



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ไซโคลฟิลิน-เอ: โมเลกุลเป้าหมายเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ
การรักษามะเร็งท่อน้ำดี

Cyclophilin A: molecular marker targeted for treatment of
cholangiocarcinoma

คณะผู้วิจัย

ดร.กัลยาณี สวรรยาวิสุทธิ

รศ. ดร.โสพิศ วงศ์คำ

ผศ. นพ.อนุชา พัวไพโรจน์

น.ส.สุมาลี ออบเชย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณแหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน ได้แก่ ทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุนอุดหนุนการวิจัย (Invitation research grant) คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ของ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และ ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ดร.กัลยาณี สวรรยาวิสุทธิ์
หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	
คณะผู้วิจัย	1
ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ ที่เกี่ยวข้อง	2
วิธีการดำเนินการวิจัย	3
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล	5
เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย	7
การถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	8

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการวิจัย ไซโคลฟิลิน-เอ: โมเลกุลเป้าหมายเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการรักษามะเร็งท่อน้ำดี

(Cyclophilin A: molecular marker targeted for treatment of cholangiocarcinoma)

รหัสโครงการ 540503 ภายใต้ชุดโครงการ การพัฒนาชุดวินิจฉัยมะเร็งตับในอีสาน

คำสำคัญ (Keywords): Cyclophilin A, Carcinogenesis, Cholangiocarcinoma

คณะผู้วิจัย

ดร.กัลยาณี สวรรยาวิสุทธิ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

รศ. ดร.โสพิศ วงศ์คำ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผศ. นพ. อนุชา พัวไพโรจน์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

น.ส. สุมาลี อบเชย ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นปัญหาสาธารณสุขที่จำเพาะและสำคัญของภาคตะวันออกเฉียงเหนือนับแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีอุบัติการณ์ของมะเร็งชนิดนี้สูงที่สุดในประเทศและในโลกการศึกษากระบวนการเกิดและการพัฒนาการของมะเร็งชนิดนี้จึงมีความสำคัญ เพราะเป็นความรู้พื้นฐานในการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยและการบำบัดรักษาที่มีประสิทธิภาพในอนาคต

เนื่องจากผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีส่วนใหญ่ไม่มีอาการแสดงในระยะเริ่มแรก และยังไม่มีการวินิจฉัยหรือการตรวจกรองที่จำเพาะต่อโรคในระยะเริ่มแรก ผู้ป่วยจึงมักมาพบแพทย์เมื่ออาการหรือโรคได้ดำเนินถึงระยะท้ายแล้ว ซึ่งในระยะดังกล่าวมักมีการกระจายของมะเร็งลุกลามไปยังอวัยวะอื่นทั้งที่ใกล้เคียงหรือห่างไกล และเป็นเหตุสำคัญที่ทำให้การบำบัดรักษาและพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีไม่ได้ผลดี และทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต ดังนั้นการเฝ้าระวังการก่อมะเร็งในระยะเริ่มแรกและการป้องกันการแพร่ลุกลามของมะเร็งจึงเป็นแนวทางที่มีความเป็นไปได้สูงในการลดความรุนแรงและความสูญเสียที่เกิดจากมะเร็งท่อน้ำดีในภูมิภาคนี้

จากการศึกษาที่เกี่ยวข้องหรือมีบทบาทสำคัญในการก่อมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทย พบว่า Methionine aminopeptidase 2 (MetAP2) แสดงออกเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี ส่วนเซลล์

เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีที่ถูกยับยั้งการทำงานของ MetAP2 ด้วยสารที่มีชื่อว่า Fumagillin พบว่า การเจริญเติบโตของเซลล์ลดลง นอกจากนี้ โปรตีนที่ถูกกระทบจากการยับยั้งการทำงานของ MetAP2 คือ Cyclophilin A (CypA) [1] ดังนั้น CypA จึงน่าจะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยพื้นฐานเพื่อศึกษาบทบาทของ CypA ต่อการพัฒนาการของมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งเป็นข้อมูลจำเป็นพื้นฐานในการศึกษาแนวโน้มของการพัฒนาการป้องกันและรักษามะเร็งท่อน้ำดี โดยการนำยาที่สามารถควบคุมการทำงานของ CypA มาใช้เสริมการรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีเพื่อยับยั้งกระบวนการก่อมะเร็งและการพัฒนาการของมะเร็งในอนาคต

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของการยับยั้งการแสดงออกของ CypA ต่อการเจริญเติบโตของมะเร็งท่อน้ำดีในหนูทดลอง
2. ศึกษาผลของยา Cyclosporin A (CsA) ร่วมกับยาด้านมะเร็งต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ ที่เกี่ยวข้อง

Cyclophilin A (CypA) เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 18 kDa อยู่ในกลุ่มโปรตีน Cyclophilin ได้แก่ Cyclophilin A, B, C และ D โปรตีนกลุ่มนี้มีขนาดและ subcellular localization ที่แตกต่างกันไป ปริมาณของ CypA มีอยู่ประมาณ 0.6% ของโปรตีนทั้งหมดภายในเซลล์ และพบว่าแสดงออกในเซลล์หลายชนิด มีรายงานว่า CypA มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขมวดตัวของโปรตีน เนื่องจากทำงานเป็นเอนไซม์ peptidyl-prolyl cis trans isomerase [2] ซึ่งเปลี่ยนรูปแบบระหว่าง cis และ trans ของพันธะเพปไทด์ระหว่างกรดอะมิโนโพรลีนกับกรดอะมิโนใดๆ ในโปรตีน ทำให้โปรตีนมีโครงสร้างที่เหมาะสมในการทำงาน นอกจากนี้ CypA พบมากในบริเวณ cytoplasm ของเซลล์ และการทำงานของ CypA ถูกยับยั้งได้ด้วย Cyclosporin A (CsA) ซึ่งเป็นยาที่ใช้อย่างแพร่หลายเพื่อกดภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายอวัยวะ [3,4]

CypA ในมะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งปอด ตับอ่อน ช่องปาก พบว่ามีแสดงออกของ CypA เพิ่มขึ้นในมะเร็งเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ [5,6,7] ส่วนบทบาทของ CypA ต่อการพัฒนาการของมะเร็ง มีรายงานว่า เมื่อยับยั้งการแสดงออกของ CypA โดย siRNA พบว่า การเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด ลดลง เกิด Apoptosis มากขึ้น และเมื่อฉีดเซลล์มะเร็งที่ถูกยับยั้งการแสดงออกโดย siRNA ในหนูทดลอง พบว่าก้อนมะเร็งที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งบ่งบอกถึงบทบาทของ CypA ที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งในด้านการเจริญเติบโต และการป้องกัน apoptosis ของเซลล์มะเร็ง [8] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยใน

มะเร็งสมองชนิด glioma ซึ่งพบว่าเมื่อเลี้ยงเซลล์ glioma ของหนูและมนุษย์ ใน media ที่มี CsA พบว่า CsA ทำให้เซลล์เกิด apoptosis มากขึ้นในเซลล์ glioma ของหนู และ ชักนำให้เกิด cell arrest ในเซลล์ glioma ของมนุษย์ [9]

นอกจากนี้ CypA ยังเป็นโปรตีนเป้าหมายของ Cyclosporin A (CsA) ซึ่งเป็นยาที่ใช้แพร่หลายเพื่อ กดภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายอวัยวะ [10, 11] และได้มีการนำ CsA มาใช้ในการเสริมฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดเพื่อรักษาผู้ป่วยมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งตับอ่อน มะเร็งเม็ดเลือดขาว และมะเร็งลำไส้ อีกด้วย [12-14]

คณะนักวิจัยจึงมีสมมติฐานว่า CypA น่าจะเป็นโมเลกุลเป็นเป้าหมายในการยับยั้งการเติบโตของ มะเร็ง การยับยั้งการทำงานหรือการแสดงออกของ CypA น่าจะเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้ยาเคมีบำบัดใน การรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในอนาคต

วิธีการดำเนินการวิจัย

การคัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของ CypA อย่างถาวร (stable cell line)

นำ retroviral vector (Origene) ที่มีลำดับเบสของ short hairpin RNA (shRNA) ซึ่งมีความจำเพาะต่อ mRNA ของ CypA (shCypA; 5'CCACCGTGTCTTCGACATTGCCGTCGAC 3') หรือ shV (negative control vector) เข้าสู่เซลล์ Phoenix Ampho Cells (Orbigen) ด้วย Lipofectamine 2000 เพื่อให้เซลล์สร้างและบรรจุ shCypA หรือ shV อยู่ในอนุภาคของไวรัส ซึ่งจะอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ หลังจาก transfection เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีอนุภาคไวรัสนี้ไป transduce เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี (KKU-M139) แล้วคัดเลือก stable cell line ที่ได้รับ shCypA หรือ shV โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มียา puromycin เป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ แล้วตรวจวัดระดับการแสดงออกของ CypA ด้วยเทคนิค real-time PCR และ Western blot ก่อนนำไปฉีดในหนูทดลอง

การวัดระดับการแสดงออกของ CypA ด้วยวิธี Real time PCR

สกัด Total RNA จากเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี หรือชิ้นเนื้อมะเร็งจากหนูทดลอง โดยใช้ RNAqueous-4PCR kit Ambion (Austin, TX) แล้วสังเคราะห์ cDNA ด้วย iScript cDNA synthesis kit (Bio-Rad) จากนั้นนำ cDNA ไปทำ Real time PCR โดยใช้ iQ SYBR Green supermix iCycler system (Bio-Rad, Hercules, CA) และ CypA primers (sense 5'GTCAACCCACCGTGTCTTC 3'; and antisense 5'TTTCTGCTGTCTTT GGGACCTTG 3') และ β -actin primers (sense 5'CTGGAACGGTGAAGGTGACA 3'; and antisense 5'AAGGGA CTCCTGTAACAATGCA 3') แล้ว

แปลผลปริมาณการแสดงออก mRNA ของ CypA เทียบกับ β -actin ซึ่งเป็น internal control ด้วยสูตรการคำนวณ $2^{-[\text{Ct}(\beta\text{-actin})-\text{Ct}(\text{CypA})]}$

การวัดระดับโปรตีน CypA และ β -actin ด้วยวิธี western blotting

สกัดโปรตีนจากเซลล์เพาะเลี้ยงโดยใช้ RIPA lysis buffer (ผสม cocktail protease and phosphatase inhibitors) แล้วแยกโปรตีนด้วย 12% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) แล้วทำการ blot โปรตีนลงบนแผ่น PVDF จากนั้นทำ immunoblotting โดยใช้ anti CypA และ β -actin antibody เป็น primary antibody ตามด้วย horseradish peroxidase-linked secondary antibody แล้วเติม enhanced chemiluminescent (ECL) reagent เพื่อตรวจวัดการแสดงผลของโปรตีนข้างต้น แล้ววัดความเข้มของแถบโปรตีน (band intensity) ด้วยโปรแกรม ImageQuant™ TL (GE Healthcare) โดยใช้ β -actin เป็น internal control

การชักนำให้เกิดมะเร็ง (tumor formation) ในหนูทดลอง

นำเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี KKU-M139 shCypA หรือ shV ที่คัดเลือกจากวิธีการข้างต้น จำนวน 3 ล้านเซลล์ ฉีดที่ชั้นใต้ผิวหนังของหนู nude mice เพศผู้ อายุ 5-6 สัปดาห์ กลุ่มละ 5 ตัว วัดขนาดและชั่งน้ำหนักของก้อนมะเร็งทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นเก็บก้อนมะเร็ง ปอด และตับของหนูทดลอง แล้วแบ่งเป็น 2 ส่วน นำส่วนแรกแช่น้ำยา formalin และทำ paraffin-embedded block เพื่อย้อม Immunohistochemistry อีกส่วนหนึ่งแช่ที่ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปสกัด RNA

การย้อมโปรตีน CypA และ Ki-67 ในชิ้นเนื้อมะเร็งจากหนูทดลองด้วยวิธี Immunohistochemistry

ชิ้นเนื้อมะเร็งจากหนูทดลองถูกนำมาแช่เพื่อให้คงสภาพใน 10% neutral formalin buffer และนำไปทำ paraffin -embedded block แล้วตัดให้มีความหนา 5 μm เพื่อนำไปติดกับสไลด์ หลังจากนั้นแต่ละสไลด์ จะถูกนำไปเข้าสู่กระบวนการ de-paraffinization, rehydration (absolute alcohol, 95% alcohol และ 70% alcohol), blocking endogenous peroxidase ด้วย 0.3% hydrogen peroxide เป็นเวลา 20 นาที แล้วย้อมด้วย rabbit anti CypA (Upstate, USA) ความเข้มข้น 1:100 หรือ mouse anti Ki-67 (Novacastra, United Kingdom) ความเข้มข้น 1:1000 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างแต่ละสไลด์ด้วย 1X Phosphate Buffered Saline (PBS) ตามด้วย Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated goat anti-rabbit antibody หรือ HRP-conjugated goat anti-mouse IgG. (Invitrogen, USA) ความเข้มข้น 1:100 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างแต่ละสไลด์ด้วย 1X PBS และทำให้เกิดสีด้วย diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) substrate chromogen system (Dako, USA) เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นแต่ละสไลด์จะถูกย้อมด้วย Mayer's hematoxylin

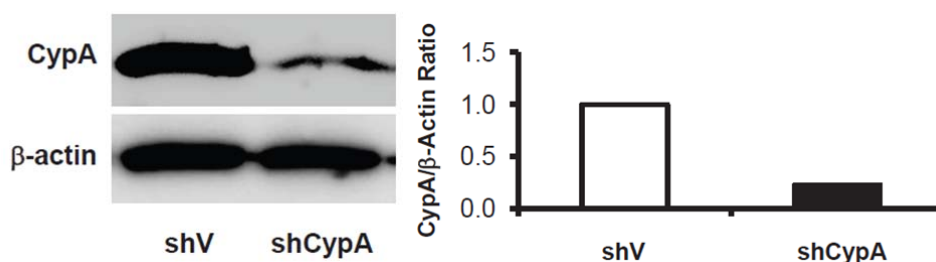
การวัด Cytotoxicity ของ CsA ต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี โดยวิธี SRB assay

เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี KKU-M139 จำนวน 5,000 เซลล์ ใน 96 well tissue culture plate ในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI (ผสมกับ 10% FBS และ 1% penicillin-streptomycin) ที่มี CsA 1 ug/ml ร่วมกับ ยาต้านมะเร็ง 5-Fluorouracil (5-FU) และ Cisplatin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.1, 1, 10, 100, 1000 uM เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นวัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตด้วยวิธี Sulforhodamine B (SRB) assay โดยตรึงเซลล์ด้วย trichloroacetic acid (TCA) ย้อมเซลล์ด้วยสี SRB แล้วล้างสีส่วนเกินออกด้วย 1% acetic acid แล้วละลายสีด้วยสารละลาย Tris-base จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง EL-800 universal microplate reader (Bio-Tek instruments)

ผลการวิจัย

การศึกษาผลของ CypA knockdown ต่อการเจริญเติบโตของมะเร็งท่อน้ำดีในหนูทดลอง (in vivo)

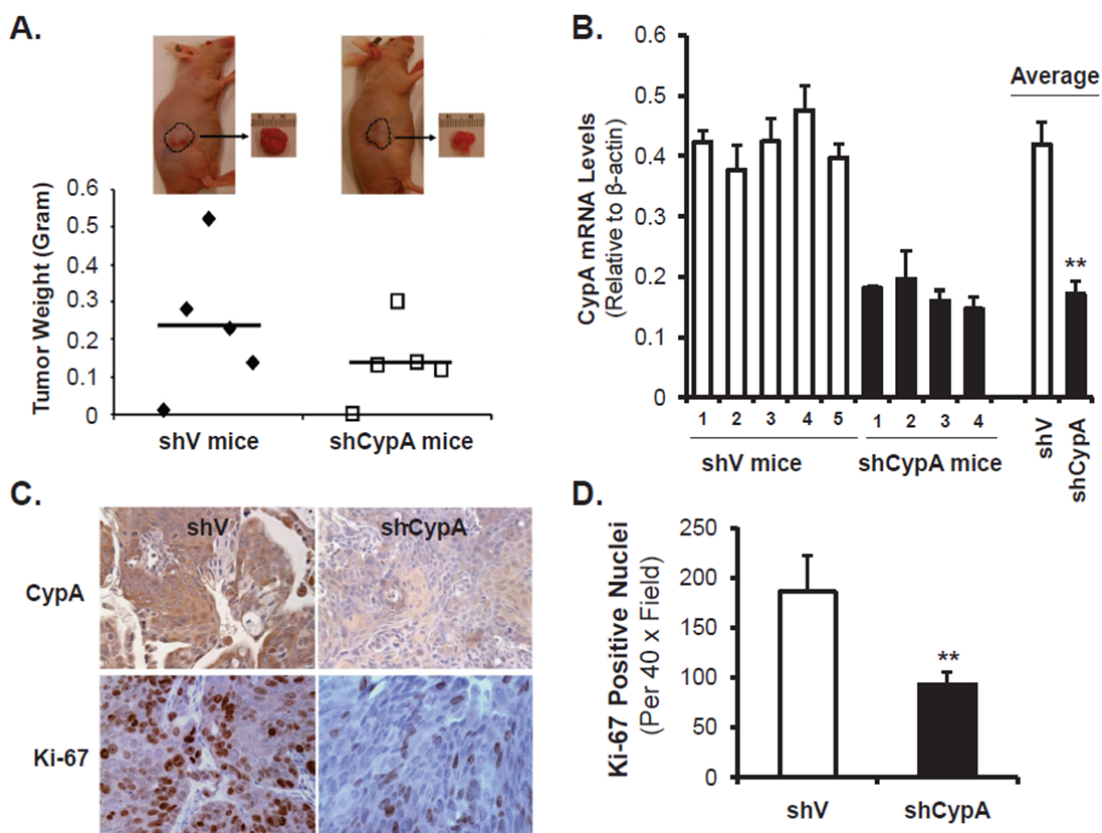
นำเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี M139 shV และ shCypA ที่คัดเลือกได้ มาตรวจวัดเพื่อยืนยันระดับการแสดงออกของ CypA ในระดับโปรตีน ด้วยเทคนิค Western blot ได้ผลดังรูปที่ 1 ก่อนนำไปฉีดในหนูทดลอง



รูปที่ 1 ระดับการแสดงออกของ CypA ที่ถูกยับยั้งด้วย shCypA ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (M139) shCypA สามารถลดการแสดงออกของ CypA ในระดับโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับ shV

เมื่อนำเซลล์ทั้งสองกลุ่มนี้ฉีดในหนูทดลอง พบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับเซลล์ M139-shCypA เกิดก้อนมะเร็งขนาดเล็ก 0.138 ± 0.107 กรัม ซึ่งมีขนาดเล็กกว่ากลุ่ม M139-shV ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม คือ 0.240 ± 0.187 กรัม (ประมาณ 43%) ดังแสดงในรูปที่ 2A และได้ตรวจวัดระดับการแสดงออกของ CypA mRNA ด้วยเทคนิค real-time PCR ในก้อนมะเร็งจากหนูทดลองทั้ง 2 กลุ่ม เพื่อยืนยันว่า การยับยั้งการแสดงออกของ CypA ด้วย shRNA ยังคงอยู่ ดังรูปที่ 2B จากนั้น ย้อมชิ้นเนื้อมะเร็งจากหนูทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ด้วยวิธี Immunohistochemistry โดยใช้ rabbit anti CypA และ mouse anti Ki-67 เพื่อเป็นการบ่งบอกว่า เซลล์มะเร็งที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของ CypA (shCypA) ในก้อนมะเร็งของหนูทดลอง มีการ

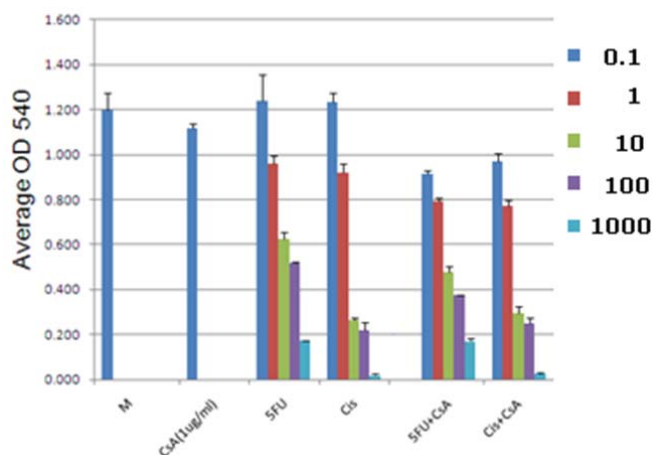
เจริญเติบโตที่ช้ากว่า กลุ่ม shV อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังจะเห็นได้จากการย้อมติดสีของ Ki-67 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งในกลุ่ม shCypA น้อยกว่ากลุ่ม shV (รูปที่ 2C, 2D) แสดงว่า CypA น่าจะมีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี



รูปที่ 2 การชักนำให้เกิดมะเร็ง (tumor formation) ในหนูทดลอง กลุ่มที่ได้รับเซลล์ M139-shCypA เกิดก้อนมะเร็งขนาดเล็กกว่ากลุ่ม M139-shV (A) และได้วัดระดับของ CypA mRNA ด้วยเทคนิค real-time PCR (B) และสัมพันธ์กับระดับการแสดงออกของ Ki-67 ที่ลดลงด้วย (C,D)

การศึกษาผลของ Cyclosporin A (CsA) ร่วมกับยาต้านมะเร็ง ต่อการเจริญเติบโตของมะเร็งท่อน้ำดี

จากนั้นผู้วิจัยได้ศึกษาผลของ Cyclosporin A (CsA) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งของ CypA ร่วมกับยาต้านมะเร็ง ต่อการเจริญเติบโตของมะเร็งท่อน้ำดี ผลศึกษาพบว่า ผลของ CsA ร่วมกับยาต้านมะเร็งจำนวน 2 ชนิด คือ 5-Fluorouracil (5-FU) และ Cisplatin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีแบบ dose-dependent manner ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ผลของ CsA ร่วมกับยาต้านมะเร็ง 5-Fluorouracil (5-FU) และ Cisplatin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.1, 1, 10, 100 และ 1000 uM) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี (M=เซลล์ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี CsA และยาต้านมะเร็ง)

กล่าวโดยสรุป การศึกษานี้แสดงถึงบทบาทของ CypA ต่อการพัฒนารวมของมะเร็งท่อน้ำดี และการยับยั้งการทำงานของ CypA ด้วยเทคนิค RNA interference หรือ ยา Cyclosporin A (CsA) น่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการยับยั้งกระบวนการก่อมะเร็ง หรือใช้ร่วมกับยาต้านมะเร็ง เพื่อเสริมการรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

1. Sawanyawisuth, K., et al., *Methionine aminopeptidase 2 over-expressed in cholangiocarcinoma: potential for drug target*. Acta Oncol, 2007. **46**(3): p. 378-85.
2. Galat, A. and S.M. Metcalfe, *Peptidylproline cis/trans isomerases*. Prog Biophys Mol Biol, 1995. **63**(1): p. 67-118.
3. Mikol, V., et al., *X-ray structure of a monomeric cyclophilin A-cyclosporin A crystal complex at 2.1 Å resolution*. J Mol Biol, 1993. **234**(4): p. 1119-30.
4. Handschumacher, R.E., et al., *Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A*. Science, 1984. **226**(4674): p. 544-7.

5. Howard, B.A., et al., *Translating biomarkers into clinical practice: prognostic implications of cyclophilin A and macrophage migratory inhibitory factor identified from protein expression profiles in non-small cell lung cancer*. Lung Cancer, 2004. **46**(3): p. 313-23.
6. Li, M., et al., *Effect of cyclophilin A on gene expression in human pancreatic cancer cells*. Am J Surg, 2005. **190**(5): p. 739-45.
7. Rey, O., M.A. Baluda, and N.H. Park, *Differential gene expression in neoplastic and human papillomavirus-immortalized oral keratinocytes*. Oncogene, 1999. **18**(3): p. 827-31.
8. Howard, B.A., et al., *Stable RNA interference-mediated suppression of cyclophilin A diminishes non-small-cell lung tumor growth in vivo*. Cancer Res, 2005. **65**(19): p. 8853-60.
9. Zupanska, A., et al., *Cyclosporine a induces growth arrest or programmed cell death of human glioma cells*. Neurochem Int, 2005. **47**(6): p. 430-41.
10. Mikol, V., et al., *X-ray structure of a monomeric cyclophilin A-cyclosporin A crystal complex at 2.1 Å resolution*. J Mol Biol, 1993. **234**(4): p. 1119-30.
11. Handschumacher, R.E., et al., *Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A*. Science, 1984. **226**(4674): p. 544-7.
12. Desai, A.A., et al., *Modulation of irinotecan with cyclosporine: a phase II trial in advanced colorectal cancer*. Cancer Chemother Pharmacol, 2005. **56**(4): p. 421-6.
13. List, A.F., et al., *Phase I/II trial of cyclosporine as a chemotherapy-resistance modifier in acute leukemia*. J Clin Oncol, 1993. **11**(9): p. 1652-60.
14. Saydjari, R., et al., *Effects of cyclosporin A and alpha-difluoromethylornithine on the growth of hamster pancreatic cancer in vitro*. J Natl Cancer Inst, 1986. **77**(5): p. 1087-92.

การถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ผลงานนี้ได้รับการตีพิมพ์ในวารสาร Molecular Cancer 2011 Aug 26; 10(1): 102. ชื่อเรื่อง Cyclophilin A enhances cell proliferation and tumor growth of liver fluke-associated cholangiocarcinoma