

รหัสโครงการ: RSA5980031

ชื่อโครงการ: ภาวะ oxidative stress กระตุ้นให้เกิด cancer stem-like cells ผ่านการสร้าง polyploid giant cells: เป้าหมายใหม่ของการป้องกันและรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดี

ชื่อนักวิจัย: เรณู ทานนท์ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

E-mail Address: raynoo@kku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 3 ปี (มิถุนายน 2559-พฤษภาคม 2562)

### บทคัดย่อ

ภาวะเครียดออกซิเดชันเป็นสาเหตุหลักของโรคที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ เช่น โรคมะเร็ง โรคมะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งตับชนิดหนึ่งที่เกิดจากความผิดปกติของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาก่อนหน้านี้ทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ที่แสดงให้เห็นว่าภาวะเครียดออกซิเดชันนั้นเป็นสาเหตุสำคัญของโรคมะเร็งชนิดนี้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่กระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระและภาวะเครียดออกซิเดชันที่จะทำให้เกิดการทำลายของสารชีวโมเลกุลหลายตัว ได้แก่ ลิพิด โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ซึ่งก่อให้เกิดการตายของเซลล์ หากแต่เซลล์บางเซลล์สามารถปรับตัวให้มีชีวิตอยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชันได้ ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ต่อไป คณะผู้วิจัยได้ทำการกระตุ้นเซลล์ท่อน้ำดีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นเวลานาน และทำให้เซลล์ท่อน้ำดีมีการปรับตัวและเพิ่มคุณสมบัติของการเกิดมะเร็งขึ้นมา เช่น มีการแบ่งเซลล์และการเคลื่อนที่ที่เร็วขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ทำการพิสูจน์ว่าการปรับตัวให้อยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชันของเซลล์ท่อน้ำดี จะมีการปรับตัวให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น มีการแสดงออกของยีน ZNF423 มากขึ้น และมีการแสดงออกของยีน EBF1 ลดลง ซึ่งจะส่งผลให้เซลล์มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดและดื้อต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน นอกจากนี้การลดลงของ EBF1 ยังส่งผลให้เซลล์มีการตอบสนองต่อฮอร์โมนเอสโตรเจน การแบ่งเซลล์ และการเคลื่อนที่ที่เพิ่มมากขึ้น คณะผู้วิจัยจึงได้มีการศึกษาเอนไซม์ CYP19A1 ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ฮอร์โมนเอสโตรเจนร่วมด้วย จากการศึกษาพบว่า CYP19A1 ทำให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีการสร้างเอสโตรเจนและการตอบสนองต่อฮอร์โมนดังกล่าวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีการแบ่งตัวและการเคลื่อนที่ที่เร็วขึ้นด้วย กล่าวโดยสรุปจากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่า การเกิดเซลล์ตัวใหญ่ การแสดงออกของ ZNF423 และการลดลงของ EBF1 เป็นกระบวนการสำคัญในการเพิ่มคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดและการดื้อต่อภาวะเครียดออกซิเดชันของเซลล์ ทั้งนี้การลดลงของ EBF1 นั้นยังส่งเสริมให้เกิดการตอบสนองที่ดีกับฮอร์โมนเอสโตรเจนและทำให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีพัฒนามากขึ้น จะเห็นว่าการลดลงของ EBF1 นั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่เกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันที่ส่งผลต่อพัฒนาการของเซลล์มะเร็ง ดังนั้นในการศึกษาต่อไปคณะผู้วิจัยจะมุ่งเน้นศึกษา EBF1 และ EBF1-related genes ในมะเร็งท่อน้ำดี เพื่อพัฒนาโมเลกุลดังกล่าวสำหรับเป็นเป้าหมายใหม่ในการรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีต่อไป

คำสำคัญ: ภาวะเครียดออกซิเดชัน, EBF1, ZNF423, CYP19A1, เอสโตรเจน, เซลล์ตัวใหญ่

**Project Code:** RSA5980031

**Project Title:** Oxidative stress induces cancer stem-like cells through the formation of polyploid giant cells: novel targets for cholangiocarcinoma prevention and treatment

**Investigator:** Raynoo Thanan, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, KKU

**E-mail Address:** raynoo@kku.ac.th

**Project Period:** 3 years (June 2015-May 2019)

### **Abstract**

Oxidative stress is a cause of inflammation-related diseases, including cancers. Cholangiocarcinoma (CCA) is a liver cancer with bile duct epithelial cell phenotypes. Our previous studies in animal and human models indicated that oxidative stress is a major cause of CCA development. Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) can generate hydroxyl radicals, which damage lipids, proteins, and nucleic acids, leading to cell death. However, some cells can survive by adapting to oxidative stress conditions, and selective clonal expansion of these resistant cells would be involved in oxidative stress-related carcinogenesis. We established  $H_2O_2$ -resistant cell line from an immortal cholangiocyte cell line (MMNK1) that showed increasing of the oxidative stress-resistant properties and the expressions of the anti-oxidant genes. In this study, we confirmed that the giant cell formation, increase of ZNF423 expression and loss of EBF1 expression involved in oxidative stress-resistant and stem-like cell properties. Notably, down-regulation of EBF1 also increased estrogen response leading to CCA progression. Then, CYP19A1, an estrogen producing enzyme, was also included in this study. CYP19A1 increase estrogen generation and estrogen receptor activation which involved in CCA cell proliferation and migration. These findings suggest that oxidative stress-related CCA genesis through the alterations of EBF1 and ZNF423 expressions and the giant cell formation. Additionally, oxidative stress had a synergistic roles with estrogen-mediated CCA progression. Thus, EBF1 is an oxidative stress responsive gene that exerts a tumor suppressive function against CCA genesis. In next study, we will further identify EBF1-targeted genes in CCA which may be used as new therapeutic targets for CCA chemotherapy and chemoprevention.

**Keywords:** Oxidative stress, EBF1, ZNF423, CYP19A1, estrogens, giant cells