Thesis Title Effect of *Zingiber officinale* Extract on Telomerase Expression in Lung Carcinoma Cells

Author Miss Chonnipa Songsomboon

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Wirote Tuntiwechapikul

ABSTRACT

Telomerase is repressed in normal human somatic cells, but is activated in most cancers, suggesting that telomerase may be an important target for cancer therapy. *Zingiber officinale* or known as ginger, is a natural dietary component, which has antioxidant and anti-carcinogenic properties. In present study, the effect of *Z. officinale* extract on telomerase expression was investigated in human lung carcinoma cell line A549. The rhizomes of *Z. officinale* were extracted sequentially with hexane, ethyl acetate, acetone, and methanol. Each extract was tested for its cytotoxicity by Sulforhodamine B colorimetric assay, using A549 human lung cancer cells. The IC_{50} values of *Z. officinale* extract in hexane, ethyl acetate, acetone, and methanol were 60±1.98, 50±3.97, 60±2.55 and >128 µg/ml, respectively. The *Z. officinale* extracts were tested for their ability to modulate the *hTERT* expression, using RT-PCR and Western blot analysis. The *Z. officinale* extract in ethyl acetate and acetone fractions both significantly reduced *hTERT* mRNA expression in dose- and time-dependent manner, whereas extract in hexane and methanol fractions did not. The hTERT protein also significantly reduced by the ethyl acetate fraction. The inhibitory effects on *hTERT* expression may associate with *hTERT* promoter activity. Increasing concentration of *Z. officinale* extract in ethyl acetate and acetone fractions both significantly reduced *c-Myc*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

and *Max* whereas the level of Mad mRNA slightly increased. Further, the expression of *hTERT* mRNA was not inhibited in hTERT-bj1 fibroblast cells, which expresses telomerase using different promoter, by *Z. officinale* extracts treatment. These results suggest that the down-regulation of *hTERT*, in both mRNA and protein levels, by the *Z. officinale* extract is likely the consequences of down-regulation at the promoter level. This finding offers a new opportunity for future development of *Z. officinale* as a novel anti-cancer agent for lung cancer and possibly for other cancers as well.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของสารสกัดจากขิงต่อการแสดงออกของ เทโลเมอเรส ในเซลล์มะเร็งปอดมนุษย์

ผู้เขียน นางสาวชนม์นิภา ทรงสมบูรณ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ. ดร. วิโรจน์ ตันติเวชอภิกุล

บทคัดย่อ

เอนไซม์เทโลเมอเรสไม่มีการแสดงออกในเซลล์ปกติ แต่มีการแสดงออกในเซลล์มะเร็งมนุษย์ ด้วยเหตุผลนี้เอนไซม์เทโลเมอเรส จึงได้รับความสนใจในการเป็นเป้าหมายของการพัฒนายาต้านมะเร็ง *Zingiber officinale* หรือขิง มีคุณสมบัติต่างๆมากมาย ได้แก่ ฤทธิ์ในการต้านการเกิดสารอนุมูลอิสระและ ฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง ในการศึกษาครั้งนี้ การศึกษาผลของ สารสกัดจากขิงต่อการแสดงของเทโลเมอเรสในเซลล์มะเร็งปอดมนุษย์ สกัดสารจากขิง ถูกแยกโดยใช้สารละลายเฮกเซน, เอทิลแอซิเตท , แอซิโตน และเมธานอล ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเหล่านี้ในเซลล์มะเร็งปอด โดยวิธี Sulforhodamine B colorimetric assay ค่า IC_{50} ของสารสกัดชั้นเฮกเซน, เอทธิลอะซิเตท, อะซิโตน, และ เมทธานอล เป็น 60 ± 1.98, 50 ± 3.97, 60 ± 2.55 และ > 128 µg/ml ตามลำดับ สารสกัดจากขิงต่อการแสดงออกของ hTERT ถูกทดสอบโดยวิธี RT-PCR และ Western blot analysis พบว่าสารสกัดขิงในชั้นเอทธิลอะซิเตท และชั้นอะซิโตน สามารถลดการแสดงออกของ hTERT ในระดับ mRNA แบบแปรผันตามความเข้มข้นและเวลา ส่วนสารสกัดชั้นเฮกเซนและเมทธานอลไม่สามารถลด mRNA นี้ได้ อีกทั้งสารสกัดขิงในชั้นเอทธิลอะซิเตทสามารถลดการแสดงออกของ hTERT ในระดับโปรตีนด้วย เนื่องจากการยับยั้งการแสดงออกของ hTERT อาจเกี่ยวข้องกับการทำงานของ promoter ของยีน โดบพบว่า สารสกัดขิงทั้งในชั้นเอทธิลอะซิเตทและชั้นอะซิโตน สามารถยับยั้งการแสดงออกของยีน *c-myc* และ *Max* ได้โดยแปรผันตามความเข้มข้น ในขณะที่ยีน *Mad* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย อีกทั้งสารสกัดขิงทั้งสอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชั้นไม่มีผลต่อการแสดงออกของยีน *hTERT* ในเซลล์ hTERT-BJ1 fibroblast cells ซึ่งมีการแสดงออกของเทโลเมอเรสโดยใช้โปรโมเตอร์ที่แตกต่างจากเซลล์มะเร็ง จากการศึกษาทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากขิงสามารถลดการแสดงออกของ hTERT ทั้งในระดับ mRNA และ โปรตีน ซึ่งเป็นผลจากการลดการทำงานของ promoter ของ *hTERT* ข้อมูลจากการศึกษานี้ จะเป็นแนวทางใหม่ในการพัฒนาสารสกัดจากขิงเป็นยารักษาโรคมะเร็งปอดและโรคมะเร็งชนิดอื่นๆต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved