

สุนิสา ทองสม : บทบาทของ YKL-40 ในมะเร็งท่อน้ำดีและการต้านมะเร็งของไปเปอร็ลอง
กวมินในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (ROLE OF YKL-40 IN CHOLANGIOCARCINOMA AND
ANTI-TUMOR ACTIVITY OF PIPERLONGUMINE ON CHOLANGIOCARCINOMA
CELLS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.วิภา สุจินต์, 184 หน้า

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่มีความรุนแรงอย่างมากซึ่งพบบ่อยในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่วินิจฉัยได้ยาก ในระยะแรกของโรคเพราะไม่แสดงอาการจำเพาะและไม่มีตัวบ่งชี้ชีวภาพที่จำเพาะ ด้วยการตอบสนองไม่ดีต่อการรักษาโดยใช้รังสีและเคมีบำบัด ดังนั้นตัวบ่งชี้ชีวภาพและยาสำหรับเคมีบำบัดชนิดใหม่เป็นสิ่งที่จำเป็นเร่งด่วน ปัจจุบันมีความพยายามที่จะศึกษาการใช้ตัวบ่งชี้ชีวภาพในการช่วยประกอบการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี แต่ ณ ปัจจุบัน ยังไม่มีตัวบ่งชี้ชีวภาพใดที่ให้ผลจำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดีเท่าที่ควร โปรตีน YKL-40 เป็นไกลโคโปรตีนที่หลั่งออกมาจากเซลล์และมีการแสดงออกสูงในผู้ป่วยมะเร็งที่มีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยศึกษาว่าโปรตีน YKL-40 เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพสำหรับการวินิจฉัยหรือพยากรณ์โรคสำหรับมะเร็งท่อน้ำดีได้หรือไม่ และศึกษายบทบาทของมะเร็งท่อน้ำดีที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน การแสดงออกของโปรตีน YKL-40 ถูกตรวจสอบในตัวอย่างของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีชนิดพลาสมา 57 ตัวอย่าง และเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี 34 ตัวอย่าง โดยใช้วิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และอิมมูโนพยาธิวิทยา พบว่าโปรตีน YKL-40 ในพลาสมามีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี ค่ามัธยฐาน 169.5 ng/mL เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ ค่ามัธยฐาน 46.9 ng/mL ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าโปรตีน YKL-40 ที่เพิ่มสูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับการรอดชีวิตที่สั้นลงในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี แต่การศึกษาพบว่าการแสดงออกของโปรตีน YKL-40 พบมากในเซลล์ตับและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณรอบ ๆ เซลล์มะเร็งแต่มีการแสดงออกน้อยในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโปรตีน YKL-40 สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพเพื่อพยากรณ์โรคมะเร็งท่อน้ำดีได้ ในการศึกษาบทบาทหน้าที่ของโปรตีน YKL-40 ในรูปแบบออโตไครน์และพาราไครน์ รีคอมบิแนนท์โปรตีน YKL-40 (rYKL-40) ถูกแสดงออกในระบบ mammalian cells และถูกทำให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ตรวจสอบหน้าที่แบบพาราไครน์ โปรตีน rYKL-40 ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ในทำนองเดียวกันการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน YKL-40 ในเซลล์มะเร็งก็ให้ผลไปในทางเดียวกันคือเพิ่มการเจริญเติบโต การเจริญเติบโตแบบ anchorage-dependent และการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี การทดสอบการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีแสดงให้เห็นถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างเซลล์กับตัวรับบนผิวเซลล์ผ่านวิถีทาง Akt/Erk นอกจากนี้โปรตีน rYKL-40

แสดงให้เห็นถึงการจับกับ Chitohexaose (GlcNAc6) และการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างเชิงซ้อนระหว่าง GlcNAc6 กับ YKL-40 น่าจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตามความเข้มข้นของ GlcNAc6 การศึกษานี้บ่งชี้ว่าโปรตีน YKL-40 มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายในมะเร็งท่อน้ำดี จากการศึกษาดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นสนับสนุนว่าโปรตีน YKL-40 เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพที่ใช้เพื่อการพยากรณ์โรค และน่าจะเป็นยีนเป้าหมายเพื่อใช้ในการรักษามะเร็งท่อน้ำดีต่อไป มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่มีการเจริญเติบโตช้าและมีลักษณะการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีเนื่องจากการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดน้อยมากไปกว่านั้น การเป็นมะเร็งช้ายังพบได้บ่อยและอัตราการรอดชีพในระยะ 5 ปีก็ค่อนข้างน้อย ในการศึกษาเป็นการศึกษาครั้งแรกของยาไปเปอรัลลองกูมินที่เป็นสารอัลคาลอยด์ที่เหนียวนำไปให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตาย แบบตามเวลาและปริมาณยาที่เพิ่มขึ้นผ่านการกระตุ้นของ Caspase-3 และ PARP ไปเปอรัลลองกูมินทำให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตายด้วยการเพิ่มการสะสม ROS ในเซลล์และชักนำไปให้เซลล์หยุดชะงักการแบ่งตัว การทดสอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ N-acetyl-L-cysteine (NAC) หรือ reduced-glutathione (GSH) สามารถขัดขวางการออกฤทธิ์ของไปเปอรัลลองกูมินได้อย่างสมบูรณ์ สุดท้ายการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าไปเปอรัลลองกูมินกระตุ้นการตายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีโดยผ่านวิถี JNK และ ERK นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันของเซลล์บ่งบอกความไวในการรักษาด้วยไปเปอรัลลองกูมิน จากผลดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าไปเปอรัลลองกูมินเป็นยาสำหรับเคมีบำบัดที่มีศักยภาพในการรักษามะเร็งท่อน้ำดี

จากผลการศึกษาทั้งหมดในการศึกษานี้โปรตีน YKL-40 มีบทบาทสำคัญในกระบวนการส่งเสริมพัฒนาของมะเร็งท่อน้ำดี ดังนั้นการยับยั้งโปรตีน YKL-40 น่าจะเป็นเป้าหมายใหม่ในการรักษามะเร็งท่อน้ำดี นอกจากนี้การรักษาด้วยไปเปอรัลลองกูมินแบบเฉพาะหรือรักษาร่วมกับยาเคมีบำบัดที่ใช้อยู่ ณ ปัจจุบัน อาจจะเป็นแนวทางการรักษาแบบใหม่ในมะเร็งท่อน้ำดี

สาขาวิชาเคมี
ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อนักศึกษา 
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

SUNISA THONGSOM : ROLE OF YKL-40 IN CHOLANGIOCARCINOMA
AND ANTI-TUMOR ACTIVITY OF PIPERLONGUMINE ON
CHOLANGIOCARCINOMA CELLS. THESIS ADVISOR : PROF. WIPA
SUGINTA, Ph.D. 184 PP.

ROLE OF YKL-40 IN CHOLANGIOCARCINOMA AND ANTI-TUMOR
ACTIVITY OF PIPERLONGUMINE ON CHOLANGIOCARCINOMA CELLS

Cholangiocarcinoma (CCA) is a devastating cancer and is found more frequently in Southeast Asia and particular in Northeast of Thailand. CCA is difficult to diagnose at early stage since there are no specific symptom and biomarker, and responds poorly to current radio- and chemo-therapy. Therefore, novel biomarker and treatment strategies for CCA are urgently needed. YKL-40 is a secreted glycoprotein and highly expressed in cancer patients with poor prognosis. In present study, we investigated whether YKL-40 is a biomarker for CCA diagnosis or prognosis and we also examined the roles of YKL-40 in CCA that have never been reported. YKL-40 expression was determined plasma and tumor tissues from CCA patients by ELISA and immunohistochemistry. YKL-40 plasma concentration was significantly increased in CCA patients comparing with healthy subjects and elevated plasma YKL-40 level was particularly associated with short survival in CCA patients. However, YKL- 40 is rarely expressed in CCA tumor cells, but highly expressed in liver cells and connective tissue at intratumoral stroma. Next, we demonstrated the role of YKL-40 on autocrine and paracrine functions to promoted CCA progression. Adding purified recombinant YKL-40 (rYKL-40) significantly enhanced growth, and

migration of CCA cells. YKL-40 overexpression in CCA cells showed similar effects in proliferation, anchorage-independent growth, and migration. Cell adhesion assay suggested that YKL-40 interact with cell-surface receptor involving the Akt/Erk mediated pathway. In addition, blocking YKL-40 effects by GlcNAc6 seemed to inhibit proliferation and migration of CCA cells in a concentration manner. Taken together, our results support the proposal of YKL-40 as a new potential prognostic biomarker and new molecular targeted therapy for CCA. CCA is considered a slow-growing tumor and characterized by very poor prognosis due to rare response to current chemotherapeutic agents. The current study showed for the first time that piperlongumine (PL), a biologically-active alkaloid, markedly induced death in CCA cell lines in a dose- and time-dependent manner through the activation of caspase-3 and PARP. PL mediated CCA cell death via inducing ROS accumulation in CCA cells and promoting G2/M phase arrest, and pre-treatment with the antioxidant NAC or GSH completely abolished those effects of PL. Finally, our finding demonstrated that PL can trigger CCA cell death through ROS mediated JNK/ERK activation. Furthermore, the different antioxidant capacity of CCA cell lines also indicates the susceptibility of the cells to PL treatment. Gather all evidences obtained from the present study, YKL-40 plays an important role in tumor progression. Thus, the inhibition of YKL-40 may be as a novel therapeutic strategy for CCA. Moreover, treatment with PL or combination with current chemotherapeutic agents can be a new chemotherapeutic protocol for the treatment of CCA.

School of Chemistry

Academic Year 2016

Student's signature

Advisor's signature

