

ปิยะสิริ เจือกโ้วน : บทบาทของกลูโคซิลเซอรามาয়েด์ซินเทสในมะเร็งท่อน้ำดี

(ROLE OF GLUCOSYLCERAMIDE SYNTHASE IN CHOLANGIOCARCINOMA).

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ตลับนิล, 102 หน้า.

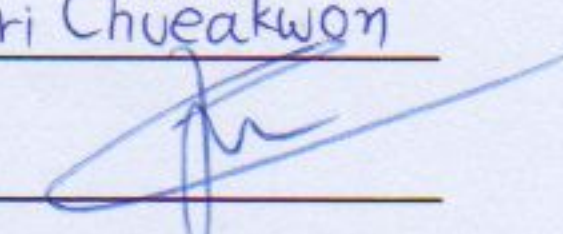
เอนไซม์กลูโคซิลเซอรามาয়েด์ซินเทส หรือ GCS เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการเติมสารคาร์โบไฮเดรตให้กับเซอรามาয়েด์ (ceramide) โดยเอนไซม์นี้ทำหน้าที่จำเพาะเจาะจงในการย้ายน้ำตาลกลูโคสจาก UDP-glucose ไปยังเซอรามาয়েด์เพื่อสังเคราะห์เป็นกลูโคซิลเซอรามาয়েด์ (glucosylceramide; GlcCer) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตไกลโคสฟิงโกลิพิดชนิดต่าง ๆ โดยกระบวนการดังกล่าวสามารถเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับได้ด้วยบทบาทของเอนไซม์กลูโคซิลเซอรามาয়েส 1 (GBA1) ที่อยู่บริเวณไลโซโซม และกลูโคซิลเซอรามาয়েส 2 (GBA2) ที่มักจะอยู่ด้านบนผิวของเอนโดพลาสมิก เรติคูลัม และกอลจิ คอมเพล็กซ์ โดยเอนไซม์นี้จะทำหน้าที่ในการสลายกลูโคซิลเซอรามาয়েด์ให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและเซอรามาয়েด์ โดยในหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การสังเคราะห์กลูโคซิลเซอรามาয়েด์ที่เพิ่มขึ้นที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ GCS ที่เพิ่มขึ้น สามารถส่งเสริมให้เซลล์มะเร็งสามารถหลบหนีจากกระบวนการตายที่ถูกชักนำด้วยเซอรามาয়েด์ และนำมาสู่การกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการดื้อต่อยาเคมีบำบัด โดยการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นของ GCS ถูกพบในเซลล์มะเร็งหลายชนิด และมีความเกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาเคมีบำบัด ในกรณีของมะเร็งท่อน้ำดีมีรายงานพบระดับการแสดงออกที่ผิดปกติของไกลโคสฟิงโกลิพิดเช่นกัน ได้แก่ เฮกโซซิลเซอรามาয়েด์ (hexosylceramides; HexCer) และแลคโตซิลเซอรามาয়েด์ (lactosylceramides; LacCer) โดยการแสดงออกที่ผิดปกติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเจริญพัฒนาของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาใดแสดงถึงกลไกความผิดปกตินี้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาบทบาทของกระบวนการเติมสารคาร์โบไฮเดรตให้กับเซอรามาয়েด์ในมะเร็งท่อน้ำดี ด้วยการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน GCS และบทบาทหน้าที่ของยีนนี้ โดยผู้วิจัยทำการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน GCS, GBA1 และ GBA2 โดยใช้ข้อมูลการแสดงออกของยีนจากฐานข้อมูลการแสดงออกของยีนสาธารณะที่เรียกว่า gene expression omnibus (GEO) พบการแสดงออกของยีน GCS และ GBA2 เพิ่มสูงขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ GBA1 มีการแสดงออกที่ลดต่ำลงในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ และ

ผู้วิจัยได้ศึกษาการแสดงออกของยีน GCS ในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีและเนื้อเยื่อปกติจำนวน 29 คู่ ตัวอย่าง ด้วยปฏิกิริยาโพลีเมอร์เรสแบบเชิงปริมาณ เมื่อใช้เกณฑ์ค่าการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปในเนื้อเยื่อมะเร็งเทียบกับค่าการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อปกติ ที่ค่ามัธยฐานของจำนวนเท่าของการแสดงออกของยีน พบจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลการแสดงออกของยีน GCS ที่เพิ่มสูงเฉลี่ยที่ 1.79 เท่า คือ 14 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งหมด 29 ตัวอย่าง แต่การแสดงออกของยีน GCS ที่เพิ่มสูงนี้ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการรอดชีวิตของผู้ป่วย และอาการทางพยาธิคลินิกต่าง ๆ และเมื่อทำการศึกษาบทบาทของ GCS ในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี พบมีการแสดงออกของยีน GCS และ GBA2 เพิ่มสูงขึ้นเมื่อทดสอบเซลล์ด้วยซิสพลาตินและยังพบอัตราส่วนการแสดงผลการแสดงออกของยีน GCS/GBA2 ที่ลดลงแสดงให้เห็นว่า มีความเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในกระบวนการเติมสารคาร์โบไฮเดรตให้กับเซอรามาไมด์เมื่อเซลล์ได้รับซิสพลาติน เมื่อยับยั้งการแสดงออกของยีน GCS โดยการยับยั้งการแสดงออกด้วย siRNA หรือยับยั้งการทำงานของ GCS ด้วยสารเคมียับยั้ง (PPMP) หรือยับยั้งทั้งสองระบบร่วมกัน พบการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลง และมีผลเพิ่มฤทธิ์ของซิสพลาตินให้มีการชักนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสมากขึ้น จากผลการศึกษาวิจัยทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า GCS มีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี และความไวในการตอบสนองต่อซิสพลาติน ดังนั้นการยับยั้งการแสดงออกของยีน GCS อาจเป็นกลยุทธ์หนึ่งที่น่าจะช่วยให้เพิ่มประสิทธิภาพการรักษา มะเร็งท่อน้ำดีได้

สาขาวิชาเคมี

ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อนักศึกษา Piyasiri Chueakwon

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

PIYASIRI CHUEAKWON : ROLE OF GLUCOSYLCERAMIDE

SYNTHASE IN CHOLANGIOCARCINOMA. THESIS ADVISOR :

ASST. PROF. CHUTIMA TALABNIN, Ph.D. 102 PP.

GLUCOSYLCERAMIDE SYNTHASE/PPMP/CHOLANGIOCARCINOMA/  
CISPLATIN/GLYCOSPHINGOLIPID

Glucosylceramide synthase (GCS) is an essential enzyme for ceramide glycosylation that transfers a glucose residue from UDP-glucose to ceramide there by generating glucosylceramide (GlcCer), a precursor of glycosphingolipids (GSLs) synthesis. This process can be reverted by either glucosylceramidase 1 (GBA1) in the lysosome or glucosylceramidase 2 (GBA2) on the cytoplasmic surface of the ER and Golgi to hydrolyze GlcCer and generate ceramide (Cer) and glucose. Several experiments demonstrated that increasing of GlcCer synthesis via upregulation of GCS allows tumor cells to escape from ceramide-induced programmed cell death, and promotes cell proliferation and multidrug resistance. Overexpression of GCS was found in various cancers and associated with chemotherapy resistance. In CCA, aberrant glycosphingolipids (GSLs) levels, such as those of hexosylceramides (HexCer) and lactosylceramides (LacCer) have been reported and are associated with CCA progression. However, the underlying mechanism of this alteration is still unknown. In the present study, we aimed to study on the role of ceramide glycosylation in CCA. GCS expression and its roles were explored. The expression of genes involved in ceramide glycosylation including GCS, GBA1, and GBA2, were retrieved from a publicly available human CCA database (GEO). The results showed that GCS and

GBA2 were significantly upregulated in tumor tissues, whereas GBA1 was downregulated when compared with normal tissues. We further verified GCS expression in 29 paired frozen tissues by qPCR. With median expression as the cut-off value, there were 14/29 cases of the cancer specimens showing highly expressed GCS as 1.79-fold, compared with the adjacent normal tissues. There was no statistical correlation between GCS expression and overall survival as well as clinicopathological parameters in CCA patients. High GCS and GBA2 expression were observed in cisplatin-treated CCA cells and low ratio of GCS/GBA2 expressions was clearly demonstrated the alteration of ceramide glycosylation upon cisplatin treatment. Reduction of CCA cell growth was shown in the presence of specific siRNA to GCS, PPMP (a chemical GCS inhibitor), and co-suppression of both. Subsequently, both of genetic and chemical inhibition of GCS were able to enhance cisplatin-induced CCA cell death through the apoptosis signaling pathway. Our findings suggest that GCS has a role in CCA cell growth and cisplatin sensitivity. Thus, targeting GCS may be a potential strategy for improving CCA treatment.

School of Chemistry

Academic Year 2020

Student's signature Piyasiri Chueakwon

Advisor's signature \_\_\_\_\_