Thesis Title	Effect of Curcumin on P-glycoprotein in Carcinoma of Cervix Cells (KB-carcinoma cell lines) Induced by Vinblastine
Author	Miss Pornthip Waiwut
M.S.	Biochemistry

Examining committee	Assoc. Prof. Dr. Porn-ngarm Limtrakul	Chairman
	Dr. Surathat Pongnikorn	Member
	Assoc. Prof. Dr. Viboon Rattanapanone	Member
	Asst. Prof. Dr. Ratana Banjerdpongchai	Member

ABSTRACT

A major obstacle to successful cancer chemotherapy is the development of multidrug resistance (MDR) by cancer cells. The overexpression of the *mdr-1* gene product, P-glycoprotien (P-gp), and the increasing of drug efflux are characteristics of MDR cells. *mdr-1* gene expression can be induced by many extracellular stimulators including cytotoxic drugs and chemical carcinogens.

Curcumin is a natural phenolic compound found in the rhizomes of turmeric (*Curcuma longa*) with beneficial biological activities including antioxidant, anticarcinogenic and anti-inflammation. The recent study has suggested that curcumin is able to modulate *in vitro* for both expression and function of hepatic P-gp. This study demonstrated the effect of curcumin on P-gp expression and function in carcinoma of cervix cells (KB-carcinoma cell lines) induced by vinblastine.

Primarily, KB-carcinoma cells were treated with vinblastine. P-gp expression was determined by Western blot analysis. The result revealed that vinblastine (0-5 μM) for 24 h dose

dependence induced P-gp expression in KB-carcinoma cells and vinblastine (5 μM) itself induced P-gp expression in KB-carcinoma cells at time dependence (0-24 h). Afterward, the effect of curcumin on P-gp expression was assessed. The result indicated that curcumin (0-25 μM) dose dependently inhibited vinblastine (5 μM) induced P-gp in KB-carcinoma cells and curcumin 10 μM inhibited vinblastine (5 μM) induced P-gp at time (0-5 h) dependent manner.

P-gp function was determined as cell survival by 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. According to the study of the effect of curcumin on P-gp function, it was demonstrated that curcumin 0, 10, 25 μM and verapamil 10 μM (positive control) co-treated with vinblastine (0-50 μM) dose dependently decreased cell survival in KB-carcinoma cells. Curcumin 0, 10, 25, and 50 μM and verapamil 10 μM co-treated with vinblastine (5 μM) decreased cell survival in time-ranging (3-96 h). Curcumin 10 and 25 μM have inhibitory effect on cell survival less than verapamil 10 μM, while curcumin 50 μM shows the strongest inhibitory effect.

This study suggested that curcumin can modulate both expression and function of P-gp in KB-carcinoma cell lines induced by vinblastine.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของเคอร์คิวมินต่อพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์มะเร็งปากมดลูกของมนุษย์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยยาวินบลาสติน

ชื่อผู้เขียน นางสาว พรทิพย์ ไววุฒิ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. พรงาม ลิ้มตระกูล	ประธานกรรมการ
นพ. สุรทัศน์ พงษ์นิกร	กรรมการ
รศ.ดร. วิบูลย์ รัตนาปนนท์	กรรมการ
ผศ.ดร.พญ. รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย	กรรมการ

บทคัดย่อ

ปัญหาสำคัญที่ทำให้การรักษามะเร็งด้วยเคมีบำบัดไม่ประสบความสำเร็จคือ เซลล์มะเร็งเกิดการดื้อยาหลายขนาน (multidrug resistance) ลักษณะสำคัญของเซลล์มะเร็งที่ดื้อต่อยาหลายขนานคือ เซลล์มีการแสดงออกของโปรตีนที่ได้จากยีน *mdr-1* คือ พี-ไกลโคโปรตีน (P-glycoprotein, P-gp) สูงและเซลล์มีการขับยาออกนอกเซลล์เพิ่มขึ้น การแสดงออกของยีน *mdr-1* สามารถเหนี่ยวนำได้โดยสารเคมีหลายชนิดรวมทั้งยาที่เป็นพิษต่อเซลล์และสารเคมีก่อมะเร็ง

เคอร์คิวมิน เป็นสารประกอบฟีนอลพบในรากเหง้าของขมิ้น (*Curcuma longa*) เคอร์คิวมินมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์หลายประการรวมทั้งคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการเกิดมะเร็ง และต้านการอักเสบ นอกจากนี้ยังพบว่าเคอร์คิวมินสามารถควบคุมการแสดงออกและการทำงานของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์ตับหนู งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของเคอร์คิวมินต่อการแสดงออกและการทำงานของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์มะเร็งปากมดลูกของมนุษย์ (KB-carcinoma cell lines) ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยยาวินบลาสติน

ในขั้นตอนแรกของการทดลองได้เหนี่ยวนำเซลล์ KB-carcinoma cells ด้วยยาวินบลาสติน วัดการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนโดยวิธีการ Western blot จากการทดลองพบว่า

ยาวินบลาสตินความเข้มข้น 0-5 μM ที่เวลา 24 ชั่วโมง สามารถเหนี่ยวนำการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์ KB-carcinoma cells ได้ตามความเข้มข้นของยาวินบลาสตินที่เซลล์ได้รับ และพบว่ายา วินบลาสตินความเข้มข้น 5 μM สามารถเหนี่ยวนำการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์ KB-carcinoma cells ที่เวลา 0-24 ชั่วโมงได้ตามเวลาที่เซลล์ได้รับยาวินบลาสติน หลังจากนั้นได้ศึกษาผลของเคอร์คิวมินต่อการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์ KB-carcinoma cells พบว่า เคอร์คิวมินความเข้มข้น 0-25 μM ที่เวลา 5 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยยาวินบลาสตินความเข้มข้น 5 μM ตามความเข้มข้นที่ได้รับเคอร์คิวมิน และเคอร์คิวมินความเข้มข้น 10 μM ที่เวลา 0-5 ชั่วโมงสามารถยับยั้งการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยยาวินบลาสตินความเข้มข้น 5 μM ได้ตามเวลาที่ได้รับเคอร์คิวมิน

หน้าที่ของพี-ไกลโคโปรตีนวัดจากอัตราการมีชีวิตอยู่ของเซลล์โดยวิธี 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay จากการศึกษาผลของเคอร์คิวมินควาามเข้มข้น 0, 10, 50 μM และ verapamil (positive control) ความเข้มข้น 10 μM ต่ออัตราการมีชีวิตของเซลล์ KB-carcinoma cells ที่ได้รับยาวินบลาสตินความเข้มข้น 0-50 μM พบว่าเคอร์คิวมินมีผลยับยั้งอัตราการมีชีวิตของเซลล์ตามความเข้มข้นของเซลล์ที่ได้รับเคอร์คิวมิน จากการศึกษาผลของเคอร์คิวมินความเข้มข้น 0, 10, 25 และ 50 μM และ verapamil ความเข้มข้น 10 μM ต่ออัตราการมีชีวิตของเซลล์ KB-carcinoma cells ที่ได้รับยาวินบลาสตินความเข้มข้น 5 μM ที่เวลา 3-96 ชั่วโมง พบว่าเคอร์คิวมินความเข้มข้น 10 และ 25 μM มีผลยับยั้งอัตราการมีชีวิตของเซลล์เมื่อเทียบกับ control แต่ให้ผลต่ำกว่า verapamil ความเข้มข้น 10 μM และเคอร์คิวมินความเข้มข้น 50 μM มีผลยับยั้งอัตราการมีชีวิตของเซลล์ได้สูงที่สุด

การศึกษานี้แสดงว่าเคอร์คิวมินสามารถควบคุมการแสดงออกและการทำงานของพี-ไกลโคโปรตีนในเซลล์มะเร็งปากมดลูกของมนุษย์ (KB-carcinoma cell lines) ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยยาวินบลาสติน