

Abstract (บทคัดย่อ)

Project Code : TRG6080008

Project Title : การจับกันของโปรตีนอีสองของไวรัสกับโปรตีนของเซลล์โฮสต์เพื่อยับยั้งโปรโมเตอร์ของยีนก่อมะเร็งของเชื้อไวรัสอิวแมนแพปพิโลมาทัยป์ 16 ในเซลล์ปากมดลูกที่มีภาวะเป็นจีโนมวงกลมและการแทรกตัวเข้าสู่โครโมโซมของโฮสต์

(Interaction of E2 protein with cellular partner proteins that facilitates transcriptional repressive activity of episomal and integrated human papillomavirus 16 oncogene promoter in cervical cancer cell lines)

Investigator : ดร. อาคม ไชยวงศ์คต

E-mail Address : arkomchaiwongkot@gmail.com

Project Period : 2 ปี

Abstract

Background: Upregulated expression of high risk human papillomaviruses (HR-HPVs) E6 and E7 oncogenes is associated with cervical carcinogenesis and it has been shown that E2 protein can either activate or repress HPV oncogenes expression.

Objectives: We aimed to detect the effect of E2 protein on host repressor proteins expression that may facilitate the E2 mediated transcriptional repressive activity of human papillomavirus 16 oncogene promoters and the interaction of HPV16 E2 protein and host partner protein. In addition, RNAseq analysis was performed using RNA extracted from five cervical cancer cell lines containing HPV16, 18, 45 and 68b (CaSki, SiHa, HeLa, MS751 and ME180) and HPV negative cervical cancer cell line (C33A) to investigate the transcription patterns of viral and cellular genes.

Methods: Transfection experiment on CaSki and SiHa using plasmid containing HPV16 E2 gene was performed. Viral and host gene expression were detected by real time PCR and western blot.

Results: The major transcripts obtained from four HR-HPV types 16, 18, 45 and 68b were E6*1 with splicing event occur within E6 gene fused with full length E7 ORF, 226^409 (HPV16), 233^416 (HPV18), 230^412 (HPV45) and 129^311(HPV68b) and were associated with full length E7 oncogene expression. CaSki and SiHa cell lines transfected with HPV16E2 showed reduction of full length E7 oncogenes. HDAC1 was found to be upregulated in HPV16 E2 expressing CaSki but not SiHa.

Conclusion: Splicing pattern that occurred within E6 gene resulting in E6*1 transcript facilitates E7 oncogene translation. Thus, HPV major transcript E6*1 and full length E7 oncogenes expressed in HR-HPVs active cervical cancer cell lines could be used as biomarker and targeted therapy. HDAC1 may be involved in HPV16E2 mediated viral oncogene transcripts down expression in CaSki and SiHa cell lines. Further study

should be performed to investigate the viral-host proteins interaction and their effect on viral oncogenes expression..

Keywords: Human papillomavirus16 E2; transcription patterns; host gene expression

บทคัดย่อ

ความรู้เดิม: การแสดงออกของยีนก่อมะเร็งอีหกและอีเจ็ดของไวรัสแปปิลโลมาที่มีความเสี่ยงสูงมีความสัมพันธ์กับการเป็นมะเร็งปากมดลูก และจากการศึกษาพบว่าโปรตีนอีสองสามารถกระตุ้นหรือยับยั้งการแสดงออกของยีนก่อมะเร็งของไวรัสแปปิลโลมาได้

วัตถุประสงค์: เราจะทำการศึกษาผลของโปรตีนอีสองต่อการแสดงออกของโปรตีนของคนที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการแสดงออกของยีนซึ่งโปรตีนของคนนี้อาจจะมีส่วนร่วมกับการยับยั้งการแสดงออกของยีนก่อมะเร็งของไวรัสโดยไปจับตรงโปรโมเตอร์ของยีนก่อมะเร็งของไวรัส และยังศึกษาการจับกันระหว่างโปรตีนอีสองกับโปรตีนของคนด้วย และเราได้ศึกษาเพิ่มเติมโดยทำ RNAseq เพื่อดูรูปแบบการแสดงออกของยีนไวรัสและยีนของคนในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่มีเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ ได้แก่ 16, 18, 45 and 68b และไม่มีเชื้อไวรัส

วิธีการศึกษา: นำพลาสมิดที่มียีนอีสองใส่ลงไปในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งปากมดลูกที่ติดเชื้อไวรัสแปปิลโลมาชนิดลบทุกตัว ได้แก่ CaSki และ SiHa แล้วนำมาสกัดอาร์เอ็นเอเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนของไวรัสและยีนของคน

ผลการศึกษา: เส้นอาร์เอ็นเอของไวรัสแปปิลโลมาที่มีความเสี่ยงสูงชนิด 16, 18, 45 และ 68b ที่มีการแสดงออกเยอะในเซลล์มะเร็งปากมดลูกได้แก่เส้นอาร์เอ็นเอที่เรียกว่า E6*1 ซึ่งเป็นเส้นอาร์เอ็นเอที่มีการขาดหายไปของยีน E6 บางส่วนพร้อมยีน E7 แบบเต็มสายได้แก่ 226⁴⁰⁹ (HPV16), 233⁴¹⁶ (HPV18), 230⁴¹² (HPV45) และ 129³¹¹(HPV68b) และเมื่อมีการกระตุ้นให้มีการแสดงออกของโปรตีน E2 ในเซลล์มะเร็ง CaSki และ SiHa พบว่ามีการแสดงออกของยีน E7 ที่ลดลง และพบว่ายีนของ HDAC1 มีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นในเซลล์ CaSki อย่างเดียว

สรุปผลการศึกษา: รูปแบบการแสดงออกของเส้นอาร์เอ็นเอที่เรียกว่า E6*1 มีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีน E7 ที่สูงขึ้น ดังนั้นเราสามารถใช้ในการตรวจ E6*1 และยีน E7 ในการเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพได้และใช้เป็นยีนเป้าหมายในการรักษา และโปรตีนของคน HDAC1 อาจจะมีส่วนร่วมกับโปรตีนอีสองในการไปกดการแสดงออกของยีนก่อมะเร็งของไวรัส

Keywords: โปรตีนอีสองของไวรัสแปปิลโลมาชนิด 16; รูปแบบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอ; การแสดงออกของยีนของคน