นอร์ม่า เซนสติกา ปางเจสตู : กลไกการทำงานของริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 (RNF43) ในมะเร็งท่อน้ำดี (MECHANISM OF RING FINGER PROTEIN 43 (RNF43) IN CHOLANGIOCARCINOMA) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ตลับนิล, 88 หน้า.

กระบวนการกระตุ้นที่ผิดปกติของวิถีวิงค์เบต้าแคดทีนิน (Wnt/β-catenin) นำมาซึ่งการเจริญพัฒนาของมะเร็งหลากหลายชนิดรวมไปถึงมะเร็งท่อน้ำดี มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่มีความผิดปกติในกระบวนการส่งสัญญาณของวิถีวิงค์เบต้าแคดทีนินค่อนข้างมาก โดยมักเกิดจากยีนในวิถีนี้มีการกลายพันธุ์หรือมีการแสดงออกสูงเพิ่มขึ้น ซึ่งความผิดปกติทั้งสองลักษณะนี้พบมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและการรุกรานของมะเร็งที่เพิ่มขึ้น ริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 (RNF43) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการนำยูบิควิติน (ubiquitin) มาจับกับโปรตีนเป้าหมายเพื่อยับยั้งการเกิดกระบวนการของวิถีวิงค์เบต้าแคดทีนิน การกลายพันธุ์ของยีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 สามารถพบได้ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีส่วนใหญ่ และการแสดงของยีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 ที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่ลดลงด้วย จากข้อมูลดังกล่าวในการศึกษานี้ผู้วิจัยมีเป้าหมายในการศึกษาผลกระทบในด้านการยับยั้งของยีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 เมื่อมีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นกับกระบวนการส่งสัญญาณวิถีวิงค์เบต้าแคดทีนิน โดยเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีจากผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีคือเซลล์ KKU-213B ถูกนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยเซลล์ถูกชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 ในปริมาณมากด้วยการใช้ดีเอ็นเอพาหะที่เรียกว่า pCM6-*RNF43* construct vector ก่อนและเซลล์ที่มีการแสดงออกของยีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 ในปริมาณมากขึ้นนี้ถูกนำมาทดสอบต่อด้วยการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเซลล์ การเคลื่อนที่ของเซลล์ การตอบสนองต่อยา และการแสดงออกของยีนเป้าหมายที่ถูกความคุมด้วยวิถีวิงค์เบต้าแคดทีนิน ผลการศึกษาผู้วิจัยแสดงให้เห็นว่าโปรตีนเบต้าแคดทีนิน (β-catenin) ถูกสะสมอยู่ที่ไซโตรพลาสซึมของเซลล์เมื่อมีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของยีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 จากผลการศึกษานี้บ่งชี้ให้เห็นว่าเกิดการยับยั้งวิถีวิงค์เบต้าแคดทีนิน และผลการศึกษานี้ถูกสนับสนุนด้วยการพบการแสดงออกที่ลดลงของกลุ่มยีนเป้าหมายที่ถูกความคุมด้วยวิถีวิงค์เบต้าแคดทีนิน *(AXIN2, BIRC5, CCND1, MMP7, ABCB1)* ขณะที่การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเซลล์พบว่าการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของยีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ ณ เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง การเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งที่ลดลงก็ถูกพบเมื่อมีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 เช่นกัน มากไปกว่านั้นยังพบว่ามีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังนั้นจากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ายีนริงค์ฟิงเกอร์โปรตีน 43 มีบทบาทสำคัญใน

การยับยั้งการพัฒนาของมะเร็งท่อน้ำดีผ่านการยับยั้งกระบวนการส่งสัญญาณในวิถี วิงค์ เบต้าแคดทีนิน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเคมี ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

NORMA SAINSTIKA PANGESTU : MECHANISM OF RING FINGER PROTEIN 43 (RNF43) IN CHOLANGIOCARCINOMA. THESIS ADVISOR : CHUTIMA TALABNIN, Ph.D. 88 PP.

MECHANISM OF RING FINGER PROTEIN 43 (RNF43) IN CHOLANGIOCARCINOMA

Aberrant activation of the Wnt/β-catenin signaling pathway is a step in the progression of various cancer. Earlier studies have reported cholangiocarcinoma (CCA) is a Wnt high tumor, and various genes involved in the progression of this cancer are upregulated. RING finger protein 43 (RNF43) is a ubiquitin E3 ligase which negatively regulates Wnt/ β-catenin signaling. Interestingly, an inactivating mutation of RNF43 was found in a majority of CCA patients and low expression of RNF43 was closely related to a lower CCA patient survival rate. In this study, we studied the inhibition effect by which RNF43 overexpression suppresses Wnt/β-catenin signaling pathway. Human CCA cell line KKU-213B was used as a model and RNF43 transfection was carried out with the pCM6-*RNF43* expression vector using Lipofectamine 3000. Phenotypic alterations, such as cell proliferation, cell migration and the sensitivity of the chemotherapeutic drugs responses, were examined following RNF43 overexpression. Additionally, quantitative PCR was used to determine Wnt/β-catenin target genes changes. Here, we observed that β-catenin was accumulated in the cytoplasmic fraction after RNF43 overexpression, indicating successful Wnt/β-catenin inhibition. Cell viability was significantly diminished after 48 and 72 h of proliferation. Cell migration as determined by wound healing and transwell cell migration assay was also obviously decreased. Additionally, 5-Fluorouracil (5-FU) chemotherapeutic drug

response was increased following RNF43 overexpression. Downregulation of numerous Wnt/β-catenin target genes, including *AXIN2, BIRC5, CCND1, MMP7,* and *ABCB1* upon *RNF43* overexpression was further support for *RNF43* inhibition of this pathway. Our findings provide evidence for the important role of RNF43 in suppressing tumor progression via Wnt/β-catenin signaling pathway cascade.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Chemistry

Academic Year 2020

Student's signature _____

Advisor's signature _____