

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ TRG4880004

ชื่อโครงการ การศึกษาการแสดงออกและผลการยับยั้งการแสดงออกของยีนกลุ่ม signal transduction ในเซลล์เพาะเลี้ยง NIH-3T3 ที่ถูกกระตุ้นโดยสารคัดหลั่งจาก พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini*

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ.ดร.ชนิตรา ฐวจิตต์
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

E-mail address tchani@kku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ กรกฎาคม 2548-มิถุนายน 2550

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* (Ov) เป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี เมื่อไม่นานมานี้มีรายงานว่าสารคัดหลั่งจาก Ov สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นของเซลล์ fibroblast โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแบบแผนการแสดงออกของยีนในการตอบสนองของเซลล์ต่อสารคัดหลั่งจาก Ov โดยเทคนิค cDNA array และศึกษาเส้นทางสัญญาณภายในเซลล์ ที่พยาธิใช้ในการกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์โดยเทคนิค RNAi ผลการทดลองพบว่าในเซลล์ที่สัมผัสกับสารคัดหลั่งจากพยาธิ มียีนจำนวน 239 ยีนจากทั้งหมด 15,000 ยีน ที่มีระดับการแสดงออกเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 2 เท่าขึ้นไป ผลการยืนยันระดับการแสดงออกของยีนโดยเทคนิค real time RT-PCR บ่งชี้ระดับการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของยีน *tgfβ 1i4* ซึ่งเป็นยีนตอบสนองเมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วย transforming growth factor-beta (TGF-β) เช่นเดียวกับยีน *smad 4* ซึ่งเป็นโมเลกุลสัญญาณของ TGF-β นอกจากนี้เมื่อใช้ siTBR11 ยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนตัวรับที่ผิวเซลล์ชนิด TGF-β receptor type II (TBR11) พบว่าสามารถลดปริมาณ TBR11 ได้ประมาณ 50-80% ของระดับปกติในเซลล์ เซลล์ที่มีปริมาณ TBR11 ต่ำลงนี้จะไม่สามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นการแบ่งเซลล์โดยสารคัดหลั่งจากพยาธิได้เท่าเซลล์ที่มีปริมาณ TBR11 ปกติ โดยสรุปผลการทดลองบ่งชี้ความเป็นไปได้ที่สารคัดหลั่งจากพยาธิใบไม้ตับ Ov สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ fibroblast ผ่านเส้นทางสัญญาณของ TGF-β โดยกระตุ้นผ่านตัวรับ TBR11 และแม้ว่าในอนาคตยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสารที่ทำหน้าที่เหมือน growth factor ในสารคัดหลั่งจากพยาธิ เพื่อศึกษากลไกที่แน่นอนที่สารดังกล่าวทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ หากข้อมูลที่ได้จากโครงการนี้บ่งชี้ความเป็นไปได้เกี่ยวกับการกระตุ้นเส้นทางสัญญาณของ TGF-β โดยสารคัดหลั่งจากพยาธิ การยับยั้งเส้นทางสัญญาณดังกล่าว อาจนำไปสู่การยับยั้งกระบวนการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีจากการเหนี่ยวนำโดยสารคัดหลั่งจากพยาธิใบไม้ตับ Ov

คำหลัก : พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini*; สารคัดหลั่งจากพยาธิใบไม้ตับ; เส้นทางสัญญาณภายในเซลล์; เทคนิค cDNA array; siTBR11

Abstract

Project Code : TRG4880004

Project Title : Study of signal transduction gene expression and its knockdown effect in *Opisthorchis viverrini* excretory/secretory products induced NIH-3T3 cell proliferation

Investigator : Assistant Professor Dr. Chanitra Thuwajit M.D.

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

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

Project Period : July 2005-June 2007

Opisthorchis viverrini (Ov) is a strong risk factor of bile duct cancer. Its excretory/secretory (ES) product has recently been reported to induce fibroblast cell proliferation. We aim to study the response of fibroblasts to Ov ES product especially the intracellular signal transduction pathway activated by this parasitic product. Gene expression profile of cells exposed to Ov ES product was studied by cDNA array. The results indicated that among a total of 15,000 genes/ESTs, 239 genes with established cell proliferation-related functions were 2 fold-and more-up-regulated by Ov ES product compared to those in cells without exposure. Real time RT-PCR confirmed the highest up-regulated expression of *tgfb 1i4* which is the representative molecule of transforming growth factor-beta (TGF- β) pathway stimulation. In addition, the up-regulated expression of *smad 4*, an important TGF- β signal transduction molecule, was observed in fibroblast treated with Ov ES product. RNAi against TGF- β receptor type II (*TBRII*) was performed and could successfully decrease around 50-80% of intrinsic *TBRII* level. A significant decrement of Ov-induced cell proliferation was observed in *TBRII*-knockdown cells compared to those without si*TBRII* treatment. These results indicated that fibroblast cell proliferation induced by Ov ES product might be through *TBRII*-mediated signal transduction pathway. Though, in the future, the exact growth factor-like substance in Ov ES product should be identified to study in depth of what is the exact mechanism the parasitic product uses to activate cell proliferation. This data may highlight the possibility to do interfering of TGF- β -mediated signal transduction pathway to inhibit Ov ES product-driven cholangiocarcinogenesis.

Keywords: *Opisthorchis viverrini*; Excretory/secretory product; Intracellular signal transduction pathway; cDNA array; si*TBRII*