Original Article

Effect of Curcumin on AQP5 gene expression in HT-29 human colorectal cancer cells

Nabiuni M[1*], Kouchesfahani H[2], Azari S[2], Delfan B[3], Gholami S[2], Yarahmadi A[2]

1- Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I. R. Iran.
2- Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I. R. Iran.
3- Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, I. R. Iran.

Received June 2012; Accepted October 4, 2012

Abstract:

Background: Colorectal carcinoma is the third most common type of cancer and the second most common cause of cancer-related mortality in the world. The aquaporins (AQPs) are water channel proteins that play a major role in water movements through epithelial and endothelial tissues. Expression of AQP5 was induced in the early stages of colon cancer. An induction of AQP5 expression in colon cancer suggests a probable driving force roles for AQP5 in colon carcinogenesis. Curcumin, as a chemopreventive phytochemical is important to block, retard or reverse the process of carcinogenesis. Several studies have suggested that curcumin may prevent or delay the occurrence of colorectal cancer. This study aimed to examine the effect of curcumin on the inhibition of AQP5.

Materials and Methods: In this experimental study, the HT-29 cell line was cultured in DMEM medium containing 10% FBS and 100 U/ml penicillin and 100 mg/ml streptomycin. The effect of curcumin concentrations on the growth of cells was determined using the MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide] assay. Immunocyto-chemistry was performed to examine the effect of curcumin on the expression of AQP5.

Results: Immunocytochemistry showed the decreased amount of AQP5 protein in the curcumin-treated cells.

Conclusion: Curcumin inhibits the expression of AQP5 in human colorectal cancer cell line, HT-29. The inhibition of AQ5 expression may provide a novel therapeutic target for the treatment and prevention of colorectal cancer.

Keywords: Curcumin, Colorectal carcinoma, Aquaporin 5, HT-29 cell line

* **Corresponding Author.**
Email: Nabiuni@tmu.ac.ir
Tel: 0098 912 660 9337
Fax: 0098 263 451 0005

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences January, 2013; Vol. 16, No 6, Pages 493-500

Please cite this article as: Nabiuni M, Kouchesfahani H, Azari S, Delfan B, Gholami S, Yarahmadi A. Effect of Curcumin on AQP5 gene expression in HT-29 human colorectal cancer cells. ***Feyz*** 2013; 16(6): 493-500.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]

بررسی تاثیر کورکومین بر میزان بیان آکواپورین ۵ در سلول‌های سرطانی روده بزرگ انسان (HT_29)

محمد نبیونی [۱*]، هما محسنی کوچصفهانی [۲]، سکینه آذری [۳]، بهرام دلفان [٤]، صدیقه غلامی [۳]، اعظم یاراحمدی [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: سرطان روده بزرگ سومین سرطان شایع و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان محسوب می‌شود. آکواپورین‌ها، پروتئین‌های کانال آبی بوده که نقش مهمی در انتقال آب در بافت‌های اندوتلیالی و اپی‌تلیالی بر عهده دارند. بیان AQP5 در مراحل اولیه سرطان روده القاء می‌شود. القای بیان AQP5 این حدس را بر می‌انگیزد که AQP5 یک نیروی به پیش برنده در آغاز سرطان‌زایی روده است. کورکومین از جمله فیتوکمیکال‌هایی است که در استراتژی chemoprevention در راستای بلوکه کردن، کند کردن و یا برگشت فرآیند سرطان‌زایی مهم است. مطالعات نشان داده‌اند که کورکومین می‌تواند مانع بروز سرطان راست روده شده و یا آنرا به تاخیر بیندازد. در این پژوهش تاثیر کورکومین بر مهارAQP5 بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی رده سلولی HT_29 در محیط کشت DMEM حاوی FBS ۱۰ درصد و U/ml ۱۰۰ پنی-سیلین و ۱۰۰µg/ml استرپتومایسین کشت داده شد. اثر غلظت‌های مختلف کورکومین بر روی رشد سلول‌های سرطانی HT_29 با روش MTT بررسی شد. آزمون ایمونوسیتوشیمی به‌منظور بررسی اثر کورکومین بر بیان AQP5 انجام گردید.

نتایج: نتایج حاصل از ایمونوسیتوشیمی نشان داد که میزان پروتئین AQP5 در سلول‌های تیمارشده توسط کورکومین کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که کورکومین بیان AQP5 را در سلول‌های سرطانی روده HT-29 مهار می‌کند. مهار AQP5 ممکن است یک راه درمانی جدید در پیش‌گیری و درمان سرطان روده باشد.

واژگان کلیدی: کورکومین، سرطان کولورکتال، آکواپورین ۵، رده سلولیHT_29

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ٦، بهمن و اسفند ۱۳۹۱، صفحات ۵۰۰-۴۹۳

مقدمه

سرطان به‌عنوان یک مشکل جهانی و دومین عامل مرگ و میر انسانی در کشورهای توسعه‌یافته است. خود کفا بودن در تکثیر سلولی، عدم حساسیت به سیگنال‌های مهار کننده رشد، عدم محدودیت در توانایی تکثیر، وقوع آنژیوژنز، تهاجم بافتی و متا-ستاز از جمله تغییرات فیزیولوژیکی می‌باشند که تقریبا در تمامی انواع تومورهای انسانی یافت می‌شوند. تفاوت‌های ژنتیکی بی‌شمار و تغییرات اپی‌ژنتیکی که در سرطان رخ می‌دهند، توضیحی از طبیعت ناهمگن سرطان و پیچیده بودن درمان آن می‌باشد [۱]. سالانه ۵۰۰۰۰ مورد تازه سرطان در ایران تشخیص داده می‌شود که سرطان‌های گوارشی تعداد قابل توجهی از این آمار را به‌خود اختصاص می‌دهند.

سرطان روده بزرگ جزو بیماری‌های خطرناک بوده و از نظر شیوع سومین سرطان شایع و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان (پس از سرطان ریه) محسوب می‌شود. در ایران نیز همین آمار برقرار است، اما متاسفانه سن شیوع بیماری پایین‌تر از استاندارد جهانی می‌باشد. سرطان روده بزرگ، پس از سرطان مری و معده سومین سرطان شایع گوارشی در مردان و زنان ایرانی می-باشد. در ایجاد یک توده سرطانی از بافت طبیعی اپی‌تلیال روده حداقل باید ۸-٦ جهش در بافت طبیعی ایجاد شود. با ایجاد این جهش‌ها در بافت روده، مسیرهای انتقال پیام سرطان‌زا در سلول‌ها فعال می‌شوند که برخی از آنها نقش مهم‌تری در ایجاد سرطان دارند [٤-۲]. علل و عوامل مختلفی می‌توانند به‌عنوان عامل سرطان‌های مختلف هم‌چون سرطان روده بزرگ در نظر گرفته شوند؛ از جمله عوامل ژنتیکی، محیطی و رژیم غذایی. عوامل سرطان‌زای متفاوت موجود در رژیم غذایی، جهش‌های نقطه‌ای K-ras را القاء می‌کنند [٦،۵]. مشخص شده است که جهش سوماتیک APC و Kras در تغییر مخاط طبیعی به کارسینوما در سرطان روده نقش دارند [۷]. نوع رژیم غذایی یکی از مهمترین فاکتورهای خارجی موثر بر سرطان روده است. مطالعات تخمین می‌زنند که توسط رژیم غذایی صحیح از ۷۰ درصد سرطان‌های روده می‌توان پیش‌گیری کرد [۸]. شیمی درمانی، جراحی و پرتو درمانی روش-

[۱] استادیار، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

[۲] دانشیار، گروه زیست شناسی علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

[۳] دانشجو کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

[۴] دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

* **نشانی نویسنده مسئول:**

تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه آموزشی زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۶۶۰۹۳۳۷ **دورنویس:** ۰۲۶۳ ۴۵۱۰۰۰۵

پست الکترونیک: Nabiuni@tmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۱۷ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۱/۷/۱۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]

های رایج درمان سرطان می‌باشند. داروهای شیمیایی علاوه بر سلول‌های سرطانی، سلول‌های سالم و عوامل مفید مانند آنزیم‌ها و سوبستراهای مربوط به همانندسازی و ساخت DNA را نیز مورد حمله قرار می‌دهند [۹]. پیشگیری از سرطان، استفاده از مواد شیمیایی طبیعی، مصنوعی یا بیولوژیکی در جهت مهار، برگشت یا جلوگیری از تکوین سرطان است [۱۰]. اغلب روش‌های کاربردی برای کاهش شیوع مرگ و میر ناشی از سرطان، تاخیر فرآیند سرطان‌زایی از طریق عوامل پیشگیری کننده از سرطان است. ترکیباتی که می‌توانند مسیرهای درون سلولی درگیر در عملکرد سلول غیرطبیعی را مورد هدف قرار دهند، توانایی دست‌کاری این مسیرها را دارند و به این طریق فرایند سرطان‌زایی را به تاخیر می‌اندازند [۱۱]. آکواپورین‌ها، کانال‌های آبی با نفوذپذیری بالا، می‌باشند که در بسیاری از موجودات از جمله انسان شناسایی شده‌اند [۱۳،۱۲]. آکواپورین‌ها در تکوین سرطان نقش بسیار مهمی دارند. مطالعات گوناگون نشان داده‌اند که بیان آکواپورین‌های گوناگون در تومورها افزایش یافته است. نتایج مطالعات مختلف در مورد بیان افزایش یافته AQP3 در سلول‌های سرطانی کلیه و کارسینومای پوست [۱٤]، AQP5 در سرطان پانکراس و تخمدان [۱٦،۱۵]، نقش AQP1 در کنترل چرخه سلولی و تومورزایی [۱۸،۱۷]، القای بیان AQP1,3,5 در طی فعالیت لنفوسیت‌ها [۱۹]، بیان‌گر اهمیت و نقش آکواپورین‌ها در سرطان می‌باشند. مهار بیان آکواپورین‌ها تکثیر سلول‌های سرطانی، مهاجرت، متاستاز و آنژیو‌ژنز را تحت تاثیر قرار داده است [۲۰]. مهار AQP5 می‌تواند یک راه درمانی جدید علیه سرطان روده باشد. کورکومین یا دی‌فرولویل متان (Diferuloylmethan) که ۵-۲ درصد مواد موجود در زردچوبه را تشکیل می‌دهد، از ریزوم گیاه *Curcumin longa* متعلق به خانواده *Zingi beraceae* جدا شده است و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، ضد التهابی و آپوپتوز سلولی است [۲۲،۲۱]. کورکومین یک رده متمایز از عوامل پیشگیری از سرطان است که دارای مکانیسم عمل چندگانه بوده و قادر است هر سه مرحله سرطان‌زایی القاء، شروع و پیشرفت را تحت تاثیر قرار دهد. اثر پیشگیری‌کننده از سرطان کورکومین تقریبا در همه مراحل سرطان‌زایی به‌خاطر ماهیت غیر سمی آن می‌باشد [٤]. کورکومین بیان لیگاندهای آنژیوژنیک و گیرنده‌های آنها را کاهش می‌دهد، هم‌چنین قادر است سلول‌های سرطانی را به شیمی درمانی و پرتو درمانی حساس کند [۲۵-۲۳]. در این تحقیق توانایی کورکومین در مهار AQP5 در راستای مهار سرطان‌زایی روده مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی رده سلولی HT_29 از انستیتو پاستور ایران تهیه شد و در محیط کشت DMEM (Gibco, USA) حاوی ۱۰ ٪FBS (Gibco, UK) و ۱۰۰ U/ml پنی‌سیلین و ۱۰۰µg/ml استرپتومایسین در فشار ۵ درصد CO2 و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در فلاسک cm^3 ۲۵ کشت داده شد. سپس به تعداد $۱/۵\times۱۰^۵$ سلول بر میلی‌لیتر در پلیت‌های کشت ۲٤ خانه کشت داده شد. شمارش سلولی با استفاده از لام هموسایتومتری صورت گرفت؛ بدین صورت که سلول‌های ٤ خانه بزرگ شمارش شده و میانگین اعداد به‌دست آمده در $۱۰^٤$ ضرب شد و تعداد سلول‌ها در هر میلی‌لیتر به‌دست آمد. محلول غلیظ کورکومین باغلظت اولیه ۵ میلی‌مولار در اتانول ۹٦ درصد تهیه شده و به دور از نور در دمای ٤۰°C- نگه‌داری شد. جهت رقیق نمودن و اضافه نمودن کورکومین به محیط کشت از معادله $N_1V_1= N_2V_2$ استفاده شد. به‌عنوان مثال برای ایجاد غلظت ۰/۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۵ میلی‌مولار با۹۰۰ میکرولیتر محیط کشت کامل مخلوط شد. جهت رقیق نمودن تمامی محلول‌های غلیظ از محیط کشت استفاده شد تا اثر اتانول قابل چشم‌پوشی باشد. جهت تعیین درصد بقا (viability) سلول‌ها از روش MTT استفاده شد (Sigma, UK). پودر MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر در سرم فیزیولوژیکی حل شد و دور از نور در دمای°C ۲۰- نگه‌داری گردید. اساس روش MTT بر پایه عملکرد آنزیمی در سلول‌های زنده می‌باشد؛ بدین صورت که سلول‌های زنده دارای آنزیم‌های فعال بوده و قادر به احیاء ماده MTT می‌باشند و در اثر این احیاء، رنگدانه‌های تیره رنگ در داخل سلول‌های زنده تشکیل می‌گردد، اما در داخل سلول‌های مرده اثری از این رنگدانه‌ها دیده نمی‌شود. جهت روش MTT، ابتدا $۱/۵\times۱۰^۵$ سلول بر میلی‌لیتر در هر خانه از پلیت کشت ۲٤ خانه ریخته شده و غلظت ماده مورد نظر تنظیم گردید. پس از اتمام بازه‌های زمانی (۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت)، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT به هر خانه اضافه شد و ٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد دور از نور انجام گرفت. پس از اتمام انکوباسیون محیط کشت رویی تخلیه شد، سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اسیدی (Merck, Germany) به‌منظور حل شدن کامل بلورهای فورمازان به هر چاهک اضافه شد تا رنگدانه‌های داخل سلول‌های زنده بیرون ریخته شوند. اسید در ایزوپروپانول باعث می‌شود غشا سلول لیز شده و ایزوپروپانول وارد سلول شده، بلورهای نامحلول فورمازان را به حالت محلول در آورد. میزان حداکثر جذب نوری (OD) در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گرفته شد و طبق معادله زیر، درصد سلول‌های زنده

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]

محاسبه گردید. OD×۱۰۰ کنترل/OD تست. تمامی تجربیات حداقل سه بار تکرار شدند. جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار Instate 3، از روش one-way ANOVA استفاده شد و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد. در این پژوهش تمامی غلظت‌ها با گروه کنترل مقایسه شده و viability آنها نسبت به گروه کنترل سنجیده شده است. ایمونوسیتوشیمی: سلول‌های HT_29 توسط تریپسین ۰/۲۵ درصد از کف فلاسک جدا شده و در پلیت‌های کشت سلول ۲۴ خانه کشت داده شدند. ۲۴ ساعت بعد سلول‌ها توسط غلظت ۵۰ µM کورکومین به‌مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. سپس سلول‌ها توسط PBS شسته شده و در دمای ۴°C به‌مدت ۱۵ دقیقه توسط فرمالین ۴ درصد تثبیت شدند. در ادامه توسط آلبومین سرم گاوی (BSA) ۱ درصد در دمای اتاق به‌مدت ۴۵ دقیقه بلوکه شده و سپس با آنتی‌بادی اولیه (Rabbit anti aquaporin5 ab92320)، که از شرکت Gibco انگلستان خریداری شده بود، با رقت ۱۰۰/۱ در ۰/۲ درصد PBST/BSA، به‌مدت یک شبانه روز انکوبه گشتند. پس از شستشو با PBST۰/۱ درصد (PBS- Tween)، سلول‌ها با آنتی‌بادی ثانویه مناسب، کونژوگه با FITC (شرکت رازی- بیوتک) با رقت ۱۶/۱ در PBST/BSA ۰/۲ درصد به‌مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. به‌منظور رنگ‌آمیزی هسته، سلول‌ها توسط رنگ DAPI (4',6-Diamidino-2-Phenylindole 1µg/ml) به‌مدت ۱ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. پس از شستشو با PBS، نتیجه توسط میکروسکوپ فلوئورسنت بررسی شد.

نتایج

سلول‌ها در غیاب و حضور غلظت‌های متفاوت کورکومین (۸۰µM-۱۰) به‌مدت ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت داده شدند. درصد بقای سلول‌ها توسط آزمون MTT سنجیده شد. نمودار و جدول شماره ۱ تاثیر سیتوتوکسیک کورکومین بر سلول‌های HT-29 را نشان می‌دهد.

اثر کورکومین بر مورفولوژی سلول‌های HT_29

سلول‌های HT_29 تحت تاثیر تیمار با کورکومین دچار تغییراتی در مورفولوژی شدند که این تغییرات در شکل شماره ۱ مشهود می‌باشد. این تغییرات شامل سست شدن اتصال سلول‌ها به کف چاهک‌های پلیت و از دست دادن قدرت چسبندگی بود. هم‌چنین، قدرت سلول‌ها در تشکیل کلونی و باقی ماندن در کنار هم کم می‌شد. بنابراین با سست شدن اتصال سلولی به کف پلیت شکل سلول از حالت چند وجهی به گرد تغییر می‌یافت. نتایج حاصل از MTT نشان داد، کورکومین در غلظت‌های بالای۸۰ ماکرومولار دارای اثر کشندگی بسیار شدیدی است. با افزایش غلظت کورکومین لیز شدگی شدید سلول‌ها مشاهده شد و درصد بیشتری از سلول‌ها دچار مرگ شدند. در دوزهای (۸۰µM-۱۰) به‌صورت وابسته به زمان و غلظت، باعث کاهش بقاء سلولی گردید و بعد از طی ۷۲ ساعت واکوئله شدن شدید سلول‌ها و کاهش معنی‌داری در میزان سلول‌های زنده نسبت به نمونه کنترل گردید و بقایای سلول‌های مرده در محیط تفاوتی با نمونه کنترل نداشت و مهار تکثیر نسبت به نمونه کنترل در سطح $P<$۰/۰۱ معنی‌دار بود. در غلظت۵۰ µM کورکومین پس از طی ۲۴ ساعت تیمار، بقاء سلولی ۵۳ درصد محاسبه شد (IC50) و بقاء سلولی پس از طی ۷۲ ساعت تیمار با غلظت ۸۰ µM کورکومین به ۵ درصد کاهش یافت ($P<$۰/۰۱).

اثر کورکومین بر بیان پروتئین AQP5 در سلول‌های سرطانی HT-29

سلول‌های HT_29 با غلظت‌های ۵۰ µM کورکومین به‌مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. به‌منظور تاثیر کورکومین بر بیان AQP5 آزمون ایمونوسیتوشیمی انجام گردید و مشخص شد که کورکومین بیان AQP5 را در این سلول‌ها کاهش می‌دهد. شکل شماره ۲ نتایج حاصل از این آزمون را نشان می‌دهد.

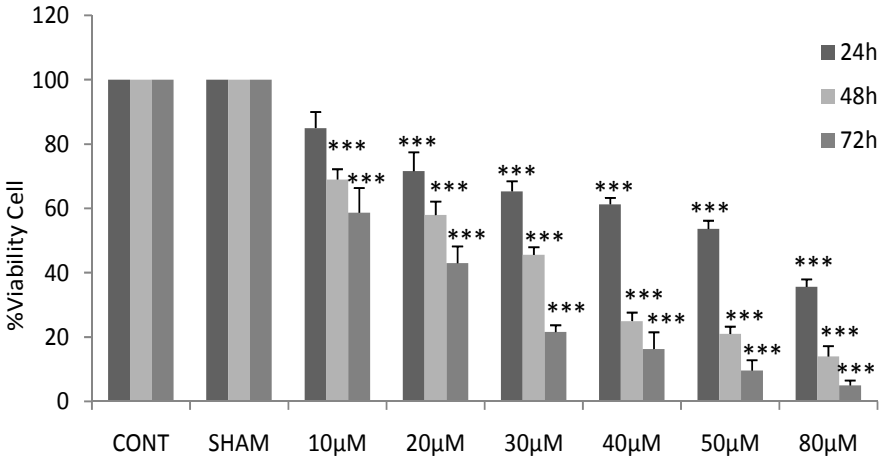
جدول شماره ۱- درصد سلول‌های زنده HT-29 در حضور غلظت‌های مختلف کورکومین در مقایسه با کنترل در مدت ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت با روش MTT

	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
Control	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰
۱۰µM	۸۵±۵/۰۳	۶۹±۳/۲۱***	۵۸/۶۶±۷/۶۸***
۲۰µM	۷۱/۶۶±۵/۸۴ ***	۵۸±۴/۱۶***	۴۳±۵/۲۹***
۳۰µM	۶۵/۳۳±۳/۱۸***	۴۵/۶۶±۲/۳۳***	۲۱/۶۶±۲/۰۲***
۴۰µM	۶۱/۳۳±۲/۲۰***	۲۵±۲/۶۴***	۱۶/۳۳±۵/۲۰***
۵۰µM	۵۳/۶۶±۲/۶۰***	۲۱±۲/۳۰***	۹/۶۶±۳/۱۸***
۸۰µM	۳۵/۶۶±۲/۳۳***	۱۴±۳/۲۱***	۵±۱/۵۵***

$\overline{X} \pm SEM$ ** $P<$۰/۰۱ ،*** $P<$۰/۰۰۱

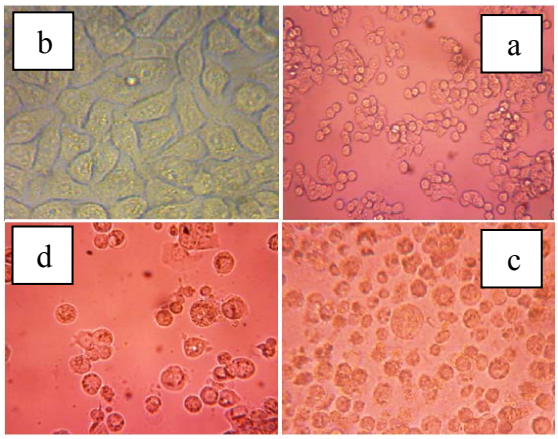
تعداد اولیه سلول‌ها ۱۰۵×۱/۵در هر میلی لیتر محیط کشت بود.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]



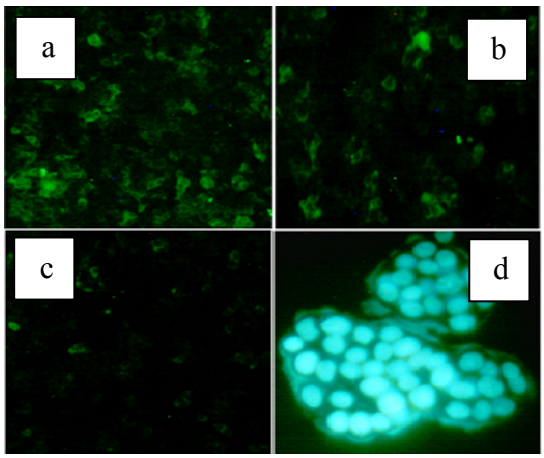
نمودار شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف کورکومین بر تکثیر سلول‌های HT_29 پس از طی ۲٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش MTT

$\overline{X} \pm SEM$ $^{**}P<۰/۰۱$،$^{***}P<۰/۰۰۱$



شکل شماره ۱- مورفولوژی سلول‌های HT_29 در اثر القاء آپوپتوز

سلول‌های گروه کنترل که توسط کورکومین تیمار نشده‌اند (a)، در شکل (b و c) که با غلظت ۵۰ µM کورکومین در ۲٤ و٤٨ ساعت تیمار شده‌اند، می‌توان درجات مختلف القاء آپوپتوز سلولی شامل واکوئله شدن سیتوپلاسم و چروک خوردن سلول را مشاهده نمود. در شکل (d) که با غلظت ۵۰µ M کورکومین در۷۲ ساعت تیمار شده است، متلاشی شدن اجزاء سلول و لیز شدگی سلولی در اثر غلظت‌های سیتوتوکسیک کورکومین مشاهده می‌شود. بزرگ‌نمایی× ٤۰۰.



شکل شماره ۲- نتایج حاصل از ایمونوسیتوشیمی

سلول‌های گروه کنترل که توسط کورکومین تیمار نشده‌اند (a)، سلول‌های تیمار شده با غلظت µM۳۰ کورکومین طی٤۸ ساعت (b)، سلول‌های تیمار شده با غلظت µM۵۰ کورکومین طی ٤۸ ساعت (c)، هسته سلول‌های گروه کنترل که با رنگ DAPI رنگ آمیزی شدند (d).

بحث

کورکومین یک مولکول آب‌گریز است که به‌راحتی از غشاء پلاسمایی به داخل سیتوزول عبور می‌کند [۲٦]. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که کورکومین می‌تواند مانع بروز سرطان راست روده شده و یا آن را به تاخیر بیندازد. این ماده که تاریخچه طولانی در درمان سنتی هند دارد، بقاء، تکثیر، آنژیوژنز و متاستاز سلول‌های سرطانی روده بزرگ را از طریق مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی گوناگون مثل P53، EGFR، COX_2، و MAPK مهار می‌کند [۲۸،۲۷]. با مروری بر عملکردهای کورکو-مین تا حدودی می‌توان مسیرهای مولکولی که کورکومین اثر خود را بر آنها اعمال می‌کند را شناسایی نمود. در این بین فعالیت NF_KB اهمیت خاصی دارد. NF_KB یکی از فاکتورهای نسخه برداری مشتق شده از خانواده پروتئین‌های REL است که در اکثر سرطان‌ها فعال می‌شود و در تکثیر سلول‌های سرطانی نقش دارد [۲۹]. این فاکتور از جمله عوامل مهاری است که در تکثیر سلول‌های سرطانی روده از جمله سلول‌های HT-29 نقش داشته و رونویسی بسیاری از ژن‌های دخیل در سرطان، التهاب، آپوپتوز و تکثیر سلولی را تنظیم می‌نماید. افزایش بیان این فاکتور در بسیاری

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]

از سلول‌های سرطان روده دیده می‌شود و منجر به مقاوم شدن این سلول‌ها در برابر عوامل متوقف‌کننده تکثیر و یا القاء کننده آپوپتوز می‌گردد. مطالعات بسیاری نشان داده موادی که موجب مهار فعالیت این فاکتور رونویسی می‌گردند، باعث آپوپتوز و یا مهار تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شوند. کورکومین فعال‌سازی این فاکتورها را مهار کرده و در نتیجه رشد سرطان را مهار نموده و از پیشرفت روند متاستاز جلوگیری می‌کند [۱۱]. Jeong و همکارانش تنظیم NF_KB را با استفاده از کورکومین در سلول-های سرطانی روده HT-29 تشخیص داده‌اند [۲۷]. Plummer و همکارانش نیز توانایی کورکومین در کاهش فعالیت فاکتور هسته-ای کاپا را گزارش کرده‌اند [۳۰]. مطالعات بعدی نشان دادند که کورکومین باعث کاهش بیان سایکلین D,E در سلول‌های سرطانی روده شده و شکستگی مولکول بتاکاتنین و در نتیجه کاهش فعالیت کمپلکس بتاکاتنین/TCF را در سلول‌های سرطانی روده hct116 القا می‌کند [۳۲،۳۱]. بتاکاتنین، فاکتوری کلیدی در آغاز سرطان-زایی روده است [۳۳]. هم‌چنین، این ماده قادر است بیان پروتئین Bcl2 و Egr1 را در سلول‌های hct116 کاهش داده و با مهار بیان گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی و تنظیم مسیر انتقال پیام /AKT MTOR از رشد آنها جلوگیری می‌کند [۳۵،۳٤]. بررسی‌های مختلف نشان داده که سیکلواکسیژناز ۲ نقش مهمی در تکامل سرطان راست روده دارد و دارای اثرهای آنتی‌آپیتوتیکی و آنژیوژنزاست [۱۹]. Zhang و همکارانش نشان دادند کورکومین سیکلواکسیژناز ۲ را هم‌چون لیپواکسیژناز که هر دو آنزیم‌هایی هستند که در روند التهاب درگیرند، را مهار می‌کند [۳٦]. کورکومین قادر است آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی از طریق تمام مسیرهای اصلی آپوپتوز (Extrinsic & ER stress pathway) القا کند [۳۷]. کورکومین قابلیت حیات (viability) را در سلول‌های کارسینومای HT-29 با القاء آپوپتوز کاهش می-دهد [۲٦]. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که کورکومین در یک الگوی وابسته به دوز و زمان، رشد سلول‌های سرطانی HT_29 را مهار می‌کند. AQP5 در سرطان‌زایی روده نقش بسیار مهمی دارد و توانایی کورکومین در مهار بیان آن، مدرکی مهم در جهت اثبات قدرت پیش‌گیری کننده این ماده در سرطان روده است. Woo و همکارانش گزارش کردند که بیان نابه‌جای AQP5 انسانی تغییرات ظاهری بافتی بسیاری و به‌طور مشخص تغییر شکل سلولی را هم در محیط‌های برون و درون‌تنی القا می‌کند [۳۸]. با آنکه AQP3 تنها آکواپورینی است که در بافت اپی‌تلیوم روده‌ای طبیعی بیان می‌شود، بیان آکواپورین‌های متفاوت در سلول‌های توموری به‌صورت هم‌زمان گزارش شده است. AQP1 و AQP3 در سلول‌های سرطان روده بزرگ بیان شده و بیان آنها با مراحل اولیه تکوین سرطان روده بزرگ وابسته است و به‌علاوه تا مراحل انتهایی تکوین سرطان حفظ می‌شود. بیان AQP5 در ٦۲ درصد بافت‌های سرطانی روده بزرگ مشاهده شده است. این مشاهدات این احتمال را بر می‌انگیزد که بیان AQP یک فرایند آغازکننده و هم‌چنین پیش‌برنده در سرطان‌زایی روده است [۳۹]. AQP5 از طریق فسفوریلاسیون در محل پروتئین کیناز A، واقع در لوپ سیتوپلاسمیک D، قادر است مسیر RAS را مورد هدف قرار دهد. مطالعات Kang و همکارانش نشان داد که AQP5 فسفوریلاسیون ERK (Extracellular signal regulated kinase) را افزایش می‌دهد. AQP1 و AQP3 هیچ تاثیری بر افزایش فسفوریلاسیون ERK ندارند، لذا در انتقال سیگنال دخالتی ندارند [٤۰]. در این مطالعه تاثیر کورکومین بر بیان AQP5 بررسی شد. نتایج بیان‌گر آن است که کورکومین قادر به کاهش این بیان است. مهم آن که بی‌خطر بودن کورکومین تاکنون ثابت شده و مطالعات نشان داده‌اند که حتی دوز ۱۲میلی‌گرم در روز این ماده به راحتی قابل تحمل است [٤۱].

نتیجه‌گیری

کورکومین قادر است بیان AQP5 را در سلول‌های سرطانی روده HT_29 کاهش دهد و لذا ممکن است به‌عنوان یک مهار کننده AQP5 روند سرطان‌زایی در بافت روده را به تعویق بیاندازد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد، در آزمایشگاه زیست شناسی سلولی – تکوینی دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی صورت گرفته است. نویسندگان مقاله از مدیریت محترم دانشکده، اساتید محترم و تمام کسانی که در اجرای این پروژه مساعدت نموده‌اند، سپاسگزاری می‌نمایند.

References:

[1] Hanahan D, Weinberg RA. The hall marks of cancer. ***Cell*** 2000; 100(1): 57-70.

[2] Teimoori L, Azadmanesh K, Amanzadeh A, Zeinali S. Selective Suicide Gene Thrapy of Colon

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]

Cancer Exploting The urokinase Plasm inogen activator Receptor. ***BioDrugs*** 2010; 24(2): 131-46.
[3] Malekzadeh R, Bishehsari F, Mahdavinia M, Ansari R. Epidemiology and Molecular Genetics of Colorectal Cancer in Iran. ***Arch Iranian Med*** 2009; 12(2): 161–9.
[4] Wang JB, Qi LL, Zheng SD, Wu TX. Curcumin induces apoptosis through the mitochondria_mediated apoptotic pathway in HT_29 cells. ***J Zhejiang Univ Sci B*** 2009; 10(2): 93-102.
[5] Slattery ML, Curtin K, Anderson K, Ma KN, Edwards S, Leppert M, et al. Associations between dietary intake and K-ras mutations in colon tumors: a population-based study. ***Cancer Res*** 2000; 60(24): 6935–41.
[6] Brink M, Weijenberg MP, De Goeij AF, Schouten LJ, Koedijk FD, Roemen GM, et al. Fat and K-ras mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. ***Carcinogenesis*** 2004; 25(9): 1619–28.
[7] Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. ***Cell*** 1990; 61(5): 759–67.
[8] Stewart BW, Kleihus P, editors. World Cancer Report. Lyon: IARC Press; 2003.
[9] Wisniewiki MZ, Wietrzyk J, Opplski A. Targeted delivery of drugs for treatment of parasitic infections. ***Arch Immune Therap Exper*** 2000; 48: 51-5.
[10] Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. ***Cancer Lett*** 2005; 223(2): 181–90.
[11] Thangapazham RL, Sharma A, Maheshwari R K. Multiple molecular target in cancer chemoprevention by curcumin. ***AAPS J*** 2006; 8(3): 443-9.
[12] Verkman AS. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. ***J Cell Sci*** 2005; 118(Pt 15): 3225–32.
[13] Park JH, Saier MH Jr. Phylogenetic characterization of the MIP family of transmembrane channel proteins. ***J Membr Biol*** 1996; 153(3): 171–80.
[14] Kageyama Y, Sasaki S, Yamamura Y, Oshima H, Ikawa Y. Water channel protein subtype suggests the origin of renal cell carcinoma. ***J Urol*** 1996; 156(1): 291–5.
[15] Burghardt B, Elkaer ML, Kwon TH, Rácz GZ, Varga G, Steward MC, et al. Distribution of aquaporin water channels AQP1 and AQP5 in the ductal system of the human pancreas. ***Gut*** 2003; 52(7): 1008–16.
[16] Yang JH, Shi YF, Cheng Q, Deng L. Expression and localization of aquaporin-5 in the epithelial ovarian tumors. ***Gynecologic Oncol*** 2006; 100(2): 294-9.
[17] Hoque MO, Soria JC, Woo J, Lee T, Lee J, Jang SJ, 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): 1345–53.
[18] Moon C, Williams JB, Preston GM, Copeland NG, Gilbert DJ, Nathans D, et al. The mouse aquaporin-1 gene. ***Genomics*** 1995: 30(2): 354–7.
[19] Moon C, Rousseau R, Soria JC, Hoque MO, Lee J, Jang SJ, et al. Aquaporin expression in human lymphocytes and dendritic cells. ***Am J Hematol*** 2004; 75(3): 128–33.
[20] 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(10): 1132–7.
[21] Sandur SK, Ichikawa H, Pandey MK, Kunnumakkara AB, Sung B, Sethi G, et al. Role of pro-oxidants and antioxidants in the anti-inflammatory and apoptotic effect of curcumin. ***Free Radic Biol Med*** 2007; 43(4): 568-80.
[22] 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.
[23] Gururaj AE, Belakavadi M, Venkatesh DA, Marme D, Salimath BP. Molecular mechanisms of anti-angiogeniceffect of curcumin. ***Biochem Biophys Res Commun*** 2002; 297(4): 934-42.
[24] Hatcher H, Cho RP, Torti FM, Torti SV. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trial. ***Cell Mell Life Sci*** 2008; 65: 1631-52.
[25] Goel A, Aggarwal BB. Curcumin, the golden spice from Indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs. ***Nutr Cancer*** 2010; 62(7): 919-30.
[26] Song G, Mao YB, Cai QF, Yao LM, Ouyang GL, Bao SD. Cuecumin induces human HT_29 colon adenocarcinoma cell apoptosis by activing P53 and regulating apoptosis_related protein expression. ***Braz J Med Biol Res*** 2005; 38(12): 1791-8.
[27] Jonson JJ, Mukhtar H. Curcumin for chemoprevention of colon cancer. ***Cancer Lett*** 2007; 255(2): 170-81.
[28] Jhnson S, Gulhati P, Arrleta I, Wang X, Uchida T, Gao T, et al. Evers B.M.Curcumin inhibits proliferatiom of colorectal carcinoma by modulatig AKT/Mtor signaling. ***Anticancer Res*** 2009; 29(8): 3185-90.
[29] Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. ***Cancer lett*** 2008: 269(2): 199-225.
[30] Plummer SM, Holloway KA, Manson MM, Munks RJ, Kaptein A, Farrow S, et.al. Inhibition of cyclo-oxygenase 2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF-kappaB activation via the NIK/IKK signalling complex. ***Oncogene*** 1999: 18(44): 6013–20.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]

[31] 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): 301–7.
[32] Jaiswal AS, Marlow BP, Gupta N, Narayan S. Beta-catenin mediated transactivation and cell-cell adhesion pathways are important in curcumin (diferuylmethane)-induced growth arrest and apoptosis in colon cancer cells. ***Oncogene*** 2002; 21(55): 8414–27.
[33] Wong NA, Pignatelli M. Beta-catenin—a linchpin in colorectal carcinogenesis? ***Am J Pathol*** 2002; 160(2): 389–401.
[34] 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(2): 278–87.
[35] Hague A, Moorghen M, Hicks D, Chapman M, Paraskeva C. BCL-2 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. ***Oncogene*** 1994: 9(11): 3367–70.
[36] Goel A, Boland CR, CHauhan DP. Specific inhibition of cyclooxygenase_2 (COX_2) expression by dietary curcumin in HT_29 human colon cancer cells. ***Cancer lett*** 2001; 172(2): 111-8.
[37] Reuter S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal B, Diedrrich M. Modulation of anti-apoptotic and survival pathway by curcumin as a strategy to induce apoptosis in cancer cells. ***Biochem Pharmacol*** 2008; 76(11): 1340-51.
[38] Woo J, Lee J, Chae YK, Kim MS, Baek JH, Park JC, et al. Overexpression of AQP5, a putative oncogene, promotes cell growth and transformation. ***Cancer Lett*** 2008; 264(1): 54–62.
[39] Kang SK, Chae YK, Woo J, Kim MS, Park J C, Jang SJ, et al. Role of human aquaporin 5 in colorectal carcinogenesis. ***Am J Pathol*** 2008; 173(2): 518-25.
[40] Kang SK, Chae YK, Woo J, Kim MS, Park JC, Lee J, et al. Role of Human Aquaporin 5 in Colorectal Carcinogenesis. ***Am J Pathol*** 2008; 173(2): 518-25.
[41] Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. ***Mol Pharm*** 2007; 4(6): 807-18.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-29]