จันทร์จิรา สืบสุนทร : การศึกษาความสำคัญของระดับสัญญาณ Wnt/ß-catenin ต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์มะเร็งประสาทมนุษย์ SH-SY5Y (INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF Wnt/ß-catenin SIGNALLING MODULATION ON THE DIFFERENTIATION OF HUMAN NEUROBLASTOMA SH-SY5Y CELL LINE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปริญญา น้อยสา, 105 หน้า.

มะเร็งประสาทมนุษย์ (Neuroblastoma) เป็นมะเร็งของเซลล์ต้นกำเนิดของระบบประสาทอัตโนมัติซึ่งพบได้บ่อยในทารก และเด็กอายุน้อยกว่า 10 ปี การอุบัติของมะเร็งชนิดนี้เกิดมาจากเซลล์ประสาทขั้นต้น (neuroblast) ทำให้การรักษาโรคในปัจจุบันนั้นทำได้ยาก ด้วยเหตุนี้แล้วจึงมีการวิจัยเชิงทดลองทางคลินิกโดยการรักษาด้วยวิธีอื่น เช่น การใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี้ หรือยาต้านมะเร็งตลอดจนการจำเพาะเจาะจงต่อสัญญาณต่าง ๆ ภายในเซลล์ที่คาดว่าจะสามารถกระตุ้นประสิทธิภาพของการรักษาให้ดีขึ้นได้ โดยมีงานวิจัยต่าง ๆ รายงานเกี่ยวกับผลของสัญญาณภายในเซลล์กับเซลล์มะเร็งและการรักษาโรคได้แก่ สัญญาณ Wnt Notch และ Hedgehog ว่ามีผลเกี่ยวกับกับการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็ง การเพิ่มจำนวน รวมไปถึงเกี่ยวข้องกับการพัฒนาเปลี่ยนแปลงเซลล์ร่างกาย และเซลล์ต้นกำเนิด

สมมุติฐานของงานวิจัยนี้คือ การศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งกับความก้าวร้าวของเซลล์ โดยการที่เซลล์มะเร็งมีความก้าวร้าวรุนแรงขึ้นนั้นเป็นผลจากการปรับเปลี่ยนผ่านตัวกระตุ้นแบบยับยั้งผ่านสัญญาณวินซ์ (Wnt Signalling) ซึ่งเสริมฤทธิ์ และไวต่อการรักษาโรคด้วยยาต้านมะเร็งชนิด Doxorubicin โดยสัญญาณ Wnt ถูกกีดกั้นด้วยโมเลกุล XAV939 ซึ่งโมเลกุลชนิดนี้เป็นตัวกระตุ้นแบบยับยั้งที่จำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์ Tankyrase จากนั้นทำการศึกษาการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็ง การแสดงออกของยีนส์ และผลต่อยาต้านมะเร็ง พบว่าการยับยั้งสัญญาณ Wnt ทำให้จำนวนของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ ß-catenin ลดลงจากร้อยละ 99.21 เป็นร้อยละ 48 ในกลุ่มของเซลล์มะเร็งที่ให้ตัวยับยั้งสัญญาณ wnt เปรียบเทียบกับเซลล์มะเร็งปกติที่ไม่ได้ถูกยับยั้งตามลำดับ ในทางตรงกันข้าม XAV939 กลับไม่ส่งผลกระทบต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์, การเพิ่มจำนวนและ/หรือการมีชีวิตรอดของเซลล์ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับประสาท และยีนชั้นเนื้อเยื่อคัพภะ ซึ่งประกอบด้วย *N-Myc*, *C-Myc, TFAP2, PHOX2A, PHOX2B, PAX6, SLUG,* และ *Tuj1*. ผลการศึกษาการแสดงออกของยีนทั้งสองกลุ่มนี้เป็นสิ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง เพราะยีนที่เกี่ยวกับประสาทที่เจริญเติบโตเต็มที่เช่น *Tuj1, PHOX2B, PHOX2A* มีการแสดงออกของยีนลดลงในขณะที่ TFAP2 และ PAX6 มีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้น ผลของการศึกษานี้

สามารถอภิปรายได้ว่า การยับยั้งสัญญาณ Wnt/ß-catenin ทำให้มีผลกระทบต่อการพัฒนาเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งประสาทมนุษย์ (Human neuroblastoma) ชนิด SH-SY5Y

ที่น่าสนใจยิ่งไปกว่านั้นคือ การผสานการรักษามะเร็งโดยการใช้ยาต้านมะเร็งชนิด Doxorubicin กับ XAV939 มีผลให้เกิดการเสริมฤทธิ์ของยาต้านมะเร็ง เพื่ออธิบายปรากฏการณ์นี้ จึงได้ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนทั้งหมดในเซลล์ ด้วยการใช้ข้อมูลการแสดงออกของยีนมาวัดระดับของการลอกรหัสของยีนภายในเซลล์ รวมทั้งการค้นหาวิธีการและยารักษาโรคมะเร็งจากการใช้ DNA microarra ซึ่งปรากฏยีนเป้าหมายที่สำคัญหลายยีนในเซลล์มะเร็งที่ให้ XAV939 ตัวอย่างเช่น *TP53TG3, TAP2, DDC, CASP3, BIRC5, PSMC6*, และ *Ubiquitin C*. จากงานวิจัยนี้สามารถกล่าวได้ว่าการกระตุ้นแบบยับยั้งสัญญาณ Wnt ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งประสาทมนุษย์ SH-SY5Y และทำให้เกิดการตอบสนองต่อยาต้านมะเร็งดีขึ้น ซึ่งองค์ความรู้นี้สามารถนำไปปรับปรุงประสิทธิภาพของการรักษาโรคมะเร็งประสาทมนุษย์ในปัจจุบันได้โดยการเจาะเพาะเจาะจงต่อเซลล์เสมือนเซลล์ประสาทต้นกำเนิด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2559 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

JUNJIRA SUEBSOONTHRON : INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF Wnt/ß-catenin SIGNALLING MODULATION ON THE DIFFERENTIATION OF HUMAN NEUROBLASTOMA SH-SY5Y CELL LINE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PARINYA NOISA, Ph.D., 105 PP.

HUMAN MALIGNANT NEUROBLASTOMA/WNT SIGNALLING/TANKYRASE INHIBITION/ANTICANCER DRUG

Neuroblastoma is an embryonic malignancy and the most common cancer in infant and childhood, arising from neuroblasts. This cancer can be hard to treat, therefore clinical trials of novel treatments, such as monoclonal antibodies or new anticancer drugs, and targeting cellular signalling might be an alternative option for effective therapy. Many studies reported that cellular signalling pathways, including Wnt, Notch, and Hedgehog, play a key role in the survival, proliferation, and differentiation of somatic cells and stem cells. In this study, we hypothesized that the differentiation of aggressive human neuroblastoma SH-SY5Y cells can be modulated by the inhibition of Wnt Signalling, and this could enhance the sensitivity of the cells to an anticancer drug, Doxorubicin. Wnt Signalling of human neuroblastoma SH-SY5Y cells were blocked by a specific Tankyrase inhibitor, XAV939, prior to characterization of cell proliferation, cell survival, gene expression, and anticancer drug sensitivity. Upon the treatment with XAV939, the number of ß-catenin positive cells was reduced from 99.21% to 48.00% in control and treated cells. In contrast, XAV939 did not alter cell morphology, cell proliferation or cell survival. Thereafter, two sets of neural and neural crest-related genes were investigated, including *N-Myc*,

C-Myc, TFAP2, PHOX2A, PHOX2B, PAX6, SLUG, and *Tuj1*. Interestingly, the mature neural genes such as *Tuj1, PHOX2B, PHOX2A* were down-regulated, while *TFAP2* and *PAX6* were up-regulated when XAV939 was supplemented into the culture. The results here suggested that the inhibition of Wnt/ß-catenin affected the differentiation of human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Remarkably, the combination of an anticancer drug, Doxorubicin, with XAV939 was shown to enhance anticancer activity against SH-SY5Y cells. To explain this phenomenon, the global gene expression by microarray revealed the numbers of candidate target genes of XAV939, for instance, *TP53TG3, TAP2, DDC, CASP3, BIRC5, PSMC6,* and *Ubiquitin C*. Altogether, this study suggested that the inhibition of Wnt Signalling altered the differentiation of human neuroblastoma SH-SY5Y cells, and primed the cells to be more responsive to an anticancer drug. This knowledge could improve the efficacy of current treatment of human neuroblastoma by targeting stem-like cancer cells.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Biotechnology Student's Signature_____

Academic Year 2016 Advisor's Signature_____