

# ACUTE CADMIUM EXPOSURE INDUCES INTERLEUKIN-6 EXPRESSION AND SECRETION THROUGH ERK1/2 AND NF- $\kappa$ B PATHWAYS IN HUMAN ASTROCYTES

SUTTINEE PHUAGKHAOPONG 5737342 SCPM/M

M.Sc. (PHARMACOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: PORNPUN VIVITHANAPORN, Ph.D., NATHAWUT SIBMOOH, M.D., Ph.D., KULATHIDA CHAITHIRAYANON, Ph.D., SIRADA SRIHIRUN, Ph.D., KRAN SUKNUNTHA, M.D., Ph.D.

## ABSTRACT

Chronic exposure to cadmium is associated with neurological disorders such as learning disability, memory deficit and glioma. Cadmium is absorbed via ingestion and inhalation and accumulated in kidneys, liver, lungs and brain. Astrocytes play an important role in the defense against toxicants and inflammatory response. The direct toxicity of cadmium by oxidative stress has been reported in astrocytes and neurons. In peripheral tissues, cadmium promotes the secretion of inflammatory mediators, resulting in tissue injury. Up-regulation of proinflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 has been linked to the development of brain cancer and neurodegenerative diseases. Herein, effects of non-toxic concentrations of cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) on inflammatory response in U-87 MG human astrocytoma cells (U-87 MG) and underlying mechanisms were investigated. Intracellular cadmium concentrations significantly increased after exposure to 1 and 10  $\mu$ M CdCl<sub>2</sub> for 6 and 24 hours compared with untreated cells. Median toxic concentrations of CdCl<sub>2</sub> for U-87 MG were 56.24 $\pm$ 1.16 and 20.65 $\pm$ 1.12  $\mu$ M at 6 and 24 hours, respectively. CdCl<sub>2</sub> at 1 and 10  $\mu$ M promoted IL-1 $\beta$  and IL-6 mRNA expression at 3 and 6 hours post-exposure, while TNF- $\alpha$  mRNA was only increased after treatment with 10  $\mu$ M CdCl<sub>2</sub> at 3 hours post-exposure. CdCl<sub>2</sub> at these concentrations increased phosphorylation of ERK1/2 and p65 NF- $\kappa$ B at 15 and 30 minutes after cadmium treatment, respectively, as well as promoted IL-6 secretion from U-87 MG at 6 and 24 hours post-exposure to cadmium. Cadmium-induced IL-6 was suppressed by ERK1/2 and NF- $\kappa$ B inhibitors, indicating that ERK and NF- $\kappa$ B pathways play a role in cadmium-induced IL-6 production in human astrocytes. Therefore, inhibition of these pathways might be useful for preventing neuroinflammation and glioma progression induced by cadmium.

KEY WORDS: CADMIUM/ INFLAMMATION/ IL-6/ ERK1/2/ NF- $\kappa$ B

68 pages

พิษแคดเมียมเฉียบพลันเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างและการหลั่งอินเทอร์ลิวคิน-6 จากเซลล์แอสโตรไซต์ผ่าน ERK1/2 และ NF-KB

ACUTE CADMIUM EXPOSURE INDUCES INTERLEUKIN-6 EXPRESSION AND SECRETION THROUGH ERK1/2 AND NF-KB PATHWAYS IN HUMAN ASTROCYTES

ศุทธิณี เผือกขาวผ่อง 5737342 SCPM/M

วท.ม. (เภสัชวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : พรพรรณ วิวิธนาภรณ์, Ph.D., ณัฐวุธ ติบห่มุ, M.D., Ph.D., กุลธิดา ชัยธีระขานนท์, Ph.D., สิริดา ศรีหิรัญ, Ph.D., กรานต์ สุขนันท์ธนะ, M.D., Ph.D.

#### บทคัดย่อ

การสัมผัสสารแคดเมียมเป็นระยะเวลานานส่งผลให้เกิดความผิดปกติต่อระบบประสาท แคดเมียมสามารถเข้าสู่ร่างกายผ่านการดูดซึมผ่านการกินเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารหรือการหายใจเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจ แล้วไปสะสมในไต ตับ ปอด และสมอง เซลล์แอสโตรไซต์มีบทบาทสำคัญต่อการป้องกันการตายของเซลล์ประสาทเมื่อได้รับสารพิษ มีการศึกษาว่าการเกิดพิษจากแคดเมียมในเซลล์แอสโตรไซต์และเซลล์ประสาทเกิดจากอนุมูลอิสระ ในเนื้อเยื่อนอกสมองแคดเมียมกระตุ้นการสร้างและปลดปล่อยสาร ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ ส่งผลให้เกิดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ การเพิ่มขึ้นของไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  และ IL-6 มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของมะเร็งสมองและโรคมะเร็งสมอง งานวิจัยนี้ศึกษาผลของแคดเมียมคลอไรด์ในระดับที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ที่มีต่อการสร้างสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบและกลไกในเซลล์แอสโตรไซต์ U-87 MG ความเข้มข้นของแคดเมียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการกระตุ้นด้วยแคดเมียมคลอไรด์ 1 และ 10  $\mu\text{M}$  เป็นระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง ค่ามัธยฐานของความเป็นพิษของแคดเมียมต่อ U-87 MG เป็น  $56.24 \pm 1.16$  และ  $20.65 \pm 1.12 \mu\text{M}$  ที่เวลา 6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ แคดเมียมคลอไรด์ที่ 1 และ 10  $\mu\text{M}$  เพิ่มการแสดงออกของยีน IL-1 $\beta$  และ IL-6 ที่ 3 และ 6 ชั่วโมง ในขณะที่การแสดงออกของยีน TNF- $\alpha$  เพิ่มขึ้นหลังจากการกระตุ้นด้วยแคดเมียมคลอไรด์ 10  $\mu\text{M}$  ที่ 3 ชั่วโมงเท่านั้น แคดเมียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นนี้สามารถกระตุ้นการเติมหมู่ฟอสเฟตของ ERK1/2 และ p65 NF-KB ที่เวลา 15 และ 30 นาทีหลังจากการกระตุ้นด้วยแคดเมียมตามลำดับ รวมทั้งกระตุ้นการหลั่ง IL-6 จาก U-87 MG ที่ 6 และ 24 ชั่วโมงหลังจากการกระตุ้นด้วยแคดเมียม การแสดงออกของยีนและการหลั่งที่เพิ่มขึ้นของ IL-6 สามารถยับยั้งด้วยตัวยับยั้งจำเพาะของ ERK1/2 และ NF-KB ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่า การยับยั้ง ERK1/2 และ NF-KB อาจช่วยป้องกันการอักเสบของสมองและการพัฒนาของมะเร็งสมองที่เกิดจากการกระตุ้นจากพิษของแคดเมียม