

ชื่อเรื่อง การตอบสนองต่อภาวะ Apoptosis ในมะเร็งท่อน้ำดีเมื่อกระตุ้นด้วย TNF-alpha

ผู้วิจัย ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ, ฤทัยวรรณ โต้ะทอง

สถาบัน มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, มหาวิทยาลัยมหิดล

ปีที่พิมพ์ 2554

สถานที่พิมพ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

แหล่งที่เก็บรายงานฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

จำนวนหน้างานวิจัย 71 หน้า

คำสำคัญ มะเร็งท่อน้ำดี, apoptosis, TNF-alpha

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

#### บทคัดย่อ

มะเร็งท่อน้ำดีคือมะเร็งตับชนิดหนึ่งซึ่งเกิดจากเซลล์อพิที่เรียลบริเวณท่อน้ำดี อุบัติการของมะเร็งท่อน้ำดีพบมากทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้โดยเฉพาะประเทศไทย ปัจจุบันมะเร็งท่อน้ำดีกลายเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุขเนื่องจากมีอุบัติการและอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นทั่วโลก เนื่องจากการวินิจฉัยระยะเริ่มต้นและการรักษาโรคมะเร็งชนิดนี้ยังมีข้อจำกัดอยู่มาก คนไข้โรคมะเร็งท่อน้ำดีส่วนใหญ่จะเข้ามาทำการรักษาที่โรงพยาบาลเมื่อมีอาการของโรคคลุกคลาแล้วและอาจยังไม่สามารถวินิจฉัยการแพร่กระจายได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่ามะเร็งท่อน้ำดีมีความสัมพันธ์กับ TNF-alpha ซึ่งเป็นไซโตไคน์สามารถกระตุ้นให้เกิด apoptosis ผ่านทาง caspases และในทางกลับกัน TNF-alpha ยังสามารถส่งเสริมการเกิดมะเร็งได้ในมะเร็งอีกหลายชนิด TNF-alpha ทำงานได้โดยการจับจำเพาะกับรีเซพเตอร์สองชนิดคือ TNFR1 และ TNFR2 กลไกหลักของร่างกายที่ทำหน้าที่ในการกำจัดเซลล์มะเร็งคือ apoptosis หากมีความผิดปกติเกิดขึ้นกับกลไกนี้จะทำให้เกิดเป็นมะเร็งได้ ผลการวิจัยเกี่ยวกับ TNF-alpha ต่อความไวหรือความต้านทานต่อการเกิด apoptosis ใน

เซลล์มะเร็งท่อน้ำดียังมีไม่มากนัก งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ในการทดสอบผลความไวหรือความต้านทานของ TNF-alpha ต่อการเกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ในการทดลองนี้ได้ใช้เซลล์เพาะเลี้ยงของมะเร็งท่อน้ำดีสองชนิด คือ KKU-100 และ KKU-213 เมื่อนำเซลล์ดังกล่าวไปทดสอบกับ TNF-alpha ที่ความเข้มข้น 160 ng/ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยใช้วิธี MTT และการเกิด apoptosis โดยวิธีย้อมสี DAPI พบว่า TNF-alpha นอกจากไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษแล้วยังไม่เกิด apoptosis ต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีทั้งสองชนิดถึงแม้ว่าจะพบว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีทั้งสองชนิดนี้มี TNF-alpha รีเซพเตอร์ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธี RT-PCR ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ามะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 และ KKU-213 มีความต้านทานต่อการเกิด apoptosis ในภาวะที่มี TNF-alpha ส่วนกลไกในการต้านทานต่อการเกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีนี้ควรจะทำการศึกษาต่อไป



**Research Title** Cholangiocarcinoma response to apoptosis after TNF-alpha treatment

**Researcher** Panthip Rattanasinganchan, Rutaiwan Tohtong

**Institution** Huachiew Chalermprakiet University, Mahidol University

**Year of Publication** 2011

**Publisher** Huachiew Chalermprakiet University

**Sources** Huachiew Chalermprakiet University

**No. of Pages** 71 pages

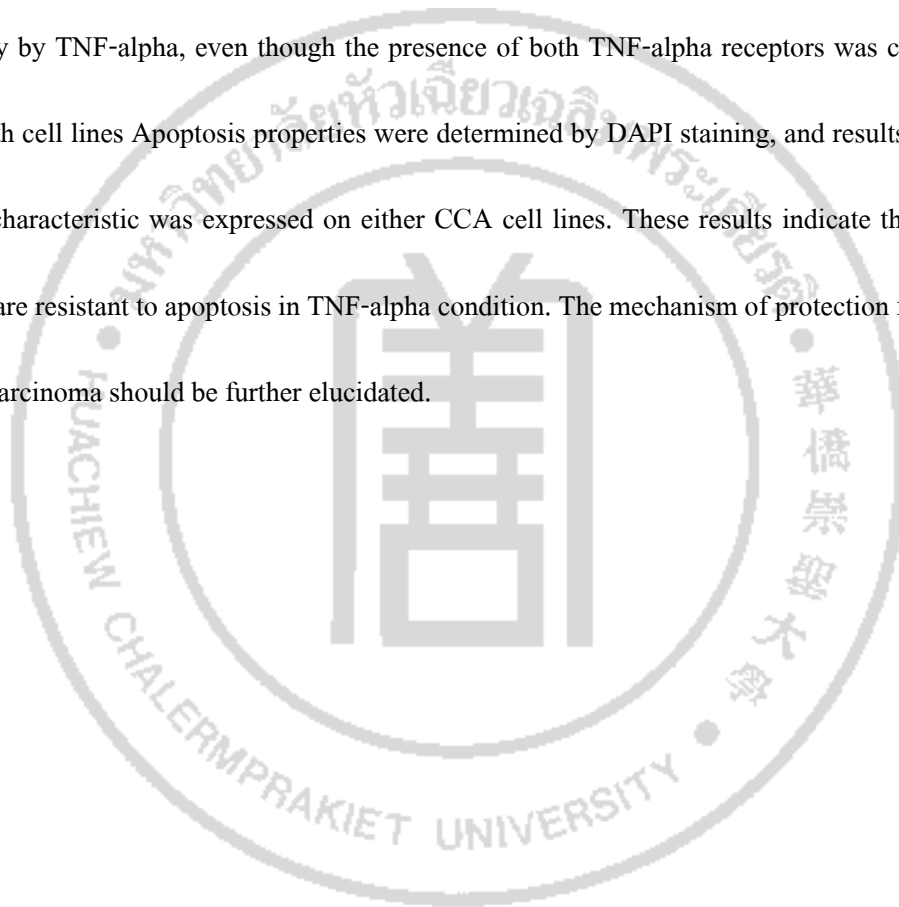
**Keywords** cholangiocarcinoma, apoptosis, TNF-alpha

**Copyright** Huachiew Chalermprakiet University

**ABSTRACT**

Cholangiocarcinoma (CCA), a malignant tumor derived from the bile duct epithelium, is a hepatobiliary malignancy relatively uncommon in temperate countries. In tropical countries however, especially in some areas of South-east Asia such as Thailand, the disease is endemic. Cholangiocarcinoma has become a serious threat to public health due to increasing worldwide incidence- and mortality rates associated with lack of early detection and limited therapeutic options. At diagnosis, most patients are presented with an already advanced disease, possibly with undetected metastasis. Cholangiocarcinoma has been closely associated with tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), a cytokine that can trigger apoptosis through the activation of caspases and tumor promoter roles in many cancer types. TNF-alpha functions by binding to its receptors TNFR1 and TNFR2. Apoptosis is believed to be one of the main cellular mechanisms to kill cancer cells, and defects in the apoptosis mechanism could lead to tumor formation.

However, actions of TNF-alpha on sensitivity/resistance to apoptosis are still little known in cholangiocarcinoma. Investigation of the sensitivity/resistance effect of TNF-alpha to apoptosis was addressed in this research. In this study, cholangiocarcinoma cell lines KKU-100 and KKU-213, were administrated with a high dose of TNF-alpha (160 ng/ml) and subjected to prolonged incubation (24 h). The cytotoxicity was determined by MTT assay. Neither KKU-100 nor KKU-213 showed any signs of cytotoxicity by TNF-alpha, even though the presence of both TNF-alpha receptors was confirmed by RT-PCR in both cell lines. Apoptosis properties were determined by DAPI staining, and results revealed that no apoptosis characteristic was expressed on either CCA cell lines. These results indicate that KKU-100 and KKU-213 are resistant to apoptosis in TNF-alpha condition. The mechanism of protection from apoptosis of cholangiocarcinoma should be further elucidated.



## ACKNOWLEDGEMENTS

The success of this work can be attributed to the extensive grant support from Huachiew Chalermprakiet University, Thailand.

My grateful appreciation is also expressed to Assoc. Prof. Isaya Janwithayanuchit for her kindness and encouragement.

I wish to express my deepest gratitude to Assoc. Prof. Rutaiwan Tohtong for her kind permission to undertake this work in her laboratory at the Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Thailand

I would like to thank Pr303 and Pr313 members and everyone in the Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University for their cheerfulness and kind support.

