

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RMU5080069

ชื่อโครงการ บทบาทของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในกระบวนการเกิดมะเร็งท่อน้ำดี: จีนและโปรตีน
เป้าหมายในการรักษา

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร.ชนิตรา ฐวจิตต์
ภาควิชาวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail address cthuwait@yahoo.com, sichanitra@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ มิถุนายน 2550 - พฤษภาคม 2553

บทบาทของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในมะเร็งกลุ่มที่มีต้นกำเนิดจากเซลล์เยื่อบุนั้นเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน กลุ่มผู้วิจัยได้รายงานบทบาทของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่คัดแยกจากเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี ในการเหนี่ยวนำการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งและเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีในหลอดทดลอง การศึกษาในโครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษากลไกที่เซลล์ไฟโบรบลาสต์ใช้ในการเหนี่ยวนำคุณสมบัติของเซลล์มะเร็งและการพัฒนาของโรค โดยเน้นที่การเปลี่ยนแปลงของแบบแผนการแสดงออกของจีนในเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเนื้อเยื่อมะเร็งเปรียบเทียบกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ปกติ ผลการศึกษาโดยเทคนิค microarray บ่งชี้รายชื่อของจีนที่มีการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมะเร็ง และน่าจะมีบทบาทในกระบวนการพัฒนาของโรค โดยมีทั้งกลุ่มที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นและลดลง ในการศึกษา periostin (PN) ซึ่งมีระดับการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ทั้งในระดับของ mRNA และโปรตีน ได้ถูกเลือกมาศึกษาผลต่อเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีและเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง การศึกษาในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีสามารถพบ PN เฉพาะในเซลล์ไฟโบรบลาสต์เท่านั้น ในขณะที่ในเซลล์มะเร็งและเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันไม่มีการสร้างโปรตีน PN และเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อตับที่ไม่เป็นมะเร็งหากมีการอักเสบเรื้อรังของท่อน้ำดีและเนื้อเยื่อมะเร็งตับ hepatocellular carcinoma พบว่า PN ในเนื้อเยื่อทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวมีระดับต่ำกว่าเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีและผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่มีระดับ PN สูงนั้นจะมีระยะเวลาการมีชีพที่สั้นกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มี PN ในระดับต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.029$) ผลการวิเคราะห์แบบตัวแปรหลายชนิดพบว่าระดับ PN ที่สูงและระยะของโรคเป็นตัวพยากรณ์โรคที่ไม่ขึ้นต่อกันอย่างมีความสำคัญทางสถิติ ($P = 0.039$ และ 0.036 ตามลำดับ) ผลการศึกษารoles ของ PN ในหลอดทดลองพบว่า recombinant PN สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มีการเติบโตและการลุกลانได้ โดยระหว่างตัวรับ integrins (ITGs) ชนิด $\alpha 5\beta 1$ และ $\alpha 6\beta 4$ ซึ่งมีมากในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ผลการศึกษาโดย adhesion assay พบว่า PN สามารถจับกับตัวรับ $ITG\alpha 5\beta 1$ นอกจากนี้เซลล์ที่ถูกยับยั้งการสร้าง $ITG\alpha 5$ จะมีความสามารถในการลุกลานจากการเหนี่ยวนำโดย PN ลดลงสัมพันธ์กับระดับ pAKT ที่ลดลง ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีถูกกระตุ้นโดย PN ให้การลุกลานมากขึ้นผ่าน $ITG\alpha 5\beta 1$ และเส้นทางการส่งสัญญาณของ AKT โดยสรุปผลการศึกษาค้นคว้าโครงการวิจัยนี้เป็นการรายงานกลุ่มของจีนที่เปลี่ยนแปลงในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมะเร็งท่อน้ำดี ที่มีบทบาทในการพัฒนาของโรค บทบาทของ PN จากเซลล์ไฟโบรบลาสต์เป็นข้อมูลสำคัญในการอธิบายกลไกที่เซลล์ไฟโบรบลาสต์ใช้ในการกระตุ้นคุณสมบัติของเซลล์มะเร็ง นอกจากนั้นบทบาทของโปรตีนอื่นๆ ที่สร้างจากเซลล์ไฟโบรบลาสต์และความรู้ความเข้าใจถึงกลไกในเซลล์มะเร็งที่ถูกกระตุ้น จะนำไปสู่การประยุกต์ใช้เซลล์ไฟโบรบลาสต์เป็นเป้าหมายในยับยั้งการพัฒนาของมะเร็งท่อน้ำดีต่อไปในอนาคต

Keywords: Cholangiocarcinoma; Cancer-associated fibroblast; Microarray; Periostin; Integrin; AKT signaling pathway

ABSTRACT

Project Code : RMU5080069

Project Title : Role of fibroblasts in cholangiocarcinogenesis: candidate genes and proteins as new therapeutic targets

Investigator : Assistant Professor Dr. Chanitra Thuwajit M.D.
Department of Immunology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital
Mahidol University

E-mail Address : cthuwait@yahoo.com, sichanitra@mahidol.ac.th

Project Period : June 2007 - May 2010

Fibroblasts play important roles in several carcinomas. The proliferative effect of secreted substances from cholangiocarcinoma (CCA)-associated fibroblasts has been recently reported. This study aims to investigate the molecular mechanism underlying fibroblast-induced tumorigenic effects. The gene expression profile of fibroblasts isolated from CCA tissues was performed using oligonucleotide microarrays. The differentially expressed genes and the promising roles in cancer promotion and progression were listed. Periostin (PN) was markedly over-expressed in cancer fibroblasts confirmed by real time RT-PCR and western blot analysis. Patients with intrahepatic CCA showed the expression of PN solely in stromal fibroblasts, but was expressed neither in cancer cells nor immune cells. Low to no expression of PN was observed in tissues of benign liver disease and hepatocellular carcinoma. CCA patients with high levels of PN had significantly shorter survival time than those with low levels ($P = 0.029$). Multivariate analysis revealed high levels of PN ($P = 0.039$) and tumor staging ($P = 0.036$) as independent prognostic factors. The *in vitro* study revealed that recombinant PN induced CCA cell proliferation and invasion. Integrins (ITGs) as receptors of PN were explored their expressions in CCA cell lines and revealed high level of ITGs $\alpha 5\beta 1$ and $\alpha 6\beta 4$ in CCA cells. Cell adhesion assay revealed that cells favored to bind PN with ITG $\alpha 5\beta 1$. Cells with ITG $\alpha 5\beta 1$ knockdown had reduced PN-induced invasion in corresponding to the decreased level of pAKT level. It is suggested that PN-activated CCA cell invasion via ITG $\alpha 5\beta 1$ and AKT-dependent signaling pathway. In conclusion, the gene expression profile of fibroblasts in CCA is apparently explored and has determined the genes involving in cancer progression. Though PN is explored and determined as a poor prognostic factor, other fibroblast-derived proteins are of great interest to explore their tumorigenic roles and mechanisms of action. Regulation of fibroblast-derived substances in CCA progression may be considered as an alternative therapeutic approach.

Keywords: Cholangiocarcinoma; Cancer-associated fibroblast; Microarray; Periostin; Integrin; AKT signaling pathway