

## บทคัดย่อ

โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาแนวทางใหม่ในการรักษามะเร็งท่อน้ำดี โดยมุ่งเป้าไปที่กระบวนการสำคัญในการดำรงชีวิตของเซลล์มะเร็ง ได้แก่ กระบวนการ glycosylation, กระบวนการสร้างพลังงาน และระบบนิเวศน์ของมะเร็ง รวมทั้งการเลือกเฟ้นศักยภาพในการรักษามะเร็งจากยาที่มีอยู่แล้ว ผลการวิจัยพบว่ามะเร็งท่อน้ำดีมีความผิดปกติในกระบวนการ glycosylation ที่เป็นเอกลักษณ์ของมะเร็งท่อน้ำดี ได้แก่ O-GlcNAcylation, fucosylation และ GalNAcylation ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับ carcinogenesis และ metastasis ของมะเร็งท่อน้ำดีสามารถนำมาประยุกต์เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพจำเพาะสำหรับตรวจวินิจฉัยแยกมะเร็งตับและมะเร็งท่อน้ำดีได้ ด้านกระบวนการผลิตพลังงานพบว่ามะเร็งท่อน้ำดีมีการสร้างเอนไซม์จำเพาะในระบบไกลโคไลซิส เช่น HK2, PKM2, LDHA และตัวนำส่งกลูโคสเข้าเซลล์ GLUT1 ซึ่งการแสดงออกของเอนไซม์จำเพาะเหล่านี้สัมพันธ์กับการก่อมะเร็งและระยะรอดชีพของผู้ป่วย การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้สามารถลดการแพร่ลุกลามของเซลล์มะเร็งได้ นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะน้ำตาลสูงซึ่งพบได้มากในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี ส่งเสริมพัฒนาการของเซลล์มะเร็งให้แพร่ลุกลามมากขึ้น ดังนั้นการควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีจึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีเช่นกัน สำหรับการวิจัยด้านระบบนิเวศน์ของมะเร็งท่อน้ำดีซึ่งเป็นระบบที่ซับซ้อนและเป็นเป้าหมายสำคัญในการรักษามะเร็ง คณะผู้วิจัยได้พัฒนาเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีที่มีคุณสมบัติแพร่กระจายสูง 2 ชนิดเพื่อเป็นเครื่องมือสำคัญในการศึกษากลไกระดับโมเลกุลและความสัมพันธ์ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีกับระบบนิเวศน์ของมะเร็ง พบโมเลกุลสำคัญบนเยื่อหุ้มเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง เช่น CD147, AGR2, GLIPR1 และ CD47 รวมทั้งการศึกษาผลของสารคัดหลั่งจากเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีต่อ phagocytosis ของ macrophage และการหลั่ง IL-6 ของ fibroblast ซึ่งสามารถใช้เป็นโมเลกุลเป้าหมายในการควบคุมและยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ในอนาคต ในแผนงานสุดท้ายที่เกี่ยวกับการเลือกเฟ้นศักยภาพในการรักษามะเร็งจากยาที่มีอยู่แล้วเพื่อการรักษาหรือร่วมรักษามะเร็งท่อน้ำดี พบว่ายาหลายชนิดเช่น albendazole, mebendazole, cimetidine, berberine, metformin, chloroquine, และ artesunate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการแพร่ลุกลามของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในระดับเซลล์ได้ ผลการวิจัยเหล่านี้ได้แสดงให้เห็นโมเลกุลที่อาจเป็นเป้าหมายใหม่ในการผลิตหรือสังเคราะห์ยาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งควรได้รับการศึกษาต่อในเชิงลึกเพื่อให้ทราบบทบาทและกลไกที่แน่ชัดเพื่อใช้ทดสอบในผู้ป่วยต่อไป

ในภาพรวมโครงการดำเนินการวิจัยได้ตามแผนและได้ผลผลิตมากกว่าแผนที่วางไว้ โดยมีผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติในช่วงที่รายงาน 22 เรื่อง มีการนำเสนอผลงานของอาจารย์และนักศึกษา ในการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติรวม 80 เรื่องและได้รับรางวัลการนำเสนอ 26 เรื่อง อาจารย์รุ่นเยาว์ในโครงการ 6 คน ได้เลื่อนตำแหน่งวิชาการเป็นผู้ช่วยศาสตราจารย์จำนวน 4 คน มีส่วนร่วมในการผลิตบัณฑิตศึกษาระดับปริญญาโทและเอก 15 คน โครงการได้สร้างโอกาสให้นักวิจัยรุ่นเยาว์ได้ทำงานร่วมกันทั้งภายในและภายนอกกลุ่ม-ทั้งในและต่างประเทศ โครงการได้เสริมศักยภาพด้านการประสานความร่วมมือ-การจัดการและภาวะผู้นำให้กับสมาชิกในกลุ่ม ท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์และนักศึกษาทั้งในและต่างประเทศที่ได้ให้ความร่วมมือในโครงการนี้ ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ และสถาบันมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่-เครื่องมือการวิจัยและวัสดุชีวภาพในการดำเนินการวิจัย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้เกียรติและสนับสนุนงบประมาณในโครงการด้วยดีจนเสร็จสิ้นโครงการ

คำสำคัญ: Bile duct cancer, glycosylation, cancer metabolism, tumor environment, drug repurposing

## Abstract

In this research program, multi-molecular approaches to elucidate the signaling exploited by the cancer and identify the possible therapeutic targets were proposed. Three main processes associated with survival and metastasis of cholangiocarcinoma (CCA), namely glycosylation; energy production, tumor and tumor environment interaction, and the repositioning of the existing drugs for alternative treatment of CCA were elucidated. Aberrant glycosylations—namely O-GlcNAcylation, fucosylation and GalNAcylation were observed uniquely in tumor tissues of CCA patients. The expressions of these glycosylated proteins were associated with carcinogenesis and progression of CCA. Some of which can be applied as diagnostic-prognostic markers or therapeutic targets for CCA. For metabolism, CCA cells expressed several cancer specific isoforms of enzymes in glycolytic pathways, e.g., HK2, PKM2, LDHA and glucose transporter, GLUT1. High expression of these enzymes also related to cancer development and poor survival of CCA patients. Inhibiting expression or action of these enzymes can be an alternative treatment of CCA. Moreover, we found that high glucose level could promote progression of CCA cells, and hence controlling blood glucose of patients who possessed hyperglycemia should be considered as supportive therapy for CCA. Two highly metastatic cells were established to study the molecular mechanism involving CCA progression and interaction with stroma cells. Several molecules, e.g., D147, AGR2, GLIPR1 and CD47 were focused for their roles in metastasis and suggested as new drug targets for drug design and development. In addition, effect of secretory products of CCA cells on phagocytosis of macrophage and secretion of IL-6 from fibroblast were demonstrated. Albendazole, mebendazole, cimetidine, berberine, metformin, chloroquine, and artesunate are known drugs that have high potential for CCA treatment. These findings offer new opportunities for preclinical investigation of CCA with novel candidate therapeutic targets and new molecularly targeted agents. The potential inhibitors or drugs against the target molecules should be proposed for clinical trial with the additional support from other granting sources.

Apart from the research results, the project provided a better outcome than proposed. There are 22 published research articles with 3 more are under-revision and submission. There were 80 presentations with 26 awards gained in the national and international scientific conferences. The project has strengthened 6 junior staffs, 4 of whom were promoted to be assistant professor; 15 Ph.D. and M.Sc. students are included in the projects. The program has provided opportunities for junior staffs to join hands and work together within group or with other groups. Several collaborations among Thai and international researchers are initiated. Collaboration, management and leadership are built up during participation with the program. Finally, we would like to acknowledge every researcher who participated and supported research activities in this program; Faculty of Medicine and Cholangiocarcinoma Research Institute for supporting the research facilities; the Thailand Research Fund and Khon Kaen University for financial supports.

**Keywords:** Bile duct cancer, glycosylation, cancer metabolism, tumor environment, drug repurposing