

IV

Thesis Title Inhibitory Effect of Curcumin on TPA-induced c-fos
Expression in Mouse Skin

Author Miss. Waraporn Bumrung

M.Sc. Biochemistry

Examining committee :

Assistant Prof. Dr. Porn-ngarm	Limtrakul	Chairman
Associate Prof. Dr. Maitree	Suttajit	Member
Associate Prof. Dr. Viboon	Rattanapanone	Member
Associate Prof. Dr. Luksana	Makonkawkeyoon	Member
Associate Prof. Dr. Amphawan	Apisariyakul	Member

Abstract

Humans are exposed to a number of carcinogenic chemicals and other carcinogenic stimuli (ultraviolet light, radon, x-rays), etc. in their life. Epidemiology and animal model studies have indicated that cancer risk may be modified by changes in dietary habits or components. Curcumin is a phenolic compound that has been identified as the major yellow pigment in turmeric. It has been used as a spice, to color cheese and butter, as a cosmetic and in some medicinal preparations in many parts of the world. Curcumin possesses both antiinflammatory and antioxidant properties. Moreover, curcumin exhibit anti-mutagenic activity. The present study was designed to investigate the chemopreventive action of curcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) - promoted skin tumor formation in male Swiss albino mice. In a two stage tumorigenesis model, single topical application of 390 nmol DMBA to the backs of mice followed a week later by promotion with 4 nmol TPA twice weekly for 25 weeks resulted in the formation of 5.9 skin tumors per mouse, and 100% of the mice

had tumors. In a parallel group of mice, in which the animals were treated with 10 μmol curcumin for 5 min, 1 h, 2 h and 1 day prior to TPA treatment. The percentage of tumor-bearing mice was inhibited by 100% , 80%, 67%, and 50%, respectively. The number of tumors per mouse inhibited by 100%, 91%, 85%, and 42%, respectively. The relative tumor volume per mouse was decreased by 100%, 97%, 66% and 27%, respectively. These results indicate that curcumin treatment significant ($p < 0.001$) inhibits tumor promotion in the two stage mouse skin tumorigenesis.

This study also shows the inhibitory effect of curcumin on c-fos expression by determination of fos-p62 protein levels and c-fos RNA levels in mouse skin tumors which were induced by TPA. Tumors developed in curcumin treated animals showed significantly ($p < 0.001$) lower levels of c-fos expression than tumors in control group (no curcumin treatment). The enhanced expression of the fos-p62 protein in tumor of the animals which treated with 10 μmol curcumin for 5 min, 1 h, 2h and 1 day prior to TPA treatment were inhibited by 100%, 67%, 37% and 18%, respectively. The enhanced expression of the c-fos RNA in tumor of the animals treated with 10 μmol curcumin for 5 min, 1 h, 2 h and 1 day prior TPA treatment were inhibited by 100%, 95%, 83% and 0%, respectively. Curcumin at high dose 30 μmol , 20 μmol showed highly significant ($p < 0.001$) inhibitory effect of c-fos mRNA induction by TPA (1h).

It was concluded that curcumin may protect against TPA mediated promotion of skin tumor by modulation the c-fos expression. Curcumin may block a certain point on the signal transduction pathway leading to c-fos expression and then regulated cell growth.

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของเคอร์คิวมินต่อการยับยั้งการแสดงออกของยีนมะเร็ง
c-fos ในผิวหนังของหนูถีบจักรที่ถูกกระตุ้นด้วย TPA

ผู้เขียน นางสาววราภรณ์ บำรุง

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :

ผศ.ดร. พรงาม	ลี้มตระกูล	ประธานกรรมการ
รศ.ดร. ไมตรี	สุทธจิตต์	กรรมการ
รศ.ดร. วิบูลย์	รัตนานนท์	กรรมการ
รศ.ดร. ถักษณา	มกรแก้วเกตุร	กรรมการ
รศ.ดร. อัมพวัน	อภิสรียะกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันมนุษย์มีโอกาสได้รับและสัมผัสกับสารก่อมะเร็งหรือตัวกระตุ้นการเกิดมะเร็งมากขึ้นในชีวิตประจำวัน ทั้งสารก่อมะเร็งที่เป็นสารเคมีและสารก่อมะเร็งอื่น ๆ ได้แก่ รังสีอัลตราไวโอเล็ต UV เอ็กซ์เรย์ จากการศึกษาทางระบาดวิทยาและในสัตว์ทดลองพบว่าวิธีป้องกันมะเร็งที่ดีที่สุดอีกทางหนึ่ง คือ พยายามหลีกเลี่ยงอาหารที่มีสารก่อมะเร็งผสมอยู่และพยายามรับประทานอาหารที่สารป้องกันมะเร็ง เคอร์คิวมิน เป็นสารสีเหลืองในขมิ้น โดยทั่วไปนิยมใช้ขมิ้นเป็นเครื่องเทศ ทำให้อาหารมีสีนํารับประทาน ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางและยา นอกจากนั้นเคอร์คิวมินมีคุณสมบัติต่อต้านการเกิดออกซิเดชัน, ด้านการอักเสบ และด้านการกลายพันธุ์ การทดลองนี้ได้ศึกษาผลของเคอร์คิวมินต่อการเกิดเนื้องอกบนผิวหนังหนูถีบจักรเพศผู้ (Swiss albino mice) ที่ถูกกระตุ้นด้วยสารส่งเสริมมะเร็ง TPA โดยอาศัยทฤษฎีการเกิดมะเร็งแบบสองขั้นตอน โดยให้สารก่อมะเร็ง DMBA ปริมาณ 390 nmol หนึ่งครั้ง ทาบนผิวหนังหนูทดลอง หลังจากนั้นหนึ่งสัปดาห์หนูจะได้รับสารส่งเสริมมะเร็ง TPA สัปดาห์ละสองครั้งติดต่อกัน 25 สัปดาห์ จากผลการทดลอง หนูทดลองกลุ่มนี้เกิดก้อนเนื้องอก 100% โดยเกิดก้อนเนื้องอกจำนวน 5.9 ก้อนต่อหนูหนึ่งตัว ส่วนหนูทดลองกลุ่มนี้ได้รับเคอร์คิวมินปริมาณ 10 μmol เป็นเวลา 5 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง และ 1 วัน ก่อนได้รับ TPA พบว่าเปอร์เซ็นต์ของหนูที่มีก้อนเนื้องอกลดลง 100%, 80%, 67% และ 50% ตามลำดับ, จำนวนก้อนเนื้องอกต่อหนูหนึ่งตัวลดลง 100%, 91%, 85% และ 42% ตามลำดับ และปริมาณของก้อนเนื้องอกต่อหนูหนึ่งตัวลดลง 100%, 97%, 66% และ 27% ตามลำดับ จากผลการ

ทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอกโดยยับยั้งขั้นตอนการส่งเสริมการเกิดเนื้องอกได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลการยับยั้งของเคอร์คิวมินต่อการแสดงออกของยีนมะเร็ง c-fos โดยทำการตรวจวัดปริมาณโปรตีน fos-p62 และปริมาณ c-fos RNA ในเนื้องอกบนผิวหนังหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำโดย TPA พบว่าก่อนเนื้องอกที่ได้จากหนูที่ได้รับเคอร์คิวมิน มีการแสดงออกของยีนมะเร็ง c-fos น้อยกว่าก่อนเนื้องอกที่ได้จากหนูที่ไม่ได้รับเคอร์คิวมิน โดยก่อนเนื้องอกที่ได้จากหนูทดลองที่ได้รับเคอร์คิวมิน 10 μmol เป็นเวลา 5 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง และ 1 วัน ก่อนได้รับสารส่งเสริมมะเร็ง TPA การแสดงออกของโปรตีน fos-p62 ลดลง 100%, 67%, 37% และ 18% ตามลำดับ และการแสดงออกของ c-fos RNA ลดลง 100%, 95%, 83% และ 0% ตามลำดับ และเคอร์คิวมิน 30 μmol และ 20 μmol สามารถยับยั้งการแสดงออกของ c-fos RNA ที่ถูกเหนี่ยวนำโดย TPA (1 h) ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

สรุปได้ว่าเคอร์คิวมินสามารถป้องกันการเหนี่ยวนำให้เกิดเนื้องอก โดย TPA ซึ่งมีผลต่อการแสดงออกของยีนมะเร็ง c-fos ดังนั้น เคอร์คิวมินอาจยับยั้งที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งหรือหลายขั้นตอนในวิถีสัญญาณควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยมีผลต่อเนื่องต่อการแสดงออกของยีนมะเร็ง c-fos