream of PKC α pathway was determined. Curcumin decreased the level of phosphorylation of JNK pan (T183/Y185, T221/Y223). Thus, JNK was the protein signal in the endogenous inhibitory pathway. JNK inhibitor (0.040 μ M SP600125) was used for confirmation. The *WT1* gene and WT1 protein were inhibited after SP600125 treatment. In summary, the PKC and JNK signaling pathway was the major inhibitory pathway of curcumin on *WT1* gene and WT1 protein expression. Thus, this mechanism increases our basic knowledge concerning curcumin's effect on leukemic cells, and then may facilitate clinical use in the future.