

พัชรวิ จันทรธาวาร : บทบาทของ Ring finger protein 43 (RNF43) ในมะเร็งท่อน้ำดี  
(ROLE OF RING FINGER PROTEIN 43 (RNF43) IN CHOLANGIOCARCINOMA)

อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร.ชุตินา คลับนิล, 84 หน้า

โปรตีน Ring finger protein 43 หรือ RNF43 คือ E3 ubiquitin-protein ligase ทำหน้าที่ควบคุมยับยั้งกระบวนการ Wnt signaling โดยจะนำโปรตีน ubiquitin มาจับกับโปรตีนเป้าหมายคือ Wnt receptor บนผิวเซลล์ได้อย่างจำเพาะ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการชักนำการย่อยสลายโปรตีน Wnt receptor โดยการนำโปรตีนเป้าหมายนี้เข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีเอนโดไซโทซิสและถูกย่อยด้วยไลโซโซม ในปัจจุบันหลายการศึกษาพบยีน *RNF43* มีคุณสมบัติและหน้าที่ในการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง และยังพบว่าในมะเร็งหลายชนิดรวมถึงมะเร็งท่อน้ำดี มีการกลายพันธุ์ของยีนนี้ด้วยความถี่ที่สูง อย่างไรก็ตาม ลักษณะการแสดงออกของยีนหรือบทบาทหน้าที่ของโปรตีนนี้ในการส่งเสริมการเจริญและพัฒนาของมะเร็งท่อน้ำดียังไม่เคยมีปรากฏหรือมีการศึกษามาก่อน จากข้อมูลที่กำลังกล่าวมาข้างต้น ทางผู้วิจัยจึงทำการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของยีน *RNF43* และศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของยีนกับสถานการณ์การกลายพันธุ์ของยีน (somatic mutation) อาการทางพยาธิคลินิกและการพยากรณ์โรคของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี ผลการศึกษาพบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอและโปรตีนของยีน *RNF43* ลดลงในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี ผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่มีการกลายพันธุ์ของยีนนี้ไม่สามารถตรวจพบโปรตีน RNF43 ในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายีน *RNF43* สูญเสียบทบาทหน้าที่เมื่อเกิดการกลายพันธุ์ของยีน ขณะที่ผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่มีการแสดงออกของโปรตีน RNF43 ลดลงหรือไม่สามารถตรวจพบได้จะมีความสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับอาการทางพยาธิคลินิกต่าง ๆ และการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การแสดงออกของโปรตีน RNF43 ที่ลดลงยังเป็นตัวพยากรณ์โรคที่เป็นอิสระต่อปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีอีกด้วย นอกจากนี้ทางผู้วิจัยได้ศึกษาบทบาทหน้าที่ของยีน *RNF43* ในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี พบการแสดงออกของโปรตีน RNF43 ที่เพิ่มมากขึ้นมีผลลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีอย่างมีนัยสำคัญ โดยผ่านการยับยั้งกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ Wnt signaling การยับยั้งดังกล่าวเกิดขึ้นจากการลดระดับของโปรตีน frizzled หรือ Wnt receptors การเพิ่มขึ้นของกระบวนการย่อยสลายโปรตีน  $\beta$ -catenin และนำมาสู่การยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน cyclin D1 ที่มีบทบาท

หน้าที่ในการส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์และถูกควบคุมการแสดงออกด้วยกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ Wnt signaling

จากผลการศึกษาทั้งหมดของงานวิจัยครั้งนี้ สรุปได้ว่า RNF43 มีบทบาทหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญพัฒนาของมะเร็งท่อน้ำดี และการตรวจวิเคราะห์หาความผิดปกติของยีนนี้ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี น่าจะเป็นประโยชน์ในการเลือกวิธีการรักษาอย่างเหมาะสมให้กับผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีต่อไป



สาขาวิชาเคมี  
ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อนักศึกษา Patchanee Jamthun  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [Signature]

PATCHAREE JANTHAVON : ROLE OF RING FINGER PROTEIN 43  
(RNF43) IN CHOLANGIOCARCINOMA. THESIS ADVISOR : CHUTIMA  
TALABNIN, Ph.D. 84 PP.

## ROLE OF RING FINGER PROTEIN 43 (RNF43) IN CHOLANGIOCARCINOMA

Ring finger protein 43 (RNF43) is an E3 ubiquitin-protein ligase that negatively regulates Wnt signaling pathway by selectively ubiquitinating frizzled receptors at the plasma membrane and promotes its endocytosis and lysosome degradation. RNF43 is proposed as a tumor suppressor gene and is frequently mutated in several types of malignancy including cholangiocarcinoma (CCA). However, the significant of its expression and the exact molecular mechanisms of RNF43 in the CCA development and progression have not been reported. In this study, we determined RNF43 expression in CCA tissues and investigated the correlation between RNF43 expression and *RNF43* mutation status, clinicopathological features and prognosis of CCA patients. RNF43 reduced expression in both messenger RNA and protein levels in CCA tissues. The absent protein expression of RNF43 was significantly correlated with somatic mutation status, confirming that all *RNF43* somatic mutations in CCA are inactivating. Overall survival was worst in patients with down-regulation of *RNF43* expression. Univariate and multivariate analyses revealed that RNF43 protein expression was an independent prognostic factor. However, there was no statistically significant association between RNF43 messenger RNA and protein expression with any clinicopathological features. Further, the functional analysis revealed that

overexpression of RNF43 significantly decreased cell proliferation in CCA cell lines, which were dependent in part on the inactivation of Wnt signaling pathway via reducing frizzled receptors and activating  $\beta$ -catenin phosphorylation to suppress Cyclin D1 expression. These results suggest that RNF43 is involved in development and progression of CCA and the identification of genetic alteration status of RNF43 may provide specific therapeutic strategies for CCA patient treatment.



School of Chemistry

Academic Year 2016

Student's signature Patchanee Jantthamer

Advisor's signature [Signature]