مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۳، شماره۲، تابستان ۱۳۹۱، ۱۱۹-۱۱۳

مهار بیان آکواپورین ۵ توسط کورکومین: چشم اندازی جدید در مهار سرطان‌زایی روده

محمد نبیونی .Ph.D [۱*]، صدیقه غلامی .M.Sc [۲]، لادن تیموری طولابی .Ph.D [۳]، فاطمه زندی .M.Sc [۴]،
سکینه آذری .M.Sc [۵]، اعظم یاراحمدی .M.Sc [۵]

۱- گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم)، تهران، ایران
۲- کارشناس ارشد تکوینی جانوری، دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم) تهران، ایران
۳- انیستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۴- کارشناس ارشد، انیستیتوپاستورایران، تهران ، ایران
۵- کارشناسی راشد تکوینی جانوری، دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم) تهران، ایران
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: Nabiuni@tmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۲۴

چکیده

هدف:کورکومین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است. القای بیانAQP5، عضوی از خانواده آکواپورین ها، از پروتئین‌های کانال آبی غشایی، در مراحل اولیه سرطان روده این حدس را بر می‌انگیزد که AQP5 یک نیروی به پیش برنده در آغاز سرطانزایی روده است. . فرض بر آن بود که کورکومین می تواند سطوح پروتئین آکواپورین ۵ را در سلولهای سرطانی روده hct116 کاهش دهد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های سرطانی روده hct116 در محیط کشت DMEM کشت داده شده و به سه گروه کنترل، شم و تیمار تقسیم شدند. گروه کنترل تنها در معرض محیط کشت بوده و گروه شم، اتانول را به عنوان حلال کورکومین دریافت کرد. گروه تیمار تحت غلظت‌های متفاوت کورکومین (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو مولار) به مدت ۲۴و۴۸ساعت قرار گرفتند. درصد بقای سلول‌ها توسط آزمون MTT سنجیده شد. سپس سلول‌ها با غلظت ۵۰ میکرو مولار (IC50) کورکومین تیمار شده و آزمون ایمونوسیتوشیمی به منظور بررسی اثر کورکومین بر بیان آکواپورین ۵ (AQP5) انجام گردید.

نتایج: نتایج سنجش MTT بیانگر آن بود که کورکومین در الگوی وابسته به زمان و دوز، بقا و تکثیر سلول‌های سرطانی روده hct116 را کاهش می‌دهد. نتایج حاصل از آزمون ایمونوسیتوشیمی نشان داد که میزان پروتئین AQP5 در سلول‌های تیمار شده توسط کورکومین کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که کورکومین قادر است بیانAQP5 را در سلول‌های سرطانی روده hct116 مهار نماید. مهار AQP5 ممکن است یک راه درمانی جدید در پیش گیری و درمان سرطان روده باشد.

واژگان کلیدی: کورکومین، سرطان روده، آکواپورین ۵، رده سلولی hct116

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سرطان روده یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در سراسر جهان بوده و به همراه سرطان‌های شش، سینه و پروستات جز مهم ترین سرطان‌های کشنده محسوب می‌شود (۱). سالانه بیش از ۵۱۰۰۰ مورد سرطان و ۳۵۰۰۰ مورد مرگ ناشی از سرطان در ایران گزارش می‌شود (۲) که در این میان سرطان روده سومین و چهارمین سرطان شایع به ترتیب در مردان و زنان ایرانی است (۳). سرطان روده تحت تاثیر فاکتورهای ژنتیکی و محیطی است (۲). علاوه بر آن مطالعات اپیدمیولوژیکی تایید می‌کند که سرطان روده به میزان بیشتری نسبت به عوامل ژنتیکی، تحت تاثیر عوامل محیطی قرار دارد (۴و۵). مارکرهای ژنتیکی / مولکولی در سرطان روده می‌تواند تحت تاثیر عوامل محیطی و زمینه ژنتیکی قرار گیرد (۲). کارسینوژن‌های متفاوت موجود در رژیم غذایی، موتاسیون‌های نقطه‌ای K-ras را القا می‌کنند و پیشرفت سرطان روده را موجب می‌شوند. مطالعات انجام شده مشخص کرده است که موتاسیون‌های سوماتیک (Adenomatous polyposis Coli) APC, Kras در پیشرفت موکوس نرمال به کارسینوما در سرطان روده نقش مهمی دارند (۶و۷و۸). نوع رژیم غذایی یکی از مهم ترین فاکتورهای خارجی موثر بر سرطان روده بوده و تخمین زده می‌شودکه توسط رژیم غذایی صحیح از ۷۰ درصد سرطان‌های روده می‌توان پیش‌گیری کرد (۵). تکوین سرطان روده شامل تغییرات ژنتیکی و مولکولی گوناگونی در تکثیرسلول، بقای سلولی، تمایز، مقاومت به آپوپتوزیس، متاستاز و آنژیوژنز تومور است. در طی سرطان روده ۱۸۹ ژن دچار تغییر می‌شوند که تعداد زیادی از آن‌ها پیش از این در سرطان به صورت موتان گزارش نشده‌اند (۹و۱۰و۱۱). سلول‌های توموری کاهش قابل توجه در محتوای سیتوزین‌هاو ژن‌های متیله شده نشان می‌دهند. هیپومتیلاسیون سراسری DNA که در سلول های توموری به فراوانی مشاهده می‌شود، در سرطان روده یک واقعه اولیه بوده و می‌تواند بیان انکوژن را القا کند. (۱۲). کاهش ۸ تا ۱۰ درصد در محتوای متیل سیتوزین در آدنومای روده مشاهد شده است (۱۳و۱۴). احتمالا یکی از انکوژن‌هایی که در طی هیپومتیلاسیون اولیه درسرطان‌زایی روده القا و در نتیجه بیان می شودAQP5 (Aquaporin) است. آکواپورین‌ها، کانال‌های آبی با نفوذپذیری بالا، می‌باشندکه در بسیاری از موجودات از باکتری تا انسان شناسایی شده‌اند (۱۵و۱۶و۱۷). مطالعات گوناگون نشان داده‌اندکه بیان آکواپورین‌های گوناگون در تومورها افزایش یافته است. به عنوان مثال بیان AQP3 در سلول‌های سرطانی کلیه و کارسینومای پوست (۱۸) و بیان AQP5 در سرطان پانکراس و تخمدان، افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهند (۱۸و۱۹و۲۰). AQP1 در کنترل چرخه سلولی و تومورزایی نقش به سزایی داشته و همراه با AQP3,5 در طی فعالیت لنفوسیت‌ها بیان می‌گردد که این امر بیانگر نقش و دخالت این پروتئین‌ها در تکوین سرطان است (۲۱و۲۲و۲۳). مهار بیان آکواپورین ها توسط فنو باربیتال(Phenobarbital)، استازولامید(acetazolamide)، تیوپنتال(thiopental) و ... تکثیر سلول‌های سرطانی، مهاجرت، متاستاز و آنژیوژنز را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۴). با توجه به نقش آکواپورین ۵ در سرطانزایی روده، مهار AQP5 می تواند یک راه درمانی جدید علیه سرطان روده باشد. کورکومین یا دی‌فرولویل متان (Diferuloylmethan) که ۲ تا ۵ درصد زردچوبه را تشکیل می‌دهد، دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد ویروسی و ضد التهابی است(۲۵). کورکومین در بسیاری از رده‌های سلولی قادر به القای آپوپتوزیس است (۲۶). همچنین کورکومین قادر است تغییرشکل (۲۷)، تهاجم تومور (۲۸)، آنژیوژنز (۲۹) و متاستاز (۳۰) را از طریق مکانیسم‌های متعددی مهار سازد. بعلاوه کورکومین سلول‌های سرطانی روده را به رادیوتراپی و شیمی درمانی حساس می سازد (۳۱و ۳۲). در تحقیق حاضر برای اولین بار کورکومین به عنوان مهارکننده AQP5 در راستای مهار سرطان‌زایی روده مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

کشت سلول: سلول‌های اپی‌تلیالی سرطان روده hct116 از انیستیتو پاستور ایران، تهران خریداری شدند. سلول‌ها در محیط DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium) حاوی ۱۰ درصد سرم جنینی گاو FBS (Fetal Bovine Serum) و ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین کشت داده شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد انکوبه شدند.

آنتی بادی و مواد آزمایشگاهی: کورکومین(C1386) از شرکتSigma تهیه گردید. آنتی‌بادی اولیه AQP5 (Rabbit anti aquaporin5 ab92320) از Abcam خریداری شد. آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه شده با FITC از شرکت رازی بیوتک فراهم و رنگ DAPI از Gibco خریداری شد.

Archive of SID
www.SID.ir

قرص PBS(Phosphate–buffered saline) از invitrogen - Gibco خریداری و پودر MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

سنجش MTT: سلول‌های hct116 ($۱/۵\times۱۰^{۵}$ سلول بر میلی‌لیتر) در پلیت کشت سلولی ۲۴ خانه کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت، سلول‌ها با محیط کشت به تنهایی (گروه کنترل)، اتانول (گروه **شم**) و غلظت‌های متفاوت کورکومین (گروه تیمار) شامل غلظت‌های۱۶۰،۸۰،۵۰،۳۰،۲۰،۱۰میکرومولار به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت کشت داده شدند. پس از اتمام زمان مورد نظر، سنجش MTT به منظور بررسی درصد بقای سلول‌ها انجام گردید. بدین ترتیب که۱۰۰ میکرو لیتر محلول MTT به هر چاهک اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به دور از نور انکوبه شدند. سپس محیط کشت رویی تخلیه شده و ۱ میلی لیتر ایزوپروپانول به منظور حل شدن کامل بلورهای فورمازان به هر چاهک اضافه گردید. در نهایت میزان جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Milton Roy- Spectronic 21D به دست آمد. تمامی آزمایشات ۳ بار تکرار شدند.

ایمونوسیتوشیمی: سلول‌های hct116 توسط تریپسین ۰/۲۵ درصد از کف فلاسک جداشده و در پلیت‌های کشت سلول ۲۴ خانه کشت داده شدند. ۲۴ ساعت بعد، سلول‌ها توسط غلظت۵۰ میکرو مولار کورکومین به مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. سپس سلول‌ها توسط PBS (Phosphate Buffer Saline) شسته و در دمای۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه توسط فرمالین ۴ درصد تثبیت شدند. در ادامه توسط آلبومین سرم گاوی (BSA) ۱٪ در دمای اتاق به مدت ۴۵ دقیقه بلوکه شده و سپس با آنتی‌بادی اولیه AQP5 (رقت ۱ به ۱۰۰ در۰/۲ درصد PBST/BSA) به مدت شبانه روز انکوبه گشتند. پس از شستشو با PBST ۰/۱ درصد (PBS- Tween)، سلول‌ها با آنتی‌بادی ثانویه مناسب کونژوگه با FITC با رقت ۱ به ۱۶در ۰/۲PBST/BSA درصد به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. به منظور رنگ آمیزی هسته، سلول‌ها توسط رنگ DAPI(4',6-Diamidino-2-Phenylindole) ۱ میکرو گرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۱ دقیقه رنگ آمیزی شدند. نمونه‌ها پس از شستشو با PBS، توسط میکروسکوپ فلورسنت بررسی شد. سلول‌های کنترل که با آنتی‌بادی اولیه انکوبه نشده و فقط آنتی‌بادی ثانویه را دریافت کردند به عنوان گروه کنترل منفی در نظر گرفته شدند.

آنالیز داده‌ها: جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها از نرم افزار Instat3 و آزمون آماری پارامتریک One-way Analysis of Variance (ANOVA), Bonferroni Multiple Comparisons Test استفاده شد. نمودارها از طریق نرم افزار EXCEL رسم شدند.

نتایج

کورکومین مرگ سلولی را در سلول‌های hct116 به روش وابسته به دوز و زمان القا کرد:

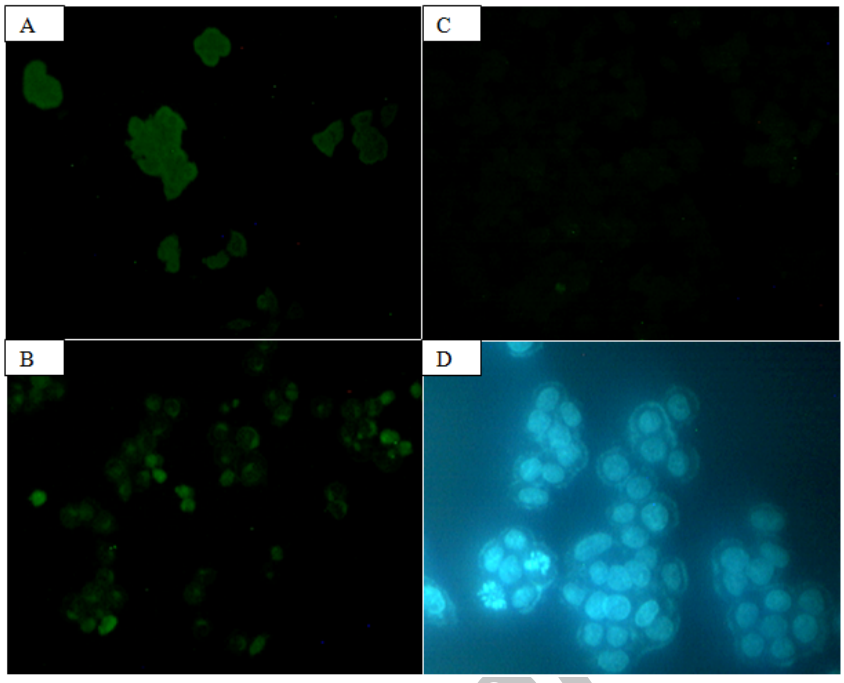
سلول‌ها در غیاب و حضور غلظت‌های متفاوت کورکومین (۱۰ تا ۱۶۰ میکرو مولار) به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت کشت داده شدند. درصد بقای سلول‌ها توسط آزمون MTT سنجیده شد. نتایج این آزمون بیانگر آن بود که میزان بقای سلول های گروه شم و کنترل در مدت زمان ۲۴و ۴۸ ساعت تقریبا یکسان بوده و در نتیجه مرگ سلولی القا شده در گروه تیمار تنها ناشی از تاثیر کورکومین بود. رابطه بین غلظت های مختلف کورکومین و قابلیت حیات سلول‌هایhct116 در نمودار ۱ ارائه شده است. قابلیت حیات سلول‌ها با افزایش غلظت کورکومین به صورت وابسته به دوز (هم در مدت ۲۴ و هم ۴۸ ساعت) کاهش یافته است. همچنین درصد بقای سلول‌ها در ۴۸ ساعت در غلظت‌های پایین تر از ۸۰ میکرو مولار کورکومین نسبت به تیمار ۲۴ ساعت بیشتر می‌باشدکه تصور می شود به تکثیر سلول‌ها در طی زمان وابسته است. تفاوت درصد بقای سلول‌ها تحت تیمار ۱۰و ۲۰ میکرو مولار کورکومین با سلول‌های نمونه شم معنی‌دار نیست. در مدت زمان ۴۸ساعت، میزان مرگ سلولی ناشی از کورکومین در غلظت‌های بالاتر از ۳۰میکرومولار با گروه شم اختلاف معنادار دارد. در غلظت ۵۰ میکرو مولار کورکومین، حدود ۵۰ درصد سلول‌ها زنده بودند (IC_{50}).

کورکومین بیان پروتئین AQP5 را درسلولهای سرطانی hct116 کاهش داد

به منظور تاثیر کورکومین بر بیان AQP5 آزمون ایمونوسیتوشیمی انجام گردید. نتایج حاصل از آزمون ایمونوسیتوشیمی مشاهده شده توسط میکروسکوپ فلورسنس

Archive of SID
www.SID.ir

بیانگر آن است که میزان پروتئین AQP5 در سلول های تیمار شده با کورکومین در مقایسه با سلول‌های گروه کنترل مثبت که فقط در معرض محیط کشت قرار داشتند کاهش یافته است. شکل ۱ نتایج حاصل از این آزمون را نشان می‌دهد.



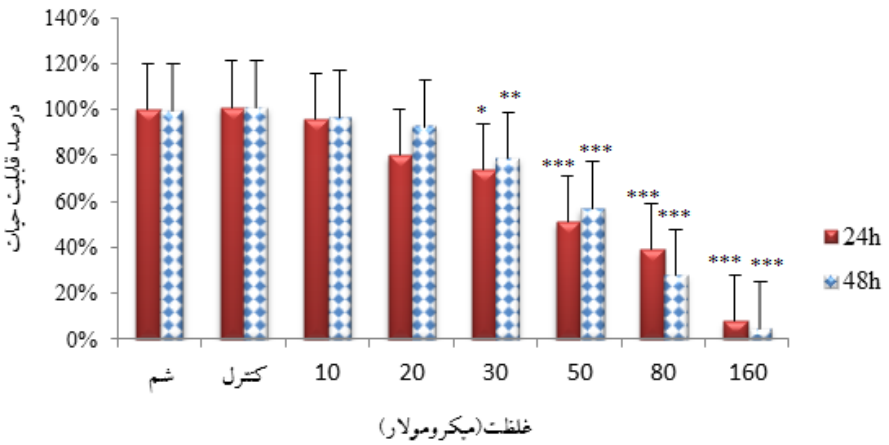
شکل شماره ۱: فتومیکروگراف رنگ‌آمیزی ایمنوسیتوشیمیایی از کاهش بیانAQP5 در سلول‌های سرطانی HCT116 پس از ۴۸ ساعت تیمار با غلظت ۵۰ میکرومولار کورکومین.

A)سلول‌های گروه کنترل مثبت که توسط کورکومین تیمار نشده اند. این سلول ها هیچ کورکومینی دریافت نکرده اند و تنها در معرض محیط کشت قرارگرفته اند. بیانAQP5 در این سلول ها در تصویر مشاهده می‌شود.

B) بیانAQP5 در سلول‌های تیمار شده با۵۰ میکرومولار غلظت کورکومین. میزان سطوح AQP5 نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافته است.

C) سلول‌های گروه کنترل منفی که تنها آنتی‌بادی ثانویه را دریافت کرده و با آنتی‌بادی اولیه انکوبه نشده است. تصویر حاصل از این سلول‌ها بیانگرآن است که رنگ سبز مشاهده شده در گروه کنترل مثبت و تیماری ناشی از رنگ آنتی‌بادی ثانویه نیست و سطوح پروتئین را نشان می‌دهد.

D) به منظور تشخیص جایگاه هسته، از رنگDAPI جهت رنگ آمیزی هسته استفاده شد (بزرگنمایی۲۰۰X)



*نمودار ۱: تاثیر سیتوتوکسیک کورکومین بر سلولهای HCT116. سلول‌ها در معرض محیط کشت به تنهایی، اتانول(حلال کورکومین) و غلظتهای متفاوت کورکومین به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت قرار گرفتند. درصد بقای سلول ها با آزمون MTT سنجیده شد. تمامی داده‌ها نتیجه سه بار آزمایش بوده و میزان معناداری در مقایسه با گروه شم (دریافت کننده اتانول) توسط one-way ANOVAسنجیده شد. (24h : * $P<0.05$ و *** $P<0.001$ 48h: ** $P<0.01$ و *** $P<0.001$)*

www.SID.ir

بحث

در مطالعه حاضر کورکومین بقا و تکثیر سلولهای سرطانی روده hct1116 را در الگویی وابسته به زمان و دوز کاهش داد. در این تحقیبق مکانیسم عمل کورکومین در سلولهای سرطانی روده از طریق مهار AQP5 بررسی شد و نتایج حاصل از میکروسکوپ فلوئورسنت مشخص کرد که کورکومین قادر است بیان AQP5 را در این سلول‌ها کاهش دهد. خواص آنتی اکسیدانی کورکومین تقریبا ۳۰ سال پیش مطرح شد (۳۳). تاکنون مکانیسم عمل کورکومین در سرطان روده از جهات گوناگونی مورد بررسی قرار گرفته است. کورکومین قادر به مهار فعالیت فاکتور هسته ای کاپا است(۳۴). کورکومین باعث کاهش بیان سایکلین D,E در سلول‌های سرطانی روده شده و کلیواژ β کاتنین و در نتیجه کاهش فعالیت کمپلکس β کاتنین/TCF را در سلول‌های سرطانی روده hct116 القا می‌کند (۳۵و۳۶) .βکاتنین، فاکتوری کلیدی در آغاز سرطانزایی روده است و بیان آن در نمونه‌های به دست آمده از بیماران مبتلا به سرطان روده افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد (۳۷).کورکومین قادر است بیان پروتئین Bcl2 و Egr1 را در سلول‌های hct116 کاهش داده و با مهار بیان رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی و تنظیم سیگنالینگ AKT/ MTOR از رشد آنها جلوگیری کند (۳۹،۳۸و۴۰). تاکنون مطالعات چندی آپوپتوز القا شده توسط کورکومین را در سلول hct116 گزارش کرده‌اند (۴۱، ۴۲و۴۳). AQP5 در سرطانزایی روده نقش بسیار مهمی داشته و توانایی کورکومین در مهار بیان آن، مدرکی مهم در جهت اثبات قدرت پیش گیری کننده این ماده در سرطان روده است. مکانیسمی که علی‌رغم تلاش‌های گسترده در طی سالیان اخیر در باب یافتن مکانیسم‌های پیش‌گیری کننده کورکومین، نه تنها در سرطان روده بلکه در هیچ سرطانی مورد توجه قرار نگرفته است. Woo و همکارانش در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که بیان نابه جای AQP5 انسانی تغییرات فنوتیپی بسیاری مشخصه Transformation هم در محیط *Ivivo* و هم *In vitro* القا می‌کند(۴۴). AQP3 تنها نوع آکواپورین، است که در اپی‌تلیوم نرمال روده بیان می‌شود (۴۵). مطالعات انجام شده توسط Moon و همکارانش نشان داد کهAQP1, AQP3, AQP5 در سلول‌های سرطانی روده شامل DLD1, HCT116, SW480, W489, HT20, H455 بیان می‌شود. مهم آن که بیان آکواپورین ۱و۵ در مراحل اولیه تکوین سرطان روده القا شده و این بیان تا آخرین مراحل تکوین حفظ می‌شود. این مشاهده بیانگر نقش AQPs در سرطانزایی روده بوده و این احتمال را بر می‌انگیزد که بیان AQP یک نیروی آغازی و به پیش برنده در سرطان‌زایی روده است. بیان حداقل سه نوع آکواپورین در سلول‌های سرطانی روده، نشان دهنده آن است که سلول‌های توموری برای همانندسازی و بقا نیاز به چندین AQP دارند و این امر به آنها نسبت به سلول‌های نرمال که فقط یک نوع آکواپورین دارند در تکثیر و بقا برتری می‌بخشد (۴۵). AQP5 از طریق فسفوریلاسیون در سایت پروتئین کیناز A، واقع در لوپ سیتوپلاسمیکیD خود، قادر است مسیرسیگنالینگ RAS را در سلول مورد هدف قرار دهد. به علاوه مطالعات Kang و همکارانش (۴۶) نشان داد که AQP5 قادر به افزایش فسفوریلاسیون ERK(Extracellular signal regulated kinase) در سلول‌های سرطانی روده می‌باشد در صورتی که AQP1.AQP3 هیچ تاثیری بر افزایش فسفوریلاسیون ERK نداشته، و لذا برخلاف AQP5 بر روی انتقال سیگنال داخل سلولی اثری ندارند. همچنین Kang مشاهده کرد که AQP5 انسانی فسفوریلاسیون پروتئین رتینوبلاستوما را از طریق کمپلکس سایکلین $CDK4 / D_1$ افزایش می‌دهد. در واقع خصوصیت انکوژنیک AQP5 توسط فعال کردن ERK/ RAS/ RB به پیش می‌رود (۴۶). تومورهای اپی تلیالی ایجاد نمی‌شوند، مگر آن که مسیرهای مهار تومور، P53, RB، غیرفعال شده باشند. AQP5 با تداخل در این مسیرها نقش حائز اهمیتی در تومورزایی دارد (۴۷). در حال حاضر مهارکننده‌های AQP که کاندیدای مناسب برای درمان‌های کلینیک باشند وجود ندارد. هر چند چندین آکواپورین توسط ترکیباتی چون جیوه و طلا مهار شده‌اند (۴۸) ولی این یون‌های فلزی در عملشان غیر انتخابی بوده و بسیار سمی هستند. در این مطالعه تاثیر کاهندگی بیان AQP5 توسط کورکومین بررسی شد و نتایج بیانگر آن است که کورکومین قادر به کاهش این بیان است و این احتمال را ایجاد می‌کند که شاید کورکومین بتواند بلوکر مناسبی برای AQP5 باشد. مهم آن که بی‌خطر بودن کورکومین تا کنون ثابت شده و مطالعات نشان داده‌اند که حتی دوز ۱۲میلی‌گرم در روز به راحتی قابل تحمل است (۴۹). به طور قطع این نیازمند مطالعات بیشتر و دقیق‌تر است.

نتیجه گیری

کورکومین قادر است بیان AQP5 را در سلول‌های سرطانی روده hct116 کاهش دهد و لذا ممکن است به عنوان مهار کننده AQP5 سرطان‌زایی روده را به تعویق بیاندازد.

Archive of SID

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

این کار در آزمایشگاه سلولی تکوینی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی انجام گردیده و ازحمایتهای این مرکز بهره‌مند بوده است. از انیستیتو پاستور ایران نیز در راستای انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

منابع

1. Labianca R, Beretta G, Gatta G, Braud F, et al. Colon cancer. Critical Reviews in Oncology/ Hematology. 2004; 51: 145–170.

2. Malekzadeh R, Bishehsari F, Mahdavinia M, Ansari R. Epidemiology and Molecular Genetics of Colorectal Cancer in Iran: A Review. Arch Iranian Med. 2009; 12 (2): 161–169.

3. Naghavi, M. Death report from 23 provinces in Iran.1th Ed. Ministry of Health and MedicalEducation; Tehran. 2004.

4. Franco A, Sikalidis JA, Herruzo S. Colorectal cancer: influence of diet and lifestyle factors. Rew Esp Enferm Dig. 2005; 97: 432-448.

5. Stewart BW, Kleihus P. editors. World Cancer Report. Lyon: IARCPress. 2003.

6. Slattery ML, Curtin K, Anderson K, Ma KN, et al. Associations between dietary intake and Ki-ras mutations in colon tumors: a population-based study. Cancer Res. 2000; 60: 6935–6941.

7. Brink M, Weijenberg MP, Anton FPM, De Goeij AF, et al. Fat and K-ras mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. Carcinogenesis. 2004; 25: 1619-1628.

8. Bishehsari F, Mahdavinia M, Malekzadeh R, Verginelli F, et al. Patterns of K-ras mutation in colorectal carcinomas from Iran and Italy (a Gruppo Oncologico dell'ItaliaMeridionale study): influence of microsatellite instability status and country of origin. Annals of Oncology. 2006; 17: 92-96.

9. Janakiram NB, Rao CV. Molecular markers and targets for colorectal cancer prevention. Acta Pharmacol. Sin. 2008; 29(1): 1-20.

10. Lea IA, Jackson M, Dunnick JK. Genetic pathways to colorectal cancer. Mutation Research. 2009; 670(1-2): 96-98.

11. Wood LD, Parsons DW, Jones S, Lin J, et.al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. Science. 2007; 318(5853): 1108 – 1113.

12. Ehrlich M. DNA hypomethylation in cancer cells. Epigenomics. 2009; 1(2): 239-259.

13. Frigola J, Sole´ X, Paz MF, Moreno V, et al. Differential DNA hypermethylation and hypomethylation signatures in colorectal cancer. Human Molecular Genetics. 2005; 14: 19-326.

14. Carmona F, Esteller M. Epigenomics of human colon cancer. Mutation Research. 2010; 693(1): 53-60.

15. Verkman AS. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. J Cell Sci. 2005; 118: 3225-3232.

16. Nico B, Ribatti D. Aquaporins in tumor growth and angiogenesis. Cancer Letters. 2010; 294: 135-138.

17. Kruse E, Uehlein N, Kaldenhoff R. The aquaporins. Genome Biology. 2006; 7:206.

18. Chae YK, Kang SK, Kim MS, Woo J, et al. Human AQP5 Plays a Role in the Progression of Chronic Myelogenous Leukemia (CML). PLoS ONE. 2008; 3(7): e2594.

19. Woo J, Lee J, Kim MS, Jang SJ, et al. The effect of aquaporin 5 overexpression on the Ras signaling pathway. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2008; 367: 291-298.

20. Yang J, Shi Y, Cheng Q, Deng L. Expression and localization of aquaporin-5 in the epithelial ovarian tumors. Gynecologic Oncology. 2006; 100(2): 294-299.

21. Hoque MO, Soria JC, Woo J, Lee T, et al. Aquaporin 1 is overexpressed in lung cancer and stimulates NIH-3T3 cell proliferation and anchorage-independent growth. Am. J. Pathol. 2006; 168(4): 1345-1353.

22. Chae YK, Woo J, Kim M, Kang SK, et al. Expression of Aquaporin 5 (AQP5) Promotes Tumor Invasion in Human Non Small Cell Lung Cancer. PLoS ONE. 2008; 3(5): e2162.

23. Moon C, Rousseau R, Soria JC, Hoque MO, et al. Aquaporin expression in human lymphocytes and dendritic cells. Am. J. Hematol. 2004; 75: 128-133.

24. Monzani E, Shtil AA, La Porta CA. The water channels, new druggable targets to combat cancer cell survival, invasiveness and metastasis. Curr. Drug Targets. 2007; 8:1 132-1137.

25. Aggarwal BB, Surh YJ, Shishodia Sh. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease . Springer Science+ Business Media. 2007; 587: 197-213.

26. Reuter S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal BB, et.al. Modulation of anti-apoptotic and survival pathways by curcumin as a strategy to induce apoptosis in cancer cells. biochemical pharmacology. 2008; 76: 1340 – 1351.

Archive of SID

www.SID.ir

27. Masamune A, Suzuki N, Kikuta K, Satoh M, et.al. Curcumin blocks activation of pancreatic stellate cells. J. Cell. Biochem. 2006; 97 (5): 1080-1093.

28. Lin SS, Lai KC, Hsu SC, Yang JS, et al. Curcumin inhibits the migration and invasion of human A549 lung cancer cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2 and -9 and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Cancer Letters. 2009; 285: 127-133.

29. Bae MK, Kim SH, Jeong JW, Lee YM, et al. Curcumin inhibits hypoxia-induced angiogenesis via downregulation of HIF-1. Oncol. Rep. 2006; 15(6): 1557-1562.

30. Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, et al. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. Clin Cancer Res. 2005; 11(20): 7490-7498.

31. LI L, Ahmed B, Mehta K, Kurzrock R. Liposomal curcumin with and without oxaliplatin: effects on cell growth, apoptosis, and angiogenesis in colorectal cancer. Mol cancer Ther. 2007; 6(4): 1276- 1282.

32. Kunnumakkara AB, Diagaradjane P, Guha S, Deorukhkar A, et al. curcumin sensitizes human colorectal cancer xenogrfts in nude mice to gamma-radiation by targeting nuclear factor kappa B-regulated gene products. Clin Cancer Res. 2008; 14(7): 2128- 2136.

33. Hail N, Cortes M, Drake EN, Spallholz JE. Cancer chemoprevention: A radical perspective. Free Radical Biology & Medicine. 2008; 45: 97-110.

34. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as ‘ Curecumin: from kichen to clinic. Biochemical pharmacology. 2008; 75(4): 787-809.

35. Narayan S. Curcumin, a multi-functional chemopreventive agent, blocks growth of colon cancer cells by targeting beta-catenin-mediated transactivation and cell-cell adhesion pathways. J Mol Histol. 2004; 35(3):301-307.

36. Thangapazham RL, Sharma A, Maheshwari RK. Multiple Molecular Targets in Cancer Chemoprevention by Curcumin. The AAPS Journal. 2006; 8: 443-449.

37. Kunnumakkara AB, Guha S, Aggarwal BB. Curcumin and colorectal cancer: Add spice toyour life.Current colorectal cancer reports. 2009; 5: 5-14.

38. Johnson SM, Gulhati P, Arrieta I, Wang X, et al. Curcumin Inhibits Proliferation of Colorectal Carcinoma by Modulating Akt/mTOR Signaling. Anticancer Research. 2009; 29(8): 3185-3190.

39. Chen A, Xu J, Johnson AC. Curcumin inhibits human colon cancer cell growth by suppressing gene expression of epidermal growth factor receptor through reducing the activity of the transcription factor Egr-1. Oncogene. 2006; 25: 278-287.

40. Shankar S, Srivastava RK. Involvement of Bcl-2 family members, phosphatidylinositol 3’-kinase/AKT and mitochondrial p53 in curcumin (diferulolylmethane) induced apoptosis in prostate cancer. Int J Oncol. 2007; 30(4): 905-18.

41. Watson JL, Hill R, Yaffe PB, Greenshields A, et al. Curcumin causes superoxide anion production and p53-independent apoptosis in human colon cancer cells. Cancer Letters. 2010; 297: 1-8.

42. Watson JL, Hill R, Lee PW, Giacomantonio CA, et al. Curcumin induces apoptosis in HCT-116 human colon cancer cells in a p21-independent manner. Experimental and Molecular Pathology. 2008; 84: 230-233.

43. Agarwal B, Swaroop P, Protiva P, Raj SV, et.al. Cox-2 is needed but not suffi cient for apoptosis induced by Cox-2 selective inhibitors in colon cancer cells. Apoptosis. 2003; 8(6): 649-654.

44. Woo J, Lee J, Chae YK, Kim MS, et.al. Overexpression of AQP5, a putative oncogene, promotes cell growth and transformation. Cancer Letters. 2008; 264(1): 54-62.

45. Moon C, Soria JC, Jang SJ, Lee J, et.al. Involvement of aquaporins in colorectal carcinogenesis. Oncogene. 2003; 22: 6699-6703.

46. Kang SK, Chae YK, Woo J, Kim MS, et.al. Role of Human Aquaporin 5 In Colorectal Carcinogenesis. The American Journal of Pathology. 2008; 173(2): 518-525.

47. Vogelstein B, W Kinzler K. Cancer genes and the pathways they control. Naturemedicine. 2004; 10(8): 789-799.

48. Niemietz CM, Tyerman SD. New potent inhibitors of aquaporins: silver and gold compounds inhibit aquaporins of plant and human origin. FEBS Lett. 2002; 531(3): 443-447.

49. Anand P, Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Newman R.A. Bioavailability of curcumin: problemsandpromises.Mol.Pharm. 2007; 4(6): 807-818.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Research Article*
Summer 2012; 3(2): 113-119

Curcumin Inhibits the Expression of Aquaporin 5: The New Perspective in Inhibition of Colon Carcinogenesis

Nabiuni M. Ph.D [1*], Gholami S M.Sc. [2], Teimoori-toolabi L. Ph.D.[3], Zandi F. M.Sc.[4], Azari S. M.Sc[5], Yarahmadi A. M.Sc.[5]

1. Cell & Development Biology, Kharazmi (Tarbiat Moallem) University, Tehran, Iran
2. M.Sc. in Development Biology, Kharazmi (Tarbiat Moallem) University, Tehran, Iran
3. Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
4. M.Sc., Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
5. M.Sc.in Development Biology Kharazmi (Tarbiat Moallem) University, Tehran, Iran

* Email corresponding author: Nabiuni@tmu.ac.ir

Received: 4 Feb. 2012 Accepted: 13 May. 2012

Abstract

Aim: Expression of aquaporin5 (AQP5), a member of aquaporins family of water channel proteins, in the early stage of colon cancer suggests that AQP5 is probably a driving force in colon carcinogenesis. We hypothesized that curcumin can reduce the level of AQP5 protein in hct116 colon cancer cells.

Material and methods: hct116 colorectal cancer cells were cultured in DMEM, divided into three groups, nontreated control group, vehicle-treated and drug-treated. Cells were just exposed to medium, vehicle-treated (sham) cells received ethanol (as the solution of curcumin) and drug-treated cells were treated with different concentrations (10, 20, 30, 50, 80, 160 μM) of curcumin for 24 and 48h. Cell viability measured by MTT assay. Then cells were treated with 50 μM **(IC50)** of curcumin. immunocytochemistry performed to examine the effect of curcumin on the expression of AQP5.

Results: MTT assay indicated that curcumin decreased cell viability and proliferation in a time and dose dependent manner.Immunocytochemistry showed that the amount of AQP5 protein decreased in treated cell by curcumin.

Conclusion: our results suggested that curcumin inhibits the expression of AQP5 in human hct116 colon cancer cell line. In this article, for the first time, the effect of curcumin in inhibition of AQP5 investigated. Inhibition of AQP5 expression may provide a novel therapeutic target in colon cancer treatment and prevention.

keywords: Curcumin, Colon cancer, Aquaporin 5, Hct116 cell line

Archive of SID

www.SID.ir