

Project Code: RDG3/03/2543

Project Title: The role of fibroblast and cytokines in the invasion and expression of matrix metalloproteinases in human head and neck squamous carcinoma cells

Investigators:

1. Sittichai Koontongkaew, Faculty of Dentistry, Thammasat University (Rangsit campus), Klong Laung, Pathum Thani 12121
2. Panomwat Amornphimoltham, Department of Oral biology and Occlusion, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112
3. Bunjerd Yamong, Department of Oral biology and Occlusion, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112

Email Address: Koontongkaew@yahoo.com

Project Duration: 1/11/2000 -1/11/2002

Abstract:

This study evaluated effects of extracellular matrixes, fibroblasts, and cytokines on the production of matrix metalloproteinases (MMP2 and MMP9) and *in vitro* invasion of primary and metastatic cancer cells. Two genetically related pairs of human squamous cell carcinoma cell lines (HNSCC) derived from primary lesions (HN4, HN30) and metastatic cervical lymph nodes (HN12, HN31) of two patients, a human normal keratinocyte cell line (HaCaT) and gingival fibroblasts (GF) were used in the study. It was found that HNSCC, HaCaT and GF constitutively expressed MMP2. MMP9 expression was not correlated to the *in vitro* invasion of cancer cells. Type I collagen but not basement membrane (Matrigel) enhanced MMP production in HNSCC. Co-culture of HNSCC with GF increased the production of MMPs in HNSCC and GF. The expression of MMP 2 and 9 by HN4 and HN12 was augmented when cultured in conditioned media obtained from them and GF. RT-PCR indicated the presence of IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α and TGF- β mRNA in HNSCC and HaCaT. GF expressed all cytokines including hepatocyte growth factor (HGF). Co-culture obviously increased mRNA levels of IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α and TGF- β in HNSCC and GF. Type I collagen and condition media obtained from HN4 and HN12, and GF augmented the expression of IL-1 α , IL-1 β ,

TNF- α and TGF- β mRNA in HN4 and-12. All six cytokines enhanced MMP activities and *in vitro* invasion of HNSCC. Our findings suggest that cell-matrix, cell-soluble factors and/or cell-cell interaction involve in MMP production and tumor invasion. The communication between fibroblasts and cancer cells may in part, assist the cancer cells to invade and metastasis.

Keywords: Head and neck cancer, MMP, Invasion, Metastasis, Fibroblast, Cytokine

รหัสโครงการ: RDG 3/03/2543

ชื่อโครงการ: บทบาทของไฟโบรบลาสและไซโตไคน์ในการรุกรานและสร้าง matrix metallo proteinase ของเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอ

ชื่อนักวิจัย:

1. สิทธิชัย ขุนทองแก้ว คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ วิทยาเขตรังสิต อำเภอคลองหลวง จังหวัด ปทุมธานี 12121
2. พนมวัฒน์ อมรพิมลธรรม ภาควิชาชีววิทยาช่องปากและระบบการบดเคี้ยว คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอ หาดใหญ่ จังหวัด สงขลา 90112
3. บรรเจิด ยะพงศ์ ภาควิชาชีววิทยาช่องปากและระบบการบดเคี้ยว คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอ หาดใหญ่ จังหวัด สงขลา 90112

Email Address : koontong@yahoo.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ extracellular matrix ไฟโบรบลาส และ ไซโตไคน์ ต่อการสร้าง MMP และ การรุกรานของเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอ(HNSCC) โดยศึกษาจากเซลล์มะเร็งที่เพาะเลี้ยงได้จากบริเวณรอยโรคเริ่มต้น(HN4และ30)และแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง(HN12และ31) ในบุคคลเดียวกันเปรียบเทียบกับเซลล์ keratinocyte ที่ปกติ (HaCaT) ส่วนไฟโบรบลาสนั้นใช้เซลล์มนุษย์ที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อยึดต่อบริเวณเหงือก(GF) การศึกษาพบว่า HNSCC, HaCaT และ GF สร้าง MMP2 ได้เสมอ ในขณะที่การสร้าง MMP9 ไม่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคมะเร็ง คอลลาเจนชนิดที่ I สามารถกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งสร้าง MMP ได้ในขณะที่ basement membrane (Matrigel) ไม่ให้ผลดังกล่าว การเลี้ยง HNSCC ร่วมกับ GF มีผลกระตุ้นการสร้าง MMP ทั้งในเซลล์มะเร็งและไฟโบรบลาส การสร้าง MMP2 และ MMP9 ใน HN4 และ HN12 จะมีมากขึ้นเมื่อเลี้ยงใน condition medium ที่ได้จากตัวเองหรือจาก GF การตรวจสอบโดยวิธี RT-PCR พบการแสดงออก mRNA ของ IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α และ TGF- β ใน HNSCC และ HaCaT โดยใน GF พบไซโตไคน์ทั้ง 5 ชนิดรวมทั้ง hepatocyte growth factor (HGF) การเลี้ยง HNSCC ร่วมกับ GF ส่งผลให้มีการแสดงออก mRNA ของ IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α และ TGF- β เพิ่มขึ้นใน HNSCC และ G และพบว่า HN4 และ HN12 จะสร้าง mRNA ของ IL-1 α , IL-1 β , TNF- α และ TGF- β เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงบนคอลลาเจนชนิดที่ I หรือเลี้ยงด้วย condition medium ที่ได้จากตัวมันเองหรือจากไฟโบรบลาส นอกจากนี้ยังพบว่า IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β และ HGF มีความสามารถกระตุ้นการสร้าง MMP และการรุกรานของเซลล์มะเร็ง การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าอันตรกิริยา(interaction) ระหว่างเซลล์กับสารคัดหลั่งนอกเซลล์ทั้งชนิดไม่ละลายน้ำ(matrix) และ ละลายน้ำได้(soluble

factor) รวมทั้งระหว่างเซลล์กับเซลล์มีบทบาทในการสร้าง MMP และการรุกรานของเซลล์มะเร็ง โดยเชื่อว่าไฟโบรบลาสต์มีส่วนเกี่ยวข้องกับการรุกรานและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง

คำหลัก: มะเร็งศีรษะและลำคอ MMP การรุกราน การแพร่กระจาย ไฟโบรบลาสต์ ไฮโดรโคโรน