

จุฬามาสซ์ เขียววิจิตร : บทบาทของเอนไซม์ คอร์วันเบต้าวันทรีกาแลคโตซิลทรานสเฟอเรสวัน ในมะเร็งท่อน้ำดี (ROLE OF CORE 1 β 1-3 GALACTOSYLTRANSFERASE 1 IN CHOLANGIOCARCINOMA) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.กระจ่าง ตลับนิล, 75 หน้า

โกลโคซิลเลชันเป็นกระบวนการเติมแต่งโปรตีนหลังจากกระบวนการแปลรหัสโปรตีนที่พบได้ในโปรตีนส่วนใหญ่ โดยกระบวนการนี้นิยมเรียกว่า มิวซินไกลโคซิลเลชัน เนื่องจากเป็นกระบวนการหลักที่เกิดในโปรตีนที่หลั่งออกนอกเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเช่น มิวซิน ซึ่งความผิดปกติของกระบวนการมิวซินไกลโคซิลเลชันนี้มักถูกพบบ่อยในมะเร็งและมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของการแสดงออกของยีนกลูโคซิลทรานสเฟอเรส โดยเอนไซม์คอร์วันเบต้าวันทรีกาแลคโตซิลทรานสเฟอเรสวันหรือ C1GALT1 เป็นเอนไซม์หลักที่มีความสำคัญในการสร้างโครงสร้างมิวซินแบบที่ 1 โดย C1GALT1 จะทำงานร่วมกับโปรตีนผู้ช่วยที่มีความจำเพาะเจาะจงกัน โดยจะทำหน้าที่เติมหมู่น้ำตาลกาแลคโตสบนโครงสร้าง Tn-antigen เพื่อเกิดเป็นโครงสร้าง T-antigen หรือเรียกว่าโครงสร้างมิวซินแบบที่ 1 โดยโครงสร้าง T-antigen นี้จะสามารถถูกเติมแต่งต่อไปด้วยการเพิ่มน้ำตาลชนิดต่างๆผ่านการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิลทรานสเฟอเรสชนิดอื่นๆ มีรายงานความผิดปกติของการแสดงออกของยีน C1GALT1 ในมะเร็งหลากหลายชนิดและสัมพันธ์กับความรุนแรงของมะเร็ง ได้แก่ การแบ่งตัวเติบโต การรุกรานและการกระจายของมะเร็ง และยังรวมไปถึงการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดด้วย แต่อย่างไรก็ตามการแสดงออกของยีน C1GALT1 และบทบาทหน้าที่ซึ่งไม่เคยมีการศึกษาในมะเร็งท่อน้ำดี ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน C1GALT1 มีอยู่ในระดับต่ำในมะเร็งท่อน้ำดีแต่การแสดงออกดังกล่าวไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติกับลักษณะอาการทางพยาธิคลินิกหรืออัตราการรอดของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี เมื่อทำการศึกษายาทบทวนหน้าที่พบการยับยั้งการแสดงออกของยีน C1GALT1 มีผลเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและการดื้อต่อยาเคมีบำบัดชนิดฟลูโอโรยูราซิลในรูปแบบตามความเข้มข้น และการยับยั้งการแสดงออกของยีน C1GALT1 ยังมีผลกระตุ้นกระบวนการส่งสัญญาณวิถี AKT และ ERK เพิ่มความสามารถการต้านการตาย ซึ่งถูกแสดงด้วยอัตราส่วนที่สูงขึ้นระหว่าง BCL2 ต่อ BAX และยังพบการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของยีนที่เกี่ยวข้องการเจริญเติบโตได้แก่ c-Myc และ CCND1 ยิ่งไปกว่านั้น ยังพบการยับยั้งการแสดงออกของยีน C1GALT1 สัมพันธ์กับการแสดงออกของสารไกลแคนชนิด VVL (VVL-binding glycans) ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าระดับการแสดงออกที่ลดลงของยีน C1GALT1 มีผลกระทบที่สำคัญในกระบวนการสร้างโครงสร้างของมิวซินแบบที่ 1 ให้สมบูรณ์ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและการดื้อต่อยาเคมี

บับัดชนิดฟลูโอโรยูราซิลในมะเร็งท่อน้ำดี และด้วยเอนไซม์คอร์ทีทรานสเฟอเรส (B3GNT6) และเฮียลิวทรานสเฟอเรส (ST6GALNAC1) สามารถนำน้ำตาลไปเติมบนโครงสร้างของ Tn antigen ได้เช่นกัน ดังนั้นในการศึกษานี้พบการยับยั้งการแสดงออกของยีน C1GALT1 ไม่มีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ทั้งสอง เนื่องจากการแสดงออกของยีนทั้งสองนี้มีระดับที่ลดลงเช่นกัน ซึ่งผลการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของสารไกลแคนชนิด VVL (VVL-binding glycans) ดังนั้นจากผลการศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาบ่งชี้ให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน C1GALT1 ที่ลดลงในมะเร็งท่อน้ำดีมีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของโครงสร้างมิวซินแบบที่ 1 ที่ไม่สมบูรณ์ และการแสดงออกที่ลดลงของยีน C1GALT1 นี้มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีและทนทานต่อยาเคมีบำบัดชนิดฟลูโอโรยูราซิลที่อาศัยกระบวนการส่งสัญญาณวิถี AKT และ ERK



JUTHAMAS KHIAOWICHIT : ROLE OF CORE 1 β 1-3

GALACTOSYLTRANSFERASE 1 IN CHOLANGIOCARCINOMA.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KRAJANG TALABNIN, Ph.D., 75 PP.

CHOLANGIOCARCINOMA/ CORE 1 β 1-3 GALACTOSYLTRANSFERASE 1
(C1GALT1)/ CANCER AGGRESSIVENESS

O-Glycosylation is one of the most common protein post-translational modification that often-called mucin-type O-glycosylation because of its present on many extracellular secreted glycoproteins especially mucins. Aberrant mucin-type O-glycosylation is often observed in cancers and associated with the alteration of glycosyltransferase expression. Core 1 β 1-3 Galactosyltransferase (C1GALT1) is a key glycosyltransferase for the formation of mucin-type Core 1 structure. C1GALT1, with the help of its C1GALT1-specific chaperone (COSMC), transfers galactose to Tn antigen to form T antigen (core 1 structure). T antigen is further modified by adding other sugar via other glycosyltransferases to form the complex mucin-type O-glycans. Aberrant C1GALT1 expression has been documented in several types of cancers and is associated with cancer aggressiveness, including cell proliferation, invasion and metastasis as well as chemotherapeutic sensitivity. However, the C1GALT1 expression and its role in cholangiocarcinoma (CCA) have never been studied. In this study, we demonstrated that low expression of C1GALT1 was detected in CCA tissues at both mRNA and protein levels. However, there was no statistically significant association between C1GALT1 protein expression with any clinicopathological features and survival of CCA patients. The functional studies revealed that suppression of

C1GALT1 increased cell proliferation and 5-fluorouracil resistance in a dose-dependent manner. The activation of phosphorylation of AKT and ERK was significantly increased in silencing C1GALT1 CCA cells. Suppression of C1GALT1 enhanced anti-apoptotic properties in CCA cell lines via a high ratio of BCL2/BAX and increased of cell growth-related genes including *c-Myc* and *CCND1*. Moreover, inhibition of C1GALT1 was associated with high expression of VVL-binding glycans. These observations indicated that low expression of C1GALT1 has a critical effect on mucin-type O-glycans truncation of the protein involving in cell growth and 5-fluorouracil response in CCA. Addition to C1GALT1, Core 3 GlcNAc-transferase (*B3GNT6*) and sialyl-transferase (*ST6GALNAC1*) can transfer sugar molecules to Tn-antigen. Our results showed that suppression of C1GALT1 lead to decreased expression of *B3GNT6* and *ST6GALNAC1*. This observation was consistent with increase expression of VVL-binding glycans. Therefore, our findings indicate that downregulation of C1GALT1 expression in CCA associates with the expression of immature core 1 O-glycan and that subsequently enhances the tumor growth and 5-FU resistance in CCA via altering AKT/ERK signaling pathway.

School of Translational Medicine

Academic Year 2020

Student's Signature จุฑามาศ จันทร์ เติญฉฉฉฉฉ

Advisor's Signature _____