249785
ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249785

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ผลของสารไพเพอรีนต่อการยับยั้งการสร้างไขมันในเซลล์ของมะเร็งเฮปจีทู

Contribution of piperine on De-novo fatty acid synthesis of human cancer cell HepG2

รหัสโครงการ

R2554B086

โดย

ดร. ปิยะรัตน์ ศรีสว่าง

วันที่ 5 มิถุนายน 2555

b00255168
CD

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249785

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ
ผลของสารไพเพอรีนต่อการยับยั้งการสร้างไขมันในเซลล์ของมะเร็งเฮปจีทู

Contribution of piperine on De-novo fatty acid synthesis of human cancer cell HepG2

รหัสโครงการ

R2554B086

โดย

ดร. ปิยะรัตน์ ศรีสว่าง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

วันที่ 5 มิถุนายน 2555

Acknowledgements

This research was supported by the Naresuan University Grant for the fiscal year 2554. The author would like to thank Assoc.Prof.Pongsak Utaisincharoen and Assist.Prof.Sutatip Pongcharoen for their guidance, valuable advices, supervision, excellent encouragement, enthusiasm, and patient throughout this research. I am particularly indebted to the Department of Physiology, Faculty of Medical Science, and Faculty of Medicine, Naresuan University for helpfulness and co-operation in this research.

Piyarat Srisawang

รหัสโครงการ

R2553B029

Project Title (ชื่อโครงการ)

(ภาษาไทย) : ผลของสารไพเพอรีนต่อการยับยั้งการสร้างไขมันในเซลล์ของมะเร็งเฮปจีทู

(ภาษาอังกฤษ): Contribution of piperine on De-novo fatty acid synthesis of human cancer cell HepG2

ชื่อนักวิจัย

ดร. ปิยะรัตน์ ศรีสว่าง (หัวหน้าโครงการวิจัย)
สังกัดภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศ

ผศ.ดร.สุธาทิพย์ พงษ์เจริญ (นักวิจัยที่ปรึกษาและผู้ร่วมวิจัย)
สังกัดภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Project period (ระยะเวลาโครงการ) : 1 ปี

Abstract (บทคัดย่อ)

249785

In contrast to non-malignant cells, cancer cells display an excessive fatty acid genesis derived from de novo fatty acid synthesis. The inhibition of lipogenic enzymes, ATP citrate lyase (ACL), acytyl-CoA carboxylase (ACC) and fatty acid synthase (FASN), used in de novo fatty acid synthesis process has been reported to reduce fatty acid in cancer cells resulting in decreases of cell proliferation and cell viability as well as a reduction of tumor size. In fact, the inhibitory action of these enzymes does not affect both cell proliferation and viability of normal cells. Therefore, this study focused on the effect of piperine on lipogenesis processes that might contribute to the growth and proliferation of cancer cells. Tryphan blue staining and MTT assay were used to analyze cell viability and proliferation. The proliferation of HepG2 cells was significantly inhibited approximately 49.09% at 24 h , 61.34% at 48 h and 77.02% at 72 h at piperine concentration 1 mmole/L compared with control group. The expression of FASN protein determined by Western analysis piperine treated groups was decreased when compared with control group. The results indicate that piperine decreased the expression of FASN protein that regulates intracellular de novo fatty acid synthesis in HepG2 cells. In order to examine whether the cytotoxic effect of piperine was related to the induction of apoptosis, HepG2 cells apoptosis was analyzed by flow cytometry. Annexin V/propidium iodide staining was assessed to measure the externalization of phosphatidylserine (PS) during early apoptosis. Notably, a considerable accumulation of late apoptotic cells, approximately to 24% and 89%, was visible at 24 and 48 h of 1 mmole/L piperine treatment, respectively. The apoptotic nuclear changes were evaluated by DAPI staining under fluorescence microscopy. Cells underwent chromatin condensation, nuclear fragmentation, and membrane blebbling after piperine treatment for 24 h. Our data demonstrate that piperine is efficacious in inhibiting the proliferation of HepG2 cells, most likely by reducing FASN expression that lead to induction of HepG2 cell arrested in the G1/G0 phase and apoptosis. Our data demonstrate piperine is efficacious in inhibiting the proliferation of HepG2 cells, most likely by induction of apoptosis in a manner that is time- and concentration-dependent. The precise mechanisms of FASN inhibition-induced cells death might involve the accumulation of the toxic intermediary metabolites, malonyl CoA, which will be further determined.

Keywords (คำหลัก) : piperine , HepG2 cells, apoptosis, de novo fatty acid synthesis, fatty acid synthase enzyme FASN

Abstract (บทคัดย่อ)

249785

เซลล์มะเร็งมีความแตกต่างจากเซลล์ปติในแง่ของการมีกระบวนการสร้างไขมันภายในเซลล์ชนิด de novo fatty acid synthesis สูง เอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการนี้ คือ ATP citrate lyase (ACL), acytyl-CoA carboxylase (ACC) และ fatty acid synthase (FASN) การยับยั้งเอนไซม์ในกระบวบการสร้าง de novo fatty acid เหล่านี้ ส่งผลให้ลดปริมาณ fatty acid ภายในเซลล์ ซึ่งนำไปสู่การลด proliferation ของเซลล์มะเร็ง โดยไม่ส่งผลลด proliferation และลด viability ของเซลล์ปกติ การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของ piperine ต่อขบวนการ lipogenesis processes ซึ่งจะสามารถลดปริมาณ fatty acid ภายในเซลล์ และจะส่งผลลด proliferation และลด viability ของเซลล์มะเร็ง HepG2 ได้ Tryphan blue staining และ MTT assay จะใช้ศึกษา cell viability และproliferation ของเซลล์มะเร็ง การ proliferation ของ HepG2 cells พบว่าถูกยับยั้งประมาณ 49.09% 61.34% และ 77.02% ในระยะเวลาการได้รับ 24 ชม. 48 ชม. และ 72 ชม. ตามลำดับ ที่ piperine ความเข้มข้น 1 mmole/L การ expression ของ FASN protein วิเคราะห์โดย Western analysis พบว่ากลุ่มที่ได้รับ piperine การ expression ของ FASN ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า piperien มีบทบาทต่อการ expression ของ FASN protein ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมปริมาณ de novo fatty acid synthesis ใน HepG2 cells และมีผลต่อ proliferation และ viability ของเซลล์มะเร็ง HepG2 การทดลองนี้ได้ศึกษา cytotoxic effect ของ piperine ต่อการเกิด apoptosis โดยทำการวิเคราะห์ด้วย flow cytometry ซึ่งทำการย้อมเซลล์ด้วย Annexin V/propidium iodide เพื่อศึกษาการเกิด externalization ของ phosphatidylserine (PS) ซึ่งเป็นขบวนการเกิด early apoptosis ผลการทดลองพบว่า piperine ที่ความเข้มข้น 200 และ 500 μmole/L ในระยะเวลา 24 และ 48 ชม. มีผลเพิ่มการเกิด early apoptotic และ late apoptosis และยังพบว่า piperine ที่ความเข้มข้น 1 mmole/L ในระยะเวลา 24 และ 48 ชม. มีผลลดการเกิด early apoptotic แต่จะเพิ่ม late apoptosis ได้ประมาณ 80-89% ผลการศึกษา cell cycle พบว่า piperien จะเพิ่มจำนวนเซลล์ในช่วง G1/G0 phase เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control การเกิด apoptosis ยังสามารถยืนยันได้จากการเปลี่ยนแปลง nuclear morphology ซึ่งวิเคราะห์โดยการย้อมเซลล์ด้วย DAPI และส่องด้วยกล้อง fluorescence microscope ผลการทดลองทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า piperine สามารถยับยั้งการเกิด proliferation ของ HepG2 cells ในลักษณะของ time และ concentration-dependent โดยเหนี่ยวนำให้เกิดการ arrest ของ HepG2 cells ในช่วง G1/G0 phase และทำให้เกิด apoptosis กลไกของ piperine ต่อการยับยั้ง FASN expression สามารถอธิบายได้ด้วยสมมุติฐานที่เกี่ยวข้องกับการสะสมของ toxic intermediary metabolites คือ malonyl CoA ซึ่งต้องรอการพิสูจน์ต่อไป งานวิจัยนี้ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษายาที่ใช้รักษามะเร็งที่มีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งในอนาคตต่อไปได้

Keywords (คำหลัก) : HepG2 cells, apoptosis, de novo fatty acid synthesis, fatty acid synthase enzyme FASN