

Abstract

Objectives: The present study to determine the mechanism of action of statins induced cholangiocarcinoma cell deaths.

Methods: Four CCA cells, KKU-100, KKU-M055, KKU-M214, and KKU-M156 CCA cell lines were determined the HMGCR mRNA expression by RT-PCR method. Two CCA cells, with low and high HMGCR mRNA expression, were used to evaluate the sensitivity to two statins, simvastatin and atorvastatin. We determined CCA cell death and cell migration by using SRB assay, acridine orange/ethidium bromide (AO/EB), colony formation assay, and wound healing assay. The mechanism of statins on cell death by ROS formation and protein-related cell death by Western blotting.

Results: Both statins induced KKU-100 and KKU-M214 cell death by time- and dose-dependent manner. Statins markedly induced cell death in KKU-100 cells which had low HMGCR expression more potent than KKU-M214 which had high HMGCR expression. Furthermore, simvastatin had the greater cytotoxic potency than atorvastatin with IC50 values. Treatment with statins also caused a concentration-dependent decline in colony forming ability and cell migration, especially for simvastatin. Two statins induced ROS formation in KKU-100 cells, but not in KKU-M214 cells. Both of statins enhanced the release of cytochrome c, caspase 3 and increased p21 levels, especially for KKU-100 cells.

Conclusion: Statins induced CCA cells death, inhibited cell migration, and induced apoptosis. The induction of cell death was probably via mitochondrial pathway. Statins could be useful for developing to a novel chemotherapy for CCA.

Keywords: Cholangiocarcinoma, simvastatin, atorvastatin, cell death, cell migration

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: การทดลองในครั้งนี้เพื่อการศึกษาฤทธิ์ของยากลุ่ม statin ในการกระตุ้นการตายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีและกลไกที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์

วิธีการทดลอง: ในการทดลองนี้ทางผู้วิจัยทำการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (HMGCR) ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี 4 ชนิด ประกอบด้วย KKU-100, KKU-M055, KKU-M214, และ KKU-M156 ด้วยวิธี RT-PCR และทำการเลือก 2 เซลล์ที่เป็นตัวแทนของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ HMGCR สูงและต่ำ เพื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ของยากลุ่มสเตติน 2 ชนิดคือ simvastatin และ atorvastatin ในการยับยั้งเอนไซม์ HMGCR และมีผลลดโปรตีนที่สร้างจากเอนไซม์ชนิดนี้ นอกจากนี้การทดลองการตายของเซลล์ การเคลื่อนที่ของเซลล์ ด้วยวิธี SRB assay, acridine orange/ethidium bromide (AO/EB), colony formation assay, และ wound healing assay กลไกที่เกี่ยวข้องกับการตายทางผู้วิจัยศึกษาการสร้าง ROS และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ด้วยวิธี Western blotting

ผลการทดลอง: จากการศึกษาพบว่าเซลล์ทั้งสองชนิดคือ KKU-100 และ KKU-M214 หลังจากได้รับสเตตินแล้วมีการตายตามความเข้มข้นและเวลาที่ได้รับเพิ่มมากขึ้น พบว่าสเตตินกระตุ้นการตายของเซลล์ชนิด KKU-100 ที่มีการแสดงออกของ HMGCR ต่ำ ได้มากกว่าเซลล์ KKU-M214 ที่มีการแสดงออกของ HMGCR สูง นอกจากนี้ยังพบว่า simvastatin มีฤทธิ์สูงมากกว่า atorvastatin ในการกระตุ้นการตายของเซลล์ จากผลการทดลองที่มีค่า IC_{50} ที่น้อยกว่า สเตตินสามารถลดการสร้างโคโลนีและการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตามความเข้มข้นของยา สเตตินยังกระตุ้นการสร้าง ROS ในเซลล์มะเร็งชนิด KKU-100 เซลล์ได้แต่ไม่สามารถกระตุ้นได้ในเซลล์ KKU-M214 และ simvastatin ยังกระตุ้นการหลั่ง cytochrome c, caspase 3, และเพิ่มปริมาณ p21 ในเซลล์มะเร็ง KKU-100 ทำให้เซลล์ตายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ดี

สรุปผลการทดลอง: สเตตินกระตุ้นการตายในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์ และกระตุ้นการตายแบบอะพอพโทซิส ซึ่งกลไกการตายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีจากผลของสเตตินอาจจะมาจากการเปลี่ยนแปลงไมโทคอนเดรียของเซลล์ ดังนั้นการใช้สเตตินในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในอนาคตจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ ซึ่งต้องมีการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติมขึ้นและการทดสอบความเป็นพิษในคนต่อไป

คำสำคัญ: มะเร็งท่อน้ำดี ซิมวาสเตติน อะทอวาสเตติน การตายของเซลล์ การเคลื่อนที่ของเซลล์