

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG4580010

ชื่อโครงการ : การค้นหากลไกการดื้อยาเคมีบำบัดของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีในหลอดทดลอง

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน : ผศ.ดร.นิษณา เทพศิริ

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

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

ระยะเวลาโครงการ : 1 กรกฎาคม 2545 ถึง 30 มิถุนายน 2547

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นโรคมะเร็งที่เป็นปัญหาสำคัญของประชากรไทยอีสาน แต่เป็นมะเร็งที่พบน้อยในภูมิภาคอื่นๆ ทั่วโลก การรักษาโรคโดยวิธีเคมีบำบัดให้ผลไม่ดีเนื่องจากขาดองค์ความรู้พื้นฐาน การศึกษากลไกการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีจึงเป็นวิธีการที่สามารถช่วยในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี ผู้วิจัยได้ทำการวัดระดับความไวต่อยาเคมีบำบัดของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีจำนวน 5 ชนิด โดยวิธี MTS assay ได้ผลดังนี้ KKU-M055 ไวต่อยาเคมีบำบัดจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ cisplatin, etoposide, oxaliplatin, irinotecan, paclitaxel และ doxorubicin แต่ดื้อต่อยา 5-FU ในระดับปานกลาง ($IC_{50}=46 \mu M$) KKU-100 เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงที่ดื้อต่อยาเคมีบำบัดทั้ง 7 ชนิด โดยดื้อยา 5-FU ($IC_{50}=1,020 \mu M$) และ etoposide ($IC_{50}=416 \mu M$) ในระดับที่สูงมาก KKU-OCA17 ไวต่อยา 5-FU มากที่สุด ($IC_{50}=3.46 \mu M$) KKU-M055 เป็นเซลล์มะเร็งที่ไวต่อยาเคมีบำบัดทั้ง 6 ชนิด แต่ดื้อต่อ 5-FU ในระดับปานกลาง สำหรับ KKU-M156 และ KKU-M214 มีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดทั้ง 7 ชนิดดังกล่าวได้ในระดับปานกลาง ได้ตรวจสอบการตายแบบ apoptosis ของเซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 5 ชนิด โดยยา 5-FU ได้ผลที่สอดคล้องกับระดับความไวของยา (IC_{50}) ด้วยค่า $r=0.775$ การศึกษาโดยใช้ยาบำบัด 2 ชนิดร่วมกัน พบว่า cisplatin และ paclitaxel สามารถเสริมฤทธิ์ของ 5-FU โดยลดค่า IC_{50} ในเซลล์ KKU-100 ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ได้ทำตรวจวัดระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาเคมีบำบัดด้วยวิธี semiquantitative RT-PCR ได้ผลคือ เซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 5 ชนิดมีระดับการแสดงออกของยีน TS, DPD, GST- π , MRP-1, -2, และ -3 ในระดับมากน้อยต่างกัน และ พบว่า การแสดงออกของยีน MRP3 มีความสัมพันธ์กับระดับความไวของยา doxorubicin ($r = 0.943$) และ etoposide ($r = 0.946$) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ verapamil ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของโปรตีน MRP สามารถเพิ่มความไวของยา doxorubicin ได้ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน TS, DPD และ ระดับความไวต่อยา 5-FU ในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี ดังนั้นในอนาคต การศึกษาโดยการกระตุ้นให้เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีดื้อต่อยา 5-FU อาจสามารถบ่งชี้ถึงกลไกการดื้อยา 5-FU อย่างจำเพาะได้

คำหลัก : เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี ยาเคมีบำบัด ความไวต่อยา การดื้อยา การแสดงออกของยีน

ABSTRACT

Project Code : MRG4580010

Project Title : Investigation of the mechanistic effect of chemotherapeutic drug resistance on human cholangiocarcinoma cell lines *in vitro*

Investigator : Assistant Professor Dr Nisana Tepsiri

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

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

Project Period : 1st July 2002 to 30th June 2004

Cholangiocarcinoma (CHCA) is a rare cancer, which causes a major problem in Thai-Esarn population. Treatment by chemotherapy is not the curative way due to lacking of the basic knowledge. This project aimed to examine the inhibitory effect of chemotherapeutic drugs in human intrahepatic CHCA cell lines and the intrinsic drug resistance in CHCA cell lines was determined. Five human CHCA cell lines were subjected to *in vitro* drug sensitivity assay against a panel of chemotherapeutic drugs in various modes of action. The assay on CHCA cell lines to 7 chemotherapeutic drugs was determined by cytotoxic test using the MTS assay. Results demonstrated that KKU-M055 was the most sensitive CHCA cell line to 6 drugs including cisplatin, etoposide, oxaliplatin, irinotecan, paclitaxel and doxorubicin but it was moderately resistance to 5-FU ($IC_{50}=46 \mu M$). In contrast, KKU-100 was the most resistant cell line to 5-FU (1,020 μM) and etoposide ($IC_{50}=416 \mu M$) and it had high degree of resistance to other 5 drugs. KKU-OCA17 was the most sensitive cells to 5-FU ($IC_{50}=3.46 \mu M$) compared to other cell lines. KKU-M055 was the most sensitive cells to most types of drug. KKU-M055 however was not the most resistant cells to 5-FU. KKU-M156 and KKU-M214 showed moderate resistance to such 7 drugs. Histopathological types of CHCA cell lines did not show any significant relationship with drug sensitivities. Apoptotic level and IC_{50} of 5-FU had a moderate association ($r=0.775$) observed for KKU-100. Drug combination of 5-FU combined with either cisplatin or paclitaxel can reduce IC_{50} of 5-FU dramatically ($p < 0.05$).

Multidrug resistance in cancer confers resistance to multiple drugs that may be frequently encountered during chemotherapy of CHCA. Results from semi-quantitative RT-PCR revealed that genes of TS, DPD, GST- π , MRP-1, -2, and -3 were expressed in all CHCA cell lines albeit at different levels. The expression of MRP3 is significantly correlated with resistance to doxorubicin ($r=0.943$) and etoposide ($r=0.946$). Results confirmed that verapamil, the inhibitor of MRP proteins was markedly reduced IC_{50} of doxorubicin, indicating the reverse drug resistant effect. No correlation was observed between the intrinsic expression of TS and DPD in five CHCA cell lines with the cytotoxic effect of 5-FU. Further investigations of TS and DPD gene expression under 5-FU drug exposure need to be performed.

Key words : Cholangiocarcinoma cell lines, CHCA, *in vitro* drug sensitivity, multidrug resistance, semi-quantitative RT-PCR